

SKRIPSI SARJANA FARMASI

**EFEK TERATOGEN PEMBERIAN DIETILEN GLIKOL (DEG)
PADA MORFOLOGI FETUS MENCIT PUTIH
(*Mus musculus L.*)**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2023**

SKRIPSI SARJANA FARMASI

**EFEK TERATOGEN PEMBERIAN DIETILEN GLIKOL (DEG)
PADA MORFOLOGI FETUS MENCIT PUTIH
(*Mus musculus L.*)**

Oleh :

JOYCE ARTHA ROSLINA SIREGAR

NIM. 1911012027



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2023

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

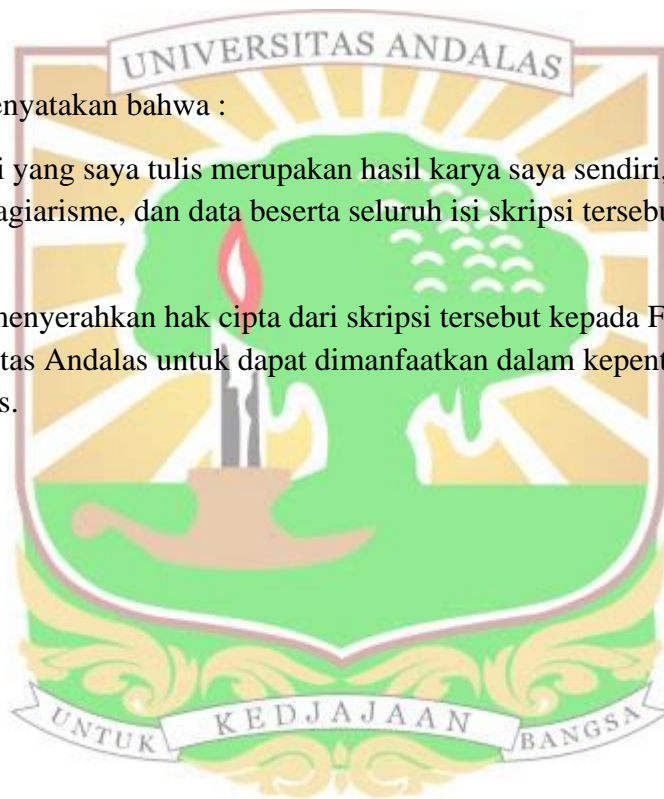
Nama : Joyce Artha Roslina Siregar

NIM : 1911012027

Judul Skripsi : Efek Teratogen Pemberian Dietilen Glikol (DEG) pada Morfologi Fetus Mencit Putih (Mus Musculus L.)

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.



Padang, 27 Maret 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Joyce Artha Roslina Siregar'.

Joyce Artha Roslina Siregar

LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh Seminar Hasil
Penelitian Program Sarjana (S1) Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas

Nama : Joyce Artha Roslina Siregar
NIM : 1911012027
Judul Penelitian : Efek Teratogen Pemberian Dietilen Glikol (DEG) pada
Morfologi Fetus Mencit Putih (*Mus musculus L.*)



Disetujui Oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. apt. Almahdy A, M.Si

NIP. 195801261987031003

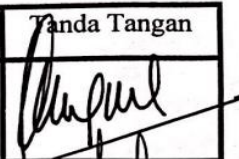



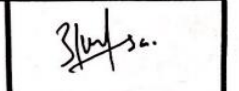
apt. Elsa Badriyya, S.Farm, M.Si

NIP. 199404252019032024

PERTAHANAN HASIL

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Pembahas Seminar Hasil Penelitian
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Pada tanggal : 10 April 2023

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Prof. Dr. apt. Yufri Aldi, M.Si	Ketua	
2	apt. Rahmad Abdillah, S.Farm, M.Si	Pembahas 1	
3	Dr. apt, Regina Anadayani, M.Si	Pembahas 2	
4	Prof. Dr. apt. Almahdy A, M.Si	Pembimbing 1	
5	Apt. Elsa Badriyya, S.Farm, M.Si	Pembimbing 2	



KATA PENGANTAR

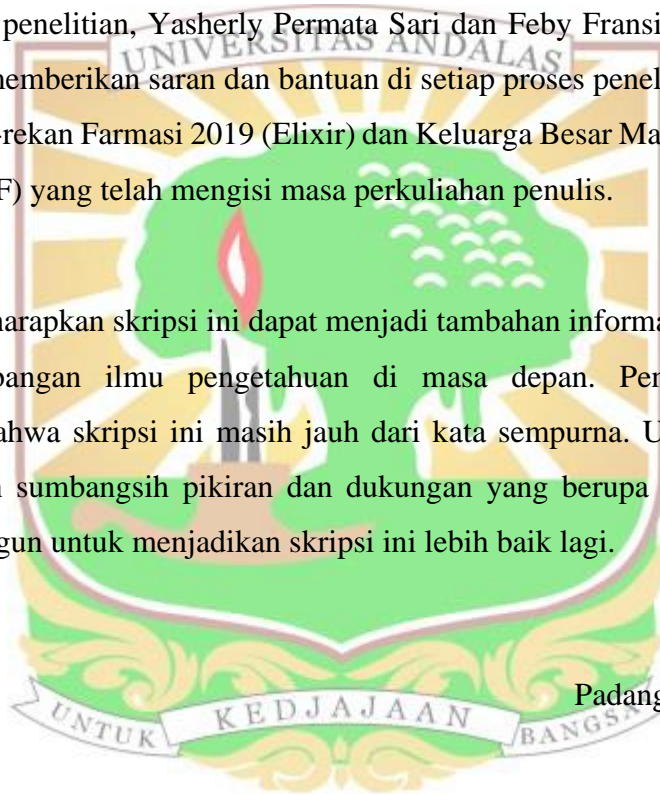
Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan Yang Mahasa Esa, oleh karena kasih setia dan anugerah-Nya yang selalu menyertai, memberi kemurahan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Pengaruh Teratogen Pemberian Dietilen Glikol (DEG) pada Morfologi Fetus Mencit Putih (*Mus Muculus L.*)” dengan tujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam mencapai Gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna karena menyadari segala keterbatasan yang ada. Namun penulis senantiasa mengharapkan penulisan skripsi ini dapat berguna bagi banyak orang. Skripsi ini tentunya tidak akan terselesaikan tanpa orang-orang baik yang penulis cintai yang turut membantu dan mendukung perjalanan penulis selama masa pendidikan. Pada kesempatan ini, izinkanlah penulis untuk menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang tulus kepada:

1. Bapak Prof. Dr. apt. Almahdy A.,MS dan Ibu apt. Elsa Badriyya, S.Farm M.Si selaku dosen pembimbing yang selalu meluangkan waktunya dalam setiap proses yang penulis tempuh dalam menyelesaikan skripsi ini dan senantiasa memberikan motivasi pada penulis demi kelancaran skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. apt. Fatma Sri Wahyuni, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas
3. Ibu Dr. apt. Meri Susanti, M. Farm., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.
4. Bapak Dr. apt., Salman, M.Si selaku dosen penasihat akademik yang telah membimbing penulis, memberi masukan serta arahan selama masa perkuliahan .
5. Bapak Prof. Dr. apt. Yufri Aldi, M.Si; Bapak apt. Rahmad Abdillah, S.Farm, M.Si; Ibu Dr. apt. Regina Andayani, M.Si selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk membahas skripsi penulis.

6. Bapak dan Ibu dosen pengajar dan analis laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan banyak ilmu yang bermanfaat bagi penulis.
7. Kedua orang tua tersayang, Papa Jufri Nelson Siregar dan Mama Deni Berliana Hutajulu yang telah banyak berjuang memberi dukungan bagi penulis.
8. Saudara dan Saudari , Kevin Gracio Junior Siregar dan Karen Cantika Putri Siregar yang selalu menjadi motivasi bagi penulis untuk menyelesaikan pendidikannya .
9. Rekan penelitian, Yasherly Permata Sari dan Feby Fransisca Yalani yang telah memberikan saran dan bantuan di setiap proses penelitian penulis.
10. Rekan-rekan Farmasi 2019 (Elixir) dan Keluarga Besar Mahasiswa Farmasi (KBMF) yang telah mengisi masa perkuliahan penulis.

Penulis mengharapkan skripsi ini dapat menjadi tambahan informasi yang berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Untuk itu penulis mengharapkan sumbangsih pikiran dan dukungan yang berupa kritik dan saran yang membangun untuk menjadikan skripsi ini lebih baik lagi.



Padang, 27 Maret 2023

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Joyce Artha Roslina Siregar'.

Joyce Artha Roslina Siregar

ABSTRAK

EFEK TERATOGEN PEMBERIAN DIETILEN GLIKOL (DEG)

PADA MORFOLOGI FETUS MENCIT PUTIH

(Mus musculus L.)

OLEH :

JOYCE ARTHA ROSLINA SIREGAR

NIM: 1911012027

(Program Studi Sarjana Farmasi)

Dietilen glikol (DEG) merupakan bahan kimia industri cair yang berbahaya untuk dikonsumsi karena kurangnya data ilmiah keamanan dan tingginya kasus keracunan yang terjadi. DEG digunakan sebagai bahan dehidrogenasi gas alam, produksi poliuretan, resin poliester tak jenuh dan lainnya. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh teratogen pemberian DEG terhadap fetus mencit. DEG diberikan pada 20 ekor mencit yang dibagi menjadi empat kelompok selama masa organogenesis yakni hari ke 6-15 kehamilan. DEG diberikan pada tiga kelompok perlakuan dengan dosis 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb yang diencerkan dengan aquadest. Pengaruh teratogen yang diamati yakni perbedaan berat badan induk, berat badan fetus, jumlah fetus yang dianalisis menggunakan ANOVA satu arah serta kelainan morfologi dan skeletal yang dianalisis secara deskriptif. Fetus difiksasi dengan menggunakan larutan bouins dan larutan alizarin merah. Berdasarkan hasil penelitian terdapat perbedaan bermakna pada berat badan induk mencit yang diberikan DEG dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Tidak terdapat perbedaan bermakna pada berat badan dan jumlah fetus kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Pada hasil fiksasi larutan bouins didapatkan cacat berupa hemoragi, tapak resorpsi dan lambat pertumbuhan, namun tidak terdapatnya cacat pada celah langit-langit mulut. Sedangkan pada hasil fiksasi larutan alizarin merah didapatkan cacat pada tulang sternum, nasal, caudal, metacarpal, metatarsal dan phalang. Berdasarkan penelitian disimpulkan bahwa DEG berpotensi memberikan efek teratogen pada fetus mencit.

Kata kunci : dietilen glikol, teratogen, morfologi, skeletal

ABSTRACT

THE TERATOGENIC EFFECT OF DIETHYLENE GLYCOL ON FETUS MORPHOLOGY OF WHITE MICE

(*Mus musculus* L.)

BY :

JOYCE ARTHA ROSLINA SIREGAR

ID : 1911012027

(Bachelor Of Pharmacy)

Diethylene glycol (DEG) is an industrial chemical synthesis which is dangerous for humans to consume due to safety scientific data and the large number of poisoning cases. DEG is used as a natural gas dehydrogenation agent, production of polyurethanes, unsaturated polyester resins and others. The aim of the study was to determine the teratogenic effect of DEG administration on mice fetuses. DEG was given to 20 mice which were divided into four groups during the organogenesis period, day 6-15 of pregnancy. DEG was given to three treatment groups at a dose of 1662.5; 3325; and 6650 mg/kg which was diluted with distilled water. The teratogenic effect observed were differences in maternal body weight, fetal body weight, number of fetuses which were analyzed using one-way ANOVA as well as morphological and skeletal abnormalities which were analyzed descriptively. The fetus was fixed using Bouin's solution and Alizarin red solution. Based on the research, there was a significant difference in the body weight of the mice given DEG and the control group ($p < 0.05$). There was no significant difference in body weight and the number of fetuses in the control group and the treatment group ($p > 0.05$). On the results of fixation of Bouin's solution, defects in the form of hemorrhage, resorption sites and slow growth were found, and there were no defects in the cleft palate. The results of fixation of Alizarin red solution found defects in the sternal, nasal, caudal, metacarpal, metatarsal and phalangeal bones. For the conclusion, DEG has the potential teratogenic effect on the mice fetuses.

Keyword : diethylene glycol, teratogen, morphology, skeletal

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	i
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
PERTAHANAN HASIL	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
a. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
b. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Teratologi	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Sejarah	5
2.1.3 Prinsip Umum Teratologi	7
2.1.4 Mekanisme Paparan Teratogen	11
2.1.5 Faktor Teratogen	12
2.1.6 Uji Teratogenik	14
2.2 Hewan Uji	14
2.2.1 Kedudukan Taksonomi	15
2.2.2 Daur Estrus	16
2.2.3 Gestasi Mencit	18
2.2.4 Jumlah Anak yang dilahirkan	18
2.3 Dietilen Glikol	20
2.3.1 Spesifikasi Kimia dan Fisika Dietilen Glikol	20
2.3.2 LD 50 Dietilen Glikol	21

2.3.3 Kegunaan Dietilen Glikol	21
2.3.4 Epidimiologi	22
2.3.5 Toksikologi Dietilen Glikol	24
2.3.6 Manajemen Klinis Dietilen Glikol	28
c. METODE PENELITIAN	30
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	30
3.1 Alat ,Bahan dan Hewan Percobaan	30
3.2.1 Alat	30
3.2.2 Bahan	30
3.2.3 Hewan uji	30
3.3 Prosedur Kerja	30
3.3.1 Persiapan Hewan Uji	30
3.3.2 Pengawinan Hewan Percobaan	31
3.3.3 Perencanaan dosis	31
3.3.4 Persiapan Sediaan Uji	31
3.3.5 Pemberian Sediaan Uji	31
3.3.6 Pengamatan Selama Pemberian Sediaan Uji	32
3.3.7 Laparaktomi	32
3.3.8 Fiksasi dan Pengamatan Morfologi	33
3.4 Analisis Data	33
d. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Pengaruh Pemberian Dietilen Glikol terhadap Berat Badan Induk, Berat Badan Fetus, dan Jumlah Fetus Mencit	36
4.2 Pengaruh Pemberian Dietilen Glikol terhadap Morfologi dan Skeletal Fetus Mencit	40
e. KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
Daftar Pustaka	53
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Pengelompokan hewan uji	32
Tabel 4. 1 Pengaruh Pemberian Dietilen Glikol terhadap Berat Badan Induk, Berat Badan Fetus, dan Jumlah Fetus Mencit	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daur fasea estrus (14).	17
Gambar 2. 2 Struktur Dietilen Glikol (6).	20
Gambar 2. 3 Jalur metabolisme dietilen glikol oleh alcohol oksidasi dehidrogenase untuk membentuk 2-hidroksietoksiasetaldehida diikuti oleh oksidasi aldehid dehidrogenase untuk membentuk 2- asam hidroksietoksiasetat (19).	26
Gambar 4. 1 Grafik rata-rata berat badan induk	37
Gambar 4. 2 Grafik rata-rata berat badan fetus	38
Gambar 4. 3 Grafik rata-rata jumlah fetus	40
Gambar 4. 4 (A)Uterus mengecil yang berisi tapak resorpsi, (B)Tapak resorpsi, (C)Tapak resorpsi yang telah difikasi dengan bouins dibandingkan dengan kontrol	41
Gambar 4. 5 Penampakan fetus yang mengalami lambat pertumbuhan	42
Gambar 4. 6 (A) Uterus kelompok kontrol (B)Uterus kelompok 1662,5 mg/kgBB dengan hipertropi, (C)Uterus kelompok 3325 mg/kgBB dengan hipertropi, (D)Uterus kelompok 6650 mg/kgBB dengan hipertropi	43
Gambar 4. 7 (A)Hemoragi pada dosis 1662,5 mg/kgbb (B)Hemoragi pada dosis 3325 mg/kgbb (C)Hemoragi pada dosis 6650 mg/kgbb	44
Gambar 4. 8 Penampakan cleft palate normal	44
Gambar 4. 9 (A) Sternebae (B)Tengkorak dan anggota gerak (C)Anggota gerak atas dan bawah (D)Tulang vertebral	45
Gambar 4. 10 Kecacatan skeletal pada tulang sternum (A) kelompok kontrol, (B) kelompok 1662,5 mg/kgbb (C) kelompok 3325 mg/kgbb (D) kelompok 6650 mg/kgbb	46
Gambar 4. 11 Kecacatan skeletal pada tulang nasal (A)Nasal kelompok kontrol (B)Nasal kelompok 1662,5 mg/kgbb (C)Nasal kelompok 3325 mg/kgbb (D)Nasal kelompok 6650 mg/kgBB	47
Gambar 4. 12 Kecacatan skeletal pada tulang belakang (A)Caudal pada kelompok kontrol (B)Caudal kelompok 1662,5 mg/kgbb (C)Caudal kelompok 3325 mg/kgbb (D)Caudal kelompok 6650 mg/kgbb	48
Gambar 4. 13 (A)Kelompok kontrol (B)Kelompok 1662,5 mg/kgbb (C)Kelompok 3325 mg/kgbb (D)Kelompok 6650 mg/kgbb	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Penelitian	56
Lampiran 1a. Perhitungan dosis	56
Lampiran 1b. Penimbangan berat badan induk mencit	57
Lampiran 1c. Jumlah fetus mencit	60
Lampiran 1d. Berat badan fetus mencit	61
Lampiran 1e. Kelainan morfologi dan skeletal	64
Lampiran 2. Perhitungan dan hasil uji statistic	67
Lampiran 2a. Data hasil SPSS	67
Lampiran 3. Data penunjang	70
Lampiran 3a. Sertifikat etik	70
Lampiran 3b. <i>Technical Data Sheet</i> Dietilen Glikol	71
Lampiran 3c. Skema kerja	72



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Nama	Penggunaan Pertama Kali pada Halaman
DEG	Dietilen Glikol	i
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>	v
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>	1
FDA	Food and Drug Administration	1
BPOM	Badan Pengawaas Obat dan Makanan	2
TDI	<i>Tolerable Daily Intake</i>	2
DGA	<i>Diglycolic acid</i>	2
HEAA	<i>2-hydroxyethoxyacetic acid</i>	2
pH	<i>Potential of Hydrogen</i>	3
AS	Amerika Serikat	6
DNA	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>	12
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	20
LD50	<i>Lethal Dose 50</i>	21
EG	<i>Etilen Glikol</i>	21
NAD	<i>Nicotinamide dinucleotide</i>	25
ADH	<i>Alcoholdehidrogenase</i>	25
ALDH	<i>Aldehyd dehidro genase</i>	25
Cmax	<i>Maximum concentration</i>	27
WHO	<i>World Health Organization</i>	30
3R	<i>Replacement, reduction, refinement</i>	35
5F	<i>Replacement, reduction, refinement) dan 5 F (freedom from hunger or thirst, discomfort, pain Injury, freedom to express, and fear or distress</i>	35
N	Nasal	47
Pre-M	Premaxilla	47
Mn	Mandibular	47
F	Frontal	47
P	Parietal	47
Ip	Intraparietal	47
Eo	Exooccipital	47
So	Supraoccipital	47
Cv	Cervical	46
Tv	Thoracic	46
Lv	Lumbar	46
Sv	Sacral	46
Cv	Caudal	46
St	Sternum	46
Ri	Rusuk	46
Ca	Kalsium	50

P	Fosfor	50
\bar{X}	Rata-rata	58
SD	Standar deviasi	58



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dietilen glikol (DEG; nomor CAS 111-46-6) adalah bahan kimia industri cair dengan kegunaan seperti dehidrogenasi gas alam, produksi poliuretan dan resin poliester tak jenuh, pelarut minyak bumi, humektan, bahan utama pada peledak dan beberapa formulasi pendinginan. Dietilen glikol ditemukan pertama kali pada tahun 1869. Dietilen glikol terbukti menjadi pelarut yang sangat baik dan digunakan sebagai pengganti gliserin. Namun, karena kurangnya data ilmiah yang membuktikan keamanannya bila diberikan secara oral dan jumlah kasus keracunan yang telah terjadi, maka dietilen glikol tidak diizinkan untuk digunakan dalam makanan. Dietilen glikol termasuk dalam daftar bahan kosmetik yang berfungsi sebagai pelarut, pengubah viskositas dan masker/pewangi (1).

Bencana eliksir sulfanilamid tahun 1937 merupakan salah satu bencana keracunan terbesar yang pernah terjadi pada abad ke-20. Tragedi ini terjadi beberapa tahun setelah diperkenalkannya sulfanilamid sebagai obat antimikroba golongan sulfa pertama. Pada sediaan ini digunakan dietilen glikol 72% sebagai pelarut dalam formulasi eliksir sulfanilamid (2). Pada tahun 1937, pasien sebanyak 353 orang menerima eliksir sulfanilamid selama 4 minggu yang menyebabkan terjadinya 105 kematian (34 anak-anak dan 71 orang dewasa) dan 248 orang selamat. Obat ini diberikan atas arahan dokter pada 100 orang pasien dari 105 orang pasien yang meninggal. Indikasi penggunaan obat ini adalah gonore, sakit tenggorokan, infeksi telinga, infeksi jaringan lunak dan sipilis. Sulfanilamid bertanggungjawab atas kematian lebih dari 100 orang di 15 negara bagian yang menyebabkan berlakunya Undang-Undang Makanan, Obat-obatan, dan Kosmetik tahun 1938, yang meningkatkan otoritas Food and Drug Administration (FDA) untuk mengatur obat-obatan (1).

Akhir-akhir ini kasus keracunan kembali terjadi akibat cemaran etilen glikol dan dietilen glikol yang ada pada obat sirup anak. Kasus ini menyerang sekelompok anak usia 6 bulan sampai 18 tahun dan telah terjadi peningkatan kasus terutama dalam dua bulan terakhir. Pada Oktober 2022 telah dilaporkan 189 kasus dan

ditemukan bahwa kasus ini didominasi oleh usia 1-5 tahun . Diperkirakan kasus keracunan ini disebabkan oleh cemaran etilen glikol dan dietilen glikol yang ditemukan pada pelarut campur. Sediaan sirup yang diduga mengandung cemaran etilen glikol dan dietilen glikol kemungkinan berasal dari empat bahan tambahan yaitu propilen glikol, polietilen glikol, sorbitol, dan gliserin/gliserol, yang bukan merupakan bahan yang berbahaya atau dilarang digunakan dalam pembuatan sediaan sirup. Menurut BPOM, standar baku nasional yang diakui untuk ambang batas aman atau *Tolerable Daily Intake* (TDI) cemaran etilen glikol dan dietilen glikol sebesar 0,5 mg/kg berat badan per hari (3).

Selama kehamilan, ibu hamil dapat mengalami berbagai keluhan dan gangguan kesehatan yang memerlukan obat untuk mengatasinya. Dampak penggunaan obat-obatan pada wanita hamil sangat bervariasi. Hal ini tergantung jenis obat dan usia kehamilan pada saat obat tersebut dikonsumsi. Wanita hamil yang mengkonsumsi obat-obatan yang mengandung senyawa teratogenik dapat menyebabkan terjadinya abortus pada kehamilan muda, atau menyebabkan cacat lahir apabila dikonsumsi selama masa organogenesis. Mengkonsumsi obat yang mengandung senyawa teratogenik pada masa fetus atau beberapa minggu sebelum persalinan cenderung memiliki dampak yang mempengaruhi fungsi organ-organ tertentu atau sistem tertentu (4).

Secara umum penggunaan obat selama periode organogenesis dapat memberi dampak secara langsung kepada bayi karena beberapa obat dapat menembus plasenta. Perpindahan obat lewat plasenta umumnya berlangsung secara difusi sederhana sehingga konsentrasi obat di darah ibu serta aliran darah plasenta akan sangat menentukan perpindahan obat lewat plasenta. Sifat obat yang dapat menembus plasenta adalah obat yang larut dalam lemak yang akan membuat obat berdifusi dengan mudah melewati plasenta masuk ke sirkulasi janin, obat yang tidak terionisasi, obat yang tidak terikat protein dan obat dengan ukuran molekul <500 Dalton (5).

Pada penelitian sebelumnya, ditemukan bahwa *diglycolic acid* (DGA) terakumulasi oleh ginjal setelah pemberian dietilen glikol, dimana terdapat konsentrasi DGA dan *2-hydroxyethoxyacetic acid* (HEAA) di jaringan ginjal pada

saat toksisitas ginjal terjadi . HEAA ditemukan dalam konsentrasi yang lebih tinggi dari DGA pada darah, dimana HEAA ini merupakan metabolit yang bertanggung jawab untuk asidosis metabolik (6). DGA dan HEAA diduga sebagai metabolit utama penyebab kerusakan ginjal yang ditimbulkan oleh dietilen glikol . Pada studi teratologi diduga DGA merupakan teratogen untuk dietilen glikol, dan asidosis metabolik karena dapat meningkatkan efek teratogenik dengan meningkatkan gradien pH induk dan meningkatkannya dosis asam glikolat untuk janin (7).

Dalam bidang teratologi ,informasi tentang potensi toksisitas perkembangan dietilen glikol tidak seluas dan sedetail untuk etilen glikol. Mengingat hal ini, dan keterbatasan pada penelitian lain dengan dietilen glikol, efek teratologi dietilen glikol diselidiki dengan uji in vivo pada mencit dengan dosis oral. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh teratogen dari pemberian dietilen glikol terhadap morfologi dan skeletal fetus mencit putih. Pengamatan dilakukan dengan melihat efek samping dari penggunaan dietilen glikol pada morfologi fetus mencit putih .

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian dietilen glikol terhadap berat badan induk, berat badan fetus, dan jumlah fetus mencit?
2. Bagaimana pengaruh pemberian dietilen glikol terhadap kecacatan morfologi dan skeletal fetus selama periode organogenesis?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh pemberian dietilen glikol terhadap berat badan induk, berat badan fetus, dan jumlah fetus.
2. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh pemberian dietilen glikol terhadap kecacatan morfologi dan skeletal serta dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.4 Hipotesis

1. Terdapat perubahan signifikan pada berat badan induk , berat badan fetus dan jumlah fetus yang diberi dietilen glikol.
2. Terdapat kecacatan morfologi dan skeletal pada fetus yang diberi dietilen glikol.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk bidang pengembangan ilmu pengetahuan teratologi.

2. Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada peneliti terkait efek teratogen dietilen glikol selama masa organogenesis pada fetus mencit .

3. Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat terkait efek teratogen dietilen glikol yang dapat dikonsumsi baik secara sengaja maupun tidak disengaja selama masa kehamilan.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teratologi

2.1.1 Definisi

Teratologi adalah cabang ilmu yang membahas terkait perkembangan abnormal dan cacat lahir. Teratologi adalah ilmu tentang cacat yang terjadi selama perkembangan antara konsepsi dan kelahiran. Teratogenesis adalah proses perkembangan embrio yang abnormal akibat aksi zat atau agen lingkungan (8). Teratogenik adalah istilah medis yang digunakan untuk menjelaskan perkembangan abnormal dari sel selama kehamilan yang menyebabkan kerusakan pada embrio. Teratogen adalah obat atau zat yang menyebabkan pertumbuhan janin yang tidak normal. Teratogenesis adalah asal mula terjadinya gangguan proses pertumbuhan yang mengakibatkan kecacatan. Teratogenitas adalah kemampuan zat eksogen yang bersifat teratogen dalam menimbulkan malformasi kongenital yang tampak jelas saat lahir bila diberikan selama kehamilan. Cacat adalah ketidakmampuan untuk melakukan suatu aktivitas yang disebabkan oleh karena kondisi kecacatan atau hilangnya struktur fungsi psikologis atau anatomis (4).

Kelainan yang terjadi pada bayi ini, dapat berupa kelainan pembentukan bagian tubuh tertentu, kelainan bawaan pada kimia tubuh atau kelainan metabolisme tubuh yaitu berupa hilangnya enzim atau tidak sempurnanya pembentukan enzim (4). Penyebab perkembangan abnormal dapat berupa: radiasi pengion (paparan radiasi), agen kimia yaitu obat-obatan, bahan kimia industri, infeksi virus, pestisida, diet tidak seimbang, pengawet dan suplemen makanan, syok fisik, insufisiensi plasenta. Bentuk embriotoksik ditentukan oleh dosis, jenis komposisi dan durasi penggunaan selama kehamilan. Selain senyawa kimia, cacat disebabkan oleh radiasi kimia, malnutrisi, infeksi virus, hipervitaminosis dan keturunan (8).

2.1.2 Sejarah

Sebagai cabang ilmu modern, teratologi muncul untuk mempelajari lebih lanjut mengenai gejala-gejala teratogenesis. Teratologi mulai populer pada tahun 1960 oleh Dr. David W. Smith dari University of Washington Medical School. Sejak

ditemukannya berbagai kasus mengenai abnormalitas pada bentuk bayi yang lahir. Dari kejadian itu, ilmu teratologi terus berkembang sebagai suatu pemenuhan kebutuhan akan rasa ingin tahu manusia yang begitu besar (4).

Bukti tulisan tertua dari teratologi dan malformasi ditemukan pada catatan tanah liat di pinggir sungai Tigris. Catatan itu dinamai catatan Nineveh yang ditulis oleh Choleans, usianya sudah mendekati usia 4000 tahun. Catatan tersebut berisi 62 daftar malformasi yang merupakan penafsiran dari cacat lahir. Malformasi pada zaman itu digunakan untuk memprediksi beberapa kejadian di masa yang akan datang seperti masa depan raja, cuaca, panen tahunan (4).

Pada tahun 1930, teratologi dimulai sebagai ilmu modern yang mempelajari tentang malformasi akibat lingkungan, dengan publikasi dari percobaan babi hamil yang diberi makanan yang kurang vitamin A. Melalui percobaan ini diketahui bahwa mamalia tidak terlindungi seperti yang diketahui sebelumnya karena dihasilkannya kelainan pada perkembangan mamalia tersebut. Kelainan yang dihasilkan pada keturunannya menunjukkan bahwa perubahan lingkungan yang relatif sederhana dapat memiliki efek buruk pada embrio. Kerentanan embrio mamalia terhadap toksisitas dari agen xenobiotik ditunjukkan dalam serangkaian studi di eksperimental hewan dengan *kongener molecules* yang penting secara biologis, seperti asam amino meniru *azaserine* (9).

Pada awal tahun 1960-1970 terjadi suatu peristiwa teratogenik akibat pemberian obat anti mual muntah yang dapat mencegah aborsi yang ternyata dapat menyebabkan bayi betina lahir dengan genitalia eksterna maskulin. Hal inilah yang mendorong manusia untuk terus mengembangkan ilmu dan pengetahuannya untuk menguak lebih jauh mengenai keanehan tersebut (4).

Episode thalidomid pada awal 1960-an meningkatkan pemahaman kita tentang toksikologi perkembangan dengan memberikan contoh zat yang menghasilkan toksisitas minimal pada orang dewasa tetapi toksisitas tinggi pada janin. Embriotoksitas selektif seperti itu tetap menjadi faktor kunci dalam banyak penelitian yang mengevaluasi toksisitas obat yang digunakan selama kehamilan. Pada tahun 1960-an, badan pengatur, termasuk Badan Pengawas Obat dan Makanan AS, mengembangkan persyaratan bahwa obat harus diuji pada hewan sebelum

disetujui untuk dipasarkan. Studi obat harus menggunakan dosis yang cukup tinggi untuk menyebabkan toksisitas ibu untuk memberikan keyakinan bahwa dosis yang relevan secara biologis untuk spesies tersebut termasuk dalam protokol uji. Pemindahan hasil ini ke manusia pada awalnya ditanggapi dengan skeptis, karena efek samping obat yang dapat ditoleransi oleh manusia sering diamati pada hewan (9).

Solusi untuk kesulitan ekstrapolasi hasil dari hewan ke manusia adalah dengan mengakui bahwa disposisi ibu (metabolisme dan distribusi) memengaruhi efek obat pada janin. Thalidomid tidak diabsorpsi dengan baik bila diberikan secara oral pada tikus. Oleh karena itu, pemberian obat yang khas dalam studi teratologi oral tidak menghasilkan hasil yang signifikan dalam mencapai embrio. Ketika thalidomid dilarutkan dalam dimethylsulfoxide dan diberikan secara parenteral, kemampuannya mempengaruhi janin meningkat hampir sampai yang diamati pada kelinci, spesies yang sangat sensitif terhadap efek thalidomid. Studi toksisitas perkembangan modern pada hewan dilakukan dengan pemahaman tentang bagaimana setiap spesies memproses obat. Studi hewan saat ini digunakan untuk mengidentifikasi obat yang dapat menyebabkan cacat lahir pada manusia (9).

2.1.3 Prinsip Umum Teratologi

Meskipun paparan teratogenik hanya bertanggung jawab atas persentase kecil dari semua cacat lahir, ada sekitar 3 juta orang di Amerika Serikat saat ini hidup dengan konsekuensi cacat perkembangan disebabkan oleh paparan teratogen dalam rahim. Penting untuk diingat bahwa hampir semua kelahiran yang diinduksi teratogen cacat dapat dicegah, jika kita memahami 6 prinsip dasar teratologi.:

- a. Kepekaan terhadap teratogenesis tergantung pada genotip dari konseptus dan cara konseptus berinteraksi dengan lingkungannya, keadaan patologis, dan fisiologis ibu (4).

Untuk mengetahui efek yang terjadi dari paparan teratogen terhadap manusia, ada 2 hal penting yang menentukan, yakni: variabel fenotip yang dihasilkan pada bayi yang terpapar dan terpengaruh dan yang tidak terpapar dan terpengaruh (variasi kerentanan). Fenotipe variabel merupakan kisaran ekspresi pada bayi yang terkena teratogen sangat luas. Selama 3 dekade terakhir, bukti yang

cukup telah terakumulasi dalam literatur klinis yang menunjukkan bahwa kebanyakan teratogen menyebabkan pola malformasi yang khas, yang dapat bervariasi di antara individu yang terkena. Hanya sebagian kecil bayi yang terpapar teratogen yang diketahui atau dicurigai teratogen menampilkan efek samping. Tidak diketahui jelas mengapa beberapa janin berada pada peningkatan risiko, tetapi secara luas diyakini bahwa kerentanan genetik yang diwarisi beberapa gen yang berinteraksi dengan agen teratogenik, mengubah jalur morfogenetik normal dan mengakibatkan cacat lahir. Karena relatif sedikit bayi yang lahir dengan cacat lahir meskipun berbagai paparan dalam rahim, seringkali sulit bagi dokter dan keluarga untuk percaya bahwa senyawa tertentu memiliki potensi teratogenik (9).

- b. Kepekaan suatu agen teratogenik tergantung pada stadium perkembangan pada saat pemberian agen tersebut (4).

Stadium perkembangan merupakan prinsip biologis dasar bahwa organisme berkembang lebih sensitif terhadap perubahan daripada matang sepenuhnya organisme yang dikembangkan. Hal ini menjelaskan bahwa kerentanan yang meningkat meluas ke seluruh rentang perkembangan embrio, meskipun tidak harus pada perkembangan yang konstan. Dalam menghubungkan prinsip ini dengan pertumbuhan yang terjadi pada manusia, penting untuk meninjau secara singkat bagaimana embriologi manusia. Setelah pembuahan, sesaat sebelum implantasi, terdapat periode dimana zigot membelah namun tidak tumbuh lebih besar yang disebut periode pra-implantasi. Semua sel dalam embrio pada kondisi ini bersifat totipotensial. Sifat totipotensi adalah kondisi dimana semua sel memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi jaringan apa pun, jadi hilangnya sel-sel tertentu tidak akan menyebabkan cacat tertentu (9).

Paparan janin yang sedang berkembang terhadap teratogen pada berbagai tahap kehamilan menghasilkan hasil yang berbeda pula sesuai dengan pola malformasi. Selama periode pra-implantasi, efek kecacatan teratogenik dapat menyebabkan efek keseluruhan, sebagian atau tidak sama sekali: paparan yang cukup untuk mematikan embrio (yang kemudian hilang sebelum pernah dikenali) atau embrio yang dapat bertahan, implan, dan hasil normal (jika tidak tertunda)

perkembangan struktural. Organogenesis merupakan periode puncak kepekaan terhadap agen teratogenik (9).

- c. Agen teratogenik bereaksi dengan cara khusus, yaitu pada sel dan jaringan yang sedang berkembang untuk menghasilkan embrio yang abnormal (4).

Istilah mekanisme mengacu pada awal, dan seringkali yang pertama dari rangkaian peristiwa yang mengintervensi hubungan sebab dan akibat. Hari pertama biasanya menyimpan banyak rangkaian yang penting, bukan hanya karena penghubung antara sebab dan perubahan fisiologi tetapi karena teratogen sangat mungkin mempengaruhi sifat dari perubahan terakhir ini. Beberapa mekanisme untuk agen teratogenik yaitu apoptosis berlebihan, mengurangi apoptosis, mengurangi biosintesis, gerakan morfogenetik yang terhambat, gangguan mekanis jaringan (9).

- d. Manifestasi akhir yang dari perkembangan abnormal adalah kematian, malformasi, keterlambatan pertumbuhan dan fungsi (4).

Konsekuensi potensial dari perkembangan abnormal tidak sama probabilitasnya dengan yang terjadi dan kemungkinan besar berhubungan terkait dengan waktu paparan relatif terhadap janin perkembangan. Meskipun salah satu, atau bahkan semua, dari hasil ini dapat terjadi jika agen teratogen embrio dalam jumlah yang cukup diinduksikan pada saat periode sensitivitas tinggi, sehingga manifestasi tertentu lebih mungkin terjadi pada tahap tertentu. Seperti yang dijelaskan sebelumnya, pra-implantasi embrio terhadap malformasi. Apabila dosis dari kekuatan cukup, maka embrio akan mati sebelum kehamilan diakui. Setelah organogenesis dimulai, malformasi organ atau sistem tertentu akan mencerminkan kepekaan serta kerentanan khusus dan kebutuhan jaringan yang berdiferensiasi dan tumbuh dengan cepat. Ini merupakan elevasi umum dalam sensitivitas selama organogenesis juga membuat embrio rentan terhadap kematian. Fungsional defisit biasanya tidak diharapkan terjadi paparan teratogenik selama organogenesis (9)

Teratogenitas selama periode histogenesis dan pematangan fungsional selama periode janin diperkirakan akan mengakibatkan cacat struktural pada tingkat jaringan, kehilangan fungsional, atau keduanya. Selain itu, nekrosis sel umum, pada

tingkat yang lebih rendah dari yang diperlukan untuk menyebabkan kematian, bisa memperlambat pertumbuhan secara keseluruhan proporsional dengan waktu yang dibutuhkan untuk mengganti kembali yang hilang sel. Oleh karena itu, keterlambatan pertumbuhan dapat terjadi karena paparan teratogen terhadap janin yang terlambat terhadap teratogen. Meskipun ketiga manifestasi teratogenesis ini tampaknya berbeda namun mereka mungkin saling terkait untuk derajat yang berbeda-beda. Kematian dapat terjadi dengan atau sebagai akibat yang parah akibat malformasi, retardasi pertumbuhan, atau generalisasi penguraian fungsi esensial (9).

- e. Pengaruh lingkungan yang merugikan pada jaringan yang berkembang tergantung pada agen teratogenik (4).

Tidak semua teratogen mencapai targetnya (embrio) dengan cara yang sama. Agen fisik seperti sinar-x, gelombang mikro, dan ultrasound dapat melewati tanpa perubahan ibu ke dalam rahim dan memiliki akses langsung ke janin. Agen yang dikonsumsi oleh ibu, seperti obat-obatan yang memiliki akses sekunder ke janin. Akibatnya, bahan kimia atau obat-obatan biasanya mencapai janin dalam sebagian kecilnya konsentrasi dalam serum ibu. Faktor penting untuk dipertimbangkan dalam menentukan apakah agen dapat sampai ke janin yaitu dosis ibu, rute masuk, sifat fisik (padat, cair, atau gas), dan tingkat penyerapan ke dalam sirkulasi sistemik. Transfer plasenta juga merupakan faktor penting. Plasenta bukanlah penghalang mutlak, karena hampir semuanya molekul kecil yang tidak terikat dalam plasma ibu memiliki akses ke konseptus melintasi plasenta. Molekul dengan berat molekul kurang dari 600 dalton dan ionik rendah muatan melintasi plasenta dengan difusi sederhana. Dosis total suatu zat kimia yang mencapai konseptus merupakan hasil interaksi banyak zat variabel (misalnya, kapasitas fungsional ibu, kimia sifat senyawa, dan transportasi plasenta) (9).

- f. Kelainan perkembangan meningkat seiring dengan meningkatnya dosis, dari tak berefek sampai ke level kematian (4).

Ada hubungan antara dosis dan respons untuk teratogen serta aktivitas teratogenik yang ada untuk obat-obatan dan efek terapeutik. Penting untuk mempertimbangkan prinsip ini sebagai itu berkaitan dengan ambang batas untuk

berbagai efek toksikologi. Dalam regulasi terkait yang mencoba mendefinisikan keamanan obat atau produk pada tingkat tanpa efek atau ambang batas untuk efek samping yang tidak diinginkan dianggap sebagai patokan kritis. Jika dosis tertentu menghasilkan efek samping yang tidak diinginkan, peningkatan atau penurunan dosis harus meningkatkan atau menurunkan kejadian dan risiko hasil yang merugikan. Dalam studi tipikal yang menyelidiki teratogenisitas, di mana kematian dan malformasi adalah titik akhir untuk merugikan efek, tingkat tanpa efek biasanya ditemukan ketika kisaran dosis yang sesuai telah digunakan (9).

2.1.4 Mekanisme Paparan Teratogen

Mekanisme kerja paparan teratogen dibedakan menjadi tiga, yaitu :

- a. Mekanisme kerja teratogen dalam tubuh maternal tubuh ibu. Potensi kecacatan pada masa kehamilan sangat rentan terjadi pada masa perkembangan fase blastogenesis. Fase blastogenesis merupakan proses utama dalam pembelahan sel, oleh karena itu zat teratogen dapat menyebabkan kematian dan malformasi organ pada embrio dengan cara menghambat proses pembelahan sel (8).
- b. Mekanisme kerja teratogen dalam plasenta. Plasenta bertindak sebagai tempat metabolisme yang dapat dilewati beberapa obat melalui beberapa jenis reaksi oksidasi senyawa aromatik seperti hidroksilasi, dealkilasi, dan demetilasi dapat berlangsung di plasenta yang dapat menyebabkan terbentuknya metabolit yang toksik, sehingga plasenta dapat meningkatkan toksisitas obat. Selain itu, obat-obat yang melewati plasenta akan masuk ke dalam sirkulasi janin melalui vena umbilikalis. Sekitar 40-60% darah vena umbilikalis akan masuk ke hati janin. Oleh sebab itu, penggunaan obat pada wanita hamil harus diperhatikan, karena didalam plasenta obat mengalami biotransformasi sehingga menimbulkan efek teratogenik (8).
- c. Mekanisme kerja teratogen dalam embrio. Dasar perkembangan abnormal dalam tubuh embrio diantaranya malformasi, pertumbuhan terhambat, gangguan fungsional, dan kematian. Hal ini dapat disebabkan oleh biosintesis protein berkurang karena agen kimia yang menghambat sintesis protein bekerja sebagai teratogen sehingga mengakibatkan kematian sel (8).

2.1.5 Faktor Teratogen

Teratogen merupakan penyebab teratogenesis. Faktor yang menyebabkan teratogen ada dua kelompok, yaitu : faktor genetik yang disebabkan oleh mutasi dan aberasi, dan faktor lingkungan.

Faktor genetik disebabkan oleh :

- a. Mutasi merupakan perubahan susunan pada nukleotida gen (DNA). Mutasi dapat menimbulkan alel cacat yang mungkin dominan, kodominan, maupun resesif. Terdapat alel cacat rangkai kelamin yang artinya alel diturunkan bersama-sama dengan karakter jenis kelamin. Contoh cacat karena mutasi adalah *polydactyly*, *syndactyly*, *hemophilia*, *muscular dystrophy* dan *albino* (4).
- b. Aberasi merupakan perubahan susunan pada kromosom. Ada perubahan pada ploidi : yakni dari diploid menjadi triploid, tetraploid, dan seterusnya. Pada manusia tak dikenal susunan kromosom ganda seperti ini. Ada pula perubahan pada jumlah salah satu kromosom, seperti $2N$ menjadi $2N-1$, $2N+1$, $2N-2$, $2N+2$ dan seterusnya. Contoh cacat karena aberasi adalah berbagai macam penyakit turunan sindroma pada manusia seperti sindrom *down*, *turner*, *patau*, *Klinefelter*, dan *Edward* (4).

Faktor lingkungan dapat disebabkan oleh :

- a. Infeksi

Janin induk yang mengalami cacat dapat diduga terjadi karena penyakit infeksi, terutama oleh virus. Contoh: cacar, cacar air, campak. Bentuk infeksi yang terkenal dari penyakit infeksi virus adalah campak jerman, oleh Rubella. Virus ini memberikan pengaruh pada mata, jantung, telinga dan langit-langit embrio, sehingga infeksi ini dikenal dengan istilah *sindroma Rubella*: bular mata, kelainan jantung, dan tuli waktu lahir.

- b. Obat

Berbagai macam obat yang diminum ibu waktu hamil dapat menimbulkan cacat pada janinnya. Contoh obat tersebut adalah:

- Aminopetrin, antagonis terhadap asam folat, dipakai untuk menggugurkan janin, tetapi jika gagal dapat bersifat teratogen.

- Thalidomide, untuk obat penenang dan pusing. Jika ibu meminumnya Ketika hamil muda, maka janinnya berpotensi memiliki anggota gerak buntung.

c. Radiasi

Ibu hamil yang diradiasi sinar-X (untuk terapi/diagnose), ada yang melahirkan bayi cacat pada otak. Mineral radioaktif tanah sekeliling berhubungan erat dengan bayi lahir cacat di daerah bersangkutan.

d. Defisiensi

Ibu yang mengalami defisiensi vitamin atau hormon dapat menimbulkan cacat janin pada janin yang sedang dikandung, yaitu: defisiensi vitamin A dapat menyebabkan cacat pada mata dan defisiensi vitamin B,C,D dapat menyebabkan cacat pada tulang/rangka.

e. Emosi

Sumbing dan cacat langit-langit celah dapat terjadi pada masa minggu ke 7-10 dari kehamilan yang dapat disebabkan oleh emosi sang ibu. Emosi tersebut mungkin mempengaruhi lewat sistem hormon. Stress psikis sang ibu membuat *cortex adrenal* hiperaktif, sehingga penggetahan *hydrocortisone* tinggi. Hormon ini diketahui dari hasil ekspresimen pada mencit yang menginduksi terjadinya cacat langit-langit celah.

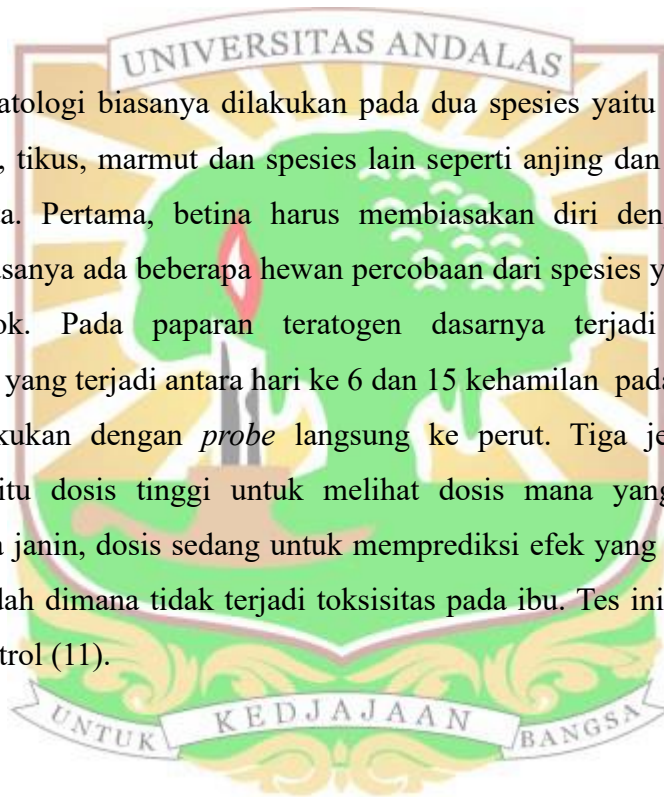
Terdapat beberapa contoh dari proses terbentuknya kecacatan yaitu :

- Gangguan pertumbuhan kuncup satu alat (agnesis).
- Agnesis atau terganggunya pertumbuhan suatu kuncup alat, menyebabkan adanya janin yang tidak berginjal, tidak memiliki anggota tubuh, tidak ada pigmen (albino), dsb.
- Terhentinya pertumbuhan.
- Terjadinya janin cacat seperti sumbing atau langit-langit bercelah, *duplex*, *dwarfisme*.
- Kelebihan pertumbuhan ,contohnya *gigantisme*, *polydactyly* dan hernia.
- Kesalahan arah diferensiasi yang menimbulkan tumor, achondroplasia, mongolisme, teratoma ,dll.

2.1.6 Uji Teratogenik

Uji teratogenik adalah suatu pengujian yang memberikan informasi terkait adanya ketidaknormalan fetus yang muncul akibat pemberian sediaan uji selama masa pembentukan organ fetus (periode organogenesis). Informasi tersebut meliputi kecacatan bagian luar fetus (morfologi), jaringan lunak serta kerangka fetus. Prinsip uji teratogenisitas adalah pemberian sediaan uji dalam beberapa variasi dosis terhadap beberapa kelompok hewan hamil selama paling sedikit masa organogenesis dari kebuntingan, satu dosis per kelompok. Satu hari sebelum waktu melahirkan induk dibedah, uterus diambil dan dilakukan evaluasi terhadap fetus (10).

Uji teratologi biasanya dilakukan pada dua spesies yaitu hewan pengerat seperti mencit, tikus, marmut dan spesies lain seperti anjing dan tak jarang pada hewan primata. Pertama, betina harus membiasakan diri dengan lingkungan percobaan, biasanya ada beberapa hewan percobaan dari spesies yang sama dalam satu kelompok. Pada paparan teratogen dasarnya terjadi selama tahap organogenesis yang terjadi antara hari ke 6 dan 15 kehamilan pada tikus. Paparan biasanya dilakukan dengan *probe* langsung ke perut. Tiga jenis dosis yang digunakan yaitu dosis tinggi untuk melihat dosis mana yang menyebabkan toksisitas pada janin, dosis sedang untuk memprediksi efek yang terjadi minimal, dan dosis rendah dimana tidak terjadi toksisitas pada ibu. Tes ini juga mencakup kelompok kontrol (11).



2.2 Hewan Uji

Mencit mempunyai ukuran dan berat badan yang lebih kecil daripada tikus. Dalam eksperimen laboratorium, hewan yang paling banyak digunakan adalah mencit dengan kisaran penggunaan antara 40–80%. Keunggulan mencit sebagai hewan uji di antaranya rentang hidup yang relatif pendek, jumlah keturunan yang banyak per kelahiran, variabilitas sifat yang tinggi, dan kemudahan penanganan. Mencit merupakan omnivora alami, sehat, kuat, prolifik (mampu beranak banyak), kecil, dan jinak. Selain itu, hewan ini mudah didapat dengan harga relatif murah dengan biaya ransum yang rendah. Mencit tidak terlalu agresif, tetapi kadang-

kadang bisa menggigit bila seseorang mencoba meraihnya atau menahannya. Mencit sering menunjukkan perilaku menggali dan bersarang, tingkah laku tersebut dilakukan untuk membantu mencit mempertahankan suhu tubuhnya (12).

2.2.1 Kedudukan Taksonomi

Mencit merupakan hewan yang termasuk dalam famili Muridae. Mencit liar atau mencit rumah merupakan spesies yang sama dengan mencit laboratorium. Semua galur mencit laboratorium yang digunakan sekarang merupakan keturunan dari mencit liar sesudah melalui pembiakan selektif. Mencit memiliki taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Class : Mamalia
Sub Class : Theria
Ordo : Rodentia
Sub Ordo : Myomorpha
Famili : Muridae
Sub Family : Murinae
Genus : Mus
Species : *Mus musculus* (13).



Dari klasifikasi mencit di atas dapat diuraikan beberapa ciri pokok dari mencit:

Mencit termasuk dalam filum chordate karena mempunyai chorda dorsalis, batang syaraf dorsal tunggal dan mempunyai celah insang pada masa embrionya yang tidak berfungsi sebagai alat pernapasan. Mencit diklasifikasikan dalam klassis mamalia. Seperti yang diketahui, mamalia merupakan kelompok hewan vertebrata yang menduduki tempat tertinggi dalam perkembangan hewan. Nama mamalia mengacu pada ciri utama anggota mamalia yaitu adanya kelenjar mammae atau

kelenjar air susu yang dapat menghasilkan air susu (pada betina) yang dapat diberikan ke keturunannya (13).

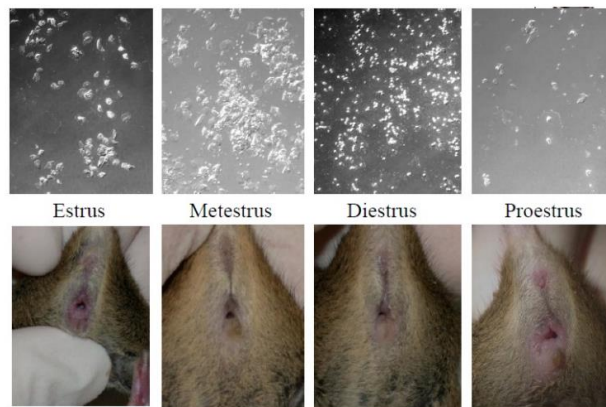
Selain adanya kelenjar mammae, semua spesies mamalia mempunyai rambut, namun terdapat perbedaan dalam hal distribusi, ukuran, fungsi, modifikasi dan kelebataannya. Selain ciri tersebut mencit juga merupakan hewan yang mempunyai kemampuan adaptasi homoiterm yaitu mempunyai kemampuan mempertahankan suhu tubuh (13).

Ciri lain mencit sebagai klasifikasi mamalia dan subkelas theria adalah, mempunyai daun telinga (pinna), gigi-gigi dijumpai ada hewan muda serta tua, tengkorak bersendi pada tulang atlas melalui dua condyles occipitalis, eritrosit tidak bernukleus, otak dengan 4 lobus opticus jumlah jari pada tiap 14 kaki tidak lebih dari 5, ginjal tipe metanephros dan bersifat vivipar (13).

Sebagai anggota ordo rodentia, mencit mempunyai ciri-ciri: jari-jari lima masing-masing bercakar, gigi seri pada rahang atas hanya sepasang membentuk seperti pahat dan tumbuh terus, tanpa taring, testes abdominal, plasenta tipe discoidal (13).

2.2.2 Daur Estrus

Mencit diketahui tidak mengalami menstruasi. Perubahan periodik berkala yang terjadi pada mencit dalam sekresi hormon kelamin selama masa periode tertentu dari siklus seksualnya disebut sebagai periode estrus. Siklus estrus merupakan jarak dari masa estrus ke masa estrus berikutnya. Secara fisiologis, proses siklus estrus terjadi di ovarium, tetapi juga bisa diamati secara mikroskopik pada histologi melalui apusan vagina (14).



Gambar 2. 1 Daur fasea estrus (14).

Daur Estrus terdiri dari urutan urutan fase berikut :

a. Fase Proestrus

Pada asupan vagina terdapat banyak sel epitel yang berinti dan sedikit leukosit. Fase ini berlangsung dalam kurun waktu sekitar 12 jam. Pada fase proestrus ini hewan betina masih belum siap untuk melakukan kopulasi dengan hewan jantan. Ciri fisiologis yang dapat diamati yaitu kondisi vagina mencit betina terbuka, berwarna merah dan basah/lembab seperti pada contoh gambar (2.3) . Fase proestrus pada mencit berlangsung selama kurang dari 24 jam (14).

b. Fase estrus

Tahap ini merupakan fase terpenting dalam daur estrus, dimana hewan betina akan mulai mau menerima hewan jantan untuk kopulasi. Fase ini berlangsung sekitar 12 jam dan pada asupan vagina akan ditemukan sel epitel bertanduk. Ciri fisiologis yang dapat diamati secara visual yaitu keadaan vagina yang mirip dengan proetrus, tetapi warnanya lebih merah, bukaan vagina yang melebar, dan sedikit basah/lembab seperti pada contoh gambar (2.3). Pada fase estrus proses pengawinan bertahan selama 12-48 jam (14).

c. Fase Metestrus

Fase metestrus adalah fase yang terjadi setelah fase estrus berakhir. Pada asupan vagian hewan betina melalui pengamatan mikroskopik akan ditemukan leukosit diantara sel epitel bertanduk. Fase ini berlangsung sekitar 6-12 jam. Pada fase ini, mencit betina akan kembali menolak hewan jantan untuk

berkopulasi. Ciri fisiologis yang dapat diamati yaitu vagina terbuka, berwarna pucat, dan tidak basah seperti pada contoh gambar (2.3). Pada fase metestrus sudah tidak diperbolehkan mengawini mencit dan berlangsung dalam 10-14 jam (14).

d. Fase Diestrus

Pada fase ini, apusan vagina pada penampakan mikroskopik hewan betina akan banyak ditemukan sel leukosit dan sel epitel berinti. Lama fase ini setengah dari daur estrus sekitar 48-57 jam. Ciri fisiologi yang diamati yaitu vagina sedikit terbuka, berwarna ungu kebiruan, dan lembab/basah seperti pada contoh gambar (2.3). Pada fase diestrus dapat berlangsung selama 60-70 jam (14).

2.2.3 Gestasi Mencit

Gestasi adalah proses awal perkembangan embrio, yang kemudian berkembang menjadi fetus, di dalam kandungan. Durasi masa gestasi atau masa kehamilan mencit umumnya berkisar pada rentang 19-22 hari. Masa gestasi tersebut dapat terjadi secara simultan dengan masa postpartum estrus dan laktasi. Laktasi dapat menunda implantasi dan menghambat gestasi, sehingga memperpanjang masa gestasi hingga 12-13 hari pada strain inbred tertentu. Strain yang berbeda memiliki rata-rata perbedaan masa gestasi. Dalam satu strain bahkan satu mencit betina dapat terjadi perbedaan yang signifikan periode gestasi satu ke periode berikutnya (13).

Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi lamanya masa gestasi pada mencit. Salah satu contoh, mencit yang memiliki genetik ukuran lebih besar akan cenderung melahirkan lebih awal, seperti yang terjadi pada manusia. Selain itu, *non inbred* mencit betina juga cenderung mempunyai waktu gestasi yang lebih pendek daripada *inbred*. Masa gestasi dapat memperpanjang periode laktasi pada keturunan setelahnya. Perpanjangan masa gestasi dapat berlangsung hingga 7 hari dan kelahiran dapat terjadi kembali hingga 16 hari kemudian (13).

2.2.4 Jumlah Anak yang dilahirkan

Jumlah fetus mencit dalam satu kelahiran merupakan total jumlah anak hidup dan mati dalam satu periode waktu kelahiran. Jumlah anak mencit dapat mencapai 6 hingga 15 ekor dalam satu kali melahirkan. Besar kecilnya jumlah anak

dalam satu kali masa lahir dipengaruhi oleh klasis ternak, umur induk, musim kelahiran, makanan, silang dalam dan kondisi lingkungan. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah mencit satu kali lahir adalah:

- a. Kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan kepada induk
- b. Jumlah sel telur yang dihasilkan
- c. Tingkat kematian embrio
- d. Musim kawin (13).

Kekurangan makanan yang memadai baik dari segi jumlah maupun kualitas yang diberikan kepada induk dapat menyebabkan kematian embrio, kelahiran bayi cacat, dan bahkan kematian. Kualitas dan kuantitas sperma pada induk jantan dapat dipengaruhi oleh faktor makanan yang tidak terpenuhi. Sementara itu, jumlah sel telur yang dihasilkan dan tingkat awal kematian embrio memiliki korelasi yang signifikan dengan jumlah bayi mencit yang lahir. Jumlah bayi mencit yang hidup hingga disapih adalah jumlah bayi mencit yang selamat hingga usia disapih. Jumlah anak mencit yang disapih dipengaruhi faktor-faktor:

- a. Umur induk
- b. Pemberian pakan
- c. Kondisi induk pada waktu dikawinkan
- d. Sistem perkawinan monogami atau poligami
- e. Kematian dalam kandang (13).

Sistem perkawinan monogami dan poligami pada mencit mempunyai pengaruh nyata terhadap jumlah anak waktu sapih. Sistem monogami adalah seekor jantan dicampur dengan seekor betina, sedangkan sistem poligami adalah seekor jantan dicampur dengan 2 hingga 6 ekor betina. Jumlah anak yang disapih meningkat jika sistem perkawinan poligami atau harem (13).

Bobot lahir mencit adalah bobot badan satu mencit saat dilahirkan. Bobot lahir mencit ditentukan oleh pertumbuhan fetus sebelum lahir atau pertumbuhan selama di dalam uterus. Pertumbuhan sebelum lahir dipengaruhi oleh faktor-faktor:

- a. Mutu genetik
- b. Umur

- c. Bobot badan induk yang melahirkan
- d. Pakan induk
- e. Suhu lingkungan selama kebuntingan
- f. Ukuran plasenta
- g. Tekanan iklim (13).

Ketika fetus mulai berkembang di dalam uterus, fetus memperoleh nutrisi dari induknya yang disalurkan melalui plasenta. Apabila kekurangan zat-zat makanan dari induk, maka bobot badan anak menciut pada waktu dilahirkan akan subnormal dan kekuatannya akan berkurang. Jika kekurangan nutrisi dari induk terjadi, maka berat badan bayi pada saat kelahiran akan rendah dan kekuatannya akan menurun. Kekurangan nutrisi seperti vitamin dan mineral dalam makanan induk selama kehamilan akan berdampak negatif pada kekuatan bayi, tetapi tidak terlalu berpengaruh pada berat badan bayi saat lahir. Bobot lahir yang ringan tidak mempunyai pengaruh terhadap bentuk dewasa bila zat-zat makanan yang diberikan cukup setelah dilahirkan (13).

2.3 Dietilen Glikol

2.3.1 Spesifikasi Kimia dan Fisika Dietilen Glikol



Gambar 2. 2 Struktur Dietilen Glikol (6).

Nama IUPAC	: 2,2'-Oxydi(ethan-1-ol).
Nama kimia	: 2,2'Oxybisethanol; Diglycol; Ethanol, 2,2'-Dihydroxyethyl ether; 2,2'-Dihydroxydiethyl ether; 2,2'-Oxyethanol; 3-Oxapenthamethylene-1,5-diol.
Nama dagang	: DEG, Caswell No. 338A, Deactivator E, Dicol, Digenos, Diglycol, Digol, Dihydroxydiethyl ether, Dissolvant APV.
Rumus empiris	: C ₄ H ₁₀ O ₃ .

Nomor CAS	: 111-46-6.
Berat molekul	: 106.12 g/mol.
Organoleptis	: cairan sirup tidak berwarna.
Kelarutan	: larut dengan air, alkohol, eter, aseton, etilen glikol; Tidak larut dalam benzena, toluena, karbon tetraklorida.
Bau	: praktis tidak berbau.
Rasa	: rasa manis yang tajam (15).

2.3.2 LD 50 Dietilen Glikol

LD 50 merupakan jumlah dosis efektif senyawa kimia yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi hewan uji yang terpapar dengan berbagai cara, dinyatakan dengan satuan g/kg berat badan. Semakin tinggi LD 50, semakin rendah toksisitas senyawa tersebut (16).

Pada tahun 1931, Von Oettingen dan Jiroucli menetapkan bahwa kematian minimum dosis DEG pada mencit adalah 5 ml/kg bb/hari dari larutan 50% yang diberikan secara subkutan. Seiring berjalannya waktu dan banyaknya penelitian yang dilakukan, maka didapatkan LD 50 dietilen glikol sebagai berikut :

- a. LD 50 tikus : 15,6 g/kg
- b. LD 50 mencit : 13,3 g/kg
- c. LD 50 kelinci : 26,9 g/kg
- d. LD 50 babi : 14,0 g/kg
- e. LD 50 kucing : 3,5 g/kg
- f. LD 50 anjing : 9,0 g/kg (1).

2.3.3 Kegunaan Dietilen Glikol

Dietilen glikol adalah pelarut yang umum digunakan dan bahan dalam berbagai produk komersial. Digunakan sebagai agen dehidrasi untuk pemrosesan gas alam; sebagai pelumas dan bahan finishing untuk tekstil; komponen dalam minyak rem, pelumas, formulasi antibeku, wallpaper dan in solusi kabut buatan; pelarut untuk tinta cetak dan tekstil pewarna; dan digunakan sebagai perantara

dalam produksi beberapa resin, trietilen glikol, surfaktan, dan dietilen glikol ester dan eter (17).

Dietilen glikol disiapkan secara komersial melalui pemanasan etilen oksida dan glikol membentuk dua molekul etilen glikol yang dihubungkan oleh ikatan eter. Diyakini dapat pecah menjadi dua molekul etilen glikol, diketahui bahwa dietilen glikol dimetabolisme menjadi metabolit yang berbeda-beda dari etilen glikol (18).

2.3.4 Epidemiologi

Keracunan karena dietilen glikol bukanlah kejadian umum. Sebagian besar kasus keracunan yang terdokumentasi menjadi epidemik di mana dietilen glikol diganti dalam sediaan farmasi untuk yang lebih mahal, tetapi hampir tidak beracun atau konstituen gliserin yang biasa digunakan. Epidemik ini sebagian besar terjadi di negara berkembang yang miskin, di mana seringkali tidak hanya terjadi prosedur kontrol kualitas di bawah standar tetapi juga terbatas akses ke perawatan medis intensif, dengan mortalitas yang tinggi (19).

Keracunan massal pertama dan paling terkenal adalah bencana sulfanilamid-Massengill di Amerika Serikat pada tahun 1937. Dietilen glikol (72%, v/v) digunakan sebagai pelarut dalam eliksir sulfanilamid. Tidak ada pengujian toksisitas yang dilakukan baik pada bahan atau produk jadi sebelum dipasarkan. Tak lama setelah didistribusikan ke seluruh Amerika Serikat, terutama di negara bagian selatan, melaporkan kerugian efek dan kematian dicatat. Secara total, 353 pasien menerima produk dengan 105 kematian: 34 anak-anak dan 71 dewasa. Bencana ini adalah pendorong untuk berlalunya 1938 Federal Food, Drug and Cosmetic Act di Amerika Serikat, yang mengharuskan produsen obat untuk menunjukkan dapat diterima keamanan sebelum memasarkan suatu produk (20).

Diikuti dengan obat penenang yang dijual bebas (pronap atau plaxim) di Cape Town, Afrika Selatan (1969), tujuh anak meninggal karena gagal ginjal. Investigasi selanjutnya melibatkan dietilen glikol, yang ternyata menggantikan propilen glikol. Pada tahun 1985, lima pasien dirawat di unit luka bakar di Spanyol terkena anuria gagal ginjal dan meninggal, meskipun itu hanya pengobatan suportif. Pada kasus ini semua pasien diobati dengan sulfadiazin topikal yang terkontaminasi

dengan 6,2-7,1 g/kg dietilen glikol. Meskipun dietilen glikol diserap dengan buruk melalui kulit, namun toksisitas sistemik terjadi karena kombinasi kulit yang rusak ini pasien, area luas yang dirawat, dan aplikasi produk yang berulang (19).

Dua puluh satu pasien (dari dua insiden terpisah) meninggal karena gagal ginjal di India, setelah pemberian gliserin industri (mengandung 18,5%, v/v, dietilen glikol) sebagai bagian dari pengobatan mereka. Pada musim panas 1990, 47 anak yang dirawat di rumah sakit pendidikan Universitas Jos di Nigeria kemudian meninggal karena gagal ginjal; semua telah diberikan sirup parasetamol (asetaminofen), terkontaminasi dengan dietilen glikol, yang menggantikan propilen glikol. Hal serupa Kontaminasi analgesik ini menyebabkan kematian 236 anak di Dhaka, Bangladesh, antara tahun 1990 dan 1992. Parasetamol yang terkontaminasi mengakibatkan 88 kematian yang dikonfirmasi bayi muda di Port-au-Prince, Haiti, pada tahun 1996. Gliserin tersubstitusi dietilen glikol di Haiti dipasok oleh distributor Belanda dari produsen di Cina meskipun titik kontaminasi tidak pernah ditentukan. Kontaminasi sirup propolis di Argentina pada tahun 1992 menyebabkan kematian 29 rakyat; sirup itu ditemukan mengandung antara 24 dan 66,5% dietilen glikol (19).

Kemudian kasus produksi obat batuk ekspektoran di Guragon, India (1998), 36 anak terkena gagal ginjal akut dan 33 meninggal meskipun telah diberi pengobatan dengan dialisis peritoneal dan perawatan suportif. Penyelidikan epidemiologi menemukan bahwa obat tersebut terkontaminasi dengan 17,5% dietilen glikol. Insiden terkait disebabkan oleh sirup parasetamol yang terkontaminasi dengan 2,3–23% (median 15,4%) dietilen glikol, menyebabkan kematian delapan anak (19).

Pada tahun 2006 di Panama, perkiraan resmi 78 kematian (meskipun bisa setinggi 365) terjadi sebagai akibat dari gagal ginjal yang tidak dapat dijelaskan disertai dengan disfungsi neurologis. Belakangan diketahui bahwa sirup obat batuk terkontaminasi dengan rata-rata 8,1% dietilen glikol. Sirup itu diproduksi dari gliserin yang diimpor dari China melalui Broker Eropa dan terkontaminasi dengan rata-rata 22,2% dietilen glikol. Wabah lain di tahun yang sama, di China, menyebabkan kematian yang dikonfirmasi dari 12 pasien, berikut pemberian

intravena armillarasin yang terkontaminasi dietilen glikol. Baru-baru ini pada bulan November dan Desember 2008, 84 anak-anak meninggal di Nigeria setelah menelan sirup yang terkontaminasi dietilen glikol (19).

Etilen glikol (EG) juga muncul di produk konsumen lainnya. Anggur Austria dipalsukan dengan dietilen glikol untuk menghasilkan anggur rasa yang lebih manis. Satu kasus gagal ginjal akut yang dilaporkan mungkin disebabkan oleh konsumsi anggur ini. Pasta gigi palsu merek Sensodyne yang terkontaminasi dietilen glikol memiliki muncul di Inggris, saat pasta gigi diimpor dari Cina dan dijual di Spanyol, Kosta Rika, Panama, Nikaragua, Republik Dominika, dan Amerika Serikat Negara juga telah ditemukan terkontaminasi dengan dietilen glikol. Tidak ada penyakit serius yang dilaporkan dari penggunaan pasta gigi palsu ini (19).

Selain epidemi tersebut, ada juga beberapa kasus terisolasi biasanya terjadi dengan orang yang menelan dietilen glikol atau minyak rem berbasis dietilen glikol atau bahan bakar kalengan untuk rekreasi tujuan sebagai pengganti alkohol, atau bunuh diri yang disengaja percobaan. Kurang umum, eksplorasi anak atau paparan kecelakaan juga telah dilaporkan. Mayoritas konsumsi yang disengaja melibatkan pasien yang menggunakan dosis besar, dengan tingkat kematian yang tinggi dilaporkan (19).

2.3.5 Toksikologi Dietilen Glikol

2.3.5.1 Toksikokinetik

Ada informasi terbatas yang tersedia mengenai manusia kinetika dietilen glikol. Sebagian besar informasi yang dipublikasikan adalah berasal dari studi eksperimental (19).

1. Absorpsi

dietilen glikol mudah diserap setelah konsumsi oral. Dosis oral pada tikus dengan cepat dan hampir sepenuhnya diserap dengan puncak konsentrasi plasma dicapai dalam 25-120 menit. Penyerapan melalui rute dermal dapat terjadi meskipun kecepatan pengirimannya rendah. Tidak mengherankan, penyerapan dietilen glikol lebih besar melalui kulit yang rusak atau rusak, jika kontak

berkepanjangan dan ekstensif, atau melibatkan area permukaan yang besar. Pemberian dietilen glikol melalui kulit pada permukaan tikus yang besar (50 mg/12 cm²) menyebabkan pemulihan kumulatif 9% dari dosis awal, dengan 72 jam pasca-aplikasi (19).

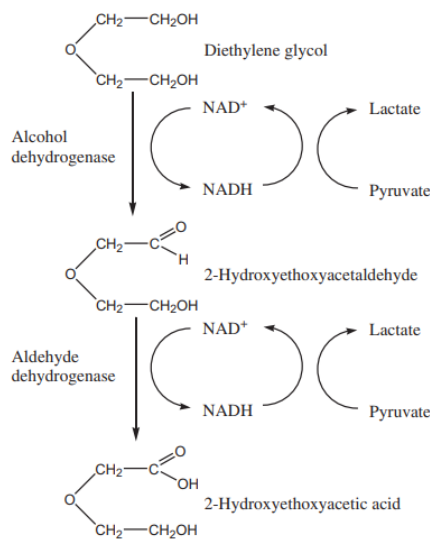
Sepengetahuan penulis, tidak ada laporan tentang penyerapan pernapasan dietilen glikol inhalasi. Namun, sebagai dietilen glikol memiliki tekanan uap rendah (<0,01 mmHg pada 25 ° C), risiko inhalasi yang menyebabkan toksisitas cenderung rendah di sebagian besar keadaan (19).

2. Distribusi

Pada tikus, dietilen glikol didistribusikan secara luas (terutama di dalam daerah yang perfusinya baik), dengan perkiraan volume nyata distribusi ~1 L/kg berat badan. Mengikuti pemberian dosis oral akut, distribusi cepat (dalam 2,5 jam) dicapai pada organ dan jaringan utama; itu dengan konsentrasi yang dilaporkan termasuk, dalam urutan peringkat, ginjal > otak > limpa > hati > otot > lemak. Lima hari setelah konsumsi, kira-kira 0,25-3,1% dari yang diberikan dosis masih terlihat jelas di dalam tubuh, dengan beberapa hadir di sebagian besar organ. dietilen glikol dengan cepat melintasi penghalang darah-otak, dengan konsentrasi maksimum ditemukan di otak tikus dalam waktu 3-4 jam pasca-dosis. Efek narkotik pada spesies ini telah diamati dalam waktu 20 menit setelah konsumsi dan telah berlanjut selama 6-8 jam lebih lanjut (19).

3. Metabolisme

Metabolisme dietilen glikol terjadi terutama di hati. Ada informasi terbatas pada manusia, tetapi pada tikus dietilen glikol telah terbukti dioksidasi menjadi 2-hydroxyethoxyacetaldehyde oleh nicotinamide dinucleotide (NAD)-dependent alcoholdehidrogenase (ADH). Ini diikuti oleh metabolisme enzim aldehyd dehidrogenase (ALDH) menjadi 2-hidroksietoksiasetat acid (HEAA), seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.10. Pada tikus, 16-31% dari dosis diakui untuk menjalani metabolisme. dietilen glikol tampaknya tidak dimetabolisme menjadi etilen glikol; satu yang penting metabolit yang terakhir adalah oksalat, tetapi kristal kalsium oksalat deposisi bukan merupakan ciri keracunan dietilen glikol(19).



Gambar 2. 3 Jalur metabolisme dietilen glikol oleh alkohol oksidasi dehidrogenase untuk membentuk 2-hidroksietoksiasetaldehida diikuti oleh oksidasi aldehid dehidrogenase untuk membentuk 2- asam hidroksietoksiasetat (19).

2.3.5.2 Toksisitas Dietilen Glikol

Dietilen glikol dengan cepat diserap dan didistribusikan ke ginjal, otak, hati, limpa, dan jaringan adiposa. Ginjal menerima sebagian besar dietilen glikol. Volume distribusi dietilen glikol adalah tidak diketahui pada manusia tetapi kira-kira 1 l kg^{-1} pada tikus. Dietilen glikol diperkirakan dimetabolisme menjadi etilen glikol dan selanjutnya asam oksalat, sekarang diketahui bahwa ikatan eter relatif stabil dan dietilen glikol dimetabolisme oleh alkohol dehydrogenase (ADH) menjadi asam 2-hidroksietoksiasetat (HEAA) dan diglikolat asam (DGA). Asam diglikolat baru-baru ini diidentifikasi sebagai metabolit nefrotoksik primer pada keracunan dietilen glikol. Waktu paruh dietilen glikol tergantung dosis dan dosis 6 mL kg^{-1} dan 12 mL kg^{-1} pada tikus menghasilkan waktu paruh masing-masing 8 dan 12 jam. Pada dosis yang lebih tinggi ($>17,5 \text{ mL/kg}$), dietilen glikol tampaknya mengikuti terlebih dahulu kinetika orde dan memiliki waktu paruh 3,6 jam (18).

Dosis minimum yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia belum tertata dengan baik. Memang, kisaran dosis dilaporkan diperlukan luas (meskipun tumpang tindih), mencakup dalam satu contoh lebih dari dua urutan besarnya.

Mereka sebagian besar didasarkan pada laporan-laporan menyusul beberapa kasus keracunan massal. Dosis tersebut diperkirakan oleh ingatan volume tertelan dari keluarga atau kerabat dari pasien, atau dosis yang ditentukan didasarkan pada jumlah maksimum yang mungkin tertelan (yaitu, diasumsikan satu pasien menelan semua isi botol yang diberikan). Akibatnya, nilai yang dilaporkan mungkin melebih-lebihkan dosis yang diperlukan untuk morbiditas dan mortalitas, sehingga meremehkan toksisitas (19).

2.3.5.3 Mekanisme Toksisitas Dietilen Glikol

Dietilen glikol dimetabolisme oleh alkohol dehidrogenase menjadi metabolit toksik terutama, HEAA dan DGA dari dietilen glikol bisa menyebabkan asidosis metabolit anion gap, nekrosis kortikal mengakibatkan gagal ginjal permanen dan neurotoksisitas. DGA baru-baru ini diidentifikasi sebagai yang utama agen nefrotoksik yang menyebabkan kematian sel tubulus proksimal. Neurotoksisitas yang terlihat setelah keracunan dietilen glikol baru-baru ini dijelaskan. Neurotoksisitas tertunda, memiliki kranial dan polineuropati sensorimotor demielinasi perifer pola. Mekanisme pasti dari neurotoksisitas tetap ada tidak jelas dan dalam kasus yang dijelaskan dalam literatur, tampaknya berkepanjangan tetapi menunjukkan bukti reversibilitas (18).

Toksisitas dietilen glikol ditandai dengan kerusakan hati dan ginjal; karena diketahui dietilen glikol di metabolisme di hati dan di filtrasi di ginjal .Sejauh ini metabolit dietilan gelikol yang menyebabkan gagal ginjal masih belum diketahui jelas. Terdapat studi yang menjelaskan bahwa pada urin primer dari penelitian terkait dietilen glikol ini didapati metabolit HEAA dan DGA .HEAA secara dominan ditemukan dalam darah dan DGA di jaringan ginjal (6).

Dalam darah ,HEAA konsentrasinya dapat mencapai 100 kali DGA .Namun perlu diketahui HEAA dengan konsentrasi 100 kali DGA menghasilkan toksisitas yang sama dengan DGA dalam jumlah sedikit. Kadar HEAA yang rendah di jaringan ginjal ini disebabkan karena HEAA di filtrasi di glomerulus dan tidak direabsorpsi secara signifikan sehingga akumulasinya rendah di jaringan ginjal. Diketahui Cmax HEAA dalam darah adalah 8 jam sementara DGA selama 24 jam dalam darah belum mencapai konsentrasi puncaknya. Kadar DGA di jaringan ginjal

dapat tetap tinggi karena C_{max} DGA cukup lama di darah sehingga konsentrasinya di ginjal tinggi. Mekanisme oksalat yang dihasilkan etilen glikol tidak dapat disamakan dengan dietilen glikol karena dietilen glikol tidak membentuk oksalat oleh kalsium sehingga tidak terjadi proses pengkristalan (6).

Tingginya akumulasi DGA di ginjal disebabkan oleh serapan selektif di tubulus ginjal. DGA terdiri dari 4 anion dikarboksilat yang strukturnya mirip dengan dikarboksilat siklus krebs seperti suksinat. Sehingga bisa dianggap bahwa DGA adalah substrat ginjal yaitu natrium dicarboxylate (NaDC) dengan transporter NaDC1/NaDC3 sehingga DGA terserap ke ginjal. Tingkat DGA yang tinggi inilah yang menyebabkan kerusakan pada ginjal. Sementara asidosis metabolik disebabkan oleh keadaan HEAA dalam darah. Asidosis metabolik adalah keadaan asam di tubuh yang sangat tinggi karena ginjal tidak mampu mengeluarkan asam melalui urin sehingga terjadi penumpukan asam di darah. HEAA menyebabkan asidosis metabolik karena konsentrasi HEAA dalam darah 100 kali lebih tinggi dari DGA sehingga terjadi peningkatan celah anion dan penurunan kadar bikarbonat darah (6).

2.3.6 Manajemen Klinis Dietilen Glikol

Penatalaksanaan pasien yang terpajan/keracunan dietilen glikol mungkin sedikit susah. Seperti yang terlihat pada keracunan massal, kehadiran dietilen glikol sering tidak diketahui dan banyak pasien datang dengan Manifestasi klinis toksisitas termasuk asidosis anion gap, gagal ginjal, dan neurotoksisitas dari etiologi yang tidak diketahui (18).

Pada pasien dengan paparan dietilen glikol yang diketahui mengandung produk sangat penting untuk mengetahui apakah konsumsi itu disengaja versus tidak disengaja di alam; persentase dari dietilen glikol dalam produk dan jumlah yang tertelan. Dekontaminasi gastrointestinal memainkan peran terbatas setelah paparan dietilen glikol sebagai dietilen glikol dengan cepat diserap dari saluran GI (18).

Dietilen glikol dimetabolisme oleh alkohol dehidrogenase menjadi racun metabolit dan oleh karena itu, inhibitor alkohol dehidrogenase termasuk fomepizole atau etanol harus digunakan. Fomepizole adalah inhibitor kompetitif ADH dan umumnya ditoleransi dengan baik dengan efek samping minimal. Ini

adalah penangkal yang disukai atas etanol. Manfaat fomepizole tampaknya berkurang waktu dan mungkin dengan dosis dietilen glikol yang lebih tinggi. Morbiditas dan kematian tampaknya berkurang ketika dietilen glikol diidentifikasi sebagai toksin lebih awal setelah terpapar. Pada pasien dengan gagal ginjal dan/atau asidosis anion gap, hemodialisis harus dilakukan dan seringkali permanen (18).

Manajemen klinis dengan fomepizole untuk menghambat ADH yang mencegah akumulasi metabolit DEG (HEAA dan DGA) dalam darah dan jaringan. Menariknya, penghambatan metabolisme ini tidak berubah secara nyata dari penghapusan DEG dari darah. Tingkat eliminasi DEG dikendalikan oleh tingkat ekskresi urin DEG tidak berubah oleh adanya metabolisme DEG menjadi HEAA. Fakta bahwa hampir 60% dari dosis dapat menghilangkan DEG, sedangkan 30% dihilangkan sebagai metabolit (HEAA, DGA, dan EG) (6).



III.METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan kisaran waktu ± 3 bulan di Rumah Hewan dan Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

3.1 Alat ,Bahan dan Hewan Percobaan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan selama penelitian adalah kandang mencit, tempat makan dan minum mencit, timbangan hewan, gelas ukur, penggaris, sonde, gunting bedah, pinset , papan *Styrofoam* dan *push pins*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan selama penelitian ini adalah dietilen glikol (DEG), aquadest, *alcohol swab*, kertas saring, larutan bouins, alizarine *red*, sekam, pakan dan minum mencit.

3.2.3 Hewan uji

Hewan uji yang digunakan selama penelitian ini adalah mencit putih betina yang sedang hamil hari ke-nol dengan berat 20–30 gram sebanyak 20 ekor. Hewan dalam keadaan sehat, berperilaku normal, serta belum pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi selama 10 hari di Rumah Hewan Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Hewan uji diberi makan dan minum secukupnya dan diamati selama masa aklimatisasi. Selama proses aklimatisasi, hewan uji akan diadaptasikan agar terbiasa dengan lingkungan percobaan. Makanan dan minuman diberikan secukupnya, berat badan ditimbang setiap hari, dan diamati perilakunya. Hewan uji akan dinyatakan sehat apabila hewan tidak memiliki fluktuasi berat badan lebih dari 10% dan menunjukkan tingkah laku yang normal. Pada proses inilah peneliti mengamati siklus estrus yang akan terjadi sebanyak dua kali siklus yang diamati

secara visual yaitu dengan melihat vagina mencit yang berwarna lebih merah, bengkak, terbuka dan berlendir (13).

3.3.2 Pengawinan Hewan Percobaan

Pada fase estrus, mencit dikawinkan dengan jantan dengan perbandingan 1:4 (perkawinan poligami). Hewan jantan dimasukan ke dalam kandang hewan betina untuk menghindari stress dari syok hewan betina yang akan berakibat tidak meresponnya hewan betina terhadap jantan. Mencit diketahui sebagai hewan nocturnal yang proses pengawinannya dilakukan pukul 4 sore hari. Keesokan paginya, diamati adanya sumbat vagina yang ditandai dengan adanya sumbat kekuningan pada vagina yang merupakan campuran sekret vesikula seminalis betina dengan ejakulat jantan yang mengeras. Vagina mencit yang memiliki sumbat vagina akan dianggap berada pada masa kehamilan ke nol. Mencit yang sudah hamil dapat dipisahkan dan yang belum hamil dapat dikawinkan kembali dengan mencit jantan (21).

3.3.3 Perencanaan dosis

Dosis yang akan diberikan kepada kelompok hewan uji adalah 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb.

3.3.4 Persiapan Sediaan Uji

Sediaan uji dibeli di toko kimia untuk tujuan penelitian. Dosis diencerkan dengan aquadest dan diberikan kepada mencit dengan menggunakan sonde .

3.3.5 Pemberian Sediaan Uji

Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral dengan sonde sekali sehari selama masa organogenesis yaitu hari ke 6-15. Kelompok mencit dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masingnya terdiri dari 5 ekor mencit. Penentuan besar sampel penelitian menggunakan ketentuan World Health Organization (WHO) dengan jumlah minimal sampel 5 hewan uji tiap kelompok. Kelompok kontrol hanya diberi aquadest dan pakan pokok mencit. Kelompok uji akan diberikan sediaan uji dengan dosis pemberian yang telah ditentukan untuk mencit dan pakan pokok mencit .

Tabel 3. 1 Pengelompokkan hewan uji

Kelompok	Perlakuan
Kontrol	Hewan percobaan diberi aquadest
DEG 1662,5 mg/kgbb	Hewan percobaan diberi dietilen glikol dosis 1662,5mg/kgbb
DEG 3325 mg/kgbb	Hewan percobaan diberi dietilen glikol dosis 3325mg/kgbb
DEG 6650 mg/kgbb	Hewan percobaan diberi dietilen glikol dosis 6650mg/kgbb

3.3.6 Pengamatan Selama Pemberian Sediaan Uji

Pengamatan dilakukan setiap hari sejak dimulainya masa kehamilan. Parameter yang diamati selama pemberian sediaan uji adalah pengamatan berat badan dan pendarahan pada vagina. Apabila terjadi penurunan berat badan yang drastis dan terdapat pendarahan di daerah vagina maka hewan tersebut dapat dinyatakan keguguran atau abortus. Apabila terjadi peningkatan berat badan maka dapat dipastikan mencit mengalami kehamilan. Pada hari ke 15 kehamilan hewan sudah tidak diberi sediaan uji lagi sampai dilakukannya laparaktomi .Laparaktomi dilakukan pada hari ke 18 kehamilan dimana hewan tersebut harus dibunuh secara manusiawi dengan cara dislokasi leher (22). Kondisi hewan dalam bentuk mortalitas, morbiditas, perubahan perilaku terkait, dan semua tanda toksisitas yang terlihat harus dicatat setiap hari (23).

3.3.7 Laparaktomi

Laparotomi dilakukan pada hari ke 18. Prosedur ini merupakan pembedahan yang menginsisi dinding perut untuk akses ke rongga perut yang dilakukan secara aseptis dan legeartik (24). Untuk pengamatan, betina dibunuh secara manusiawi, kandungan uterus diperiksa, dan janin dievaluasi untuk kecacatan jaringan lunak dan kerangka(23). Prosedur bedah laparotomi akan menoreh lapisan otot perut satu per satu mengakses rongga perut dan akhirnya mencapai fetus. Fetus dikeluarkan dari plasenta dan dilakukan pemotongan uterus dan plasenta (24).

3.3.8 Fiksasi dan Pengamatan Morfologi

Setelah tahap laparotomi dilakukan maka akan dilakukan pengamatan terhadap berat badan fetus dan jumlah fetus yang berkembang dari tiap kelompok. Tiap fetus harus dibersihkan dari cairan dan darah yang menempel dengan kertas saring sebelum ditimbang dan data penimbangan dicatat (25).

Kemudian dilanjutkan dengan fiksasi sebagian jumlah fetus dari satu induk dengan larutan Bouins selama 14 hari sampai berwarna kuning dan keras. Setelah 14 hari, fetus dikeluarkan dan dikeringkan. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap bagian luar fetus yaitu telinga, mata dan ekor. Dilanjutkan dengan pengamatan terhadap celah langit-langit dengan menyelipkan pisau bedah pada geraham dan bagian kepala disayat datar tepat di bagian tengah daun telinga .

Sebagian lagi direndam dengan larutan alizarin *red* dan dibiarkan tiga hari hingga fetus menjadi transparan dan terlihat tulang yang berwarna merah (11). Dilakukan pengamatan terhadap bagian belakangnya; tulang tengkorak, kolom tulang belakang dan tulang rusuk. Kemudian kerangka dibalik, diperiksa dan diamati bagian depannya; rongga mulut, tulang sternum, tulang yang melingkari bahu dan pinggul, anggota badan bagian depan dan belakang . Semua hasil pemeriksaan berupa struktur, morfologi, jumlah, ukuran, posisi tulang dan derajat pewarnaan dicatat dan dibandingkan dengan kelompok kontrol (25).

3.4 Analisis Data

Data pemeriksaan untuk data berat badan induk mencit dan fetus mencit serta jumlah fetus dianalisa secara statistik dengan menggunakan metode Analisis Varian (ANOVA) satu arah selama kehamilan hari ke-0 sampai kehamilan hari ke-18. Tingkat kepercayaan diambil apabila $p < 0,05$. Sebelum dilakukan uji ANOVA maka akan dilakukan terlebih dahulu uji normalitas dan uji homogenitas data dengan tingkat kepercayaan yang diambil $p > 0,05$. Data pemeriksaan dari uji ANOVA yang memenuhi signifikansi ($p < 0,05$) akan dianalisis lanjutan dengan uji wilayah berganda Duncan (*Duncan Multiple Range T-Test*). Data pemeriksaan pengamatan jenis cacat, dan pengamatan terhadap fiksasi dengan larutan bouins dan alizarin *red* dianalisis secara deskriptif dengan kelompok kontrol dan literatur terkait.

IV.HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan melakukan pengamatan terhadap efek teratogen yang terjadi pada mencit yang diberikan dietilen glikol (DEG). Penelitian ini dilakukan selama kurang lebih 3 bulan di Rumah Hewan dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Penelitian ini bertujuan untuk melihat bagaimana pengaruh teratogen dietilen glikol terhadap berat badan induk, berat badan fetus, jumlah fetus serta ada atau tidaknya kelainan morfologi dan skeletal yang terjadi pada fetus. Data yang didapatkan pada penelitian ini diharapkan dapat menjadi tambahan informasi yang akurat dalam toksisitas terkait teratogenitas dietilen glikol. Penelitian ini telah mendapat persetujuan kode etik penelitian kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Penelitian ini telah lulus kode etik dengan nomor : 08/UN.16.10.D.KEPK-FF/2023.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih berusia 2-3 bulan yang sedang hamil dan memiliki berat awal 20-30 gram. Mencit haruslah dalam kondisi yang belum pernah melahirkan dan belum pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini digunakan empat kelompok yang masing-masing kelompoknya terdiri dari lima mencit. Sesuai dengan ketentuan WHO yang menyebutkan bahwa dalam penelitian eksperimental minimal menggunakan hewan uji sebanyak lima ekor. Alasan pemilihan mencit sebagai hewan uji yakni pemeliharaannya mudah, siklus hidup relatif pendek dan jumlah anak per kelahiran relatif banyak. Kemudian didukung dengan struktur anatomi dan fisiologi mencit yang mempunyai kemiripan dengan struktur anatomi dan fisiologi manusia (13). Kelompok kontrol diberikan aquadest yang digunakan sebagai pembawa sediaan uji (25). Kelompok perlakuan terdiri dari tiga kelompok yang diberikan dosis sebesar 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb mencit yang diencerkan didalam aquadest.

Mencit terlebih dahulu melewati masa aklimatisasi yang dilakukan selama sepuluh hari untuk melihat dua kali fase estrus (22). Penentuan siklus estrus dilakukan dengan metode *visual assessment* dimana siklus estrus diamati secara visual. Metode ini dinyatakan sederhana, *non invasive*, cepat, murah dan tidak membuat stress hewan. Metode ini dilakukan dengan cara mencit dipegang dengan tangan kiri dan diletakkan di kandang dengan kaki yang bertumpu pada permukaan

,kemudian ekor diangkat dengan lembut hingga vagina terlihat jelas (26). Fase estrus memiliki ciri ciri vagina berwarna merah, terbuka dan sedikit basah (13).

Selama masa aklimatisasi, mencit diberikan makan dan minum secukupnya dengan akses yang mudah dijangkau oleh mencit. Kandang mencit yang digunakan berukuran 40 cm x 30 cm x 18 cm yang berisikan 10 mencit. Kandang dialasi dengan sekam yang dibersihkan sebanyak tiga kali sehari. Hewan uji ditangani sesuai dengan prinsip 3R (*replacement, reduction, refinement*) dan 5 F (*freedom from hunger or thirst, discomfort, pain Injury, freedom to express, and fear or distress*) (13).

Mencit yang digunakan dalam penelitian tidak boleh mengalami fluktuasi berat badan besar dari 10% (22). Lampiran 1b, tabel 1 mendeskripsikan bahwa selisih berat badan mencit yang digunakan pada penelitian ini tidak mengalami penurunan lebih dari 10%.

Setelah melewati masa aklimatisasi, mencit dikawinkan dengan ratio 4 betina : 1 jantan dengan sistem poligami. Mencit merupakan hewan yang *nocturnal* yang beraktifitas optimal pada malam hari (22). Fase estrus mencit dimulai pada tengah malam dan kopulasi alami terjadi sekitar pukul 02.00 menjelang pagi. Sperma yang telah diejakulasikan membentuk sumbat vagina yang menjadi penanda kehamilan mencit hari ke-0. Namun sumbat vagina tidak menjamin kehamilan, namun dapat dijadikan patokan dalam menentukan hari kehamilan yang nantinya diamati dari bentuk perut dan berat badan mencit. Zigot mengalami perkembangan menjadi embrio yang kebutuhannya diperoleh dari induk melalui plasenta. Periode kehamilan mencit berlangsung selama 9-21 hari (12).

Dietilen glikol diberikan ke hewan uji dengan dosis 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb. Dietilen glikol diencerkan menggunakan aquadest hingga mencapai volume yang dapat diukur dengan spuit sonde. Sediaan uji diberikan minimal dari implanisasi hingga 1-3 hari sebelum hewan dikorbankan yaitu selama masa organogenesis pada hari kehamilan ke 6-15 (25). Masa organogenesis mencit merupakan tahap dimana sel secara intensif mengalami proliferasi yakni mobilisasi, diferensiasi, dan organisasi, sehingga dietilen glikol yang diberikan dapat menghambat dan merusak sel yang terbentuk (27). Dietilen glikol tidak diberikan

pada hari ke 1-5 karena pada masa ini proliferasi sel baru terjadi sehingga sel masih secara aktif mampu menggantikan sel yang rusak (27). Selain itu, pada fase ini kemungkinan lain yang terjadi adalah kematian fetus yang berakhir abortus (4). Dietilen glikol tidak diberikan setelah hari ke 15 karena ini merupakan periode pematangan fungsi organ sehingga dietilen glikol tidak lagi dapat menyebabkan efek teratogenik secara morfologi (27). Pada fase ini gangguan yang terjadi berupa gangguan fungsi fisiologik atau biokimiawi organ (4).

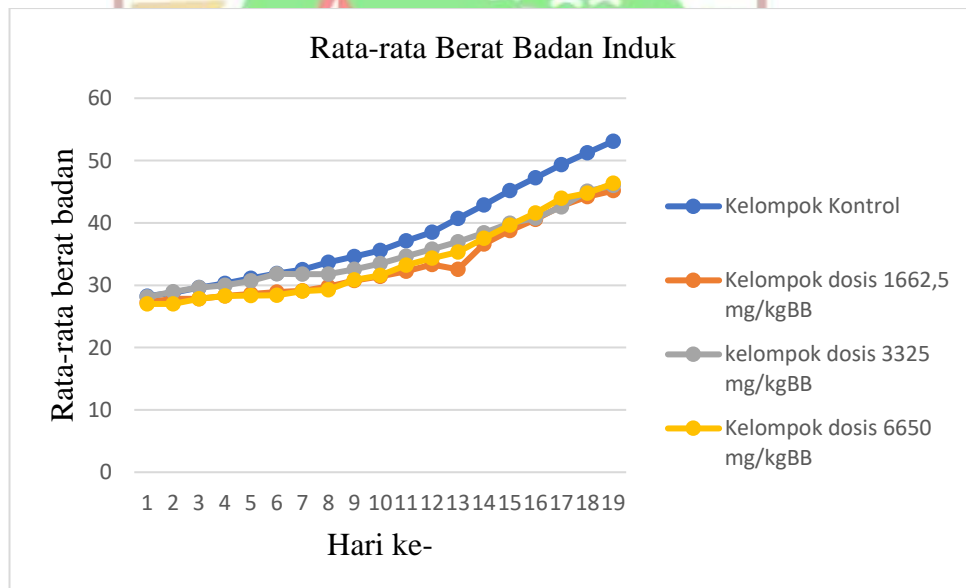
4.1 Pengaruh Pemberian Dietilen Glikol terhadap Berat Badan Induk, Berat Badan Fetus, dan Jumlah Fetus Mencit

Penimbangan berat badan induk mencit dari awal hingga satu hari sebelum mencit di laparaktomi dengan tujuan untuk melihat perbedaan kenaikan berat badan induk mencit antar kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan dietilen glikol dengan dosis 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb. Pertambahan berat badan induk selama kehamilan dapat menggambarkan kondisi kesehatan dan gizi induk selama kehamilan (28).

Tabel 4. 1 Pengaruh Pemberian Dietilen Glikol terhadap Berat Badan Induk, Berat Badan Fetus, dan Jumlah Fetus Mencit

Parameter	Kelompok			
	Kelompok Kontrol	Kelompok dosis 1662,5mg/kgbb	Kelompok dosis 3325mg/kgbb	Kelompok dosis 6650mg/kgbb
Berat badan induk	24,86±1,04 ^a	17,90±1,05 ^b	17,90±1,10 ^b	17,94±2,43 ^b
Berat badan fetus	1,05±0,12	0,77±0,11	0,78±0,19	0,70±0,10
Jumlah fetus	12,26±1,82	11,00 ±0,71	10,40±1,82	10,20±2,59

Rata-rata selisih berat badan awal induk menciit dengan berat badan akhir kehamilan pada kelompok kontrol, kelompok dosis 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb secara berturut turut adalah $24,86 \pm 1,04$, $17,9 \pm 1,05$, $17,9 \pm 1,10$, $17,94 \pm 2,43$ yang dapat dilihat pada tabel 4.1 . Terlihat pada data bahwa rata-rata berat badan induk kelompok yang diberikan dietilen glikol lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tabel perkembangan berat badan dapat dilihat pada gambar 4.1 dan lampiran 1 tabel 2. Pada hari ke 1-6 kehamilan terlihat bahwa pertambahan berat badan induk masih tidak terlalu signifikan, pertambahan berat badan berada pada rentang <1 gram. Pada hari ke 7-18 pertambahan berat badan induk semakin signifikan dimana kenaikan berat badan >1 gram . Kenaikan berat badan ini menandakan berkembangnya fetus, bertambahnya ukuran plasenta, bertambahnya cairan amnion dan selaput amnion menciit. Semakin besar kenaikan berat badan dapat memberi potensi semakin banyak fetus yang dilahirkan (29).

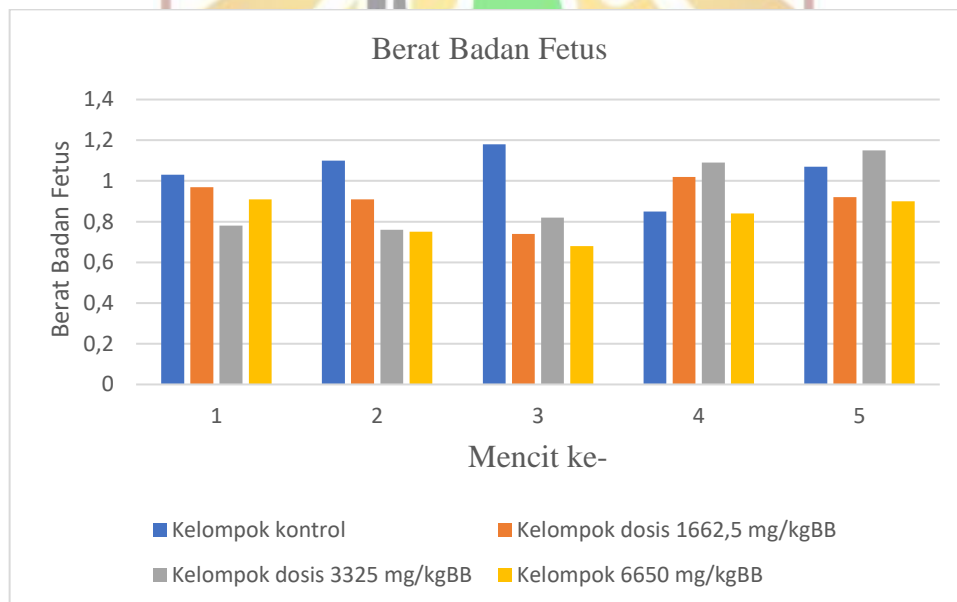


Gambar 4. 1 Grafik rata-rata berat badan induk

Pada uji statistik ANOVA satu arah digunakan data selisih berat badan induk menciit pada hari ke-18 dan hari ke-0. Sebelum dilakukan uji ANOVA satu arah dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas, didapatkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Berdasarkan hasil analisis statistik uji ANOVA satu arah pada pengaruh teratogen dietilen glikol terhadap berat badan induk menciit menunjukkan

terdapat perbedaan bermakna dimana didapat nilai signifikan $<0,001$. Kemudian dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan dengan hasil terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok dosis 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb. Sementara antara kelompok dosis 1662,5;3325; dan 6650mg/kgbb tidak terdapat perbedaan bermakna seperti yang terlihat pada tabel 4.1 .

Pada hari kehamilan ke-18, dilakukan laparaktomi pada mencit. Setelah dilakukan laparaktomi, fetus dibersihkan terlebih dahulu dari plasenta dan darah yang masih menempel kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Dilakukan pengamatan terhadap berat badan dan jumlah fetus mencit. Penurunan berat badan fetus merupakan bentuk teringan dari efek teratogen suatu senyawa, dimana penurunan berat badan disebabkan oleh berkurangnya transfer nutrisi pada masa perkembangan fetus. Penurunan berat badan fetus merupakan indikator terjadinya hambatan selama masa pertumbuhan fetus akibat gangguan terhadap proses yang mendasari pertumbuhan (pembelahan sel, metabolisme dan sintesis) (30).

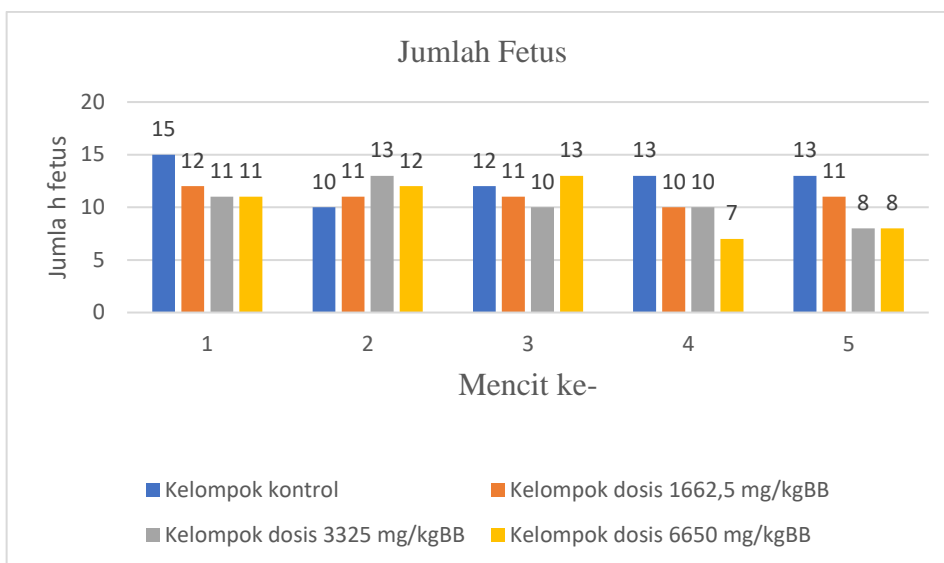


Gambar 4. 2 Grafik rata-rata berat badan fetus

Rata-rata berat badan fetus pada kelompok kontrol, 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb secara berturut-turut adalah $1,05 \pm 0,12$; $0,77 \pm 0,11$; $0,78 \pm 0,19$; $0,70 \pm 0,10$ yang dapat dilihat pada tabel 4.1. Terlihat bahwa kelompok yang diberikan dietilen glikol memiliki berat fetus yang lebih rendah, namun tidak signifikan antar kelompok dosis karena berat badan fetus masih berada pada rentang rata-rata $\pm 0,7$ gram. Pada uji statistik digunakan data rata-rata berat fetus di tiap mencit dan didapatkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas normal ($p > 0,005$). Berdasarkan hasil uji ANOVA pada pengaruh teratogen dietilen glikol terhadap berat badan fetus menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok dengan nilai signifikan 0,095.

Dietilen glikol merupakan senyawa organik yang mengandung gugus hidroksil sehingga dapat dinyatakan masuk ke golongan alkohol (31). Alkohol yang diberikan pada awal kehamilan dapat merusak plasenta sehingga secara langsung dapat mengganggu proses perkembangan embrio. Alkohol yang terserap ke janin dapat menghambat gizi khususnya asam folat dan asam amino dari induk ke anak sehingga menjadi faktor rendahnya berat badan. Senyawa alkohol yang diberikan secara berulang pada masa kehamilan dapat menyebabkan hipoksia. Hipoksia dapat bersifat teratogen dengan mengurangi oksigen dalam proses metabolisme. Oksigen yang rendah dalam darah mengakibatkan terhambatnya asupan gizi dari induk ke fetus yang berakibat terhambatnya pertumbuhan janin (4).

Pengamatan lainnya yang dilakukan terhadap fetus mencit adalah jumlah fetus. Laparaktomi dilakukan pada hari ke-18 kehamilan dengan tujuan untuk menghindari resiko kelahiran spontan karena kehamilan mencit normal berkisar 18-23 hari (13). Kelahiran spontan pada mencit dapat menyebabkan kurangnya jumlah data dikarenakan sifat kanibalisme rodensia yang akan memakan anaknya yang memiliki cacat lahir atau jika jumlah anak lebih banyak dari kelenjar mammae induknya. Apabila kelahiran spontan terjadi tentu saja akan terjadi kekurangan data jumlah fetus dan cacat yang terjadi. Hal ini juga menjadi alasan mengapa pada penelitian teratologi, dalam satu kandang hanya ditempatkan satu ekor mencit (22).



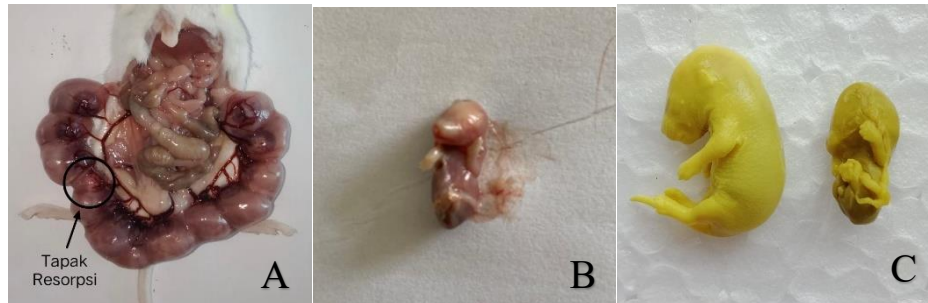
Gambar 4. 3 Grafik rata-rata jumlah fetus

Rata-rata jumlah fetus mencit pada kelompok kontrol, 1662,5; 3325; dan 6650 mg/kgbb secara berturut-turut yaitu $12,60 \pm 1,82$; $11 \pm 0,71$; $10,40 \pm 1,82$; $10,20 \pm 2,59$ yang dapat dilihat pada gambar 4.3 . Pada uji statistik didapatkan bahwa data jumlah fetus mencit terdistribusi normal dan homogen. Pada uji ANOVA satu arah tidak terdapat perbedaan signifikan ($p=0,220$) antara pemberian dietilen glikol dengan jumlah fetus. Namun dari rata-rata jumlah fetus dapat dilihat bahwa terdapat penurunan meski tidak signifikan terhadap jumlah fetus kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi dietilen glikol. Jumlah fetus dipengaruhi oleh umur induk, genetik dan keadaan mencit saat dikawinkan, oleh karena itu dietilen glikol tidak memberikan perbedaan bermakna pada jumlah fetus mencit.

4.2 Pengaruh Pemberian Dietilen Glikol terhadap Morfologi dan Skeletal Fetus Mencit

Pada pengamatan morfologi dilakukan dua jenis fiksasi, fiksasi dengan menggunakan larutan alizarin *red* dan larutan bouins. Pengamatan morfologi menggunakan larutan bouins meliputi kelengkapan dan kelainan pada tungkai depan dan belakang, ekor, telinga, mata, bibir, langit-langit mulut, dan pendarahan bawah kulit (hemoragi). Pengamatan morfologi menggunakan larutan alizarin *red* meliputi kelengkapan dan kelainan pada skeletal fetus yang terjadi. Selain itu juga

dilakukan pengamatan terhadap tapak resorpsi yang ditemukan saat proses laparaktomi.



Gambar 4. 4 (A)Uterus mencit yang berisi tapak resorpsi, (B)Tapak resorpsi, (C)Tapak resorpsi yang telah difikasi dengan bouins dibandingkan dengan kontrol

Tapak resorpsi merupakan fetus yang tidak berkembang, ditandai dengan adanya gumpalan merah yang terdapat pada uterus sebagai tempat tertanamnya fetus yang dapat dilihat pada gambar 4.4 (32). Tapak resorpsi menggambarkan jumlah kematian fetus yang dialami pada mencit. Pada saat laparaktomi ditemukan tapak resorpsi pada kelompok yang diberi dietilen glikol dengan dosis 3325 mg/kgbb sebanyak 1 fetus dan 6650 mg/kgbb sebanyak 1 fetus. Tapak resorpsi yang ditemukan sudah dalam keadaan mati pada saat dikeluarkan dari uterus. Dietilen glikol diberikan pada masa organogenesis yang artinya mencit tidak lagi memiliki sifat totipotensi sehingga tidak terjadi perbaikan pada jaringan yang mengalami kerusakan sehingga fetus tidak mampu bertahan hidup dan tidak terjadi perkembangan (29). Selain itu, dietilen glikol diketahui dapat menyebabkan asidosis metabolik yang sebagai keadaan dimana kadar asam dalam tubuh sangat tinggi. Kondisi ini menyebabkan terjadinya penurunan pH darah yang akan mengganggu integritas seluler dan dapat menghancurkan jaringan fetus sehingga tidak terjadi perkembangan (29).

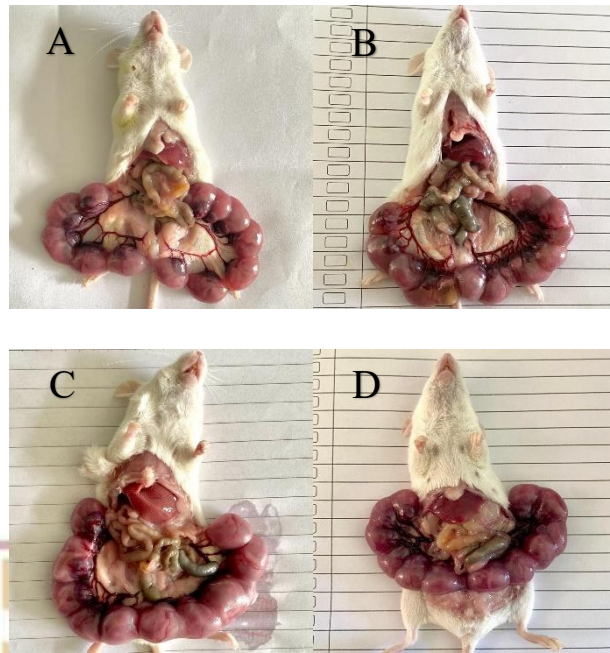
Fetus yang telah dikeluarkan melalui proses laparaktomi, sebagiannya dipersiapkan untuk di fiksasi menggunakan larutan bouins. Fetus dibersihkan terlebih dahulu dari plasenta darah yang masih menempel dan kemudian difiksasi

di larutan bouins selama 14 hari. Fetus mencit yang difiksasi menggunakan larutan bouins berubah warna menjadi kuning dan kaku sehingga pengamatan morfologi akan lebih mudah dilakukan. Larutan bouins mengandung formaldehid dan asam asetat yang mengawetkan fetus dan asam pikrat yang memberi warna pada fetus sehingga warnanya menjadi kuning.



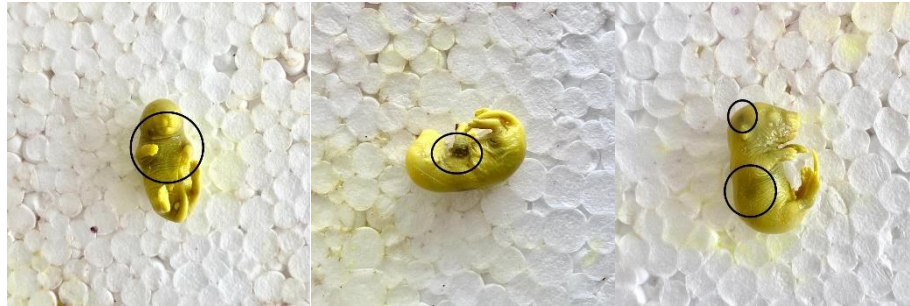
Gambar 4. 5 Penampakan fetus yang mengalami lambat pertumbuhan

Pada kelompok yang diberikan dietilen glikol ditemukan adanya lambat pertumbuhan pada fetus, dimana beberapa fetus memiliki ukuran dan berat yang lebih rendah daripada fetus lainnya pada induk yang sama. Penampakan fetus mencit yang mengalami keterlambatan pertumbuhan dapat dilihat pada gambar 4.5 . Jumlah fetus yang mengalami pertumbuhan pada kelompok yang diberi dietilen glikol 1662,5 mg/kgbb sebanyak 6 fetus, 3325 mg/kgbb sebanyak 6 fetus, 6650 mg/kgbb 9 fetus. Pada kasus ini dapat diduga bahwa terjadi ketidakseimbangan nutrisi yang didapat oleh masing-masing fetus yang dapat dikaitkan dengan hipertropi yang terjadi pada kelompok yang diberikan dietilen glikol (14). Hipertrofi merupakan kondisi dimana terjadi pembesaran tidak normal pada pembuluh vena mencit. Hipertropi menyebabkan kekurangan dan tidak meratanya nutrisi yang masuk ke plasenta sehingga terjadi keterlambatan pertumbuhan pada fetus(33). Seperti pada gambar 4.6 terlihat bahwa uterus mencit yang diberikan dietilen glikol mengalami hipertrofi pada pembuluh vena.



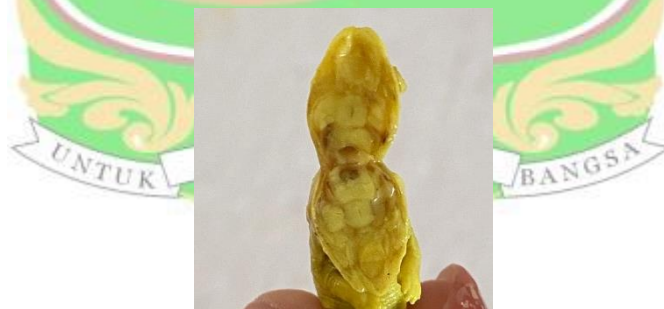
Gambar 4. 6 (A) Uterus kelompok kontrol (B)Uterus kelompok 1662,5 mg/kgBB dengan hipertropi, (C)Uterus kelompok 3325 mg/kgBB dengan hipertropi, (D)Uterus kelompok 6650 mg/kgBB dengan hipertropi

Kelainan morfologi berupa hemoragi tidak ditemukan pada kelompok kontrol, kelainan hemoragi terdapat pada kelompok yang diberikan dietilen glikol. Jumlah hemoragi yang terjadi pada kelompok perlakuan cenderung meningkat seiring peningkatan dosis dimana pada kelompok 1662,5 mg/kgbb terdapat 3 fetus yang mengalami hemoragi, kelompok 3325 mg/kgbb terdapat 5 fetus yang mengalami hemoragi, dan kelompok 6650 mg/kgbb terdapat 6 fetus yang mengalami hemoragi. Hemoragi yang terjadi terdapat pada bagian dada, punggung, perut, kepala dan tangan seperti yang dilampirkan pada gambar 4.7 .



Gambar 4. 7 (A)Hemoragi pada dosis 1662,5 mg/kgbb (B)Hemoragi pada dosis 3325 mg/kgbb (C)Hemoragi pada dosis 6650 mg/kgbb

Hemoragi adalah keluarnya darah dari sistem kardiovaskuler, disertai dengan penimbunan jaringan tubuh. Diduga bahwa perdarahan tersebut disebabkan oleh pemberian dietilen glikol berulang kali, sehingga konsentrasinya dalam darah cukup tinggi dan mengganggu keseimbangan osmotik. Cairan amnion dalam tubuh bersifat isotonik pada kondisi normal, sehingga adanya zat asing dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik. Ketidakseimbangan ini menyebabkan gangguan tekanan dan viskositas cairan pada fetus, yang berbeda antara plasma darah dan ruang interkapiler atau kelebihan dan cairan intraembrionik, mengakibatkan perdarahan atau pecahnya pembuluh darah. (34).

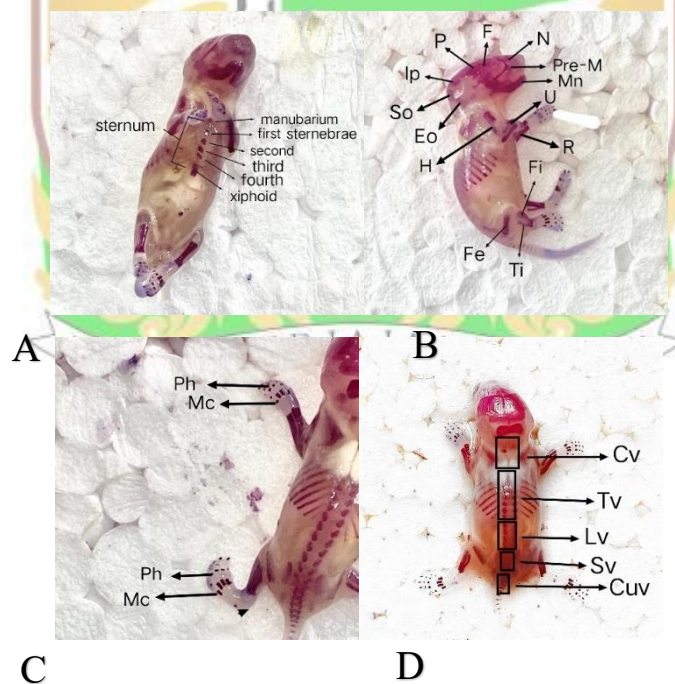


Gambar 4. 8 Penampakan *cleft palate* normal

Pengamatan *cleft palate* (Gambar 4.9) dilakukan dengan memotong bagian kepala dari bagian mulut yang disayat kearah belakang hingga terbagi dua menggunakan pisau bedah. Tidak menunjukkan terjadi celah pada langit-langit mulut baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Berdasarkan

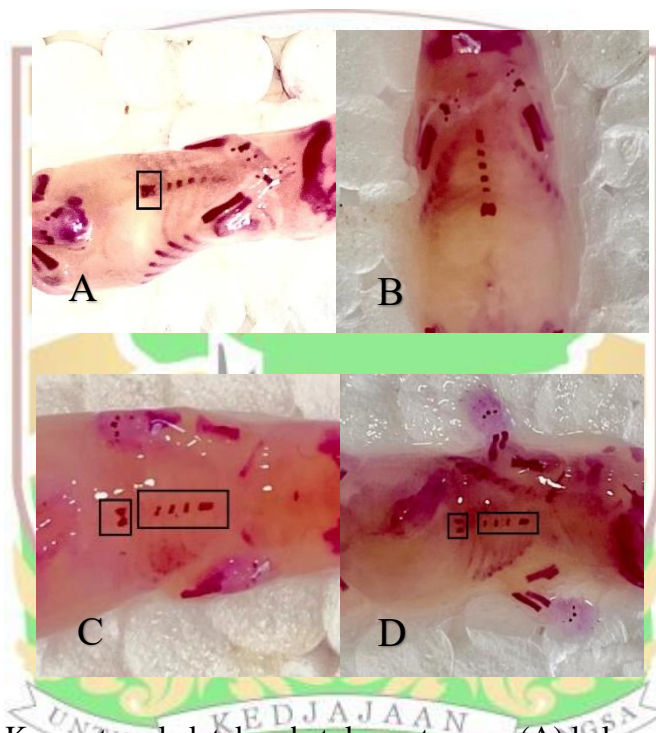
pengamatan cleft palate pada mencit dapat dinyatakan bahwa dietilen glikol tidak menyebabkan celah pada langit-langit mulut.

Selanjutnya pengamatan morfologi dengan menggunakan larutan alizarin *red*, pengamatan perkembangan skeletal meliputi pertumbuhan skeleton secara umum, perkembangan kerangka sumbu (aksial) seperti vertebrae, costae, dan sternum, serta perkembangan kerangka anggota tubuh (appendicular) seperti perkembangan metacarpus dan metatarsus (34). Alizarin *red* mengandung KOH1% dimana KOH menyebabkan fetus menjadi transparan dan alizarin *red* mewarnai tulang sejati menjadi warna merah tua keunguan hingga dapat diamati dengan jelas bentuk tulang, KOH bekerja dengan menghidrolisis jaringan lunak sehingga menyebabkan ketransparanan dan mempermudah pengamatan skeletal (28). Fetus direndam selama kurang lebih 3-4 hari ,namun setiap harinya harus diperhatikan perkembangan peluruhan daging pada fetus agar tidak terjadi kondisi dimana fetus hancur karena ketebalan daging dan otot masing-masing fetus berbeda dan membutuhkan waktu yang berbeda untuk luruh.



Gambar 4. 9 (A) Sternebae (B) Tengkorak dan anggota gerak (C) Anggota gerak atas dan bawah (D) Tulang vertebral

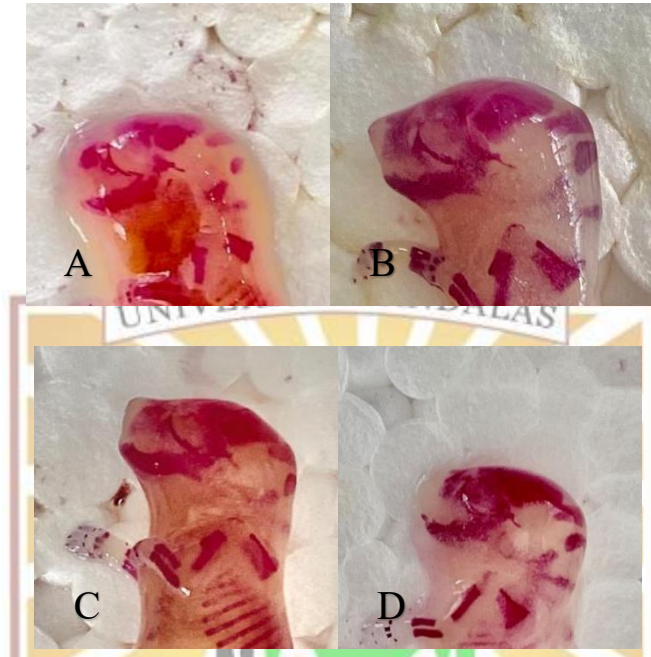
Pengamatan kelompok kontrol dimulai dengan melihat kelengkapan tulang tengkorak (Gambar 4.10) , terdapat kerangka kepala dan wajah meliputi satu tulang nasal (N), satu premaxilla (Pre-M), satu mandibular (Mn), sepasang tulang frontal (F), sepasang tulang parietal (P), sepasang tulang intraparietal (Ip), satu tulang exooccipital (Eo), dan supraoccipital (So). Selanjutnya kerangka vertebral terdapat tujuh tulang cervical (Cv), tiga belas tulang thoracic (Tv), enam tulang lumbar(Lv), empat tulang sacral (Sv), dua tulang caudal (Cv), enam tulang sternum (St), sepuluh tulang rusuk (Ri) yang terdiri dari tulang rusuk sejati, tulang rusuk palsu dan tulang rusuk melayang.



Gambar 4. 10 Kecacatan skeletal pada tulang sternum (A) kelompok kontrol, (B) kelompok 1662,5 mg/kbbb (C) kelompok 3325 mg/kgbb (D) kelompok 6650 mg/kgbb

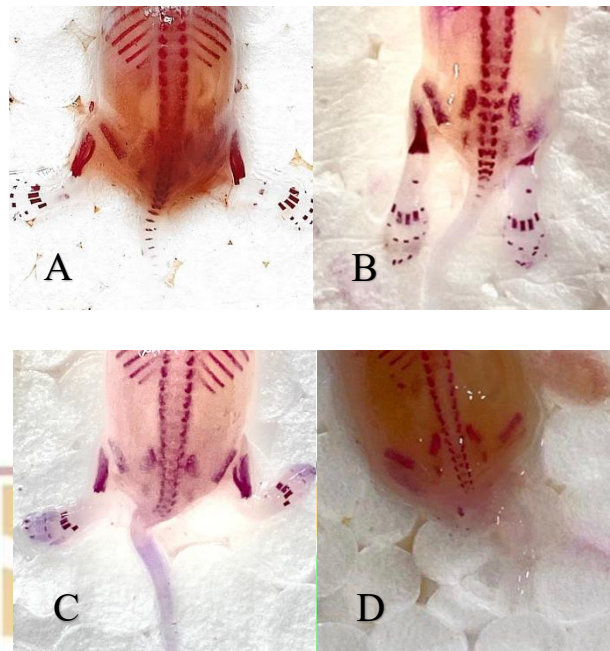
Pada gambar 4.11 dapat dilihat bahwa terdapat kecacatan skeletal pada tulang sternum yang terbelah dan tidak lengkap. Pada kelompok kontrol dapat diamati bahwa pada tulang sternum terdapat 6 tulang yaitu manubarium, sternebrae 1, sternebrae 2, sternebrae 3, sternebrae 4 dan xiphoid. Berdasarkan hasil pengamatan pada kelompok 3325 mg/kgbb, terlihat tulang xiphoid hampir terbagi dua sempurna dan terdapat kekurangan jumlah yakni hanya 3 tulang sternebrae. Begitupun dengan kelompok dosis 6650 mg/kgbb, terlihat jelas bahwa tulang

xiphoid telah terbelah dua sempurna dan hanya terdapat 3 tulang sternebrae. Baik pada kelompok 3325 mg/kgbb dan 6650 mg/kgbb terdapat perbedaan ketebalan tulang sternebrae dimana tulang pada kelompok yang diberi dietilen glikol jauh lebih tipis dan kecil.



Gambar 4. 11 Kecacatan skeletal pada tulang nasal (A)Nasal kelompok kontrol (B)Nasal kelompok 1662,5 mg/kbb (C)Nasal kelompok 3325 mg/kgbb (D)Nasal kelompok 6650 mg/kgBB

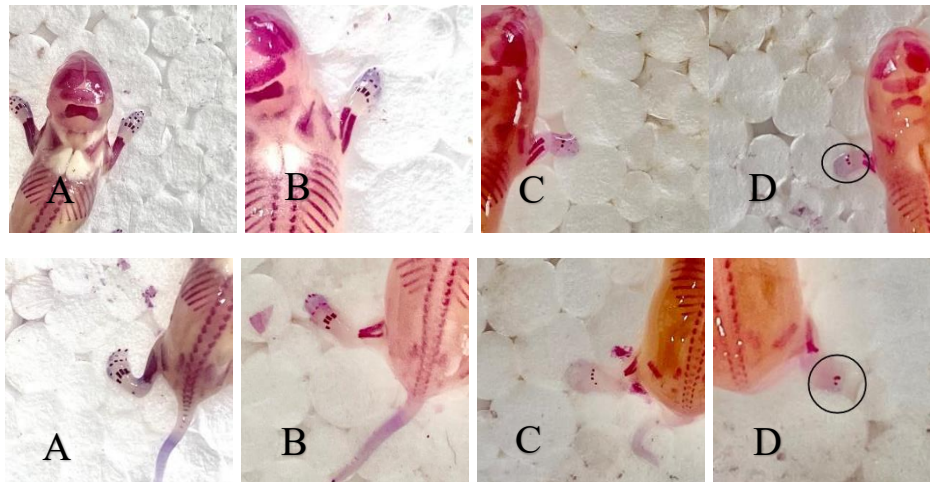
Kecacatan tulang nasal dapat dilihat pada gambar 4.12, dimana tulang nasal lebih pendek dari tulang mandibular sementara pada kelompok kontrol kedua tulang tersebut sejajar. Namun kecacatan ini hanya terjadi pada satu fetus dari keseluruhan fetus yang digunakan pada penelitian.



Gambar 4. 12 Kecacatan skeletal pada tulang belakang (A)Caudal pada kelompok kontrol (B)Caudal kelompok 1662,5 mg/kgbb (C)Caudal kelompok 3325 mg/kgbb (D)Caudal kelompok 6650 mg/kgbb

Pada kelompok yang diberikan dietilen glikol dengan dosis 3325 mg/kgbb dan 6650 mg/kgbb tidak dapat ditemukan adanya tulang caudal seperti yang dapat dilihat pada gambar 4.13 .Kelompok dengan dosis 1662,5 memiliki tulang caudal yang normal sama seperti dengan tulang caudal pada kelompok kontrol.





Gambar 4. 13 (A)Kelompok kontrol (B)Kelompok 1662,5 mg/kgbb (C)Kelompok 3325 mg/kgbb (D)Kelompok 6650 mg/kgbb

Pada anggota gerak atas dan bawah yakni tangan dan kaki ,terdapat ketidaklengkapan tulang pada jari. Pada kelompok yang diberi dietilen glikol, rata-rata mengalami ketidaklengkapan tulang metacarpal, metatarsal serta phalang. Berdasarkan literatur, pada mencit terdapat 8 tulang metacarpal, 8 tulang metatarsal dan 16 tulang phalang yang terdapat pada tangan dan kaki. Dari pengamatan terhadap kelompok 1662,5 mg/kgbb didapati fetus yang hanya memiliki 7 metacarpal dan phalang yang tidak lengkap. Pada kelompok 3325 mg/kgbb terdapat fetus dengan 5 metatarsal dan phalang yang tidak lengkap. Pada kelompok 6650 mg/kgbb terdapat fetus dengan 4 metatarsal dan tidak terdapatnya tulang phalang. Kecacatan ini terjadi karena adanya keterlambatan pertumbuhan tulang yang ditandai dengan penurunan jumlah ruas penulangan metacarpus, metatarsus dan phalang (34).

Kelainan morfologi tidak terjadi pada semua fetus dalam satu kelompok yang sama karena terdapatnya perbedaan genetik antar individu walaupun berasal dari induk yang sama. Ada beberapa fetus yang sama sekali tidak mengalami kecacatan, mengalami satu kecacatan dan mengalami lebih dari satu kecacatan. Abnormalitas yang terjadi pada fetus diduga terjadi karena karena akumulasi dietilen glikol yang merupakan agen penyebab hipoksia. Dietilen glikol yang terdapat pada plasenta menyebabkan terjadinya hambatan nutrisi dari induk ke fetus karena kurangnya oksigen yang diperlukan untuk metabolisme perkembangan

organ termasuk bahan mineral untuk pertumbuhan tulang (osifikasi) atau proses pengerasan tulang (kalsifikasi). Kerangka tulang embrio selama masa organogenesis akan secara progresif digantikan oleh jaringan tulang melalui proses pusat osifikasi dan diikuti dengan perpanjangan tulang seiring bertambahnya usia (35).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian alkohol yang berlebihan dapat mengakibatkan perubahan bentuk tulang dan peningkatan resiko kerapuhan tulang meskipun terkait pengeroposan tulang masih kontroversial. Selain itu, alkohol dapat mengurangi distribusi kuantitatif Kalsium (Ca) dan Fosfor (P) yang merupakan unsur penting dalam pembentukan tulang (31).

Secara statistik diketahui bahwa dietilen glikol berpengaruh terhadap berat badan induk mencit selama kehamilan. Berdasarkan rata-rata pada berat badan, terdapat perbedaan yang rata-rata antara kelompok kontrol dan kelompok yang diberi dietilen glikol namun antara kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan rata-rata yang cukup besar. Untuk berat badan dan jumlah fetus secara statistika dinyatakan tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Pada pengamatan morfologi didapatkan tapak resorpsi, fetus yang mengalami keterlambatan pertumbuhan, hemoragi pada punggung, perut, dada, tangan dan kepala. Abnormalitas internal yang terjadi pada fetus didapatkan kecacatan pada tulang sternum, nasal, caudal, metacarpal, metatarsal dan phalang. Berdasarkan kecacatan yang telah diuraikan dapat disimpulkan bahwa dietilen glikol berpotensi memberikan pengaruh teratogen secara morfologi.

Diethylene glycol (DEG), zat antara pelarut dan bahan kimia, dapat menghasilkan sindrom toksik akut dengan ciri khasnya yaitu gagal ginjal akibat degenerasi tubulus kortikal dan proksimal nekrosis tubulums yang diinduksi oleh asam diglikolat (DGA). Selain itu, asidosis metabolik yang disebabkan oleh konsumsi DEG ini diyakini disebabkan oleh asam 2-hidroksietoksiasetat (2-HEAA) (36). Berdasarkan hasil penelitian diketahui kondisi gagal ginjal pada ibu hamil menyebabkan peningkatan kejadian prematuritas janin, berat badan lahir rendah, dan kematian meningkat secara substansial, dan risiko percepatan penurunan fungsi ginjal ibu yang ireversibel, proteinuria, dan komplikasi hipertensi meningkat secara

dramatis (37). Selain itu, kondisi asidosis metabolik pada ibu hamil diketahui menyebabkan terjadinya penurunan pH darah yang akan mengganggu integritas seluler dan jaringan fetus sehingga tidak terjadi perkembangan (29).



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada berat badan induk mencit kelompok kontrol dan kelompok yang diberi dietilen glikol, Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada berat badan dan jumlah fetus mencit kelompok kontrol dan kelompok yang diberi dietilen glikol.
2. Terdapat kelainan morfologi berupa hemoragi pada punggung, perut, dada, tangan dan kepala pada kelompok fetus yang diberi dietilen glikol serta terdapat kelainan skeletal pada tulang sternum, nasal, caudal, metacarpal, metatarsal dan phalang fetus yang diberi dietilen glikol.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan alcian blue untuk melihat keterlambatan pertumbuhan tulang pada fetus.



Daftar Pustaka

1. Chambers C, Degen G, Dubakiene R, Kapoulas V, Krutman J. Opinion of the Scientific Committee on Consumer Products on Diethylene Glycol . Vol. 16. Brussels: European Commission; 2008.
2. Ballentine C. Sulfanilamide Disaster FDA Consumer magazine June 1981 Issue .
3. BPOM RI. Informasi Keempat Hasil Pengawasan Bpom Terhadap Sirup Obat Yang Diduga Mengandung Cemaran Etilen Glikol (EG) Dan Dietilen Glikol (DEG). BPOM RI. Jakarta; 2022.
4. Elsa Lisanti MS, Isnani A Suryono MS. Teratologi. Vol. 1. Bandung: CV.Lubuk Agung; 2011.
5. Bina D, Komunitas F, Klinik D, Jenderal D, Kefarmasian B, Kesehatan DA. Pedoman Pelayanan Farmasi Untuk Ibu Hamil Dan Menyusui. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2006.
6. Besenhofer LM, McLaren MC, Latimer B, Bartels M, Filary MJ, Perala AW, et al. Role of tissue metabolite accumulation in the renal toxicity of diethylene glycol. *Toxicological Sciences*. 2011 Oct;123(2):374–83.
7. Ballantyne B, Snellings WM. Developmental toxicity study with diethylene glycol dosed by gavage to CD rats and CD-1 mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2005 Nov;43(11):1637–46.
8. Klaassen CD. *Toxicology The Basic Science of Poisons*. 7th ed. Klaassen CD, editor. Vol. 7. Kansas: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2021.
9. Finnell RH. *Teratology: General considerations and principles*. *J ALLERGY CLIN IMMUNOL*. Texas; 1999.
10. BPOM RI. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (Peraturan BPOM), 7 tahun 2014 Jakarta: BN. 2014/NO.875, PERATURAN.GO.ID; 2014.
11. Maghfyra H. Efek Teratogen Obat Antituberkulosis (OAT) Kombinasi HRZE. Padang: Universitas Andalas; 2022.
12. Rejeki PS, Putri EACP, Prasetya RE. Ovariektomi pada Tikus dan Mencit. 1st ed. Pratiwi NL, editor. Surabaya: Airlangga University Press; 2018.
13. Nugroho RA. Mengenal Mencit sebagai Hewan Laboratorium. Khanz AH, editor. Samarinda: Mulawarman University Press; 2018.
14. Fadila D. Efek Teratogen Obat Antituberkulosis Kombinasi HRZE (Isoniazid, Rifampisin, Pirazinamid, Etambutol) dan Efek Perlindungan

- Propolis terhadap Morfologi Fetus Mencit Putih Betina. Padang : Universitas Andalas; 2022.
15. Pubchem. DI(Hydroxyethyl)ether. National Center for Biotechnology Information.
 16. Nurhayati N, Wardana TS. Pengantar Toksikologi untuk Farmasi. Yogyakarta: Pustaka Baru Press; 2022.
 17. Ballantyne B, Snellings WM. Developmental Toxicity Study with Diethylene Glycol Dosed by Gavage to CD Rats and CD-1 Mice. Food and Chemical Toxicology. 2005 Nov;43(11):1637–46.
 18. Marraffa JM. Diethylene Glycol. In: Encyclopedia of Toxicology: Third Edition. New York: Elsevier; 2014. p. 140–2.
 19. Schep LJ, Slaughter RJ, Temple WA, Beasley DMG. Diethylene Glycol Poisoning. Vol. 47, Clinical Toxicology. 2009. p. 525–35.
 20. Ballentine C. Sulfanilamide Disaster FDA [Internet]. 1981. Available from: www.fda.gov
 21. Byers SL, Wiles M v., Dunn SL, Taft RA. Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. PLoS One. 2012 Apr 13;7(4).
 22. Almahdy A. Teratologi Eksperimental. Padang: Andalas University Press; 2012.
 23. Mulyani T, Ida Julianti C, Sihombing R. Teknik Pengujian Toksisitas Teratogenik Pada Obat Herbal. Jurnal Farmasi Udayana. 2020 Jun 26;9(1):31–6.
 24. Ulum MF, Setiadi DR, Panjaitan B, Noordin M, Amrozi. Sonographic Appearance of Abdominal Wall at the Left Flank of Laparotomy Incision Site in Ettawah Grade Does. Media Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. 2014;37(3):151–4.
 25. BPOM RI. Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan, Nomor 10 tahun 2022 Jakarta: BPOM RI; May 18, 2022.
 26. Venkatappa V V, Sharmaa Vani CR, Jayamma V, Sharma CR, Inamdar LS. Estrous Cycle in Rodents: Phases, Characteristics and Neuroendocrine regulation Estrous Cycle in Rodents: Phases, Characteristics and Neuroendocrine regulation. Karnatak University Journal of Science Page. 2020;51:40–53.
 27. Ciselia D, Setiawan A, Nita S, Salni dan, Studi DIII P, Pembina Y, et al. Efek Teratogenik Asam Salisilat pada Perkembangan Morfo-logi Fetus Mencit (*Mus musculus L.*) Swiss Webster. Jurnal Penelitian Sains. 2014;17(1).

28. Kurniasi F, Rusdi A, Kunci K. Efek Teratogenik Ikan Tuna Yang Mengandung Formalin Pada Fetus Mencit Teratogenic Effects Of Tuna Fish With Formal Dehyde On Fetal Mice. *Jurnal Kedokteran YARSI*. 2016;24(1):42–050.
29. Dillasamola D, A A, Desri A, Diliarosta S. Uji Efek Teratogenik dari Yoghurt Terhadap Fetus Mencit Putih (*Mus musculus*). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2018 Apr 1;5(1).
30. Christianty FM, Winarti L. Uji Teratogenik Campuran Serbuk Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.), Biji Kelabet (*Trigonella foenum-graecum* L.), Dan Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mey.) Pada Tikus Putih Galur Wistar. 2019;9(3).
31. Atmaningsih DT. Pengaruh Pemberian Alkohol Terhadap Sistem Rangka. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada* [Internet]. 2020;12(2). Available from: <https://akper-sandikarsa.e-journal.id/JIKSH>
32. Betina M, Mus (, Melalui L), Kelainan P, Fetus M, Sianturi S, et al. Uji Teratogenik Air Rebusan Mie Instan Selama Masa Kehamilan. *J Sains Kes* 2020. 2020;2(3):182.
33. Ezeuko V. toxic effects of antituberculosis drugs isoniazid and rifampicin on fetoplacental unit of Wistar rats: a morphological, histological and biochemical study *Orbital Index Among Igbo Ethnic group of Nigeria. Radiologic Study View project Placental Toxicology View project J Clin*. 2019;3(1).
34. Dwi O.; Yulihastuti A, Setyawati I. Penampilan Reproduksi Dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit (*Mus Musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Nanas (*Ananas comosus*) Muda. 2008.
35. Septina E. Uji Efek Teratogenik dari Ekstrak Etanol Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap Fetus Mencit Putih (*Mus musculus*). 2022.
36. Landry GM, Martin S, McMartin KE. Diglycolic acid is the nephrotoxic metabolite in diethylene glycol poisoning inducing necrosis in human proximal tubule cells in vitro. *Toxicological Sciences*. 2011 Nov;124(1):35–44.
37. Fischer MJ. Chronic Kidney Disease and Pregnancy: Maternal and Fetal Outcomes. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2007 Apr;14(2):132–45.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Penelitian

Lampiran 1a. Perhitungan dosis

1. Kelompok 1 : dosis 1662,5 mg/kgbb untuk berat mencit 20 gram

$$\frac{0,02 \text{ kgbb}}{1 \text{ kgbb}} = \frac{x}{1662,5 \frac{\text{mg}}{\text{kgbb}}}$$

$$\frac{33,25 \text{ mg}}{\text{kgbb}} = x \text{ kgbb}$$

$$x = 33,25 \text{ mg}$$

$$x = 0,03325 \text{ gram}$$

Diketahui densitas dietilen glikol = 1,118 gram/mL

$$\begin{aligned} \text{Dosis dalam mL/kgbb} &: 0,03325 \text{ gram} \div 1,118 \text{ gram/mL} \\ &= 0,028 \text{ mL} \sim 0,03 \text{ mL} \end{aligned}$$

2. Kelompok 2 : dosis 3325 mg/kgbb untuk berat mencit 20 gram

$$\frac{0,02 \text{ kgbb}}{1 \text{ kgbb}} = \frac{x}{3325 \frac{\text{mg}}{\text{kgbb}}}$$

$$\frac{66,5 \text{ mg}}{\text{kgbb}} = x \text{ kgbb}$$

$$x = 66,5 \text{ mg}$$

$$x = 0,0665 \text{ gram}$$

Diketahui densitas dietilen glikol = 1,118 gram/mL

$$\begin{aligned} \text{Dosis dalam mL/kgbb} &: 0,0665 \text{ gram} \div 1,118 \text{ gram/mL} \\ &= 0,059 \text{ mL} \sim 0,06 \text{ mL} \end{aligned}$$

3. Kelompok 3 : dosis 6650 mg/kg bb untuk berat mencit 20 gram

$$\frac{0,02 \text{ kgbb}}{1 \text{ kgbb}} = \frac{x}{6650 \frac{\text{mg}}{\text{kgbb}}}$$

$$\frac{133 \text{ mg}}{\text{kgbb}} = x \text{ kgbb}$$

$$x = 133 \text{ mg}$$

$$x = 0,1333 \text{ gram}$$

Diketahui densitas dietilen glikol = 1,118 gram/mL

$$\begin{aligned} \text{Dosis dalam mL/kgbb} &: 0,133 \text{ gram} \div 1,118 \text{ gram/mL} \\ &= 0,119 \text{ mL} \sim 0,12 \text{ mL} \end{aligned}$$

Lampiran 1b. Penimbangan berat badan induk mencit

Tabel 1. Berat badan mencit sebelum dan sesudah aklimatisasi

Hewan	Berat Badan Mencit			
	Sebelum (gram)	Sesudah (gram)	Selisih (gram)	Selisih (%)
1	27,60	29,8	2,2	7,97
2	29,00	29,8	0,8	2,76
3	27,30	27,7	0,4	1,47
4	25,70	26,5	0,8	3,11
5	27,00	28,3	1,3	4,81
6	25,50	26,9	1,4	5,49
7	26,20	26,9	0,7	2,67
8	25,40	26,0	0,6	2,36
9	26,20	26,6	0,4	1,53
10	25,80	26,5	0,7	2,71
11	24,40	25,8	1,4	5,74
12	25,20	25,3	0,1	0,40
13	27,40	28,7	1,3	4,74
14	26,10	28,2	2,1	8,05
15	26,30	27,80	1,5	5,70
16	26,20	27,80	1,6	6,11
17	24,70	25,50	0,8	3,24
18	28,00	30,00	2,0	7,14
19	28,20	29,80	1,6	5,67
20	27,70	29,10	1,4	5,05



Tabel 2. Hasil penimbangan berat badan induk mencit putih betina

Hari ke-	Kelompok kontrol					Kelompok dosis 1662,5 mg/Kgbb					Kelompok dosis 3325 mg/Kgb					Kelompok dosis 6650mg/Kgbb				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	0
0	30,0	29,8	24,7	28,1	28,6	29,1	27,7	25,0	26,3	28,2	28,9	27,0	30,9	25,5	28,3	27,3	25,9	27,2	27,5	27,1
1	30,1	30,1	24,9	28,7	30,2	29,8	27,9	25,5	26,1	29,8	29,2	27,0	32,5	26,3	29,8	27,1	26,8	27,0	27,1	27,0
2	30,9	31,4	25,5	29,3	31,1	29,1	28,0	25,0	26,0	31,0	30,1	27,6	33,3	26,4	30,6	27,4	27	27,8	28,4	28,5
3	31,7	32,0	25,7	29,6	32,4	28,9	28,3	25,5	27,0	31,7	30,5	27,5	34,6	26,1	31,3	28,4	27,5	28,0	28	29,4
4	31,8	32,1	26,0	30,3	35,3	29,2	28,4	25,2	27,3	32,8	31,7	28,1	34,3	27,0	32,3	29,0	28,0	28,7	28,2	27,8
5	32,1	32,3	26,2	31,1	37,8	30,4	28,5	26,0	28,2	31,3	32,8	27,9	36,5	28,5	33,5	29,1	28,2	29,8	27,6	27,3
6	32,8	32,8	26,4	32,3	38,2	30,1	28,9	26,0	28,5	32,1	33,2	28,6	34,8	28,2	34,0	30,2	28,5	29,0	28,9	28,7
7	34,0	33,0	27,3	34,5	39,7	30,7	29,2	26,6	28	34,3	33,2	29,1	34,9	28,3	33,3	31,1	28,7	28,7	29,3	28,5
8	34,4	34,1	28,9	35,6	40,0	31,5	30,7	26,4	29,7	35,4	33,5	29,3	35,3	29,5	35,2	31,0	30,4	31,0	30,3	31,6
9	35,1	34,5	29,2	37,1	42,1	31,3	30,9	27,5	29,8	37,6	33	30,4	38,0	30,1	35,9	33,5	31,6	30,5	30,7	31,5
10	36,6	35,9	30,7	38,5	43,8	33,0	31,1	28,8	30,1	38,2	35,5	29,8	39,3	32,1	36,5	34,3	33,2	31,4	33,0	34,2
11	38,8	37,4	31,8	40,0	44,5	32,9	32,7	30,8	30,8	39,3	35,8	30,2	40,2	35,5	37,3	38,1	34	32,3	34,2	33,2
12	41,2	39,1	36,0	41,4	45,8	33,3	32,6	32,6	23,7	40,5	37,9	31,2	41,4	35,7	38,7	38,5	36,7	33,1	33,1	35,2
13	43,9	40,1	39,6	43,5	47,3	36,0	34,5	33,8	34,5	44,2	40	31,8	43,5	36,4	40,3	40,9	38,3	34,7	36,7	37,0
14	46,1	42,9	44,3	44,3	48,4	38,3	36,1	35,1	38,3	46,0	41,5	33,5	44,6	36,6	43,6	42,4	40,3	37,1	39,6	38,7
15	48,9	44,6	46,1	46,5	50,1	43,0	39,2	36,4	39,2	45,0	42	34,8	45,7	37,3	44,0	44,6	41,4	38,3	43,0	40,6
16	53,1	48,0	46,2	48,2	51,3	43,5	41,5	39,2	43,5	45,8	45,6	36,2	46,0	38,0	47,0	47,1	42,3	41,3	46,0	43,0
17	54,9	52,3	46,1	50,3	52,7	45,8	44,6	40,5	44,0	46,2	47,2	42,0	47,0	41,0	48,3	48,0	44,5	44,2	42,5	44,7
18	55,2	53,1	50,1	52,5	54,6	46,5	46,0	41,3	45,0	47,0	47	44,0	47,5	44,0	47,6	49,0	45,0	48,7	43,0	46,0
Rata rata	39,0	37,6	33,4	37,9	41,7	34,3	32,9	30,3	31,8	37,7	36,2	31,3	38,9	32,2	37,2	35,6	33,5	33,0	33,5	33,6

Tabel 3. Pertambahan berat badan induk mencit betina per hari

Hari ke-	Kelompok kontrol					Kelompok dosis 1662,5 mg/kgbb					Kelompok dosis 3325 mg/kgbb					Kelompok dosis 6650 mg/kgbb				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	0
1	0,1	0,3	0,2	0,6	1,6	0,7	0,2	0,5	-0,2	1,6	0,3	0	1,6	0,8	1,5	-0,13	0,9	-0,2	-0,4	-0,1
2	0,8	1,3	0,6	0,6	0,9	-0,7	0,1	-0,5	-0,1	1,2	0,9	0,6	0,8	0,1	0,8	0,23	0,2	0,8	1,3	1,5
3	0,8	0,6	0,2	0,3	1,3	-0,2	0,3	0,5	1,0	0,7	0,4	-0,1	1,3	-0,3	0,7	1,0	0,5	0,2	-0,4	0,9
4	0,1	0,1	0,3	0,7	2,9	0,3	0,1	-0,3	0,3	1,1	1,2	0,6	-0,3	0,9	1,0	0,6	0,5	0,7	0,2	-1,6
5	0,3	0,2	0,2	0,8	2,5	1,2	0,1	0,8	0,9	-1,5	1,1	-0,2	2,2	1,5	1,2	0,1	0,2	1,1	-0,6	-0,5
6	0,7	0,5	0,2	1,2	0,4	-0,3	0,4	0,0	0,3	0,8	0,4	0,7	-1,7	-0,3	0,5	1,1	0,3	-0,8	1,3	1,4
7	1,2	0,2	0,9	2,2	1,5	0,6	0,3	0,6	-0,5	2,2	0,0	0,5	0,1	0,1	-0,7	0,9	0,2	-0,3	0,4	-0,2
8	0,4	1,1	1,6	1,1	0,3	0,8	1,5	-0,2	1,7	1,1	0,3	0,2	0,4	1,2	1,9	-0,1	1,7	2,3	1,0	3,1
9	0,7	0,4	0,3	1,5	2,1	-0,2	0,2	1,1	0,1	2,2	-0,5	1,1	2,7	0,6	0,7	2,5	1,2	-0,5	0,4	-0,1
10	1,5	1,4	1,5	1,4	1,7	1,7	0,2	1,3	0,3	0,6	2,5	-0,6	1,3	2,0	0,6	0,8	1,6	0,9	2,3	2,7
11	2,2	1,5	1,1	1,5	0,7	-0,1	1,6	2	0,7	1,1	0,3	0,4	0,9	3,4	0,8	3,8	0,8	0,9	1,2	-1,0
12	2,4	1,7	4,2	1,4	1,3	0,4	-0,1	1,8	-7,1	1,2	2,1	1	1,2	0,2	1,4	0,4	2,7	0,8	-1,1	2
13	2,7	1	3,6	2,1	1,5	2,7	1,9	1,2	10,8	3,7	2,1	0,6	2,1	0,7	1,6	2,4	1,6	1,6	3,6	1,8
14	2,2	2,8	4,7	0,8	1,1	2,3	1,6	1,3	3,8	1,8	1,5	1,7	1,1	0,2	3,3	1,5	2,0	2,4	2,9	1,7
15	2,8	1,7	1,8	2,2	1,7	4,7	3,1	1,3	0,9	-1	0,5	1,3	1,1	0,7	0,4	2,2	1,1	1,2	3,4	1,9
16	4,2	3,4	0,1	1,7	1,2	0,5	2,3	2,8	4,3	0,8	3,6	1,4	0,3	0,7	3	2,5	0,9	3,0	3,0	2,4
17	1,8	4,3	-0,1	2,1	1,4	2,3	3,1	1,3	0,5	0,4	1,6	5,8	1,0	3,0	1,3	0,9	2,2	2,9	-3,5	1,7
18	0,3	0,8	4	2,2	1,9	0,7	1,4	0,8	1,0	0,8	-0,2	2	0,5	3,0	-0,7	1,0	0,5	4,5	0,5	1,3
Rata rata	1,40	1,29	1,41	1,36	1,44	0,97	1,02	0,91	1,04	1,04	1,01	0,94	0,92	1,03	1,07	1,21	1,06	1,19	0,86	1,05

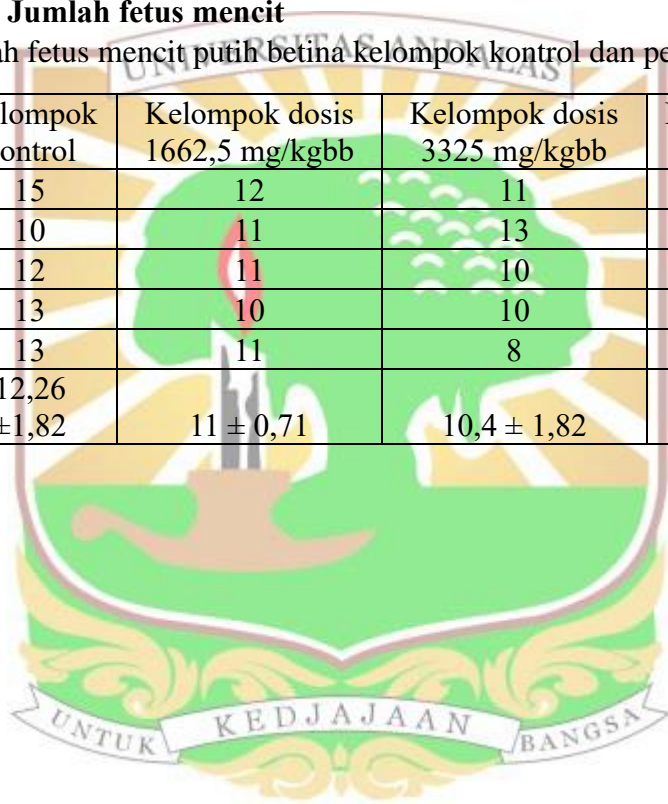
Tabel 4. Selisih kenaikan berat badan induk mencit putih betina

No	Kelompok kontrol	Kelompok dosis 1662,5 mg/kgbb	Kelompok dosis 3325 mg/kgbb	Kelompok dosis 6650 mg/kgbb
1	25,20	17,40	18,10	21,70
2	23,30	18,30	17,00	17,00
3	25,40	16,30	16,60	16,60
4	24,40	18,70	18,50	15,50
5	26,00	18,80	19,30	18,90
$\bar{X} \pm SD$	24,86 \pm 1,04	17,9 \pm 1,05	17,9 \pm 1,10	17,94 \pm 2,43

Lampiran 1c. Jumlah fetus mencit

Tabel 1. Jumlah fetus mencit putih betina kelompok kontrol dan perlakuan

No	Kelompok kontrol	Kelompok dosis 1662,5 mg/kgbb	Kelompok dosis 3325 mg/kgbb	Kelompok dosis 6650 mg/kgbb
1	15	12	11	11
2	10	11	13	12
3	12	11	10	13
4	13	10	10	7
5	13	11	8	8
$\bar{X} \pm SD$	12,26 \pm 1,82	11 \pm 0,71	10,4 \pm 1,82	10,2 \pm 2,59



Lampiran Id. Berat badan fetus mencit

Tabel 1. Berat badan fetus mencit putih betina kelompok kontrol

Kelompok Kontrol	Berat badan (gram)															$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Mencit 1	0,90	0,90	1,00	0,90	1,10	1,10	1,00	1,00	0,80	1,20	1,30	1,20	1,10	1,00	0,90	1,02 ± 0,09
Mencit 2	1,30	1,20	1,20	0,90	1,10	1,10	0,90	0,90	1,20	1,20	-	-	-	-	-	1,10 ± 0,15
Mencit 3	0,80	1,00	1,30	1,30	1,40	1,10	1,10	1,30	1,10	1,20	1,20	1,30	-	-	-	1,18 ± 0,17
Mencit 4	0,70	0,70	0,90	1,00	0,90	0,60	0,90	0,90	0,90	0,80	1,00	1,00	0,70	-	-	0,85 ± 0,13
Mencit 5	1,10	1,20	1,00	1,10	1,20	0,90	1,20	1,10	1,10	1,00	0,90	1,10	1,00	-	-	1,07 ± 0,10

Tabel 2. Berat badan fetus kelompok 1662,5 mg/kgbb

Kelompok dosis 1662,5 mg/kgBB	Berat badan (gram)															$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Mencit 1	1,00	1,00	0,80	0,90	1,20	1,10	1,10	0,80	0,90	0,90	1,00	0,90	-	-	-	0,97 ± 0,12
Mencit 2	0,90	0,80	1,10	0,70	0,90	0,90	0,60	1,10	1,10	0,60	1,30	-	-	-	-	0,91 ± 0,23
Mencit 3	0,70	0,90	0,90	0,80	0,70	0,10	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	-	-	-	-	0,74 ± 0,22
Mencit 4	1,10	1,10	1,00	1,20	1,00	1,00	1,00	0,90	1,00	0,90	-	-	-	-	-	1,02 ± 0,09
Mencit 5	0,90	0,80	0,70	0,80	0,90	0,90	0,90	1,10	1,10	1,00	1,00	-	-	-	-	0,92 ± 0,13

Tabel 3. Berat badan fetus kelompok 3325 mg/kgbb

Kelompok dosis 3325 mg/kgBB	Berat badan (gram)															$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Mencit 1	0,60	0,90	1,00	0,60	0,70	1,00	0,70	0,60	0,60	1,00	0,90	-	-	-	-	0,78 ± 0,18
Mencit 2	0,80	0,70	0,60	0,80	0,90	0,90	0,90	0,80	0,60	0,60	0,60	0,80	0,90	-	-	0,76 ± 0,13
Mencit 3	0,60	0,90	1,00	0,90	1,00	0,60	0,60	0,70	1,00	0,90	-	-	-	-	-	0,82 ± 0,18
Mencit 4	1,20	1,20	1,20	1,20	1,10	1,10	1,00	1,00	0,90	1,00	-	-	-	-	-	1,09 ± 0,11
Mencit 5	1,20	1,00	1,20	1,20	1,20	1,20	1,10	1,10	-	-	-	-	-	-	-	0,15 ± 0,07

Tabel 4. Berat badan fetus kelompok 6650 mg/kgbb

Kelompok dosis 6650 mg/kgBB	Berat badan (gram)															$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Mencit 1	1,10	0,80	0,70	1,10	0,90	0,70	0,90	0,80	1,00	0,90	1,10	-	-	-	-	0,91 ± 0,15
Mencit 2	0,70	0,90	0,60	0,60	0,70	0,80	0,80	0,80	0,60	0,70	0,80	1,00	-	-	-	0,75 ± 0,12
Mencit 3	0,70	0,70	0,80	0,70	0,70	0,60	0,60	0,60	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	-	-	0,68 ± 0,05
Mencit 4	1,00	0,90	0,80	0,70	0,90	0,80	0,80	-	-	-	-	-	-	-	-	0,84 ± 0,10
Mencit 5	1,10	0,70	1,10	0,90	0,80	0,90	0,90	0,80	-	-	-	-	-	-	-	0,90 ± 0,14

Tabel 5. Rata rata berat fetus

No	Kelompo kontrol	Kelompok dosis 1662,5mg/kgbb	Kelompok dosis 3325mg/kgbb	Kelompok dosis 6650mg/kgbb
1	1,03	0,99	0,78	0,91
2	1,1	0,91	0,76	0,75
3	1,18	0,74	0,82	0,68
4	0,85	1,02	1,09	0,84
5	1,07	0,92	1,15	0,9
$\bar{X} \pm$ SD	1,05 \pm 0,12	0,77 \pm 0,11	0,78 \pm 0,19	0,70 \pm 0,10



Lampiran 1e. Kelainan morfologi dan skeletal

Tabel 1. Pengamatan kelainan morfologi fetus pada masing-masing kelompok

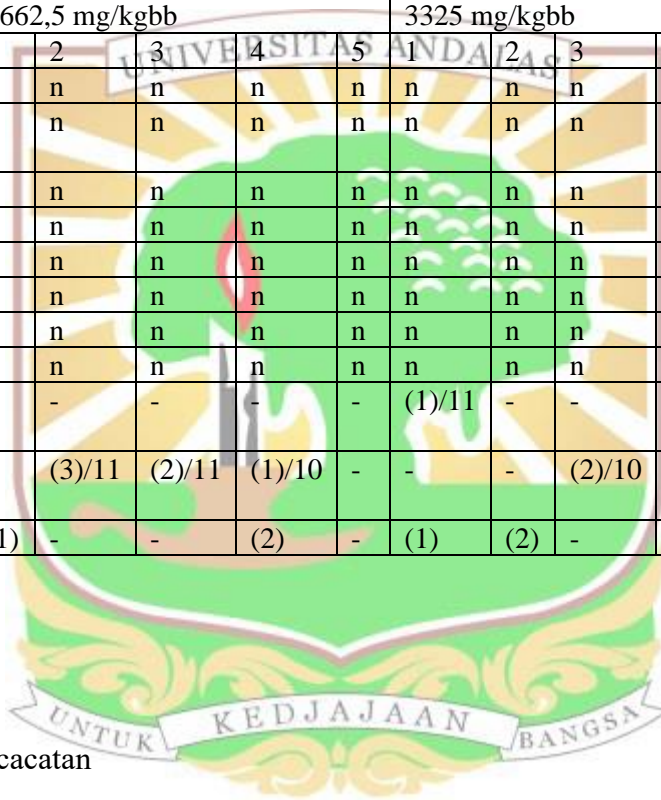
No	Pengamatan	Kelompok kontrol					Kelompok dosis 1662,5 mg/kgbb					Kelompok dosis 3325 mg/kgbb					Kelompok dosis 6650 mg/kgbb				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Kepala	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
2	Kelopak mata	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
3	Telinga	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
4	<i>Cleft palate</i>	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
5	Kaki	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
6	Tangan	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
7	Ekor	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
8	Kulit	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
9	Tapak resorpsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(1)/11	-	-	-	-	-	(1)/12	-	-	-
10	Lambat pertumbuhan	-	-	-	-	-	(3)/11	(2)/11	(1)/10	-	-	-	(2)/10	(4)/10	-	(5)/11	(3)/12	-	-	(1)/8	-
11	Hemoragi	-	-	-	-	(1)	-	-	(2)	-	(1)	(2)	-	-	(2)	(2)	-	(3)	(1)	-	

Keterangan :

(n) = normal

(-) = tidak terdapat cacat

(angka) = jumlah fetus yang mengalami kecacatan



Tabel 2. Pengamatan kelainan skeletal fetus pada masing-masing kelompok

No	Pengamatan	Jumlah Tulang yang Teridentifikasi																			
		Kelompok kontrol					Kelompok dosis 1662,5 mg/kgbb					Kelompok dosis 3325 mg/kgbb					Kelompok dosis 6650 mg/kgbb				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Frontal (F)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	Parietal (P)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
3	Intraparietal (Ip)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	Exooccipital (Eo)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	Supraoccipital (So)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	Nasal (N)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1*	1	1	1	1
7	Pre-Maxilla(PreM)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	Mandibular (Mn)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9	Cervical (Cv)	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
10	Thoracoc (Tv)	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
11	Lumbar (Lv)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
12	Sacral (Sv)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
13	Caudal (Cuv)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Sternum (St)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5*	6	6	6	6	6*	6	5*	6	6
15	Rusuk (Ri)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
16	Ulna (U)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
17	Radius (R)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
18	Humerus (H)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
19	Femur (Fe)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
20	Tibia (Ti)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
21	Fibula (Fi)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
22	Metatarsal (Mt)	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5	8	8	8	8	6	8	4	8	8

23	Metacarpal (Mc)	8	8	8	8	8	8	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
24	Phalang (Ph)	16	16	16	16	16	16	-	16	15	-	14	-	8	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

(*) = tidak normal

(-) = tidak ada

(angka) = jumlah tulang



Lampiran 2. Perhitungan dan hasil uji statistik

Lampiran 2a. Data Hasil SPSS

Tabel 1. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk berat badan induk mencit

	Mencit	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Selisih BB mencit	Kontrol	.228	5	.200*	.952	5	.754
	1662,5 mg/kgBB	.248	5	.200*	.883	5	.322
	3325 mg/kgBB	.237	5	.200*	.943	5	.690
	6650 mg/kgBB	.250	5	.200*	.923	5	.548

Tabel 2. Hasil uji homogenitas berat badan induk mencit

		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
Selisih BB mencit	Based on Mean	2.027	3	16	.151
	Based on Median	.695	3	16	.568
	Based on Median and with adjusted df	.695	3	9.974	.576
	Based on trimmed mean	1.899	3	16	.171

Tabel 3. Hasil uji ANOVA terhadap berat badan induk mencit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	188.566	3	62.855	22.792	<.001
Within Groups	44.124	16	2.758		
Total	232.690	19			

Tabel 4. Hasil uji statistik lanjutan Duncan pada berat badan induk mencit

Mencit	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3325 mg/kgBB	5	17.5000	
1662,5 mg/kgBB	5	17.9000	
6650 mg/kgBB	5	17.9400	
Kontrol	5		24.8600
Sig.		.697	1.000

Tabel 5. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk berat badan fetus

BB fetus	Mencit	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	kontrol	.248	5	.200*	.928	5	.584
	1662,5 mg/kgBB	.278	5	.200*	.892	5	.365
	3325 mg/kgBB	.217	5	.200*	.930	5	.597
	6650 mg/kgBB	.202	5	.200*	.909	5	.463

Tabel 6. Hasil uji homogenitas berat badan fetus

BB fetus		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
	Based on Mean	2.516	3	16	.095
	Based on Median	1.624	3	16	.223
	Based on Median and with adjusted df	1.624	3	10.388	.243
	Based on trimmed mean	2.574	3	16	.090

Tabel 7. Hasil uji ANOVA terhadap berat badan fetus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.185	3	.062	2.514	.095
Within Groups	.393	16	.025		
Total	.578	19			

Tabel 8. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk jumlah fetus mencit

	mencit	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah fetus	1	.213	5	.200*	.963	5	.826
	2	.372	5	.022	.828	5	.135
	3	.213	5	.200*	.963	5	.826
	4	.221	5	.200*	.915	5	.501

Tabel 9. Hasil uji homogenitas jumlah fetus mencit

		Levene		Sig.	
		Statistic	df1		df2
Jumlah fetus	Based on Mean	1.805	3	16	.187
	Based on Median	.985	3	16	.425
	Based on Median and with adjusted df	.985	3	14.172	.428
	Based on trimmed mean	1.803	3	16	.187

Tabel 10. Hasil uji ANOVA terhadap jumlah fetus mencit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.800	3	5.933	1.637	.220
Within Groups	58.000	16	3.625		
Total	75.800	19			

Lampiran 3 Data penunjang
Lampiran 3a. Sertifikat etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ANDALAS
FAKULTAS FARMASI

Alamat : Gedung Fakultas Farmasi Lt.3, Limau Manis Padang Kode Pos 25163
Telepon : 0751-71682, Faksimile : 0751-777057
Laman: <http://farmasi.unand.ac.id> e-mail : dekan@phar.unand.ac.id

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
Nomor : 08/UN.16.10.D.KEPK-FF/2023

Tim Komisi Etik Fakultas Farmasi Universitas Andalas, dalam upaya melindungi Hak Azasi dan Kesejahteraan Subjek Penelitian Kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul: *The research ethics committee of Faculty of Pharmacy Universitas Andalas, in order to protect rights and welfare of health research subject, has carefully reviewed the research protocol entitled:*

Pengaruh Teratogen Dietilen Glikol pada Morfologi Fetus Mencit Putih (*Mus Muculus L.*)
*The Teratogenic Effect of Diethylene Glycol on Fetus Morphology of White Mice (*Mus Muculus L.*)*

Nama Peneliti Utama : Joyce Artha Roslina Siregar
Principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Institution

Protokol tersebut dapat disetujui pelaksanaannya.
And approved the research protocol.

Padang, 24 Februari 2023

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Dean of Faculty of Pharmacy Universitas Andalas



Prof. Apt. Fatma Sri Wahyuni, Ph.D
NIP. 19740413 200604 2 001

Ketua
Chairman.

Prof. Dr. Apt. Almahdy A., MS
NIP. 19580126 198703 1 003

Keterangan/ notes:

Keterangan kaji etik ini berlaku satu tahun sejak tanggal persetujuan.

This ethical approval is effective for one year from the issued date.

Jika ada kejadian serius yang tidak diinginkan (KTD), harus segera dilaporkan kepada Komisi Etik Penelitian.

If there are serious adverse events (SAE), should be immediately reported to the Research Ethics Committee.

Lampiran 3b. *Technical Data Sheet* Dietilen Glikol



TECHNICAL DATA SHEET

DI ETHYLENE GLYCOL

ALTERNATE NAMES

Ethylene Diglycol; Diglycol; Glycol Ether; Glycol Ethyl Ether, Carbitol

SPECIFICATION

Colour, Pt-Co	: 10 max
Water, %w/w	: 0.1 max
MEG, %w/w	: 0.05 max
TEG, %w/w	: 0.1 max
Purity, %w/w (dry basis)	: 99.7 min

TYPICAL PROPERTIES

Physical State	: Liquid
Color	: Clear Colorless
Odor	: Sweet
Flash Point - Closed Cup	: 154 °C (309 °F) <i>Literature</i>
Flammable Limits In Air Lower	: 2.0 %(V) <i>Calculated</i>
Upper	: 12.3 %(V) <i>Estimated</i>
Autoignition Temperature	: 364 °C (687 °F) <i>Literature</i>
Vapor Pressure	: 0.002 mmHg @ 20 °C <i>Literature</i>
Boiling Point (760 mmHg)	: 245 °C (473 °F) <i>Literature</i>
Vapor Density (air = 1)	: 3.65 <i>Literature</i>
Specific Gravity (H2O = 1)	: 1.118 <i>Literature</i>
Freezing Point	: -9 °C (16 °F) <i>Literature</i>
Solubility in Water (by weight)	: 100 % @ 20 °C <i>Literature</i>
Molecular Weight	: 106.12

USES

Diethylene glycol is used in the manufacture of unsaturated polyester resins, polyurethanes, plasticizers, as a building block in organic synthesis, e.g. of morpholine and 1,4-dioxane. It is a solvent for nitrocellulose, resins, dyes, oils, other organic compounds, a humectant for tobacco, cork, printing ink, glue and in brake fluid,

STORAGE

Store in a cool, dry, well-ventilated place.

DATA REV : 1 (Oct 18 2016)

PT. POLYCHEM INDONESIA Tbk
Wisma BNI 46 Lt.20, Jl. Jendral Sudirman Kav. 1, Jakarta 10220 – INDONESIA.
Office Telephone : + 62 (021) 574 4848 (Hunting); Fax : + 62(021) 57945 832-57945 833

Lampiran 3c. Skema kerja

