

## **KELAINAN STRUKTUR ANATOMI SKELETON FETUS MENCIT AKIBAT KAFEIN**

**Heri Budi Santoso**

Program Studi Biologi  
Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat  
Jl. A. Yani Km 35,8 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

### **ABSTRAK**

Kafein yang dikonsumsi oleh wanita hamil dengan pola yang tidak beraturan menimbulkan berbagai penyakit. Mengingat kafein memiliki kemampuan menurunkan aktivitas enzim polimerase DNA, menginduksi mitosis pada sel-sel mamal sebelum replikasi DNA berakhir sempurna, serta menghambat aktivitas enzim fosfodiesterase (Beck & Urbano, 1991), maka diduga kafein potensial menimbulkan kelainan perkembangan embrio. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek pemberian kafein secara oral pada induk mencit bunting selama masa organogenesis terhadap struktur anatomi skeleton fetus mencit. Dua puluh empat ekor mencit bunting yang dikelompokkan secara acak menjadi empat kelompok diberi kafein secara oral dengan dosis 40, 80, 120 mg/kg bb/hari dan kontrol diberi akuades selama masa organogenesis mulai hari ke 6 sampai hari ke 15 kebuntingan. Pada hari ke 18 kebuntingan dilakukan pembedahan pada bagian perut untuk mengeluarkan fetus dari uterus. Skeleton yang diamati meliputi pertumbuhan dan ada tidaknya kelainan secara anatomis pada skeleton appendiculare dan skeleton axiale setelah skeleton diwarnai dengan *Alcian Blue-Alizarin Red S* menurut metode Inouye. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kafein menyebabkan terbentuknya "jembatan costae", ekor bengkok, kaki torsi, serta terhambatnya penulangan pada sternum, metacarpus, metatarsus fetus mencit.

Kata kunci : *kafein, skeleton, Alcian Blue-Alizarin Red S*

## **PENDAHULUAN**

Penelitian tentang efek teratogenik kafein dimulai semenjak ditemukan tiga kasus cacat pada bayi di Amerika Serikat, yaitu ektradaktili dari ibu yang mengkonsumsi kopi antara 19-30 mg/kg bb/hari selama kehamilannya (Jacobson dkk., 1981). Namun, mengingat kafein bersifat teratogen tidak spesifik sehingga dimungkinkan adanya jenis cacat lain yang ditemukan pada berbagai organ.

Menurut Beck & Urbano (1991), kafein mampu mengintervensi mitosis yaitu menurunkan aktivitas enzim polimerase DNA, menginduksi mitosis pada sel mamal sebelum replikasi DNA pada fase sintesis, dan menghambat aktivitas enzim fosfodiesterase. Diduga kafein dapat menghambat proses osteogenesis dan potensial menyebabkan kelainan perkembangan embrio.

## **BAHAN DAN METODE**

Dalam penelitian ini digunakan 24 mencit galur DDY umur 3 bulan dan berat badan 25 gram. Mencit bunting diperoleh dengan menempatkan empat ekor mencit betina dalam satu kandang bersama seekor jantan fertil. Kebuntingan hari ke-0 ditandai adanya sumbat vagina pada mencit betina (Kaufman, 1992).

Mencit bunting 24 ekor dikelompokkan dalam 4 kelompok. Kelompok I (kontrol) diberi 0,5 ml akuades, sedangkan kelompok II, III, dan IV masing-masing dicekok kafein 40, 80, 120 mg per berat badan secara oral selama 10 hari, yaitu mulai kebuntingan hari ke-6 hingga ke-15 (masa organogenesis).

Pada kebuntingan hari ke-18 seluruh hewan uji dibedah. Fetus dikeluarkan dari uterus, difiksasi dalam alkohol 96%, selanjutnya dilakukan preparasi skeleton dengan pewarna *Alcian Blue-Alizarin Red S* menurut metode Inouye yang dimodifikasi. Data pertumbuhan ruas tulang sternum, metacarpus, dan metatarsus fetus dianalisis dengan Anava satu arah dan hasil yang bermakna diuji beda dengan *Duncan Multiple Range Test*. Jumlah fetus dengan kelainan anatomis dianalisis dengan uji Kai Kuadrat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Efek Kafein terhadap Struktur Anatomi Skeleton

Kelainan struktur anatomi skeleton yang ditemukan adalah tungkai belakang torsi, ekor bengkok, dan terbentuknya “jembatan costae” pada costae (Tabel 1). Kelainan tersebut terjadi hanya pada perlakuan IV (120 mg/kg bb/hari) sebanyak 3 ekor atau 7,5%. Gambaran skeleton fetus secara umum disajikan pada Gambar 1. Uji Kai Kuadrat menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $P < 0,05$ ) antara kelompok IV dan kelompok kontrol.

Tabel 1. Kelainan Struktur Anatomi fetus mencit dari induk yang diberi kafein secara oral selama masa organogenesis

Kel	Dosis (mg/kg bb/hr)	Induk (ekor)	Jumlah fetus (ekor)					
			Hidup	Mati	Resorpsi	Tungkai torsi	Ekor Bengkok	Jembatan costae
I	0	6	60	-	-	-	-	-
II	40	6	58	-	-	-	-	-
II	80	6	54	-	-	-	-	-
IV	120	6	36	4	6	3	3	3

Ekor bengkok (Gambar 2) terjadi karena kelainan struktur anatomis vertebra ekor: vertebra lebih kecil dan jarak antar vertebra berhimpitan. Diduga kelainan ini dimulai sejak awal pembentukan blastema vertebra. Menurut Stazi dkk. (1992) pembentukan vertebra dimulai sejak kebuntingan 10 hari. Pada saat ini sel-sel mesenkim dari skerotom bermigrasi ke arah medial mengelilingi korda dorsalis dan berkembang menjadi blastema sentrum dari satu vertebra. Tiap sentrum dibangun oleh sel-sel yang berasal dari somit yang berurutan. Hambatan pada migrasi mesenkim dari salah satu arah menyebabkan struktur anatomi sentrum yang terbentuk mengalami kelainan berupa ukuran yang lebih kecil dan jarak yang berhimpitan. Kelainan tersebut menyebabkan terhambatnya pertumbuhan arcus dan processus yang merupakan tonjolan sentrum. Terhambatnya pertumbuhan sentrum,

arcus dan processus menyebabkan vertebra ekor kecil dan kurang tegar, sehingga bisa terjadi pembengkokan berlebihan jika selama perkembangannya terdapat gangguan fisik atau mekanik.

“Jembatan costae” diduga disebabkan gangguan mitosis. Menurut Beck & Urbano (1991) kafein menurunkan aktivitas polimerase DNA dan menginduksi mitosis sebelum replikasi DNA berakhir pada fase sintesis. Polimerase DNA berfungsi mempolimerisasi nukleotida. Jika aktivitas enzim ini menurun, biosintesis/replikasi DNA terhambat atau tidak sempurna, sehingga penggandaan kromosom dan sintesis RNA terganggu, dan akhirnya dapat terbentuk jenis protein baru atau asing. Protein baru dapat membuat protein asal bertambah atau hilang sehingga mengacaukan organogenesis. Jadi, kelainan berupa “jembatan costae” diduga karena adanya gangguan ekspresi gen, sehingga terbentuk protein baru untuk pembentukan “jembatan costae”.

### **Efek Kafein terhadap Pertumbuhan Skeleton**

Pengamatan terhadap pertumbuhan skeleton appendiculare dan skeleton axiale dilakukan setelah skeleton diwarnai dengan *Alcian Blue 8 GS-Alizarin Red S*. Alcian Blue akan mewarnai tulang rawan menjadi biru, sedangkan Alizarin Red S akan mewarnai tulang rawan yang mengalami penulangan atau ruas yang mengalami penulangan menjadi merah (Gambar 1).

Skeleton menunjukkan hambatan pertumbuhan ruas sternum, metacarpus, dan metatarsus yang ditandai lebih sedikitnya ruas yang mengalami penulangan (warna merah pada ruas tulang) dibandingkan kontrol. Tidak ada hambatan pada ruas vertebrae. Pada costae tidak ada hambatan pertumbuhan, sebab di semua perlakuan ditemukan 13 ruas. Namun terbentuk jembatan costae, yaitu penulangan yang menghubungkan costae satu dengan yang lain.

Jumlah ruas sternum, metacarpus dan metatarsus disajikan pada Tabel 2. Peningkatan kafein hingga 120 mg/kg bb/hari secara bermakna ( $P < 0,05$ ) menghambat pertumbuhan ruas tulang sternum, metacarpus dan metatarsus.

Tabel 2. Rerata jumlah ruas sternum, metacarpus dan metatarsus yang mengalami penulangan pada fetus dari induk yang diberi kafein selama masa organogenesis

Kel	Dosis (mg/kg bb/hr)	Fetus yang diamati (ekor)	Jumlah penulangan (ruas)		
			Sternum	Metacarpus	Metatarsus
I	0	30	5,83 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>
II	40	29	5,50 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>
II	80	27	4,46 <sup>b</sup>	2,45 <sup>b</sup>	2,43 <sup>b</sup>
IV	120	20	3,60 <sup>c</sup>	1,69 <sup>c</sup>	2,32 <sup>b</sup>

Huruf berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan bermakna

Hambatan pertumbuhan tulang disebabkan gangguan mitosis di pusat penulangan jaringan kartilago akibat meningkatnya cAMP pada sel dan jaringan tersebut. Menurut Pozner dkk. (1986) pertumbuhan sel berhubungan dengan konsentrasi cAMP. Reduksi cAMP diikuti oleh peningkatan pertumbuhan, sebaliknya peningkatan cAMP menurunkan akselerasi pertumbuhan sel. Kafein menurut Beck & Urbano (1991) menghambat aktivitas enzim fosfodiesterase yang menghidrolisis cAMP, sehingga hidrolisis cAMP tertunda yang berakibat peningkatan konsentrasi cAMP dalam sel dan jaringan fetus.

Menurut Ham & Cormack (1979), di pusat penulangan terdapat kartilago yang mengalami kalsifikasi. Kalsifikasi terjadi apabila kondrosit mengalami hipertrofi, lingkungan basa, ada substansi interseluler organik yang berafinitas terhadap garam kalsium, ada enzim fosfatase alkalin, dan cukup ion kalsium serta fosfat dalam cairan tubuh (Subowo, 1992). Jika salah satu kondisi tadi tidak terpenuhi, karena gangguan fungsional pada sel yang berperan dalam osteogenesis akibat peningkatan cAMP di dalam sel dan jaringan kartilago, maka kalsifikasi terhambat dan menyebabkan hambatan pertumbuhan tulang.

## KESIMPULAN

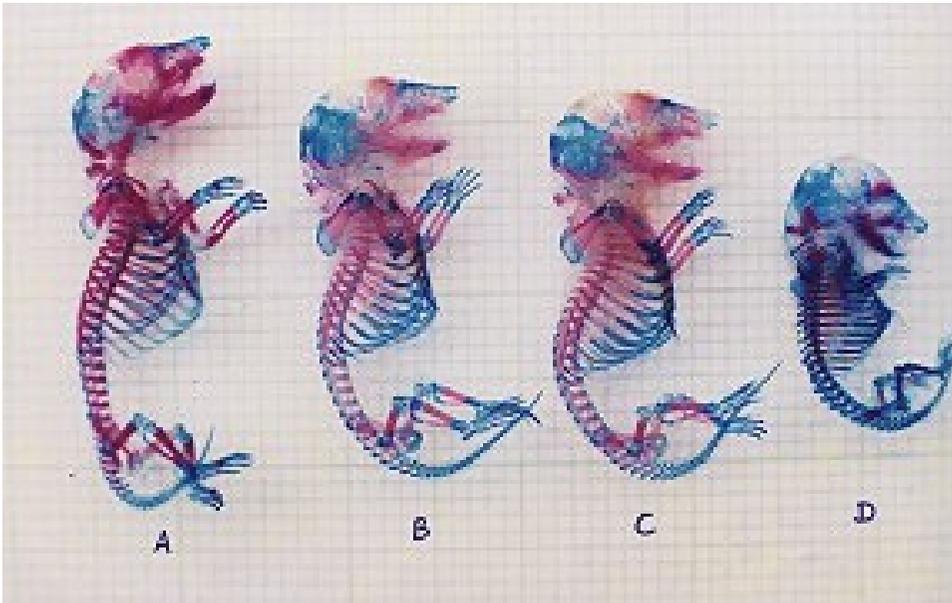
Kafein yang diberikan secara oral pada induk mencit bunting selama masa organogenesis dapat menyebabkan kelainan struktur anatomi pada skeleton fetus yaitu tungkai belakang torsi, ekor bengkok, terbentuknya jembatan costae pada costae, dan menghambat penulangan pada sternum, metacarpus, serta metatarsus fetus.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang mendanai penelitian ini melalui Penelitian Dosen Muda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Beck, S.L. & C.M. Urbano. 1991. Potentiating effect of caffeine on the teratogenicity of acetazolamide in C57BL/6J mice. *Teratology* 44: 241-259.
- Ham, A.W. & D.H. Cormack. 1979. *Histology*. 8 th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- Inouye, M. 1976. Differential staining of cartilage & bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue & Alizarin Red S. *Congenital Anomalies*. 161(3): 171-173
- Kaufman, M.H. 1992. *The Atlas of Mouse Development*. Academic Press Limited, London.
- Pozner, J.A.B., A.E. Papatestas, R. Fagerstrom, I. Schwartz, J. Saevitz, M. Feinberg, A.H. Anfsea. 1986. Association of tumor differentiation with caffeine intake in woman with breast cancer. *Surgery* 100(3): 482-486
- Stazi, A.V., C. Macri, C. Ricciardi, & A. Mantovani. 1992. Significance of the minor alterations of the axial skeleton in rat fetuses. A short review. *Cong. Anom.* 23: 91-104.
- Subowo. 1992. *Histologi Umum*. PAU Ilmu Hayati ITB - Bumi Aksara, Jakarta.



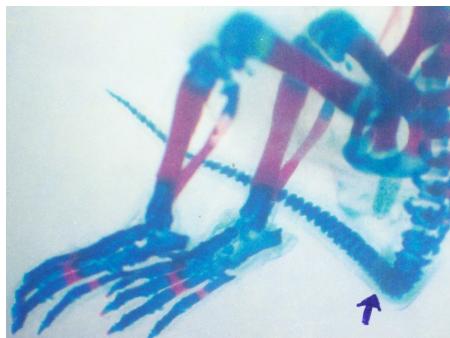
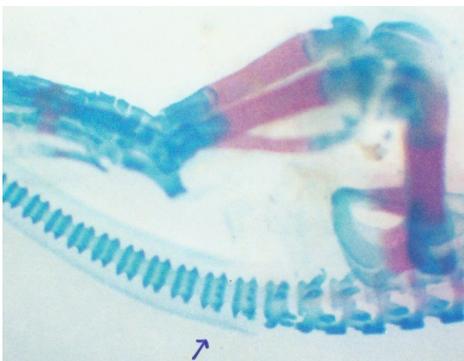
Gambar 1. Skeleton fetus dengan pengecatan Alcian Blue-Alizarin Reds. Tulang terpulasa merah, kartilago warna biru.

A = kontrol, osteogenesis sempurna;

B = perlakuan II (40 mg/kg BB/hari);

C = perlakuan III (80 mg/kg BB/hari);

D = perlakuan IV (120 mg/kg BB/hari), osteogenesis terhambat (indikasi: dominan terpulasa warna biru)



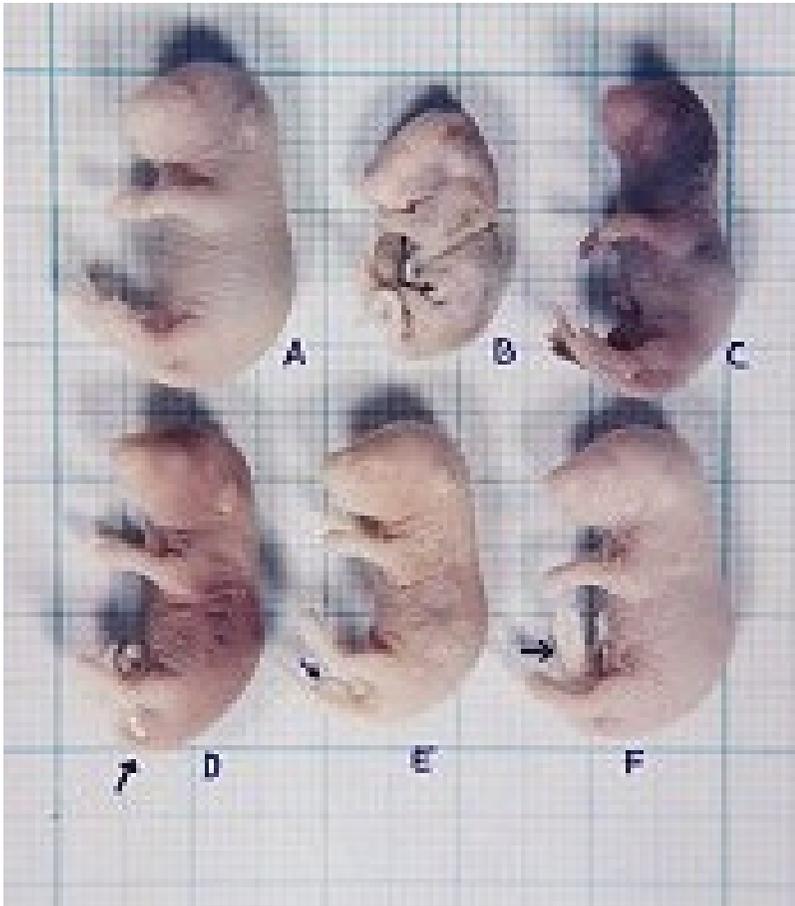
A

B

Gambar 2. Fotomikrograf ekor fetus

A = kontrol; vertebra ekor normal;

B = perlakuan IV (120 mg kafein/kg bb/hari), vertebra bengkok, lebih kecil dan jarak antar vertebra berhimpitan



Gambar 3. Kelainan morfologi fetus

A = kontrol;

B = perlakuan IV (120 mg/kg BB/hari);

C = perlakuan II (40 mg/kg BB/hari), perdarahan bawah kulit pada leher;

D = perlakuan IV, ekor bengkok;

E,F = perlakuan IV, tungkai belakang sebelah kanan torsi (“pengkor”)