

PENGARUH KROMIUM KLORIDA TERHADAP PERKEMBANGAN PRALAHIR MENCIT (*MUS MUSCULUS*) SWISS WEBSTER¹

Lucia Maria Santoso², Sri Sudarwati dan Lien A. Sutasurya³

SARI

Larutan kromium klorida diberikan secara intraperitoneal dengan dosis tunggal 15, 22,5, dan 30 mg Cr/kg berat badan pada mencit yang hamil 8, 10, atau 12 hari. Mencit kontrol dan perlakuan dibunuh, kemudian dibedah pada hari kehamilan ke-18. Selanjutnya, dilakukan pengamatan terhadap kejadian kematian intrauterus, berat fetus, malformasi eksternal, internal, dan rangka fetus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kromium trivalen menyebabkan jumlah embrio yang diresorpsi meningkat secara nyata, berat fetus berkurang dengan sangat nyata, terjadi kelambatan penulangan badan vertebra servikalis, badan vertebra sakrokaudalis, tulang tarsal, dan falang proksimal anggota belakang. Kromium yang diberikan pada hari kehamilan ke-8 menyebabkan eksensefali, sedangkan yang diberikan pada hari kehamilan ke-12 menyebabkan langit-langit bercelah. Untuk mengetahui pelaluan kromium dalam waktu 24 jam sesudah pemberian, dilakukan analisis secara Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) terhadap darah induk, plasenta, dan fetus utuh. Hasil analisis SSA memperlihatkan bahwa kromium dapat dilalukan dari darah induk ke fetus lewat plasenta, diakumulasikan di dalam tubuh fetus, serta cenderung diretensi oleh plasenta.

ABSTRACT

Chromium chloride was injected intraperitoneally at 15, 22.5, and 30 mg Cr/kg body weight to pregnant mice on the 8th, 10th, or 12th gestation day. Control and treated mice were sacrificed on the 18th gestation day, and the examination on incidences of intrauterine death, fetal weight, external, internal, and skeletal malformations were performed. The results revealed that there was a significant increase in embryonic resorption, a highly significant reduction in fetal weight, significant reduction in the ossification of the cervical and sacrocaudal vertebral bodies, tarsal bones, and phalanges of the hind limbs. Administration of chromium on the 8th and 12th day of gestation showed significant incidences of exencephaly and cleft palate, respectively. In order to figure out the passage of chromium during 24 hours after administration, analysis using Atomic Absorption Spectrofotometry (AAS) was performed, and the content of chromium was determined in the maternal blood, placenta, and fetuses. From the analysis it was obvious that chromium was transferred and accumulated in the fetuses, and the placenta tended to retain chromium.

¹ Penelitian ini dilaksanakan dalam rangka Program S-2 Biologi, Institut Teknologi Bandung, dibiayai oleh TMPD.

² Program Studi Biologi, FKIP, Universitas Sriwijaya, Jalan Srijaya Negara, Palembang 30139

³ Laboratorium Biologi Perkembangan, Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesya 10, Bandung 40132

PENDAHULUAN

Kromium yang terdapat di lingkungan berasal dari alam dan hasil aktivitas manusia. Secara alami, pada umumnya kromium terdapat sebagai senyawa kromium trivalen (Merian, 1984). Kromium merupakan logam yang sangat keras dan resisten terhadap korosi. Dalam bidang industri, Cr banyak digunakan sebagai pelapis suku cadang mobil, dan dalam bentuk campuran kromium, besi, dan nikel (nikrom) sebagai pelapis kabel listrik. Kromium terdapat pula dalam pigmen pewarna untuk tekstil, cat, tinta, dan dalam bahan pengawet untuk proses penyamakan kulit (Frey, 1958).

Selain bersifat toksik, kromium juga bersifat teratogenik. Hal ini telah dibuktikan oleh Matsumoto *et al.* (1976), Gale (1978), dan Trivedi *et al.* (1989).

Untuk melengkapi informasi yang sekarang ada tentang pengaruh kromium terhadap fetus mencit, pada penelitian ini diamati efek teratogenik kromium trivalen terhadap mencit Swiss Webster, yang diberikan pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12. Selain itu, dipelajari pula pelaluan kromium dari darah induk ke fetus lewat plasenta.

BAHAN DAN TATA KERJA

Hewan yang digunakan dalam percobaan ini adalah mencit (*Mus musculus*) albino Swiss Webster yang diperoleh dari Laboratorium Pemeliharaan Hewan, Jurusan Farmasi ITB. Selanjutnya, mencit tersebut dipelihara di rumah hewan Jurusan Biologi ITB. Mencit betina dan jantan dipelihara di dalam kandang terpisah.

Setiap mencit betina dara yang sedang estrus, berumur 9-11 minggu dengan berat badan 24-28 gram, dikawinkan dengan seekor mencit jantan yang sama umurnya. Penyatuan mencit betina dengan yang jantan dilakukan pada pukul 17.00. Adanya sumbat vagina pada keesokan paginya merupakan tanda telah terjadi kopulasi, dan dinyatakan sebagai hari kehamilan ke-nol. Lalu, mencit betina tersebut ditimbang dan dipisahkan dari yang jantan.

Kromium yang digunakan dalam percobaan ini berupa kromium trivalen ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dengan kemurnian 98%, produksi Merck. Senyawa kromium dilarutkan dalam akuabides steril, produksi IPHA Laboratories. Dari hasil penelitian pendahuluan diketahui bahwa Dosis Letal 50% (DL_{50})-24 jam untuk mencit betina dara adalah 170 mg Cr/kg berat badan, sedangkan Dosis Toleransi Maksimum (DTM)-10 hari untuk mencit yang hamil delapan hari adalah 30 mg Cr/kg berat badan. Kemudian, ditentukan dosis teratogenik kromium, yaitu 30 mg, 22,5 mg, dan 15 mg/kg berat badan, dengan menggunakan ketentuan WHO 1967/1975 (Korte, dalam Kameyama 1981). Di dalam ketentuan tersebut dijelaskan bahwa untuk setiap kali pengujian digunakan tiga dosis, termasuk DTM dan satu kontrol.

Larutan kromium klorida diberikan secara intraperitoneal dengan dosis tunggal, dan mencit kontrol hanya diberi akuabides. Penyuntikan dilakukan pada mencit yang hamil 8, 10, dan 12 hari. Dalam penelitian ini ada tiga kelompok perlakuan yang ditentukan berdasarkan hari kehamilan. Untuk setiap kelompok hari kehamilan digunakan 40 ekor mencit; 10 ekor sebagai kontrol, dan masing-masing 10 ekor untuk setiap dosis. Mencit dibunuh dan dibedah pada hari kehamilan ke-18. Kemudian, dilakukan pengamatan terhadap kejadian kematian intrauterus, berat fetus, malformasi eksternal, internal, dan rangka fetus. Untuk pengamatan malformasi internal, setengah dari jumlah fetus yang hidup difiksasi di dalam larutan Bouin. Selanjutnya, mencit dibedah dan diamati jantung, ginjal, dan gonadnya (testis atau ovarium). Untuk pengamatan malformasi rangka, fetus hidup sisanya difiksasi di dalam alkohol 95% dan selanjutnya dilakukan pewarnaan rangka dengan Alizarin red S menurut prosedur pewarnaan Conn *et al.* (1960).

Untuk mengetahui pelaluan Cr lewat plasenta dilakukan penyuntikan kromium klorida dengan dosis 30 mg Cr/kg berat badan pada mencit yang hamil 17 hari. Kemudian, mencit dibius dengan eter 1½, 3, 6, 12, dan 24 jam setelah disuntik. Kelompok kontrol disuntik akuabides dan dibius 1½ jam setelah itu. Darah induk mencit diambil dari pembuluh darah aorta dorsalis, dan dilanjutkan dengan pengambilan fetus serta plasentanya. Kandungan kromium di dalam darah induk, plasenta, dan fetus utuh dideteksi secara Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Destruksi darah, plasenta, dan fetus dilakukan menurut Kayne *et al.* (1978).

HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap penampilan reproduksi induk mencit pada hari kehamilan ke-18 setelah diberi perlakuan kromium klorida pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12 tertera pada tabel 1. Persentase fetus hidup dari induk yang diberi perlakuan menurun secara nyata, bahkan sangat nyata pada kelompok yang diberi perlakuan dengan dosis 22,5 atau 30 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-10 atau -12 dibandingkan dengan kontrolnya. Hal tersebut disebabkan oleh total kematian intrauterus yang meningkat secara nyata, dan bahkan sangat nyata, dibandingkan dengan kontrolnya pada kelompok yang diberi perlakuan dengan dosis 22,5 atau 30 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-10 atau -12. Kematian intrauterus terutama disebabkan oleh terjadinya resorpsi embrio; hal ini menunjukkan bahwa Cr bersifat embriotoksik. Embrio yang diresorpsi merupakan suatu perwujudan embriotoksitas yang paling mudah untuk dikuantifikasikan (Wilson, 1980; dalam Schardein, 1985). Hal yang sama juga ditemukan pada penelitian Matsumoto *et al.* (1976), Gale (1978 dan 1982), dan Trivedi *et al.* (1989). Dari hasil pengujian pelaluan kromium lewat plasenta pada penelitian ini dan dari beberapa penelitian lain, yaitu Matsumoto *et al.* (1976), Danielsson *et al.* (1982), dan Iijima *et al.*, kejadian resorpsi embrio mungkin

disebabkan oleh pengaruh langsung kromium terhadap embrio. Kemungkinan lain adalah gangguan fungsi plasenta, karena terjadi retensi kromium di plasenta, seperti dibuktikan oleh Matsumoto *et al.* (1976) dan Danielsson *et al.* (1982), serta dari hasil penelitian ini.

Pengaruh kromium juga menyebabkan fetus dari induk yang diberi perlakuan, pada seluruh kelompok hari perlakuan dengan semua dosis, secara statistika sangat

Tabel 1. Penampilan reproduksi induk mencit yang diberi kromium klorida pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12.

Hari kehami- lan ke-	Dosis Cr (mg/kg berat badan)	Jumlah induk	% fetus hidup x ± sem (jumlah)	Persentase kematian intrauterus			Implantasi x ± sem (jumlah)	Berat fetus (gram) x ± sem
				% Resorpsi x ± sem (jumlah)	% Mati x ± sem (jumlah)	% Total x ± sem (jumlah)		
8	0	10	92,27±2,31 (96)	6,82±2,42 (8)	0,91±0,91 (1)	7,73±2,31 (9)	10,50±0,58 (105)	1,20±0,02
	15	10	83,11±3,38* (96)	15,98±3,19* (18)	0,91±0,91 (1)	16,89±3,38* (19)	11,50±0,49 (115)	1,06±0,02##
	22,5	10	82,19±3,83* (85)	16,90±3,43* (18)	0,91±0,91 (1)	17,81±3,83* (19)	10,40±0,70 (104)	1,05±0,03##
	30	10	78,99±5,19* (89)	20,30±5,24* (21)	0,91±0,91 (1)	21,01±5,19* (22)	11,10±0,67 (111)	1,04±0,03##
10	0	10	92,75±1,78 (111)	6,48±1,92 (8)	0,77±0,77 (1)	7,25±1,78 (9)	12,00±0,39 (120)	1,21±0,03
	15	10	86,15±2,87* (95)	13,85±2,87* (15)	0,00±0,00 (0)	13,85±2,87* (15;9)	11,00±0,45 (110)	1,07±0,02##
	22,5	10	74,93±3,87** (84)	24,30±4,01** (27)	0,77±0,77 (1)	25,07±3,87** (28)	11,20±0,51 (112)	1,04±0,03##
	30	10	80,66±3,72** (97)	17,72±3,86* (21)	1,62±1,09 (2)	19,34±3,72** (23)	12,00±0,59 (120)	1,01±0,03##
12	0	10	93,34±2,04 (111)	6,66±2,04 (8)	0,00±0,00 (0)	6,66±2,04 (8)	11,90±0,50 (119)	1,18±0,02
	15	10	86,00±1,93* (103)	13,33±2,07* (16)	0,67±0,67 (1)	14,00±1,93* (17)	12,00±0,56 (120)	1,01±0,02##
	22,5	10	82,66±2,86** (93)	16,43±2,64** (19)	0,91±0,91 (1)	17,34±2,86** (20)	11,30±0,62 (113)	0,96±0,03##
	30	10	66,91±3,58** (80)	33,09±3,58** (40)	0,00±0,00 (0)	33,09±3,58** (40)	12,00±0,60 (120)	1,07±0,03##

* Berbeda nyata dari kontrol $p \leq 0,05$ (Wilcoxon's rank sum test).

** Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Wilcoxon's rank sum test).

Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Uji Beda Nyata Terkecil).

nyata lebih ringan dibandingkan dengan kontrol. Hal yang sama terjadi pula pada penelitian Trivedi *et al.* (1989). Penyusutan berat fetus mungkin disebabkan oleh kromium yang berhasil menembus membran inti, yang kemudian berikatan dengan ADN. Selanjutnya, kromium terikat ini mengganggu fungsi sel, terutama dalam proses sintesis protein yang diperlukan dalam perkembangan. Penyusutan berat fetus merupakan parameter penting dalam penelitian pengaruh suatu teratogen, karena hal ini dapat menunjukkan adanya gangguan pertumbuhan secara umum (Brent & Jensh, 1967 dan Schardein, 1985).

Pada tabel 2 diperlihatkan hasil pengamatan terhadap fetus hidup yang mengalami beberapa kelainan perkembangan, sebagai hasil perlakuan dengan kromium klorida yang diberikan pada induk mencit pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12.

Perdarahan pada beberapa bagian permukaan tubuh fetus yang ditemukan pada penelitian ini juga ditemukan pada penelitian Trivedi *et al.* (1989). Pada penelitian ini, perdarahan cenderung terjadi pada fetus yang induknya diberi perlakuan dengan dosis 22,5 atau 30 mg Cr/kg berat badan. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh terjadinya peningkatan tekanan darah yang tinggi pada dinding kapiler, menyebabkan dinding tersebut pecah sehingga terjadi perdarahan.

Eksensefali paling sering muncul pada fetus yang induknya diberi perlakuan pada hari kehamilan ke-8. Pada umur kehamilan tersebut, bakal bambung neural masih berada pada tahapan lipatan neural (Rugh, 1968). Diduga Cr menyebabkan kematian sel-sel neuroektoderm dalam jumlah yang banyak, sehingga bambung neural tidak dapat menutup secara sempurna. Hal ini mendukung hasil penelitian Matsumoto *et al.* (1976) yang menyuntikkan kromium klorida pada induk mencit galur ICR pada hari kehamilan ke-7, -8, -9, dan -10. Hasil pengamatan Iijima *et al.* (1983) membuktikan bahwa kadmium juga menyebabkan kematian sel neuroektoderm, sehingga pada bagian tertentu bambung neural tidak menutup. Cacat primer berupa penutupan bambung neural yang tidak sempurna selanjutnya menyebabkan abnormalitas sekunder berupa eksensefali.

Kelopak mata terbuka dan retina bergelombang hanya muncul pada fetus dari tiga ekor induk yang berasal dari pengamatan terhadap 120 ekor induk. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa kelainan ini terjadi secara spontan, sebab selain frekuensi kejadiannya yang sangat rendah, juga muncul pada satu fetus dari satu induk kontrol.

Penelitian ini menunjukkan bahwa kelainan berupa langit-langit bercelah terutama muncul bila induk mencit diberi perlakuan pada hari kehamilan ke-12; persentase kejadiannya berkisar antara 7-9%. Proses pembentukan langit-langit sekunder meliputi pertumbuhan, pengangkatan, dan fusi keping-keping palatum (Poswillo, 1975; Greene & Pratt, 1976; Srivastava & Rao, 1979). Keping palatum mulai

Tabel 2. Persentase dan jumlah fetus menciit dengan perdarahan, kelainan otak dan mata, langit-langit bercelah; berasal dari induk yang diberi kromium klorida pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12.

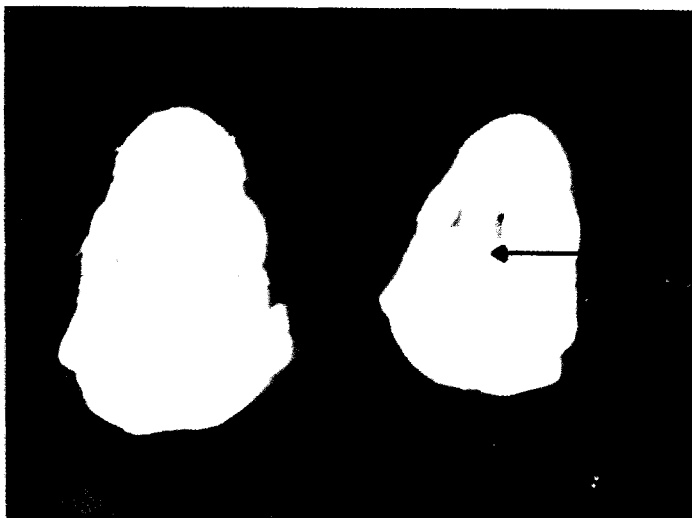
Hari kehami- lan ke-	Dosis Cr (mg/kg berat badan)	Jumlah fetus yang dima- mati	Perdarahan x ± sem (jumlah)	Eksensefali x ± sem (jumlah)	Kelopak mata terbuka % x ± sem (jumlah)	Retina bergetombang % x ± sem (jumlah)	Langit-langit bercelah x ± sem (jumlah)
8	0	96	2,11±1,41 (2)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	15	96	7,46±4,39 (7)	7,81±3,01*	0,91±0,91 (1)	0,91±0,91 (1)	0,00±0,00
	22,5	85	7,69±2,92 (7)	7,69±2,93 (4)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	30	89	12,86±3,45* (12)	2,25±1,51 (2)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,83±0,83 (1)
10	0	111	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	15	95	8,44±5,01 (8)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	2,11±1,41 (2)
	22,5	84	12,50±4,86* (10)	0,91±0,91 (1)	0,91±0,91 (1)	0,91±0,91 (1)	0,00±0,00
	30	97	9,18±5,13 (9)	1,00±1,00 (1)	0,00±0,00	0,00±0,00	3,82±1,59 (4)
12	0	111	1,68±1,12 (2)	1,11±1,11 (1)	1,11±1,11 (1)	1,11±1,11 (1)	0,77±0,77 (1)
	15	103	8,73±3,92 (2)	1,00±1,00 (1)	0,00±0,00	0,00±0,00	7,94±2,07* (8)
	22,5	93	15,19±3,80** (14)	1,82±1,82 (2)	0,00±0,00	0,00±0,00	7,16±3,03 (7)
	30	80	15,47±4,54** (12)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	8,82±3,28 (6)

* Berbeda nyata dari kontrol $p \leq 0,05$ (Wilcoxon's rank sum test).

** Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Wilcoxon's rank sum test).



Gambar 1. Eksensefali dan kelopak mata terbuka pada fetus mencit umur 18 hari yang berasal dari induk yang diberi perlakuan dengan dosis 15 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-18 (pembesaran 2½ x). K : Kontrol; E : Perlakuan; e : eksensefali; kt: kelopak mata terbuka



Gambar 2. Langit-langit bercelah pada fetus mencit umur 18 hari yang berasal dari induk yang diberi perlakuan dengan dosis 15 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-12 (pembesaran 6 x). K : Kontrol; E : Perlakuan; lb: langit-langit bercelah.



Gambar 3. Tulang supraoksipital belum menulang sempurna pada fetus mencit umur 18 hari yang berasal dari induk yang diberi perlakuan dengan dosis 15 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-8 (pembesaran 5 x). K : Kontrol; E : Perlakuan; S : tulang supraoksipital; x : tulang supraoksipital belum menulang sempurna.



Gambar 4. Perbandingan penulangan pada vertebra sakrokaudalis dan falang anggota belakang fetus mencit umur 18 hari yang berasal dari induk kontrol dan induk yang diberi perlakuan dengan dosis 30 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke- 8 (pembesaran 5 x). K : Kontrol; E : Perlakuan.

tumbuh pada waktu embrio berumur 12 hari, berfusi pada umur 15 hari, dan akhirnya fetus yang berumur 16 hari sudah mempunyai langit-langit sekunder yang sempurna (Rugh, 1968). Kejadian langit-langit bercelah pada penelitian ini mungkin disebabkan oleh penghambatan proliferasi sel-sel mesenkim pembentuk keping-keping palatum. Hal ini menyebabkan ukuran keping lebih kecil daripada ukuran normal, sehingga fusi keping palatum tidak dapat berlangsung, dan terjadilah cacat berupa langit-langit bercelah.

Kejadian malformasi internal muncul berupa ginjal kanan lebih kecil daripada yang kiri, dan testis belum turun. Ginjal kanan lebih kecil daripada yang kiri terjadi pada fetus dari induk yang diberi perlakuan maupun dari induk kontrol. Persentasi kejadian tersebut umumnya tidak berbeda nyata antara fetus dari induk kontrol dan fetus dari induk perlakuan. Tampaknya keadaan ginjal kanan lebih kecil daripada yang kiri merupakan malformasi yang bersifat spontan. Demikian pula, kejadian testis belum turun terjadi pada fetus dari induk perlakuan maupun dari induk kontrol. Dan, karena persentase kejadian tidak berbeda nyata, dapat disimpulkan keadaan ini terjadi secara spontan. Kemungkinan besar testis pada fetus tersebut turun juga ke dalam skrotum, tetapi prosesnya lebih lambat dibandingkan dengan fetus pada umumnya, yang pada umur 18 hari testisnya sudah turun sampai sama tinggi dengan vesika urinaria.

Pada tabel 3 ditampilkan keadaan penulangan tulang supraoksipital dan jumlah komponen kolumna vertebralis. Dalam penelitian ini, tulang supraoksipital fetus yang induknya diberi perlakuan mengalami kelambatan penulangan. Kelambatan ini memang tidak menunjukkan *dose-response relationship*, kecuali pada kelompok perlakuan hari kehamilan ke-10, tetapi karena terjadi pada semua kelompok hari perlakuan, maka diperkirakan kelambatan penulangan tersebut disebabkan oleh pengaruh kromium. Dengan teknik autoradiografi, Danielsson *et al.* (1982) berhasil mengamati bahwa kromium trivalen dapat terakumulasi di dalam jaringan fetus yang sedang mengalami kalsifikasi.

Fetus mencit umur 18 hari telah mempunyai lengkung vertebra servikalis sebanyak tujuh pasang, sedangkan jumlah badan vertebranya baru lima buah (Taylor, 1986). Pada penelitian ini, fetus dari induk kontrol rata-rata mempunyai badan vertebra servikalis sebanyak 3,81 buah, sedangkan fetus dari induk perlakuan rata-rata mempunyai badan vertebra servikalis antara 0,84-2,30 buah (tabel 3). Penurunan jumlah badan vertebra servikalis yang telah menulang tersebut menandakan terjadinya kelambatan penulangan. Karena penurunan tersebut berbeda nyata pada semua kelompok hari perlakuan, disimpulkan hal itu disebabkan oleh pengaruh kromium.

Badan vertebra sakralis dan kaudalis fetus mencit mengalami penulangan pada saat fetus berumur 16 dan 17 hari (Rugh, 1968). Pada penelitian ini, jumlah badan

Tabel 3. Persentase dan jumlah tulang suprac sipital yang belum menulang, dan keadaan penulangan komponen kolumna vertebralis fetus mencit yang berasal dari induk yang diberi kromium klorida pada hari kehamilan ke-8, -10 atau -12.

Hari kehami- lan ke-	Dosis Cr (mg/kg berat badan)	Jumlah fetus yang diamati	Tl. supraok- sipital belum menulang sem- purna % (jumlah)	Jumlah komponen kolumna vertebralis yang menulang				
				Badan v. servikalis x ± sem	V. torakalis x ± sem	V. lumbalis x ± sem	Sakrokaudalis	
							Lengkung x ± sem	Badan x ± sem
8	0	50	0,00±0,00	3,81±0,49	13,76±0,09	5,26±0,10	7,98±0,05	11,57±0,36
	15	49	29,50±10,00* (14)	2,21±0,53#	13,96±0,04#	5,25±0,10	7,64±0,11	9,90±0,38##
	22,5	43	42,83±13,45** (17)	1,28±0,46##	14,00±0,00#	5,32±0,06	7,65±0,11	9,48±0,36##
	30	45	28,50±13,38 (9)	1,96±0,67#	13,82±0,06	5,43±0,09	7,68±0,15	9,32±0,40##
10	0	55	2,00± 2,00 (1)	3,81±0,33	13,84±0,07	5,20±0,09	7,87±0,07	12,07±0,60
	15	48	17,50± 6,38 (9)	2,16±0,38#	13,92±0,04	5,15±0,04	7,79±0,07	9,98±0,23##
	22,5	43	19,00± 9,68 (10)	2,30±0,40#	13,82±0,06	5,10±0,06	7,66±0,11	9,70±0,27##
	30	49	27,67±11,97 (11)	0,84±0,40##	13,86±0,06	5,15±0,06	7,50±0,15	8,88±0,40##
8	0	59	0,00± 0,00	3,81±0,38	13,89±0,06	5,17±0,06	7,78±0,09	01,98±0,30
	15	52	13,00± 6,67 (6)	1,92±0,56#	13,89±0,05	5,20±0,06	7,73±0,10	9,69±0,39#
	22,5	47	21,50±11,06 (10)	1,55±0,42##	13,98±0,02	5,12±0,08	7,63±0,11	9,77±0,32#
	30	38	20,83±10,49 (9)	1,90±0,54#	13,87±0,10	5,21±0,11	7,63±0,15	9,73±0,34#

* Berbeda nyata dari kontrol $p \leq 0,05$ (Wilcoxon's rank sum test).

** Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Wilcoxon's rank sum test).

Berbeda nyata dari kontrol $p \leq 0,05$ (Uji Beda Nyata Terkecil).

Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Uji Beda Nyata Terkecil).

vertebra sakrokaudalis yang menulang pada fetus yang induknya diberi perlakuan, umumnya lebih rendah dan secara statistika berbeda nyata atau sangat nyata

dibandingkan dengan fetus dari induk kontrol. Karena itu, disimpulkan pada daerah ini terjadi kelambatan dalam proses penulangan yang disebabkan oleh pengaruh kromium.

Purata jumlah tulang metakarpal dan tulang falang anggota depan yang mengalami penulangan pada fetus dari induk yang diberi perlakuan, secara statistika tidak berbeda dibandingkan dengan fetus dari induk kontrol (tabel 4). Sementara itu, pada rangka anggota belakang, persentase tulang tarsal dan jumlah falang proksimal yang mengalami penulangan pada fetus dari induk yang diberi perlakuan, umumnya secara statistika berkurang dengan nyata atau sangat nyata dibandingkan dengan fetus dari induk kontrol (tabel 5). Tampaknya kromium tidak mempengaruhi proses penulangan komponen metapodium dan falang rangka anggota depan, tetapi kromium mempengaruhi proses penulangan komponen mesopodium dan falang proksimal rangka anggota belakang. Penundaan proses penulangan falang anggota belakang juga terjadi pada penelitian Trivedi *et al.* (1989). Kelambatan proses disebabkan oleh terjadinya akumulasi kromium di dalam rangka fetus yang sedang mengalami kalsifikasi.

Tabel 6 dan gambar 5 menunjukkan kandungan Cr di dalam darah induk, plasenta, dan fetus utuh dalam waktu 24 jam setelah pemberian. Selama enam jam setelah pemberian, kandungan Cr fetus relatif stabil, sementara kandungan Cr darah induk menurun dan mencapai kandungan terendah, tetapi tetap lebih tinggi daripada kandungan Cr fetus. Sementara itu, kandungan Cr plasenta meningkat dengan tajam dan mencapai kandungan tertinggi enam jam setelah pemberian. Hal itu menunjukkan bahwa sebelum kromium dilalukan lewat plasenta ke fetus, untuk sementara waktu kromium diakumulasi terlebih dahulu di plasenta. Kemudian, antara enam sampai dengan 12 jam setelah pemberian, kandungan Cr plasenta menurun dengan tajam, sementara kandungan Cr fetus meningkat sampai 10 kali dibandingkan dengan enam jam sebelumnya. Dalam pada itu, kandungan kromium darah induk kembali sedikit meningkat, tetapi tetap lebih rendah daripada kandungan kromium fetus. Hal tersebut menandakan telah terjadi pelaluan kromium lewat plasenta ke fetus, dan pada akhir pengamatan, Cr fetus tetap lebih tinggi daripada kandungan Cr darah induk. Hasil ini mendukung penelitian Iijima *et al.* (1983) yang menyuntikkan $^{51}\text{CrCl}_3$ pada induk mencit yang hamil delapan hari. Mereka mendapatkan bahwa selama periode waktu 24 jam tampak kandungan Cr di dalam darah induk menurun, sedangkan di dalam tubuh fetus meningkat.

Selanjutnya, antara 12 sampai dengan 24 jam setelah pemberian, kandungan Cr fetus relatif stabil; demikian pula kandungan Cr darah induk, sedangkan kandungan Cr plasenta kembali meningkat. Hal ini menunjukkan adanya gejala retensi Cr di plasenta. Hasil pengamatan ini mendukung hasil penelitian Danielsson *et al.* (1982) dan Wallach & Verch (1984). Penelitian Keino & Kashiwamata (1983) membuktikan bahwa logam berat lainnya seperti kadmium juga diretensi di plasenta, sebagaimana halnya nikel yang diteliti oleh Munir (1986).

Tabel 4. Keadaan penulangan tulang metakarpal dan falang anggota depan fetus mencit yang berasal dari induk yang diberi kromium klorida pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12.

Hari kehami- lan ke-	Dosis Cr (mg/kg berat badan)	Jumlah fetus yang diamati	Jumlah yang sudah menulang			
			Tulang metakarpal x ± sem	Falang proksimal x ± sem	Falang median x ± sem	Falang distal x ± sem
8	0	50	4,00 ± 0,00	3,81 ± 0,07	1,03 ± 0,24	5,00 ± 0,00
	15	49	4,00 ± 0,00	3,72 ± 0,08	0,88 ± 0,31	5,00 ± 0,00
	22,5	43	3,98 ± 0,02	3,52 ± 0,15	0,55 ± 0,25	4,79 ± 0,14
	30	45	4,00 ± 0,00	3,28 ± 0,36	0,83 ± 0,25	4,67 ± 0,33
10	0	55	4,00 ± 0,00	3,86 ± 0,05	1,25 ± 0,30	5,00 ± 0,00
	15	48	4,00 ± 0,00	3,68 ± 0,11	0,91 ± 0,23	4,92 ± 0,08
	22,5	43	4,00 ± 0,00	3,68 ± 0,11	0,91 ± 0,23	4,67 ± 0,08
	30	49	3,98 ± 0,08	3,07 ± 0,28	0,72 ± 0,24	4,55 ± 0,30
12	0	59	4,00 ± 0,00	3,85 ± 0,08	1,20 ± 0,27	5,00 ± 0,00
	15	52	4,00 ± 0,00	3,85 ± 0,08	0,60 ± 0,21	5,00 ± 0,00
	22,5	47	4,00 ± 0,00	3,19 ± 0,25	0,66 ± 0,32	4,65 ± 0,26
	30	38	3,98 ± 0,02	3,32 ± 0,29	0,41 ± 0,13	4,80 ± 0,20

Kandungan Cr plasenta yang meningkat kembali dalam waktu antara 12-24 jam setelah pemberian, dan tidak diikuti oleh kenaikan kandungan Cr di dalam fetus, menunjukkan bahwa plasenta berfungsi sebagai sawar terhadap pelaluan Cr ke fetus.

Tabel 5. Persentase tulang tarsal yang sudah menulang dan keadaan penulangan tulang metatarsal serta falang anggota belakang fetus mencit yang berasal dari induk yang diberi kromium klorida pada hari kehamilan ke-8, -10, atau -12.

Hari ke-ke-	Dosis Cr (mg/kg berat badan)	Jumlah fetus yang diamati	Tulang tarsal yang sudah menulang % $\bar{x} \pm sem$	Jumlah yang sudah menulang			
				Tulang metatarsal $\bar{x} \pm sem$	Falang proksimal $\bar{x} \pm sem$	Falang median $\bar{x} \pm sem$	Falang distal $\bar{x} \pm sem$
8	0	50	35,33±10,72 (17)	5,00 ± 0,00	4,28 ± 0,11	0,17 ± 0,11	5,00 ± 0,00
	15	49	8,00±8,00* (4)	4,98 ± 0,02	3,52 ± 0,23	0,02 ± 0,02	4,44 ± 0,27
	22,5	43	2,50±2,50* (1)	4,95 ± 0,05	3,06 ± 0,32#	0,08 ± 0,08	4,23 ± 0,34
	30	45	3,33±3,33* (2)	4,93 ± 0,07	3,04 ± 0,43#	0,00 ± 0,00	4,50 ± 0,50
10	0	55	40,67±11,51 (23)	5,00 ± 0,00	4,17 ± 0,16	0,54 ± 0,36	5,00 ± 0,00
	15	48	9,00± 4,92* (4)	4,96 ± 0,02	3,59 ± 0,20	0,00 ± 0,00	4,92 ± 0,08
	22,5	43	5,83± 3,94* (2)	4,95 ± 0,05	3,05 ± 0,39#	0,00 ± 0,00	4,08 ± 0,51
	30	49	5,00±5,00* (3)	4,86 ± 0,08	2,38 ± 0,43##	0,00 ± 0,00	3,13 ± 0,51##
12	0	59	38,24±9,84 (22)	5,00 ± 0,00	4,05 ± 0,15	0,06 ± 0,06	5,00 ± 0,00
	15	52	9,00±5,26* (5)	5,00 ± 0,00	2,86 ± 0,33#	0,00 ± 0,00	3,97 ± 0,41
	22,5	47	0,00±0,00##	5,00 ± 0,00	2,50 ± 0,39##	0,00 ± 0,00	4,24 ± 0,45
	30	38	0,00±0,00**	4,94 ± 0,06	2,96 ± 0,38#	0,00 ± 0,00	4,13 ± 0,44

* Berbeda nyata dari kontrol $p \leq 0,05$ (Wilcoxon's rank sum test).

** Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Wilcoxon's rank sum test).

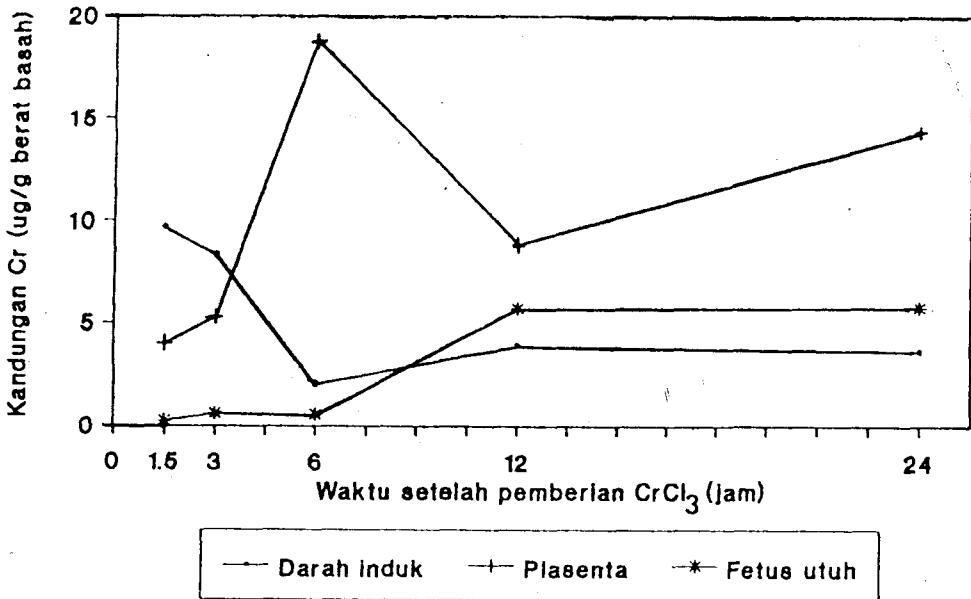
Berbeda nyata dari kontrol $p \leq 0,05$ (Uji Beda Nyata Terkecil).

Berbeda sangat nyata dari kontrol $p \leq 0,01$ (Uji Beda Nyata Terkecil).

Tabel 6. Kandungan kromium di dalam darah induk, plasenta, dan fetus mencit utuh yang berasal dari induk yang diberi kromium klorida dengan dosis 30 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-17.

Sampel	Kandungan Cr ($\mu\text{g/g}$ berat basah)					
	Kontrol	Pengamatan setelah pemberian				
		1,5 jam	3 jam	6 jam	12 jam	24 jam
Darah induk	-	9,66	8,41	2,03	3,89	3,70
Plasenta	-	4,02	5,31	18,83	8,87	14,34
Fesus utuh	-	0,21	0,58	0,54	5,74	5,80

- : Tidak terdeteksi.



Gambar 5. Kandungan kromium di dalam darah induk, plasenta, dan fetus mencit utuh yang berasal dari induk yang diberi kromium klorida dengan dosis 30 mg Cr/kg berat badan pada hari kehamilan ke-17.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kromium trivalen bersifat embriotoksik, teratogenik ringan, dilalukan dari darah induk ke fetus lewat plasenta, diakumulasikan di dalam tubuh fetus, dan sebagian diretensi di dalam plasenta.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pelaksanaan penelitian ini sebagian dilaksanakan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Kimia Terapan, LIPI, Bandung, dan untuk itu kami mengucapkan terima kasih atas segala fasilitas yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Conn, H.J., Darrow, M.A. & V.M. Emmel. 1960. *Staining procedures*. The Williams & Wilkins Co, Baltimore. p. 146-147.
- Danielsson, B.R.G., Hassoun, E. & L. Dencker. 1982. Embryotoxicity of chromium: distribution in pregnant mice and effects on embryonic cells *in vitro*. *Arch. Toxicol.* 51:233-245.
- Frey, P.R. 1958. *College chemistry*. 2nd ed. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, Inc. p. 616-623.
- Gale, T.F. 1978. Embryotoxic effects of chromium trioxide in hamsters. *Environ. Res.* 16:101-109.
- Gale, T.F. 1982. The embryotoxic response to maternal chromium trioxide exposure in different strains of hamsters. *Environ. Res.* 29:196-203.
- Greene, R.M. & R.M. Pratt. 1976. Developmental aspect of secondary palate formation. *J.E.E.M.* 36:225-245.
- Iijima, S., Matsumoto, N. & C.C. Lu. 1983. Transfer of chromic chloride to embryonic mice and changes in the embryonic mouse neuroepithelium. *Toxicology.* 36:257-265.
- Kameyana, Y. 1981. Testing for environmental teratogenicity. Seminar Biologi, Institut Teknologi Bandung.
- Kayne, J.F., Komar, G., Laboda, H. & R.E. Vanderlinde. 1978. Atomic absorption spectrophotometry of chromium in serum and urine with a modified Perkin-Elmer 603 atomic absorption spectrophotometer. *Clin. Chem.* 20(12):2151-2154.
- Keino, H. & S. Kashiwamata. 1983. Cadmium accumulation after intraperitoneal injection of 115m cadmium in selected tissues from pregnant and non-pregnant mice. *Cong. Anom.* 23:251-265.
- Matsumoto, N., Iijima, S. & H. Katsunuma. 1976. Placental transfer of chromic chloride and its teratogenic potential in embryonic mice. *J. Toxicol. Sci.* 2:1-13.
- Merian, E. 1984. Introduction on environmental chemistry and global cycles of chromium, nickel, cobalt, beryllium, arsenic, cadmium and selenium, and their derivatives. *Toxicol. Environ. Chem.* 8:9-38.
- Munir, W. 1986. Pelaluan nikel oleh plasenta, pengaruhnya terhadap perkembangan pralahir mencit (*Mus musculus*) galur Australia serta penimbunan pada jaringan induk. Tesis S2. Fakultas Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.

- Poswillo, D. 1975. Causal mechanisms of craniofacial deformity. *Brit. Med. Bull.* 31:101-106.
- Rugh, R. 1968. *The mouse -- its reproduction and development*. Burgess Publishing Co. p. 102, 216-226, 251.
- Schardein, J.L. 1985. *Chemically induced birth defects*. New York & Basel: Marcel Dekker, Inc. p. 16.
- Srivastava, H.C. & P.P. Rao. 1979. Movement of palatal shelves during secondary palate closure in rat. *Teratology*. 19:87-104.
- Taylor, P. 1986. *Practical teratology*. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich Publ. London. p. 10-24, 48-98.
- Trivedi, B., Saxena, D.K., Murthy, R.C. & S.V. Chandra. 1989. Embryotoxicity and fetotoxicity of orally administered hexavalent chromium in mice. *Reprod. Toxicol.* 3:275-278.
- Wallach, S. & R.L. Verch. 1984. Placental transport of chromium. *J. Am. Coll. Nutr.* 3:69-74.
- Webster, W.S. & K. Messerle. 1980. Changes in the mouse neuroepithelium associated with cadmium-induced neural tube defects. *Teratology*. 21:79-88.