

**PENGARUH MORFIN TERHADAP PERTUMBUHAN KARTILAGO EPIFISIALIS OS
TIBIA FETUS MENCIT (*Mus musculus L.*)**

Arum Setiawan
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRACT

This experiment was performed to examine the effects of Morphine on growth of fetuses tibia epiphyseal cartilage in pregnant mice at the organogenesis period. Thirty pregnant mice were divided randomly into 5 groups of 6 . Morphine was dissolved in aquabides and administrated intramuscular on sixth to fifteenth days of gestation. Morphine was given at the dosage of 0.02; 0.05 and 0.13 mg/20g body weight, respectively. The remaining animals were used as controls and placebo group. At eighteenth day of gestations, the pregnant mice were sacrificed and caesarian sectioned to remove the foetuses. The growth of tibia epiphyseal cartilages were observed histologically using Erlich's Hematoxylin-Eosin stain. Result of these studies indicated that morphine given to the pregnant mice at the organogenesis period caused decreased thickness of the rest zone, proliferative zone, maturation zone, and calcification zone on the foetus tibial growth plate significantly.

PENDAHULUAN.

Penyalahgunaan obat-obatan psikotropika dan narkotika dari tahun ke tahun semakin meningkat, bukan saja pemakainya yang bertambah banyak tapi juga meluas ke berbagai macam kalangan usia. Pemerintah menyebutkan angka resmi penyalahgunaan narkotika adalah 0,065 % dari jumlah penduduk 200 juta atau sama dengan 130.000 orang (BAKOLAK INPRES 6/71, 1995). Penelitian yang dilakukan Hawari (1998) menyebutkan bahwa angka sebenarnya adalah 10 kali lipat dari angka resmi yang

dikeluarkan, maka penderita ketergantungan obat di Indonesia menjadi 1,3 juta orang.

Kemungkinan terjadinya pengaruh buruk analgetika narkotik terhadap embrio dapat melalui : 1) Pemakaian obat selama persalinan untuk mengurangi rasa sakit, 2) Melalui penyalahgunaan oleh ibu yang menderita ketergantungan (adiksi) terhadap obat-obat narkotika, sehingga pemakaiannya cenderung berulang. Penyalahgunaan obat-obatan ini oleh ibu hamil dapat menyebabkan ketergantungan pada embrio dalam kandungan. Hal ini akan tampak pada bayi-bayi yang baru lahir yaitu dengan munculnya

gejala-gejala *withdrawl* (putus obat) meliputi muntah, diare, *tremor*, *irritable* dan kejang (Santosa, 1990).

Efek analgesik morfin dihasilkan oleh adanya pengikatan obat dengan sisi reseptor khas pada sel otak dan *medulla spinalis*. Reseptor turunan morfin mempunyai tiga sisi yang sangat penting untuk timbulnya aktivitas analgesik, yaitu : (a) Struktur bidang datar, yang mengikat cincin aromatik obat melalui ikatan *Van Der Waals*; (b) Tempat anionik, yang mampu berinteraksi dengan pusat muatan positif obat; dan (c) Lubang dengan orientasi yang sesuai untuk menampung bagian $-CH_2-$ dari proyeksi cincin piperidin, yang terletak di depan bidang yang mengandung cincin aromatik dan pusat datar (Siswandono, 1995).

Peranan biokimia morfin dalam tubuh adalah sebagai *inhibitor* (penghambat) adenilatsiklase, yaitu enzim yang mengkatalisis konversi $5'$ -ATP menjadi $3',5'$ -cAMP (Foye, 1995). Adenilatsiklase yang tidak aktif menyebabkan terjadinya penurunan kadar cAMP dan penurunan permeabilitas membran sel terhadap ion kalsium. Penurunan kadar cAMP dalam sel ini menyebabkan terjadi penurunan sekresi

ion kalsium dari mitokondria, inaktivasi protein kinase dan berpengaruh terhadap reaksi enzimatik yang lain (Shahib, 1989; Martini, 1998).

Menurut Siswosudarmo (1988), morfin merupakan salah satu jenis narkotika yang diduga bersifat teratogenik. Berat molekul morfin yang hanya 282,3 dalton (< 600 dalton) menyebabkan molekul morfin mudah menembus barrier plasenta dan diserap oleh fetus, sehingga berdampak merugikan fetus. Molekul morfin menyebabkan penurunan sekresi ion kalsium yang akan berpengaruh terhadap pertumbuhan tulang fetus, terutama pertumbuhan tulang ekstremitas.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari dan mengkaji pengaruh morfin yang diberikan pada mencit yang sedang bunting selama masa organogenesis terhadap pertumbuhan kartilago epifisialis *os tibia* fetus mencit.

METODE.

Waktu dan Tempat.

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan antara bulan Agustus sampai Oktober 2001. Tempat penelitian di UPHP (Unit

Pengembangan Hewan Percobaan) UGM untuk pemberian perlakuan dan Laboratorium Histologi dan Embriologi Hewan Fakultas Biologi UGM untuk pengamatan dan analisa data.

Bahan.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : hewan uji yaitu 30 ekor mencit (*Mus musculus* L.) betina belum pernah bunting , umur 2 bulan, dengan berat 25 – 30 g , dan 5 ekor mencit (*Mus musculus* L.) jantan dewasa fertil. Hewan uji diberi pakan berupa pellet Par G. Morfin HCl 10 mg/ml buatan Kimia Farma.

Bahan yang diperlukan dalam pembuatan preparat histologi tibia fetus yaitu : Formalin 10 %, Alkohol Absolut dan Alkohol 96 %, Parafin, Xylol, Toluol, Pewarna *Erich's Hematoxylin-Eosin*, gelas benda dan penutup, dan canada balsam diperoleh dari Laboratorium Histologi dan Embriologi Hewan Fakultas Biologi UGM.

Alat.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kandang untuk pemeliharaan hewan percobaan. Spuit injeksi ukuran 1 ml untuk pemberian perlakuan. Satu

set alat bedah untuk membedah hewan perlakuan. 1 unit untuk preparasi skeleton. Kaca pembesar, mikroskop, mikrometer, serta alat fotomikrografi sebagai alat dokumentasi.

Cara Kerja.

1. Persiapan Hewan Uji.

Sebelum penelitian ini dimulai, hewan percobaan disiapkan dan diperiksa siklus estrusnya dengan cara membuat preparat apus vagina. Setelah mendapatkan mencit yang memiliki siklus reguler sebanyak 30 ekor, dilakukan pembagian secara acak menjadi 5 kelompok, masing-masing 6 ekor tiap kelompok.

Mencit betina yang berada dalam stadium estrus dikandangkan bersama-sama dengan mencit jantan untuk dikawinkan. Pencampuran mencit jantan dan mencit betina itu dilakukan pada sore hari dan apabila pada keesokan harinya ditemukan sumbat vagina (*vaginal plug*) atau sperma di dalam vagina, maka pada hari itu ditentukan sebagai hari pertama kebuntingan.

2. Rancangan Percobaan.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan

masing-masing 6 ulangan. Sebelum perlakuan terlebih dahulu ditentukan dosis perlakuan morfin. Dosis yang digunakan ini berdasarkan pada pemakaian morfin pada manusia secara intra muskuler / intra vena yaitu : rata-rata 20 mg sekali suntik, dengan dosis maksimal adalah 50 mg.

Tiga puluh ekor mencit betina bunting dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Dosis perlakuan untuk masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :

Kontrol (tanpa perlakuan)

Kontrol Placebo (akuabides)

Perlakuan Morfin dosis 0,02 mg/20g bb.

Perlakuan Morfin dosis 0,05 mg/20g bb.

Perlakuan Morfin Dosis 0,13 mg/20g bb.

Perlakuan diberikan secara intramuskuler dengan volume 0,5 ml selama 10 hari berturut-turut, yaitu mulai hari ke-6 sampai dengan hari ke-15 kebuntingan.

3. Variabel Pengamatan.

Pada penelitian ini kartilago epifisialis *tibia* fetus diambil sebagai wakil terhadap pengamatan osteogenesis endokondralis tulang panjang. Pengamatan dilakukan terhadap 5 zona penyusun kartilago epifisialis

tibia fetus untuk menggambarkan proses osifikasi endokondral yang terjadi. Pengamatan terhadap zona-zona ini dilakukan dengan mengukur ketebalan masing-masing zona yaitu zona istirahat, zona proliferasi, zona maturasi, zona kalsifikasi dengan menggunakan mikrometer.

Pengamatan fetus dilakukan pada hari ke-18 kebuntingan dengan cara pembedahan bagian perut untuk mengeluarkan fetus dari uterus. Fetus diambil tulang panjang dari *ekstremitas* posteriornya (*tibia*) dengan cara amputasi. Preparat kemudian difiksasi dengan larutan formalin 10 % selama 24 jam. Sampel tulang tersebut kemudian dipreparasi dengan metode parafin, diwarnai dengan menggunakan pewarnaan *Erlich's Hematoxylin-Eosin* (Suntoro, 1983)

Pengamatan terhadap penampang membujur spesimen *tibia* meliputi pengamatan struktur dan gambaran sel-sel di kelima zona pada kartilago epifisialis dan kemudian diukur ketebalan masing-masing zona tersebut dengan menggunakan mikrometer.

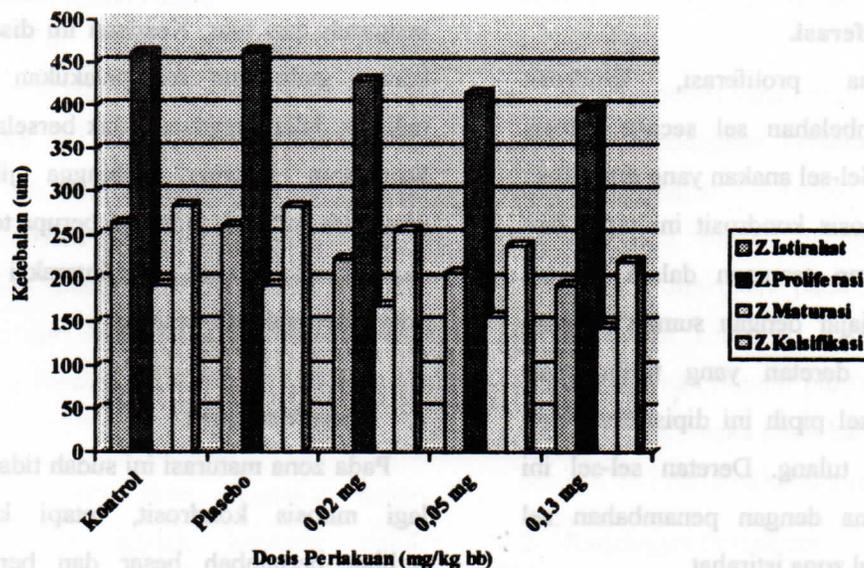
4. Analisis Data.

Data dianalisis Varian pola satu arah untuk data rerata ketebalan zona istirahat,

zona proliferasi, zona maturasi dan zona kalsifikasi dalam kartilago epifisialis tulang *tibia*. Jika dari analisis varian menunjukkan hasil yang signifikan, maka dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) (Gaspersz, 1991). Analisis untuk seluruh data kuantitatif menggunakan program komputer SPSS 7.5.

HASIL DAN PEMBAHASAN.

Hasil pengamatan terhadap ketebalan dari zona istirahat, zona proliferasi, zona maturasi dan zona kalsifikasi disajikan pada Gambar 1. Secara umum dapat dilihat bahwa seiring dengan makin meningkatnya dosis pemberian morfin, maka ketebalan masing-masing zona baik zona istirahat, zona proliferasi, zona maturasi maupun zona kalsifikasi kartilago epifisialis *tibia* fetus mengalami penurunan.



Gambar 1. Histogram Rerata Ketebalan masing-masing Zona pada Kartilago Epifisialis *Tibia* Fetus dari Induk Mencit Bunting yang diberi Morfin.

a. Zona Istirahat.

Hasil pengamatan terhadap zona istirahat baik pada kelompok kontrol, plasebo, maupun kelompok perlakuan menunjukkan adanya kartilago hialin yang terdiri dari kondrosit yang berbentuk bundar atau ovoid. Kondrosit pada zona ini berada dalam keadaan istirahat dan tidak mengalami perubahan morfologi. Menurut Leeson *et al.* (1990), pada awalnya zona istirahat ini merupakan zona yang relatif panjang, tetapi secara progresif memendek karena majunya proses osifikasi ke arahnya.

b. Zona Proliferasi.

Pada zona proliferasi, kondrosit mengalami pembelahan sel secara mitosis dengan pesat. Sel-sel anakan yang dihasilkan dari proses mitosis kondrosit ini pipih dan saling berdekatan tersusun dalam deretan kolom yang sejajar dengan sumbu panjang tulang. Setiap deretan yang terdiri dari setumpuk sel-sel pipih ini dipisahkan oleh sedikit matriks tulang. Deretan sel-sel ini tumbuh terutama dengan penambahan sel pada ujung distal zona istirahat.

Menurut Ham & Cormack (1979), pada zona proliferasi kondrosit aktif bermitosis

dan berfungsi sebagai tempat pembentukan sel-sel kondrosit baru untuk menggantikan sel-sel yang sudah mengalami hipertrofi dan degenerasi pada bagian yang berbatasan dengan diafisis. Apabila morfin dapat menghambat proliferasi sel pada zona proliferasi ini maka dimungkinkan akan mempengaruhi pertumbuhan zona-zona selanjutnya dalam kartilago epifisialis *tibia* fetus. Hal ini pada akhirnya akan mempengaruhi panjang keseluruhan *tibia* menjadi lebih pendek pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Proses mitosis sangat rentan terhadap pengaruh dari luar. Keadaan ini disebabkan karena pada saat sel melakukan mitosis, nukleus dalam keadaan tidak berselaput dan kromosom tersebar, sehingga jika ada pengaruh dari luar misalnya berupa teratogen akan dengan mudah berinteraksi dengan komponen nukleus tersebut.

c. Zona Maturasi.

Pada zona maturasi ini sudah tidak terjadi lagi mitosis kondrosit, tetapi kondrosit terlihat bertambah besar dan bervakuola. Kondrosit tampak berubah bentuk menjadi kuboid karena mengalami hipertrofi akibat

sitolasmanya bervakuola dan berisi glikogen. Diantara kondrosit terdapat matriks tulang yang mulai diresorpsi membentuk sekat tipis.

Dari hasil pengamatan terhadap ketebalan zona maturasi kartilago epifisialis *tibia* fetus menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan cenderung mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan plasebo. Penurunan ketebalan zona maturasi ini seiring dengan semakin meningkatnya dosis pemberian morfin.

d. Zona Kalsifikasi.

Pada zona kalsifikasi ini tampak adanya satu atau beberapa lapisan kondrosit yang mengalami hipertropi dan mati, sehingga zona ini disebut juga zona atrofi. Zona ini terletak berbatasan dengan diafisis. Matriks kartilago dalam zona ini mulai mengalami kalsifikasi dengan adanya pengendapan hidroksiapatit membentuk sekat tipis disekeliling kondrosit yang degenerasi.

Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa ketebalan zona kalsifikasi pada kelompok perlakuan cenderung menurun jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan plasebo. Jadi terdapat hubungan antara semakin tingginya dosis morfin yang

diberikan dengan semakin kecilnya ketebalan zona kalsifikasi kartilago epifisialis *tibia* fetus. Hal ini juga berhubungan dengan zona-zona sebelumnya yang mengalami keterlambatan pertumbuhan, sehingga zona kalsifikasi ini juga mengalami penurunan ketebalannya.

KESIMPULAN.

Dari pengamatan, analisis data dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa Morfin yang diberikan pada induk mencit bunting selama masa organogenesis menyebabkan terhambatnya proses pertumbuhan dan kalsifikasi kartilago epifisialis os *tibia*. Proses terhambatnya pertumbuhan dan kalsifikasi ini seiring dengan semakin tingginya dosis morfin yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Foye, W.O., 1995, Prinsip-prinsip Kimia Medisinal, 2nd ed., diterjemahkan oleh R. Rasyid, K. Firman, T. Suwarno dan A. Musadad, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal. 487-495.
- Gaspersz, V., 1991, Tehnik Analisa dalam Penelitian Percobaan, Tarsito, Bandung, hal. 99 – 119.

- Hawari, D., 1998, *Angka Kesakitan dan Kematian Penderita Ketergantungan Narkotika jenis Opiat (Heroin)*, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, hal. 1-2.
- Mandagi, J., M. Wresniwiro & A.H. Sumarna, 1996, *Penanggulangan Bahaya Narkotika dan Psikotropika*, Bina Dharma Pemuda Printing, Jakarta, hal. 31 - 53.
- Martini, F., 1998, *Fundamentals of Anatomy and Physiology*, 4th edition, Prentice Hall International Inc., USA, pp. 400, 596.
- Nuhriawangsa, I., 1990, *Pemakaian Psikofarmaka (dalam Pemakaian Obat pada Kehamilan)*, Laboratorium Farmakologi Klinik, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta, hal. 119-132.
- Santosa, B., 1990, *Masalah Pemakaian Obat pada Kehamilan*, Laboratorium Farmakologi Klinik, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta, hal. 1-15.
- Shahib, N., 1989, *Ringkasan Biokimia Hormon*, Elstar offset, Bandung, hal.5-7.
- Siswandono, 1995, *Kimia Medisinal*, Airlangga University Press, Surabaya, hal. 532-534.
- Siswosudarmo, R., 1988, *Efek Samping Obat Terhadap Perkembangan Janin (dalam Efek Samping Obat)*, Laboratorium Farmakologi Klinik Fakultas Kedokteran Umum, UGM, Yogyakarta, hal. 131 - 132.
- Suntoro, S.H., 1983, *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*, Penerbit Bharata Karya Aksara, Jakarta, hal. 48-72.