

TESIS

44
TEK. 5014
1
2

**EFEK EMBRIOTOKSIK DAN TERATOGENIK
DIETHYLTOLUAMIDE (DEET) TERHADAP PERKEMBANGAN
EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*) GALUR BALB/C**

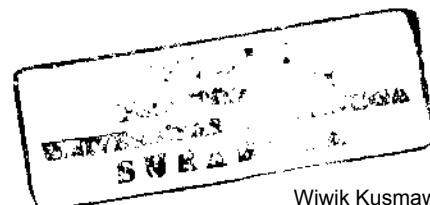
PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



WIWIK KUSMAWATI

PROGRAM STUDI ILMU BIOLOGI REPRODUKSI

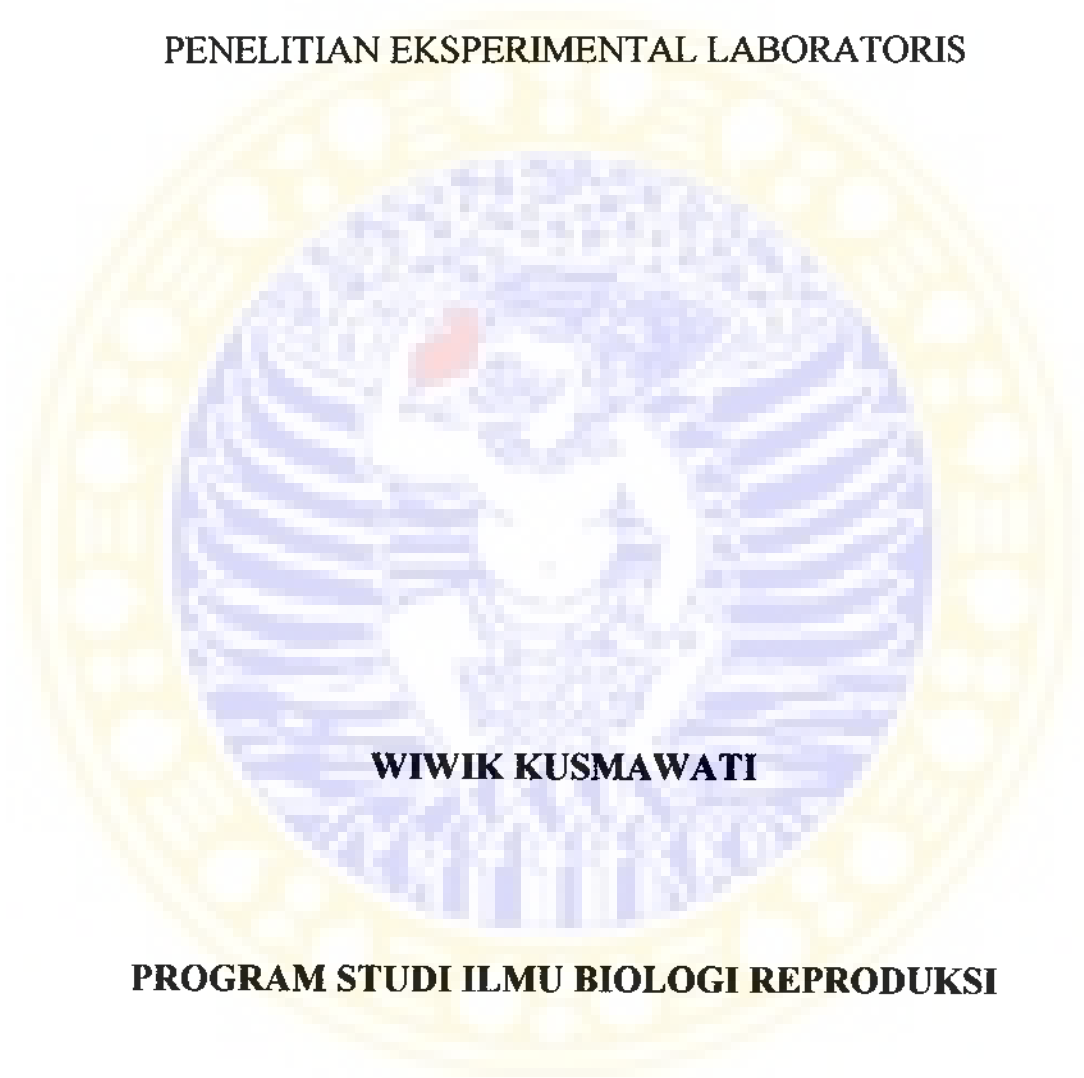
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**



TESIS

**EFEK EMBRIOTOKSIK DAN TERATOGENIK
DIETHYLTOLUAMIDE (DEET) TERHADAP PERKEMBANGAN
EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*) GALUR BALB/C**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



WIWIK KUSMAWATI

PROGRAM STUDI ILMU BIOLOGI REPRODUKSI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

**EFEK EMBRIOTOKSIK DAN TERATOGENIK
DIETHYLTOLUAMIDE (DEET) TERHADAP PERKEMBANGAN
EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*) GALUR BALB/C**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh:

WIWIK KUSMAWATI

NIM. 090214871 M


**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL: April 2005

Oleh

Pembimbing Ketua



Dr. Bambang Poernomo S., M. S., Drh
NIP: 130 701 131

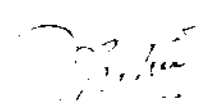
Pembimbing



Win Darmanto, Drs., M. S., Ph.D
NIP: 131 653 741

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Pudji Srijanto, Dr., M. Kes., drh.
*NIP: 131 570 349

UCAPAN TERIMA KASIH

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala rahmat dan hidayahNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Salam dan sholawat juga saya sampaikan kepada junjungan saya Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Bambang Poernomo S., M. S., drh., selaku Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran-saran yang berharga selama penelitian dan penulisan tesis.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Drs. Win Darmanto, M. Si., Ph. D., selaku Pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran-saran yang berguna selama penelitian dan penulisan tesis.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional melalui Tim Managemen Program Doktor yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan rasa hormat saya sampaikan terima kasih kepada Rektor Universitas Airlangga Prof. H. Dr. Med. Puruhito, dr atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih saya sampaikan kepada Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr atas kesempatan untuk saya menjadi mahasiswa Program Magister pada pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih saya sampaikan kepada Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi drh. Mas'ud Hariadi, M. Phil., Ph. D. dan mantan Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi Prof. Dr. Soehartojo Hardjopranto, drh., M. Sc. serta seluruh dosen pengajar atas segala ilmu, bimbingan dan dorongan yang diberikan selama saya mengikuti perkuliahan sampai penulisan tesis.

Terima kasih saya sampaikan kepada Rektor Universitas Muhammadiyah Malang Drs. H. Muhadjir Effendi, MAP. beserta Pembantu Rektor yang telah memberikan kesempatan dan mengizinkan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih saya sampaikan kepada Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang Drs. Ahsanul In'am, M. Si. beserta Pembantu Dekan yang telah memberikan bantuan dan dorongan kepada saya untuk melanjutkan pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih saya sampaikan kepada Pembantu Dekan I Fakultas Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang Drs. Poncojari Wahyono, M. Kes. yang telah memberikan bantuan dan dorongan kepada saya untuk melanjutkan pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang Drs. Ainur Rofieq, M. Kes. yang telah memberikan bantuan dan dorongan kepada saya untuk melanjutkan pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih khusus dan hormat saya ucapkan kepada bapak dan ibu tercinta atas dedikasi, pengorbanan, dorongan dan bimbingan serta nasehat yang berharga sehingga saya dapat mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih dan penghargaan saya sampaikan kepada yang tercinta mak Nas, ibu Mami, alm. om Heru, ibu Kemi, om Yono, tante Min, om Kodi, ibu Sumik, om Wandu, mbak Sri, mas Ismail, adik-adikku yang kusayangi Supri, Ana, Koko, Eli, Lina, Ika, Yayan, Tari, Bovi, Risal, Hisam dan alm. Rihal atas dukungan moril dan do'a selama saya mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Kepada mas Indra, mbak Grace, mbak Erma, mbak Rini dan teman-teman lainnya mbak Dwi, Ziza, Nita, dik Febi, dik Iin, dik Chandra, dll., yang telah membantu dan memberikan dorongan kepada saya selama mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

وَالسَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

Malang, April 2005

Penulis

RINGKASAN

Efek Embriotoksik dan Teratogenik Diethyltoluamide (DEET) Terhadap Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb/C

Wiwik Kusmawati

Insect repellent yang mengandung Diethyltoluamide (DEET) digunakan untuk mengusir gigitan lalat hitam, lalat rusa, lalat kuda, lalat pasir, kutu kucing, kutu anjing, agas dan nyamuk (famili Culicidae). DEET ini termasuk pestisida yang sangat unik, karena dapat diberikan secara langsung pada kulit manusia dengan tujuan untuk mencegah gigitan serangga.

DEET dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dan didistribusikan pada seluruh organ termasuk otak dan fetus. Sesudah enam jam olesan, sebanyak 9 – 56% dari dosis DEET yang diberikan dapat terabsorpsi. Studi yang dilakukan terhadap tikus dengan pemberian DEET selama kebuntingan, ternyata senyawa ini dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dan dapat melintasi plasenta.

Pada perkembangan embrio menunjukkan bahwa tiap pembentukan organ dan sistem organ mengalami periode kritis yaitu pada saat sel/jaringan mengadakan diferensiasi. Bahan teratogen dapat mempengaruhi embrio sehingga menyebabkan kelainan kongenital ringan maupun berat bahkan dapat menyebabkan kematian.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek DEET terhadap kemampuan reproduksi induk mencit galur BALB/C, kelainan organ eksternal fetus mencit, rangka dan organ internal. Pada penelitian ini menggunakan 35 mencit betina galur BALB/C. Mengawinkan mencit betina dengan mencit jantan dengan menggunakan metode *one mating*. Pada mencit kelompok perlakuan, DEET diberikan secara dermal dengan dosis 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB dalam pelarut etanol pada umur kebuntingan ke-6 – 15 hari dan pada mencit kelompok kontrol hanya diberikan etanol. Masing-masing kelompok diulang sebanyak tujuh kali.

Pada umur kebuntingan ke-18 hari, mencit dikorbankan dan dilakukan pengamatan kelainan eksternal. Setengah fetus hidup dimasukkan dalam larutan Bouin's untuk pengamatan kelainan organ internal dan setengahnya lagi dimasukkan dalam etanol 95% untuk dilakukan pewarnaan tulang dengan Alizarin Red S. Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan personal komputer program SPSS versi 11 dengan ANOVA satu jalur serta uji perbandingan berganda (BNT) pada taraf signifikan $\alpha = 0,05$.

Pemberian berbagai dosis DEET menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus, panjang fetus dan embrio diresorpsi. Kematian fetus tidak ditemukan pada seluruh dosis yang digunakan, sehingga dapat dikatakan bahwa DEET tidak bersifat embriotoksik.

Pengamatan kelainan eksternal yang meliputi: kelainan pada anggota gerak, ekor, mata, organ kelamin luar, palatum, bibir dan hematoma, tidak ditemukan pada seluruh dosis yang digunakan. Pengamatan rangka yang meliputi tulang supraoksipital, tulang sternum, tulang vertebralis, tulang sakrokaudalis dan tulang phalanx anggota, tidak ditemukan adanya kelainan pada seluruh dosis yang digunakan. Pengamatan pada organ internal yang meliputi pengamatan hidrosefalus dan ginjal ektopik juga tidak ditemukan pada seluruh dosis yang digunakan.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa: DEET tidak berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi induk mencit galur BALB/C melalui parameter: penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus, panjang fetus, jumlah resorpsi dan jumlah fetus mati, sehingga dapat dikatakan bahwa DEET tidak bersifat embriotoksik. DEET tidak menyebabkan kelainan eksternal fetus mencit yang meliputi anggota gerak, ekor, mata, organ kelamin luar, palatum, bibir dan hematoma. DEET tidak menyebabkan kelainan rangka fetus mencit yang meliputi tulang supraoksipital, tulang sternum, tulang vertebralis, tulang sakrokaudalis dan tulang phalanx anggota. DEET tidak menyebabkan kelainan organ internal fetus mencit yang diamati pada otak dan ginjal.



SUMMARY

The Embryotoxic and Teratogenic Effects of Diethyltoluamide (DEET) on the Development of Embryo Balb/C Strain Mice (*Mus musculus*)

Wiwik Kusmawati

Diethyltoluamide (DEET) as insect repellents can be used to repel biting pest such as black flies, deer flies, fleas, gnats, horse flies, sand flies, ticks and mosquitoes (Family Culicidae). DEET is a unique pesticide, because it can be administered directly to the human body for purposes of repelling insects.

DEET is absorbed promptly from the skin and distributed to all organs including the brain and the fetus. Previous experiment suggested that 9% to 56% of the administered dose was absorbed through the skin. DEET has been demonstrated to cross the placenta in rats whose mothers had been treated of DEET in pregnancy.

In the developmental embryo shows that each organ has a critical period since the proliferation and differentiation of the cell. Teratogenic substances affecting the embryo may result either in mild or severe congenital abnormalities; or until embryonic deaths.

The study was aimed to identify the effect of DEET on reproductive capabilities female Balb/C strain mice, fetal external abnormalities, skeletal and internal organ. Thirty five female Balb/C strain mice were used in this study. The female mice were mated with male mice used one mating method. Mice in treatment group were administered dermally with 281,25; 562,5; 1125 and 2250 mg/kg BW DEET dissolved in ethanol at gestation day of 6 to 15, while mice in control were administered with ethanol. Mice in group were repeated seven times.

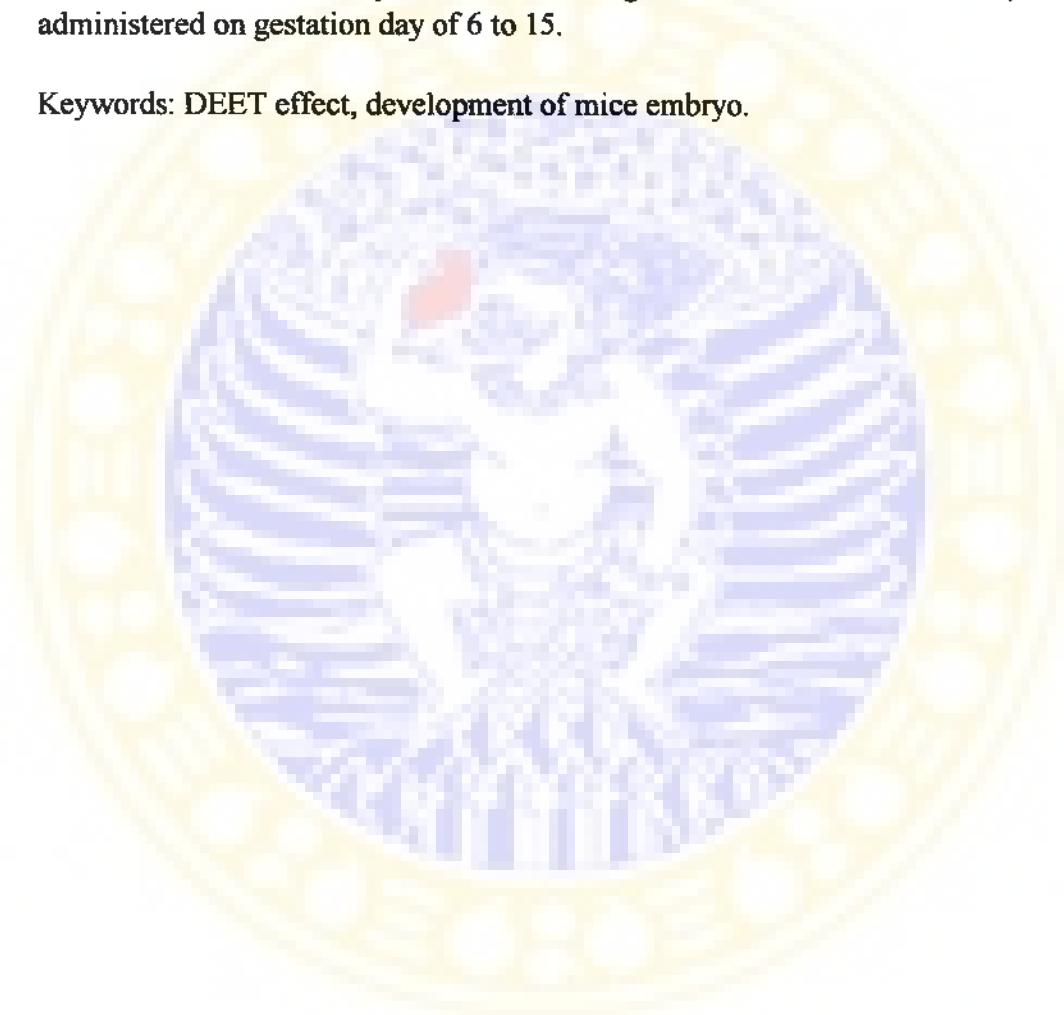
At gestation day 18, the mice were sacrificed and external abnormalities were observed. A half of living fetuses were immersed in Bouin's solution to observe their internal organs, while another half were immersed in 95% ethanol. Bone staining subsequently was done by using Alizarin Red S. Results were analyzed by using SPSS program version 11 for personal computer, one-way ANOVA and multiple comparison test with significance level of 0.05.

Maternal bodyweight, number of living fetus, fetal bodyweight, fetal length and reabsorption embryo showed non significant. Fetal death were not found in all doses, so that it could be inferred that DEET was not embryotoxic.

External abnormalities such as abnormality in extremities, tails, eyes, external sexual organs, palatum, lip and hematoma were not found in all doses used. Skeletal abnormalities such as supraoccipital, sternal, vertebral, sacrocaudal, and phalanx were not found in all doses administered. Internal organs were observed, however there were no effects of DEET in the brain and kidney.

From these experiment we suggested that DEET has no effects in reproductive capabilities of female Balb/C strain mice such as the maternal bodyweight, total number of living fetus, fetal bodyweight, fetal length, and intrauterine death. DEET has no effects in external abnormalities such as abnormality in extremities, tails, eyes, external sexual organs, palatum, lip and hematoma. DEET has no effects in skeletal abnormalities such as supraoccipital, sternal, vertebral, sacrocaudal and phalanx. DEET has no effects on internal organ abnormalities in mice fetus such as brain and kidney. We concluded that DEET has no effects of embryotoxic and teratogenic in mice strain Balb/C, when administered on gestation day of 6 to 15.

Keywords: DEET effect, development of mice embryo.



ABSTRACT**The Embryotoxic and Teratogenic Effects of Diethyltoluamide (DEET) on the Development of Embryo Balb/C Strain Mice (*Mus musculus*)**

Wiwik Kusmawati

The study was aimed to identify the effect of DEET on reproductive capabilities female Balb/C strain mice, fetal external abnormalities, skeletal and internal organ. Thirty five female Balb/C strain mice were used in this study. The female mice were mated with male mice used one mating method. Mice in treatment group were administered dermally with 281,25; 562,5; 1125 and 2250 mg/kg BW DEET dissolved in ethanol at gestation day of 6 to 15, while mice in control were administered with ethanol. Mice in group were repeated seven times.

At gestation day 18, the mice were sacrificed and external abnormalities were observed. A half of living fetuses were immersed in Bouin's solution to observe their internal organs, while another half were immersed in 95% ethanol. Bone staining subsequently was done by using Alizarin Red S. Results were analyzed by using SPSS program version 11 for personal computer, one-way ANOVA and multiple comparison test with significance level of 0.05.

Maternal bodyweight, number of living fetus, fetal bodyweight, fetal length and reabsorption embryo showed non significant. Fetal death were not found in all doses, so that it could be inferred that DEET was not embryotoxic.

External abnormalities such as abnormality in extremities, tails, eyes, external sexual organs, palatum, lip and hematoma were not found in all doses used. Skeletal abnormalities such as supraoccipital, sternal, vertebral, sacrocaudal, and phalanx were not found in all doses administered. Internal organs were observed, however there were no effects of DEET in the brain and kidney.

From these experiment we suggested that DEET has no effects in reproductive capabilities of female Balb/C strain mice such as the maternal bodyweight, total number of living fetus, fetal bodyweight, fetal length, and intrauterine death. DEET has no effects in external abnormalities such as abnormality in extremities, tails, eyes, external sexual organs, palatum, lip and hematoma. DEET has no effects in skeletal abnormalities such as supraoccipital, sternal, vertebral, sacrocaudal and phalanx. DEET has no effects on internal organ abnormalities in mice fetus such as brain and kidney. We concluded that DEET has no effects of embryotoxic and teratogenic in mice strain Balb/C, when administered on gestation day of 6 to 15.

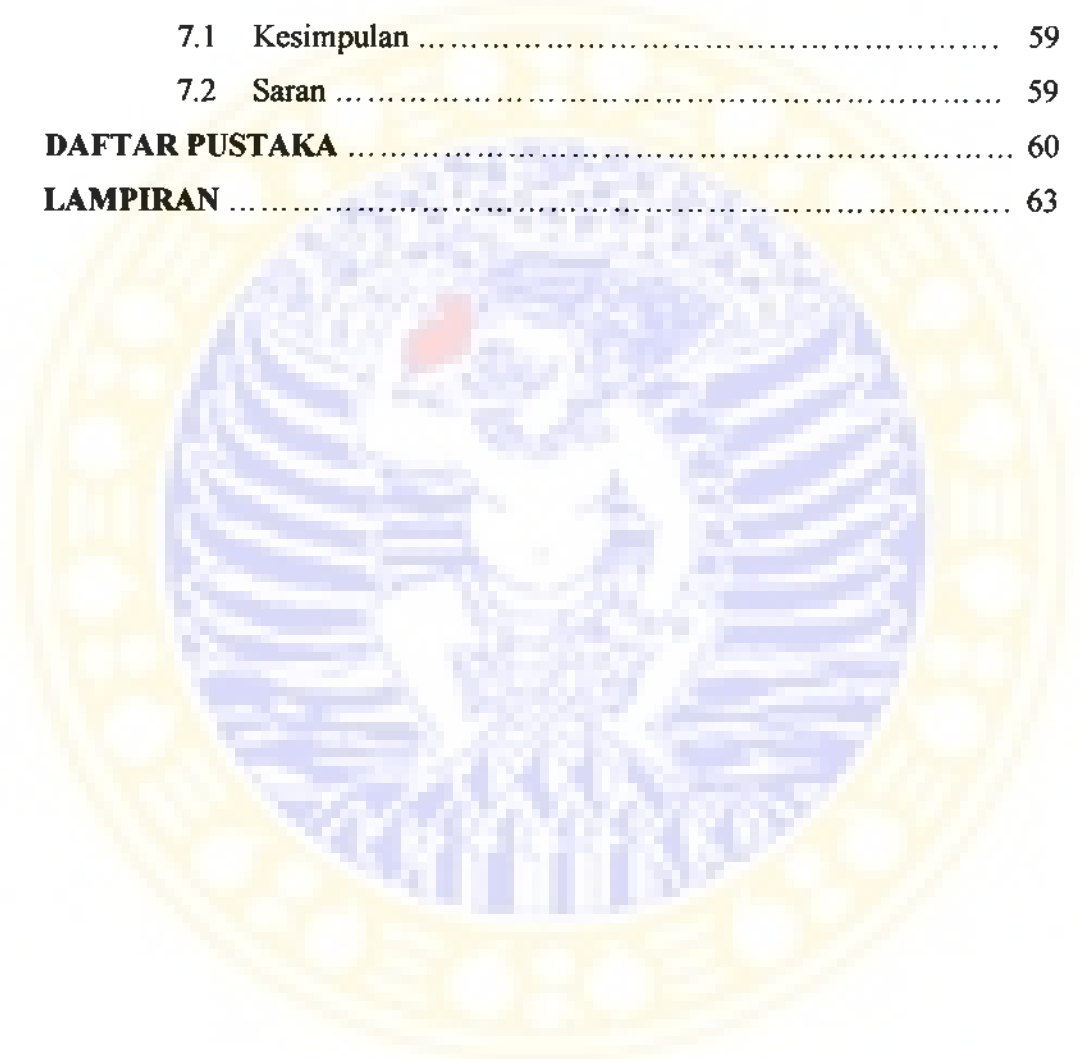
Keywords: DEET effect, development of mice embryo.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Ucapan Terima Kasih	v
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 DEET	8
2.1.1 Sifat Fisik dan Kimia DEET	9
2.1.2 Metabolisme DEET	9
2.1.3 Penyerapan dan Absorpsi DEET	12
2.1.3 Efek Fisiologis DEET	13
2.2 Tinjauan Tentang Perkembangan Embrio	17
2.3 Fisiologi Kebuntingan Mencit	23
2.4 Periode Kritis Perkembangan Embrio	24
2.5 Mekanisme Teratogenesis	25

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
PENELITIAN	29
3.1 Kerangka Konseptual	29
3.2 Hipotesis Penelitian	30
BAB IV MATERI DAN METODE PENELITIAN	31
4.1 Rancangan Penelitian	31
4.2 Sampel	31
4.3 Variabel Penelitian	31
4.3.1 Klasifikasi Variabel	31
4.3.2 Definisi Operasional Variabel	32
4.4 Kerangka Operasional	36
4.5 Bahan-bahan	37
4.6 Alat-Alat	37
4.7 Waktu dan Lokasi Penelitian	37
4.8 Cara Pemeriksaan Siklus Estrus Mencit	38
4.9 Mengawinkan Mencit	38
4.10 Metode Penelitian	39
4.10.1 Pembuatan larutan	39
4.10.2 Cara Perlakuan	39
4.10.3 Pengamatan	40
4.11 Analisis Data	40
BAB V Analisis Hasil Penelitian	43
5.1 Kemampuan Reproduksi Induk Mencit dan Keadaan Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET	43
5.2 Kelainan Eksternal Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET	48
5.3 Kelainan Rangka Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET	49
5.4 Organ Internal Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET	49

BAB VI PEMBAHASAN	55
6.1 Kemampuan Reproduksi Induk Mencit dan Keadaan Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET.....	55
6.2 Kelainan Eksternal, Rangka dan Organ Internal Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET	57
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	59
7.1 Kesimpulan	59
7.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	63



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Identitas kimiawi DEET	10
Tabel 2.2 Sifat fisik dan kimia DEET	10
Tabel 2.3 Tanda dan gejala toksisitas akibat DEET	14
Tabel 5.1 Rata-rata pertambahan berat badan induk (g) setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data	43
Tabel 5.2 Rata-rata jumlah fetus hidup setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data	44
Tabel 5.3 Rata-rata berat fetus (mg) setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data	45
Tabel 5.4 Rata-rata panjang fetus (cm) setelah pemberian ... berbagai dosis DEET dan transformasi data	46
Tabel 5.5 Persentase embrio diresorpsi setelah pemberian ... berbagai dosis DEET dan transformasi data	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur kimia DEET	11
Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual penelitian	30
Gambar 4.1 Bagan kerangka operasional	36
Gambar 5.1 Rata-rata pertambahan berat badan induk (g) setelah pemberian dosis DEET	44
Gambar 5.2 Rata-rata jumlah fetus hidup setelah pemberian dosis DEET	45
Gambar 5.3 Rata-rata berat fetus (mg) setelah pemberian dosis DEET	46
Gambar 5.4 Rata-rata panjang fetus (cm) setelah pemberian dosis DEET ..	47
Gambar 5.5 Persentase embrio diresorpsi setelah pemberian dosis DEET	48
Gambar 5.6 Fetus hidup menciit	50
Gambar 5.7 Uterus fetus menciit	50
Gambar 5.8 Tulang supraoksipital fetus menciit	51
Gambar 5.9 Tulang sternum fetus menciit	51
Gambar 5.10 Tulang vertebralis fetus menciit	52
Gambar 5.11 Tulang sakrokaudalis fetus menciit	52
Gambar 5.12 Tulang phalanx anggota depan fetus menciit	53
Gambar 5.13 Tulang phalanx anggota belakang fetus menciit	53
Gambar 5.14 Potongan melintang otak fetus menciit	54
Gambar 5.15 Potongan melintang ginjal fetus menciit	54



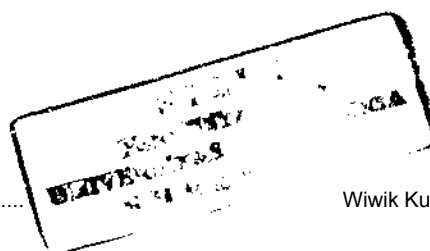
BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diethyltoluamide (DEET), dikenal dengan nama produk dagang Autan, Detamide, Dieltamid, Metadelphen, Repper-Det, Repladin Special, Oldtime Woodsman, Cutter, Muskel, Chemform, Baker's Antifol ataupun Off. DEET mempunyai nama kimia diethyl-m-toluamide; diethyl-meta-toluamide; *m-toluic acid diethylamide*; N,N-diethyl-m-toluamide; N,N-diethyl-meta-toluamide; N,N-diethyl-3-methyl-benzamide ataupun 3-methyl-N,N-diethylbenzamide (Cecchine *et al.*, 2002; EXTTOXNET, 2002; WNV, 2002). DEET merupakan pestisida kelompok pengusir serangga (*insect repellent*). DEET ini termasuk klas kimia *aromatic amide* yaitu *N,N*-dialkylarylamide (The Poison Center, 2002; WNV, 2002).

Insect repellent yang mengandung DEET digunakan untuk mengusir gigitan lalat hitam, lalat rusa, lalat kuda, lalat pasir, kutu kucing, kutu anjing, agas ataupun nyamuk (famili Culicidae) (The Poison Center, 2002; WNV, 2002). DEET paling efektif untuk mengusir nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes tueniorhynchus* (INCHEM, 1990).

Salah satu strategi untuk memperkecil kejadian *arthropod-borne disease* adalah dengan menggunakan personal proteksi yaitu dalam bentuk *insect repellent*. DEET adalah proteksi yang paling efektif terhadap penyakit malaria, *dengue fever*, *yellow fever*, *epidemic polyarthritis*, *encephulitis*, *bancroftian filariasis* (Annals of Internal Medicine, 1998; OTIS, 2003).



Karbon dioksida dan asam laktat yang dihasilkan oleh manusia merupakan *attractant* yang sangat penting bagi nyamuk untuk menggigit inang. DEET mengusir nyamuk dengan penghambatan kemoreseptor pada antenanya yang distimulasi oleh asam laktat (Annals of Internal Medicine, 1998; Davis dan Sokolove dalam Cecchine *et al.*, 2002; WNV, 2002).

Penelitian yang dilakukan Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia (YLKI) pada tahun 1995, menemukan bahan aktif DEET pada berbagai produk *insect repellent* (Anonim², 2003; Anonim³, 2003). Produk *insect repellent* ini dapat membahayakan manusia karena kandungan bahan aktif DEET (Anonim¹, 2003). Bahaya DEET adalah dapat mengakibatkan kegilaan (*manic psychosis*), kejadian kardiovaskuler, alergi kulit dan dermatitis (Veltri *et al.* dalam Cecchine *et al.*, 2002). Produk yang mengandung DEET ataupun isomernya sangatlah efektif sebagai *insect repellent* tetapi juga dapat mengakibatkan reaksi dermal dan neurologik pada manusia (EXTOXNET, 2002).

DEET merupakan pestisida yang sangat unik, karena dapat digunakan secara langsung pada kulit manusia dengan tujuan untuk mencegah gigitan serangga (EXTOXNET, 2002). Pada umumnya DEET digunakan pada kulit manusia, pakaian, hewan peliharaan, tenda, alas tidur gulungan, *mesh insect nets* dan kasa jendela (Annals of Internal Medicine, 1998; The Poison Center, 2002; EXTOXNET, 2002).

Insect repellent yang mengandung DEET dipakai secara luas di Asia dan di United States, 200 juta orang menggunakan *insect repellent* ini (Annals of Internal Medicine, 1998; Anonim², 2003). Saat ini terdapat begitu banyak pilihan *insect repellent*, misalnya: berbentuk larutan, minyak, krim, cair, gel, *aerosol*, *pump spray*, *lotion*, *roll-ons*, *towelettes*, *tablecloth* dan *wristbands* (Cecchine *et al.*, 2002; WNV, 2002; OTIS, 2003).

DEET dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dan didistribusikan pada seluruh organ termasuk otak dan fetus (EXTOXNET, 2002). Senyawa ini dapat diekskresikan melalui urin (INCHEM, 1990; EXTOXNET, 2002; The Poison Center, 2002).

Studi yang dilakukan terhadap tikus dengan perlakuan DEET selama kebuntingan, ternyata senyawa ini dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dan dapat melintasi plasenta (INCHEM, 1990; ITIS, 1992; MOTIS, 2003). DEET yang diberikan pada kulit tikus betina albino selama kebuntingan ditemukan terdapat pada plasenta, fetus dan induk pada masa tiga bulan sesudah kelahiran (Gleiberman *et al.* dalam INCHEM, 1990).

Terdapat laporan kasus pada manusia tentang gambaran maternal akibat DEET dengan kadar 25% yang diberikan pada lengan dan kaki setiap hari selama kehamilan. Akibatnya bayi yang terlahir mengalami kecacatan sehubungan dengan wajah, seperti: retardasi sensorimotor, problem otot dan kehilangan pendengaran (MOTIS, 2003).

Studi yang dilakukan pada tikus menunjukkan tidak ada efek embriotoksik akibat pemberian DEET (Robin dan Cherniak dalam INCHEM, 1990), tetapi pemberian DEET reguler pada kulit tikus betina dan jantan menunjukkan kesamaan hasil dengan tikus putih bunting yaitu mempunyai efek gonadotoksik dan embriotoksik. Pemberian DEET pada kulit tikus betina albino selama kebuntingan meningkatkan kecepatan kematian post-natal dan embrional dan menurunkan berat lahir (Gleiberman *et al.* dalam INCHEM, 1990).

Studi reproduksi dan teratogenitas pada tikus, pemberian DEET dermal 100 atau 1000 mg/kg BB selama kebuntingan tidak mengakibatkan efek teratogenik (INCHEM, 1990).

Kelinci bunting yang diberi DEET 0, 50, 100, 500, 1.000 atau 5.000 mg/kg BB dalam pelarut etanol pada tulang punggung tercukur pada umur kebuntingan ke-0 – 29 hari, menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada kontrol dan perlakuan ditinjau dari aspek indeks fertilitas, jumlah implantasi tiap induk dan jumlah fetus tiap induk. Di samping itu tidak menunjukkan efek terhadap berat fetus, panjang fetus, berat plasenta dan tidak ada peningkatan kejadian anomali skeletal atau jaringan lunak yang diamati pada kelompok kontrol dan perlakuan (EXTOXNET, 2002).

Tikus bunting diberi 10 ml minyak kacang tanah yang berisi 0, 8, 20 atau 80 mg/kg BB DEET pada umur kebuntingan ke-5 – 15 hari, tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan terhadap fertilitas, jumlah fetus tiap kelahiran, berat fetus ataupun ketahanan

fertilitas. Tetapi dari studi ini menunjukkan penurunan pada jumlah area implantasi, jumlah fetus tiap induk dan jumlah resorpsi (EXTOXNET, 2002).

Dari hasil penelitian, DEET dapat mengakibatkan efek teratogenik dan embriotoksik pada embrio ayam *White Leghorn* dengan 1,27 mikromol DEET yang diberikan pada membran khorio-allantois. Sebanyak 41% embrio dapat bertahan hidup dan 33% embrio mengalami malformasi, umumnya kejadian kardiovaskuler, muskuloskeletal dan kecacatan sistem saraf pusat (INCHEM, 1990). Kecacatan kelahiran akibat pemberian DEET juga terjadi pada embrio ayam domestik (*Gallus gallus domesticus*, Famili Phasianidae: burung belibis, kalkun, ayam pegar dan ayam hutan) (WNV, 2002).

Dari uraian diatas, maka sangatlah penting untuk mengkaji efek teratogenik DEET terhadap perkembangan embrio mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini merupakan penelitian terapan yang dikerjakan secara eksperimental laboratorik dengan menggunakan hewan coba mencit sebagai model. Hal ini karena pola perkembangan embrio mencit hampir sama dengan manusia, siklus hidupnya pendek, mudah dipelihara dan cepat berkembang biak. Dengan demikian perlakuan yang diberikan kepada mencit dan hasil dari perlakuan yang didapatkan dalam penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pertimbangan penggunaan DEET pada manusia.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalahnya adalah sebagai berikut:

1. Apakah DEET mempengaruhi kemampuan reproduksi induk mencit galur BALB/C?
2. Apakah DEET menyebabkan kelainan eksternal fetus mencit?
3. Apakah DEET menyebabkan kelainan rangka fetus mencit?
4. Apakah DEET menyebabkan kelainan organ internal fetus mencit?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui efek teratogenik DEET terhadap perkembangan embrio mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui efek DEET terhadap kemampuan reproduksi induk mencit galur BALB/C.
2. Mengetahui efek DEET terhadap kelainan eksternal fetus mencit.
3. Mengetahui efek DEET terhadap kelainan rangka fetus mencit.
4. Mengetahui efek DEET terhadap kelainan organ internal fetus mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah sebagai berikut:

1. Dari hasil penelitian ini dapat mengungkap ada tidaknya efek embriotoksik maupun teratogenik akibat pemberian DEET.

2. Pola perkembangan embrio mencit hampir sama dengan perkembangan embrio manusia, maka perlakuan yang diberikan kepada mencit dan dari hasil perlakuan tersebut yang didapatkan dalam penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pertimbangan penggunaan DEET pada manusia, karena perlakuan ini dari sudut etis tidak mungkin dilakukan pada wanita hamil. Dengan demikian hasil penelitian ini tidak dapat ditransformasikan pada manusia secara langsung, tetapi dapat diasumsikan bahwa akan terjadi hal yang sama apabila perlakuan diaplikasikan pada manusia.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DEET

DEET pertama kali dikembangkan Departemen Pertanian United States pada tahun 1946 untuk personal militer dalam mencegah kejadian *arthropod-borne disease* dan dipatenkan di United States pada tahun 1957 (Young dan Evans dalam Cecchine *et al.*, 2002). Diperkirakan sebanyak 38% dari masyarakat United States menggunakan *insect repellent* ini (Veltri dan Selim dalam Cecchine *et al.*, 2002; The Poison Center, 2002; EXTTOXNET, 2002).

Sampai tahun 1987, personal militer menggunakan DEET secara rutin dengan kadar >75%, kemudian DEET digunakan dengan konsentrasi 35%. Produk komersial di United States misalnya jenis: larutan, losion, krim, gel, *aerosol*, *pump spray* dan *impregnated towelettes* mengandung DEET dengan konsentrasi 5 – 100% (The Poison Center, 2002; WNV, 2002; CMAJ, 2003). Sampai bulan September 1998, sebanyak 225 produk *insect repellent* yang mengandung DEET terdaftar pada *Environmental Protection Agency* (EPA) dengan konsentrasi DEET antara 4 – 100% (EPA dalam Cecchine *et al.*, 2002). Konsentrasi DEET pada produk komersial berkisar antara 11,27 – 99,9% (INCHEM, 1990).

Pada umumnya *insect repellent* jenis losion, *spray* ataupun minyak mengandung 10 – 25% DEET. Penggunaan 20 – 30% DEET pada kulit atau pakaian dapat melindungi 90% dari gigitan nyamuk dan kutu (OTIS, 2003).

2.1.1 Sifat Fisik dan Kimia DEET

DEET tersusun oleh 85 - 95% meta-isomer (INCHEM, 1990). DEET teknis tersusun atas lebih dari 95% isomer *m*-DET. Isomer ortho (*o*-DET) dan para (*p*-DET) kurang efektif dibandingkan dengan *m*-DET (Ambrose dan Yost dalam Cecchine *et al.*, 2002; EXTOXNET, 2002; WNV, 2002). Adapun identitas kimia, sifat fisik dan kimia DEET pada Tabel 2.1 dan 2.2, sedangkan struktur kimia DEET pada Gambar 2.1.

2.1.2 Metabolisme DEET

DEET dapat memasuki tubuh dalam berbagai jalur paparan yaitu dermal, okuler, inhalasi ataupun ingesti (melalui traktus gastrointestinal) (University of Nebraska, 1997; Cecchine *et al.*, 2002; EPA, 2003).

Pada umumnya DEET memasuki tubuh melalui jalur paparan dermal (Stinecipher dan Shah dalam Cecchine *et al.*, 2002). DEET yang diberikan secara dermal bersama dengan pestisida lain dapat mengakibatkan penetrasinya meningkat (Moody *et al.* dalam Cecchine *et al.*, 2002).

Apabila DEET diberikan pada kulit, sebagian terabsorpsi, tetapi sebagian juga menguap (INCHEM, 1990; Schoenig dan Selim dalam Cecchine *et al.*, 2002), atau menghilang akibat bergesekan dengan pakaian (Smith *et al.* dalam Cecchine *et al.*, 2002).

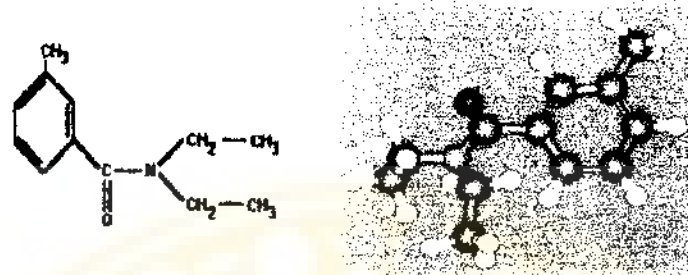
Studi yang dilakukan pada tikus, kelinci dan anjing dengan pemberian konsentrasi 75% DEET dalam pelarut etanol yang dilabel dengan bahan radioaktif selama 7 hari, ternyata DEET diekskresikan melalui urin dan anjing memiliki potensi absorpsi terendah (Schmidt, Smith dan Selim dalam Cecchine *et al.* 2002). DEET dengan konsentrasi >75% diekskresikan melalui urin dalam waktu 24 jam (INCHEM, 1990).

Tabel 2.1 Identitas kimia DEET (Cecchine *et al.*, 2002; EXTTOXNET, 2002; WNV, 2002)

Karakteristik	Informasi
Kelompok pestisida	<i>Insect repellent</i>
Klas kimia	<i>Aromatic amide (N,N-dialkylarylamide)</i>
Nama kimia	N, N- diethyl-m-toluamide
Nama dagang	N,N-diethyl-3-methyl-benzamide Autan; DET; DETA; Detamide; Dieltamid; Metadelphene; MGK; OFF; ENT 20, 218; Flypel; Delphene; m-Delphene; m-Det; m-Deta; meta-Delphene; Naugatuck DET; Repper-DET; Repladin Special; Oldtime Woodsman; Cutter; Muskol; Chemform; Baker's Antifol; Deta-20; Flypel; MGK-Diethyltoluamide; Naugatuck Det; Repel; Repper-Det; Repladin Special; ENT 20218; Chigger wash; Skeeter Beater; Skeeter Cheater; Skintastic for Kids.
Rumus molekul	$C_{12}H_{17}NO$
Struktur kimia	Lihat Gambar 2.1

Tabel 2.2 Sifat fisik dan kimia DEET (Cecchine *et al.*, 2002; EXTTOXNET, 2002; WNV, 2002)

Warna	Tidak berwarna – kuning sawo
Bau	Tidak berbau
Titik didih	160 °C pada 19 mm Hg
Titik cair	-45 °C
Berat jenis	0.996 pada 20 °C
Berat molekul	191.26
Tekanan uap	0.2 mm Hg pada 25 °C
Klasifikasi toksisitas EPA	Klas III (toksisitas akut rendah)
Kelarutan dalam air	Tidak larut (912 mg/L pada 25 °C)
Kelarutan pada pelarut lain	Larut dalam etanol, eter, isopropanol, kloroform, karbon disulfida, benzena, propilen glikol, minyak biji kapas, petroleum eter



Gambar 2.1 Struktur kimia DEET (Anonim¹, 1990)

Studi pada manusia mengindikasikan bahwa sebagian besar DEET terabsorpsi dalam waktu satu jam dan sisanya mengalami metabolisme. Jalur metabolik utama pada manusia meliputi oksidasi *benzylic moiety* dan hidroksilasi sisi rantai yang menghasilkan *m carboxyl-N, N'-diethylbenzoylamide*. Produk monohidroksilasi diekskresikan sebagai *glucoronide* daripada sebagai alkohol bebas (INCHEM, 1990).

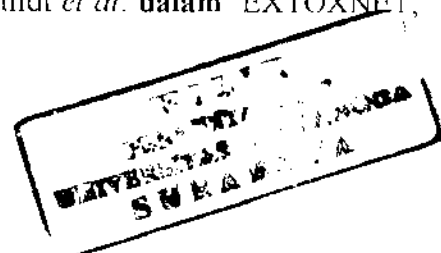
DEET termasuk kelompok lipofilik sehingga DEET secara cepat terabsorpsi dalam waktu dua jam sesudah pemberian DEET (Annals of Internal Medicine, 1998). Konsentrasi puncak plasma terjadi dalam waktu satu jam. Kemudian diekskresikan dari plasma dalam waktu empat jam sesudah kulit dibilas dan diekskresikan melalui urin dalam waktu dua belas jam (The Poison Center, 2002).

Dari hasil penelitian pada sukarelawan yang diberi larutan 25% DEET berlabel ¹⁴C dalam pelarut alkohol absolut, konsentrasi DEET tertinggi tercapai dalam waktu lima jam sesudah pemberian dan ditemukan tinggi sampai 21 jam sesudah pemberian. Jumlah konsentrasi DEET terendah adalah 5,5% dan 3,8% yang diperoleh melalui urin (EXTOXNET, 2002).

2.1.3 Penyerapan dan Absorpsi DEET pada Kulit

Dengan menggunakan radioautografi, injeksi DEET berlabel ^{14}C intravena ditelusuri, kadar yang tinggi pada jaringan ditemukan pada hati, ginjal, kelenjar lakrimal, dan mukosa nasal. Konsentrasi ditemukan lebih tinggi pada tiroid dan *brown fat* daripada sirkulasi darah. Konsentrasi tertinggi dan paling tetap pada kelenjar lakrimal. Konsentrasi pada fetus ditemukan lebih rendah daripada induk. Ekskresi lebih cepat daripada absorpsi dan sebagian besar keluar melalui ginjal. Sesudah empat jam pemberian DEET, sangatlah sedikit radioaktivitas yang ditemukan pada berbagai jaringan, kecuali pada kelenjar lakrimal (Blomquist *et al.* dalam EXTTOXNET, 2002).

DEET berlabel ^{14}C diberikan pada kelinci dermal dengan kecepatan $1,08 - 1,10 \text{ mg/cm}^2$ (kecepatan yang sama juga digunakan pada kulit manusia dalam kondisi praktis). Dalam waktu enam jam, $0,149 - 0,152 \text{ mg/cm}^2$ hilang akibat penguapan, dalam hal ini jumlahnya $13,8 - 13,9\%$ dari dosis yang diaplikasikan. Pada akhir periode enam jam, sangatlah mungkin untuk memperoleh $38,4 - 67,3\%$ dari dosis yang diberikan dengan mencuci kulit dengan etanol sampai selanjutnya tidak ada radioaktivitas yang dapat dilepaskan. Urin banyak digunakan sebagai sampel, konsentrasi tertinggi radioaktivitas ditemukan 6,5 jam sesudah pemberian dan radioaktivitas tetap ada dalam waktu 24 jam. Kemudian konsentrasi DEET menurun secara cepat tetapi masih dapat terdeteksi dalam waktu 9 hari sesudah pemberian DEET (Hayes dan Schmidt *et al.* dalam EXTTOXNET, 2002).



Pada produk komersial, jumlah kumulatif DEET yang terabsorpsi masuk ke dalam kulit manusia adalah berkisar antara 6 – 100% (Stinecipher **dalam** Cecchine *et al.*, 2002). Penetrasi dermal dapat mencapai hingga 77% dari dosis yang digunakan, sedangkan sisanya akan menguap. Absorpsi DEET pada kulit bervariasi tergantung bagian yang terpapar. Pemberian DEET pada tungkai depan bagian ventral kera terabsorpsi sebanyak 68% (INCHEM, 1990).

Sesudah 6 jam, sebanyak 9 – 56% dari dosis DEET yang diberikan terabsorpsi masuk ke dalam kulit (Annals of Internal Medicine, 1998; Cecchine *et al.*, 2002; CMAJ, 2003). Sebanyak 50% dari dosis DEET yang diberikan, diabsorpsi dalam waktu enam jam (The Poison Center, 2002). Sebanyak 17% dari dosis DEET yang diberikan pada kulit terabsorpsi masuk ke dalam sirkulasi darah (INCHEM, 1990). Sebanyak 15% dari dosis DEET yang diberikan pada kulit terabsorpsi dan masuk ke dalam sirkulasi darah (Robbin dan Cherniack **dalam** Cecchine *et al.*, 2002). Pemaparan DEET melalui kulit dapat mengakibatkan absorpsi dan masuk ke dalam sirkulasi darah berkisar antara 6 – 8% dari dosis yang diberikan (Snodgrass dan Selim **dalam** Cecchine *et al.*, 2002). Pada manusia, pemberian DEET dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dengan perkiraan sebanyak 16,7% dari dosis yang diberikan (ITIS, 1992).

2.1.4 Efek Fisiologis DEET

Efek klinis akibat DEET dermal berulang adalah: tekanan darah rendah, rata-rata denyut jantung rendah, kehilangan keseimbangan, kejang,

mengantuk, sakit perut, mual, muntah, bintik-bintik kemerahan pada kulit, alergi ataupun sakit gila paranoid (The Poison Center, 2002). Adapun tanda dan gejala toksisitas DEET pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Tanda dan gejala toksisitas DEET (Clem *et al.* dalam Cecchine *et al.*, 2002)

Area yang terpengaruh	Tanda atau gejala
Kardiovaskuler	Tekanan darah rendah Rata-rata denyut jantung rendah
Dermatologik	Bintik-bintik kemerahan pada kulit Alergi
Sistem saraf	Kehilangan keseimbangan Kejang Bicaranya terbata-bata Kejang pada otot Insomnia Gemetar Sulit bergerak Gila Koma

Pemaparan DEET dermal dapat mengakibatkan kulit kemerahan, iritasi dan dermatitis. Kulit kemerahan, rasa panas pada wajah dan anggota gerak tubuh sehubungan dengan kejadian *encephalopathy toksik*. Adapun gejala dari *encephalopathy toksik* adalah: iritasi pada kulit, sulit bergerak, depresi pada sistem saraf pusat, gangguan pada *Cerebro Spinal Fluid (CSF)* dan adanya sindrom *Reye* (keadaan hiperamonia berat), yang biasanya lebih banyak terjadi pada anak perempuan terutama jika mengalami defisiensi enzim *ornithyl-carbamoyl transferase* (Roland *et al.* dalam INCHEM, 1990).

Penggunaan *insect repellent* yang mengandung 50% atau 75% DEET pada kulit manusia dapat mengakibatkan iritasi, kulit berlepuh dan luka permanen (Reuveni dan Yagupsky dalam EXTOXNET, 2002). Hasil dari survei kuisioner oleh *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) pada seluruh pekerja *Everglades National Park* yang terpapar *insect repellent* yang mengandung DEET mengindikasikan adanya berbagai reaksi dermal termasuk rasa panas pada wajah, iritasi pada kulit dan membran mukus dan mati rasa ataupun rasa terbakar pada bibir (McConnel *et al.* dalam EXTOXNET, 2002). Dermatitis akibat pemaparan DEET dapat terjadi pada anak-anak maupun dewasa (Miller, Oransky *et al.*, dalam EXTOXNET, 2002). Pemaparan DEET juga dapat mengakibatkan reaksi alergi (Miller dalam EXTOXNET, 2002).

DEET dengan konsentrasi 75% diberikan pada lengan atas dan lipatan siku para sukarelawan. Ternyata dari 77 sukarelawan, sebanyak 37 sukarelawan (48%) mengalami reaksi dermal pada lipatan sikunya. Tidak ada reaksi dermal pada lengan atas atau kelompok kontrol (sukarelawan yang dites dengan menggunakan pelarut etanol).

Sebanyak 10 – 12 g DEET dengan konsentrasi 75% diberikan pada kulit para sukarelawan yang mengakibatkan konsentrasi DEET darah 0,0005 mmol/L sedangkan ingesti dengan jumlah yang sama mengakibatkan konsentrasi DEET darah ratusan kali lebih tinggi yaitu 1 mmol/L. (*Annals of Internal Medicine*, 1998).

Kematian akibat DEET pada orang dewasa dapat terjadi pada dosis tinggi dan kadar DEET darah yang mengakibatkan keracunan fatal sistemik berkisar antara 168 – 240 mg/L (Tenenbein **dalam** Cecchine *et al.*, 2002). Pemberian DEET secara rutin pada sukarelawan pria yang berumur 30 tahun mengakibatkan konsentrasi DEET darah kira-kira 3 mg/L.

Pemberian DEET dengan konsentrasi 50% atau lebih secara dermal berulang pada kuda mengakibatkan: kulit kemerahan, berdarah, luka, keluarnya keringat berlebihan, iritasi dan lepasnya jaringan dari lapisan (Blume *et al.* **dalam** EXTOXNET, 2002). Pemberian DEET dengan konsentrasi 30% atau 40% atau murni pada mata kelinci mengakibatkan oedema, lakrimasi, konjungtivitis, mata terlihat berawan dan bernanah (Hayes dan Ambrose **dalam** EXTOXNET, 2002).

LD₅₀ akibat pemberian DEET intravena pada kelinci adalah >50 mg/kg BB. Pada kelinci, dosis 75 mg/kg intravena adalah fatal, tetapi dosis 50 mg/kg tidaklah fatal (INCHEM, 1990). Pemberian DEET dermal tunggal pada kelinci sebanyak 2 atau 4 ml/kg mengakibatkan kulit kemerahan. Pemberian DEET dengan konsentrasi 50% dermal berulang selama 13 minggu dengan kecepatan 2 ml/kg/ mengakibatkan kulit berdarah, kulit kering dan keretakan tulang.

Pemberian DEET dermal pada tikus mengakibatkan depresi pada sistem saraf pusat, gerak refleks meningkat, gangguan pada alat respirasi, koma dan kematian (Gleason *et al.* **dalam** INCHEM, 1990). Pemaparan DEET dermal pada mencit mempunyai LD₅₀ 4,5 g/kg BB (4500 mg/kg BB) (INCHEM, 1990).

LD₅₀ DEET oral pada tikus adalah 2,00 g/kg BB (Ambrose dan Yost dalam Cecchine *et al.*, 2002) atau 2 – 4 g/kg BB (INCHEM, 1990). LD₅₀ DEET oral antara 1.800 – 2.700 mg/kg BB pada tikus jantan dan 1.750 – 1.800 mg/kg BB pada tikus betina (EXTOXNET, 2002). Sedangkan pemberian DEET inhalasi pada tikus mempunyai LD₅₀ >5950 mg/m³/8 jam (INCHEM, 1990). Tikus yang mati pada dosis LD₅₀ tersebut menunjukkan lakrimasi, depresi, gangguan pada kelenjar prostat, gemetar, kejang dan kegagalan respirasi yang dilanjutkan dengan gagal jantung.

2.2 Tinjauan Tentang Perkembangan Embrio

Perkembangan embrio menurut Theiler (1983) terbagi menjadi beberapa tahap yaitu:

a. Preimplantasi

Pada tahap embrio preimplantasi terbagi dalam beberapa tahap yaitu:

1. Fertilisasi

Perkembangan embrio dimulai dengan pembuahan, suatu proses dimana spermatozoa dari pria dan ovum dari wanita bergabung membentuk suatu organisme baru yang disebut zigot. Proses pembuahan ini terjadi di daerah *ampulla tuba fallopii* dan organ internal kelamin betina.

2. Pembelahan

Setelah terbentuk zigot, embrio menjalani serangkaian pembelahan mitosis yang mengakibatkan bertambahnya jumlah sel dengan cepat. Sel menjadi semakin kecil pada setiap pembelahan, yang dikenal

sebagai *blastomer* dan sampai tingkat delapan sel, sel-selnya membentuk sebuah gumpalan bersusun longgar. Sekitar tiga hari setelah pembuahan, sel tersebut membelah lagi membentuk *morula* dengan 16 sel. Sel bagian dalam *morula* merupakan massa sel dalam, sedangkan sel yang berada di luar membentuk massa sel luar. Massa sel dalam akan membentuk jaringan embrio yang sebenarnya, sementara massa sel luar nantinya membentuk *trophoblas* yang kemudian membentuk plasenta. Pada mencit/tikus fase pembelahan embrio preimplantasi ini terjadi sampai hari ke-3, 5 setelah konseptus.

3. Blastokist

Pada waktu *morula* memasuki rongga rahim, berangsur-angsur ruang antar sel menyatu, dan akhirnya terbentuklah sebuah rongga *blastokel*. Pada saat ini embrio dikenal sebagai *blastokist*.

b. Implantasi

Sel di dalam massa sel dalam yang sekarang disebut embrioblas, terletak pada salah satu kutub, sedangkan sel di luar massa sel atau trofoblas menipis dan membentuk dinding epitel untuk blastokist. Embrio keluar dari cangkang zona pelusida (menetas), sehingga implantasi bisa dimulai. Sampai dengan hari kedua belas (pada manusia), blastokist telah terbenam seluruhnya di dalam stroma endometrium dan kini blastokist hanya sedikit menonjol ke dalam rongga rahim. Sedangkan pada mencit peristiwa ini terjadi pada hari ke-4, 5 setelah konseptus.

c. Organogenesis

Perkembangan embrio pada minggu ketiga pada manusia dan hari ke-5 – 8 pada mencit adalah gastrulasi, yaitu proses yang membentuk ketiga lapisan embrional pada embrio (ektoderm, mesoderm dan endoderm). Dari masing-masing lapisan ini akan berkembang seluruh jaringan yang akan membentuk tubuh organisme beserta organnya. Gastrulasi terjadi melalui dua tahap. Tahap *pertama* adalah pemisahan lapisan entoderm dari sisa blastoderm dan tahap *kedua* gerakan sel korda-mesoderm ke posisi diantara entoderm dan sisa lapisan diluar yang disebut ektoderm. Sisa blastoderm setelah ditinggalkan entoderm biasanya disebut *epiblast* sedangkan lapisan entoderm disebut *hypoblast*. Gastrulasi dimulai dengan pembentukan *primitive streak* (garis primitif) pada permukaan epiblas. Mula-mula batas garis ini samar-samar, tetapi pada embrio ke-15 – 16 hari (pada manusia) garis ini terlihat dengan jelas sebagai alur sempit dengan sedikit daerah penonjolan pada kedua tepinya. Ujung kepala garis ini yang dikenal sebagai *primitive node* (nodus primitif), berupa daerah yang sedikit meninggi disekeliling *primitive pit* (lubang primitif). Pada potongan melintang mulai daerah *primitive groove* (sulkus primitif), tampak bahwa sel-selnya berbentuk seperti botol dan bahwa mulai muncul sebuah lapisan sel baru di antara epiblas dan hipoblas. Sel-sel epiblas berpindah mengikuti alur arah garis primitif untuk membentuk *mesoderm* dan *entoderm intraembrional*. Setelah tiba di garis tersebut, sel-sel ini menjadi berbentuk seperti botol, memisahkan diri dari epiblas dan menyisip dibawahnya. Pergerakan masuk ke dalam ini dikenal

sebagai *invaginasi*. Begitu sel telah terinvaginasi, sebagian menempatkan diri di antara epiblas dan entoderm yang baru saja terbentuk untuk membentuk mesoderm. Sel-sel yang tetap berada di epiblas kemudian membentuk ektoderm. Dengan demikian epiblas, walaupun terjadi gastrulasi, merupakan sumber dari lapisan germinal pada embrio (yaitu: ektoderm, mesoderm dan endoderm).

Lapisan embrio entoderm akan membentuk saluran pencernaan yang pembentukannya sangat tergantung pada pelipatan embrio dengan arah sefalokaudal dan lateral. Pelipatan sefalokaudal terutama disebabkan oleh pertumbuhan memanjang sistem saraf pusat yang cepat, sementara pelipatan melintang atau lateral timbul karena pembentukan somit-somit yang tumbuh dengan cepat. Karena itu pembentukan usus yang menyerupai tabung merupakan kejadian yang pasif dan merupakan penyusupan (*inversi*) dan pencakupan (*inkorporasi*) bagian kantung kuning telur yang dilapisi entoderm ke dalam rongga tubuh. Sebagai akibat lain dari gerakan pelipatan, hubungan antara embrio dan kantung kuning telur yang pada mulanya lebar menjadi menyempit hingga tinggal menjadi sebuah saluran yang sempit dan panjang, *ductus vitellinus*.

Sebagai akibat pelipatan sefalokaudal, kian lama kian bertambah besar rongga yang dilapisi entoderm dicakup ke dalam tubuh embrio. Pada bagian anterior entoderm membentuk usus depan, di daerah ekor membentuk usus belakang. Bagian di antara usus depan dan usus belakang disebut usus tengah.

Pada manusia kantung kuning telur hanya terdapat sepintas saja pada tingkat perkembangan dini. Pada perkembangan bulan kedua organ ini ditemukan di dalam rongga korion. Oleh karena itu lapisan embrio ektoderm mula-mula membentuk epitel yang melapisi usus primitif dan bagian-bagian alantois yang terdapat intra embrional dan duktus vitellinus.

Selama perkembangan minggu ketiga hingga minggu kedelapan pada manusia dan mulai hari ke-7 pada mencit, suatu massa dikenal sebagai masa embrionik atau masa organogenesis, masing-masing lapisan dari ketiga lapisan mudigah membentuk banyak jaringan dan organ yang spesifik. Menjelang akhir masa embrionik ini, sistem organ utama telah berubah dan ciri utama bentuk tubuh bagian luar sudah dapat dikenali menjelang bulan kedua.

Lapisan embrio ektoderm membentuk organ dan struktur-struktur yang memelihara hubungan dengan dunia luar: a) susunan saraf pusat, b) sistem saraf tepi, c) epitel sensorik telinga, hidung, mata dan lidah, d) kulit, termasuk rambut dan kuku dan e) kelenjar hipofisis, kelenjar mammae dan kelenjar keringat serta email gigi.

Bagian yang paling penting dari lapisan embrio mesoderm adalah *mesoderm paraaksial, intermediet dan lempeng lateral*. Mesoderm paraaksial membentuk somitomer yang membentuk mesenkim di kepala dan tersusun sebagai somit di segmen oksipital dan kaudal. Somit membentuk *miotom* (calon jaringan otot), *sklerotom* (calon tulang rawan

dan tulang) dan *dermatom* (calon jaringan subkutan kulit) yang semuanya merupakan jaringan penunjang tubuh. Mesoderm juga membentuk sistem pembuluh yaitu jantung, pembuluh nadi, pembuluh balik, pembuluh getah bening dan semua sel darah dan sel getah bening. Di samping itu ia membentuk sistem kemih-kelamin: ginjal, gonad dan saluran-salurannya (tetapi tidak termasuk kandung kemih). Akhirnya limpa dan kortek adrenal juga merupakan derivat mesoderm.

Lapisan embrio entoderm menghasilkan lapisan epitel saluran pencernaan, saluran pernafasan dan kandung kemih. Lapisan ini juga membentuk parenkim tiroid, kelenjar paratiroid, hati dan kelenjar pankreas. Akhirnya lapisan epitel *cavum timpani eustachius* juga berasal dari entoderm.

Dari semua keterangan di atas, jelas bahwa sebagian besar organ dan sistem organ terbentuk pada periode minggu ke-3 hingga ke-8 pada manusia. Oleh karena itu, masa ini disebut masa awal organogenesis dan sangat penting untuk perkembangan normal. Populasi sel induk membangun setiap sel primordial dan interaksi ini sangat peka terhadap gangguan pengaruh genetik dan pengaruh lingkungan. Dengan demikian, masa ini adalah masa terjadinya kebanyakan cacat lahir struktural yang tampak nyata.

Masa yang dimulai dari awal bulan ketiga hingga akhir kehidupan dalam rahim dikenal sebagai masa janin. Masa ini ditandai dengan penyempurnaan jaringan dan organ serta pertumbuhan tubuh yang cepat.

Beberapa kelainan timbul selama masa ini, meskipun cacat yang disebabkan oleh gaya mekanik, seperti kompresi intra uterus biasa terjadi. Demikian juga bahaya pada sistem saraf pusat dapat mengakibatkan gangguan perilaku post-natal dan menurunkan kecerdasan (Foster *et al.*, 1983).

2.3 Fisiologi Kebuntingan Mencit (*Mus musculus*)

Proses pembuahan merupakan penggabungan antara sel jantan dan sel telur yang berlangsung di dalam rongga saluran tuba falopii sebagai hasil dari kopulasi. Proses ini menghasilkan zigot dan pada saat ini hewan betina dikatakan bunting. Menurut Jacoby dan Fox (1984) bahwa 3 – 8 jam setelah terjadinya kopulasi pada mencit akan disusul dengan terbentuknya sumbat vagina dan selanjutnya akan disusul terjadinya ovulasi pada 8 – 20 jam kemudian. Ovulasi sempurna setelah 11 jam dari awal estrus dan telur yang dihasilkan akan mencapai tuba falopii pada akhir fase metestrus. Sedangkan menurut Knobil *et al.* (1988) bahwa 24 jam setelah terbentuknya sumbat vagina dapat dianggap sebagai awal dari suatu kebuntingan dari mencit.

Setelah terjadi kopulasi, spermatozoa masuk ke dalam tuba falopii dan bertemu dengan sel telur untuk melakukan fertilisasi pada bagian ampula. Sebelum mampu membuahi sel telur, spermatozoa selama dalam saluran tuba falopii mengalami proses kapasitasi dan reaksi akrosom (Susanto, 1985).

Setelah terjadi fertilisasi sel telur oleh spermatozoa maka akan terbentuk zigot. Zigot yang terbentuk akan mengalami beberapa pembelahan

sampai terdiri dari berpuluh-puluh sel kecil yang disebut blastomere. Blastomere membelah membentuk bentukan seperti bola yang tidak berongga dan disebut sebagai morula. Morula akan membelah dan menyusun diri membentuk rongga terpusat sehingga membentuk blastocyst. Waktu yang dibutuhkan pembentukan embrio menciit stadium 2 sel adalah satu hari, 2,5 hari untuk embrio stadium 8 sel, umur 3 hari sudah masuk dalam uterus dan blatosis terbentuk 3,5 hari setelah fertilisasi (Partodihardjo, 1992).

2.4 Periode Kritis Perkembangan Embrio

Periode perkembangan embrio meliputi pembentukan organ yang khas sehingga menjadi struktur tertentu, kemudian diikuti periode perkembangan fetus yang disertai pematangan sistem organ (Kusumawati, 1993).

Bahan teratogen yang mempengaruhi embrio dapat menyebabkan kelainan kongenital ringan maupun berat bahkan dapat mengakibatkan kematian. Penyebab kelainan kongenital terdiri dari mutasi gen (5%), aberasi kromosom (10%), lingkungan (5%), sebab-sebab lain (20%) dan belum diketahui (60%) (Nelson dan Holmes dalam MOSTGENE, 1995).

Kelainan kongenital dapat ditelusuri dari pengetahuan tentang periode kritis pada saat organogenesis dari pengaruh bahan teratogen. Urutan kejadian embrionik menunjukkan bahwa tiap organ dan sistem organ mengalami periode kritis pada saat mengadakan diferensiasi. Selama periode kritis inilah kepekaan embrio terhadap bahan teratogen paling besar, sehingga mungkin dapat mengakibatkan malformasi pada organ tertentu

sesuai dengan masa kritis pembentukan organ tersebut atau bahkan menyebabkan kematian. Pada mencit periode kritis ini diberi nama periode embriopathie. Periode embriopathie berlangsung pada umur kebuntingan 6 sampai 15 hari (Wilson **dalam** Ikhwan, 1997).

Bila zat teratogenik bekerja pada tingkat pradiferensiasi akan merusak seluruh atau sebagian besar sel embrio. Tetapi sel embrio masih mampu mengganti bagian yang rusak sehingga tidak terjadi kelainan oleh karena sel embrio masih belum memiliki sifat kekhususan. Selama masa embrio terjadi tingkat diferensiasi yang intensif maka zat teratogen sangat efektif dalam menghasilkan kelainan yang bersifat kongenital. Jenis kelainan yang ditimbulkan tergantung pada organ mana yang paling peka pada saat zat teratogenik itu bekerja. Kepekaan terhadap zat teratogenik menurun selama masa pertumbuhan ketiga yaitu pada periode fetus. Zat teratogenik hanya menimbulkan kelainan fungsi saja karena pada umumnya hampir semua organ sudah terbentuk. Namun demikian sejumlah kecil organ tersebut tetap peka terhadap pengaruh zat teratogenik hingga akhir kebuntingan (Langman, 1975).

2.5 Mekanisme Teratogenesis

Obat dan zat kimia lain dapat menimbulkan efek teratogenik pada mencit bila diberikan selama periode organogenesis yang berlangsung dari hari ke-7 sampai hari ke-15 masa kebuntingan. Pemaparan lebih dini dapat memberikan efek embriotoksik (membunuh embrio). Pemaparan fetus oleh obat dan zat kimia lain dapat melewati plasenta yang menghubungkan antara

induk dan fetus. Zat teratogen mempunyai aktivitas antara lain mengubah kecepatan proliferasi sel, menghalangi sintesis enzim/protein, mengubah permukaan sel sehingga agregasi tidak terjadi, mengubah matriks yang mengganggu migrasi sel dan merusak organisasi atau daya kompetensi sel. Kerja zat teratogen pada embrio tergantung tiga kondisi utama, yaitu tahap perkembangan embrio, kepekaan genetik embrio serta status fisiologis dan patologis induk (Herman dan Mutiatikum, 1990).

Tahap perkembangan embrio diawali dari blastogenesis yang merupakan fase terjadinya proliferasi sel. Bila diberikan zat teratogen pada fase ini mengakibatkan kematian embrio sebab teratogen akan merusak seluruh atau sebagian sel. Bila embrio hidup akan berkembang normal sebab embrio mempunyai kemampuan untuk mengimbangi yang hilang/mempunyai kemampuan totipoten (Poernomo, 1999).

Tahap embriogenesis adalah tingkat diferensiasi sel sangat intensif sehingga zat teratogen dapat bekerja pada organ yang paling peka. Kepekaan terhadap zat teratogen menurun dengan cepat pada tahap fetogenesis tetapi sejumlah kecil alat tubuh seperti serebelum, korteks serebri dan sebagian susunan kemih serta kelamin masih terus mengalami diferensiasi sehingga sebagian dari susunan tubuh tetap peka terhadap pengaruh teratogen (Sadler, 1985).

Kepekaan terhadap zat teratogen dapat dipengaruhi oleh gen induk maupun gen embrio dan dapat terdapat interaksi tetap antara gen-gen dan bahan-bahan eksogen. Perbedaan reaksi terhadap bahan berbahaya antara

individu, strain dan spesies hewan disebabkan kekhususan biokimia yang berhubungan dengan gen-gen. Kepekaan terhadap zat teratogen juga dipengaruhi oleh status fisiologis induk antara lain makanan. Iklim dan variasi musim. Faktor patologis seperti penyakit metabolik atau penyakit kronis tertentu dapat meningkatkan efek toksik obat dan frekuensi kerusakan fetus (Herman dan Mutiatikum, 1990).

Poernomo (1999) mengemukakan prinsip-prinsip tentang teratogenesis, yaitu: *pertama*, kepekaan terhadap zat teratogen tergantung pada genotip dan pola teratogenesis yang berinteraksi dengan faktor-faktor lingkungan. Saat perkembangan awal organisme, faktor gen dan lingkungan berpengaruh pada terjadinya teratogenesis. Perbedaan dalam hal reaksi terhadap zat teratogenik tergantung susunan morfologis atau biokimia yang ditentukan oleh gen.

Kedua, setiap zat-zat teratogenik mempunyai mekanisme tersendiri dalam mempengaruhi pertumbuhan sel dan jaringan untuk mengawali terjadinya embriogenesis yang abnormal. Setiap zat teratogenik mempunyai pengaruh jenis malformasi yang spesifik dan sekarang telah diketahui bahwa zat yang berbeda dapat menghasilkan beberapa kerusakan yang sama atau berbeda. Hal ini tergantung pada saat pemaparan diberikan. Embriogenesis dapat dikatakan abnormal bila pada sel dan jaringan terdapat kerusakan.

Ketiga, manifestasi akhir dari perkembangan abnormal adalah kematian, malformasi, lambatnya pertumbuhan dan gangguan fungsional. Kelambatan pertumbuhan dapat terjadi jika pemaparan dilakukan pada periode fetus. Efek tertentu dari gangguan fungsional dapat terlihat selama

masa pertumbuhan atau masa kecil. Kematian organisme bisa terjadi pada tahap embrio. Hal ini mungkin disebabkan karena malformasi yang parah, penghentian pertumbuhan secara keseluruhan atau kerusakan umum pada fungsi yang penting. Kelambatan pertumbuhan awalnya diperkirakan berhubungan dengan proliferasi yang lambat karena metabolisme yang kompleks dan transportasi yang penting untuk mendukung pertumbuhan yang normal kurang berjalan dengan baik. Fungsional yang normal bergantung pada keutuhan struktural sehingga kegagalan yang dialami oleh suatu bagian akan mengakibatkan kerusakan pada bagian lain.

Keempat, pengaruh dari lingkungan yang merugikan atau terhadap perkembangan jaringan tergantung dari sifat dasar zat teratogen tersebut. Bahan dari lingkungan dapat masuk dan mempengaruhi perkembangan jaringan di dalam uterus melalui dua cara, yaitu ditransfer dari tubuh maternal secara langsung atau tidak langsung. Konsentrasi bahan kimia atau produk degradasi dalam darah maternal mencapai embrio atau fetus dalam beberapa fraksi. Plasenta berperan sebagai hambatan yang disebut dengan barier plasenta yang berfungsi melindungi embrio atau fetus dari bahan kimia asing. Dosis bahan kimia yang mencapai embrio adalah hasil interaksi dari berbagai macam variabel yaitu kapasitas dan fungsional maternal, sifat bahan kimia dan karakteristik plasenta. Bahan teratogen dapat masuk ke dalam janin melewati plasenta. Namun pola ketika melewati plasenta belum banyak diketahui.

Kelima, peningkatan kejadian pertumbuhan yang abnormal akan bertambah jika dosis makin tinggi. Dalam penelitian tentang teratologi, kematian intrauterine dan malformasi merupakan kriteria untuk efek bahan teratogenik. Pertumbuhan yang abnormal mulai ditunjukkan ketika dosis yang digunakan melebihi ambang batas.



BAB III

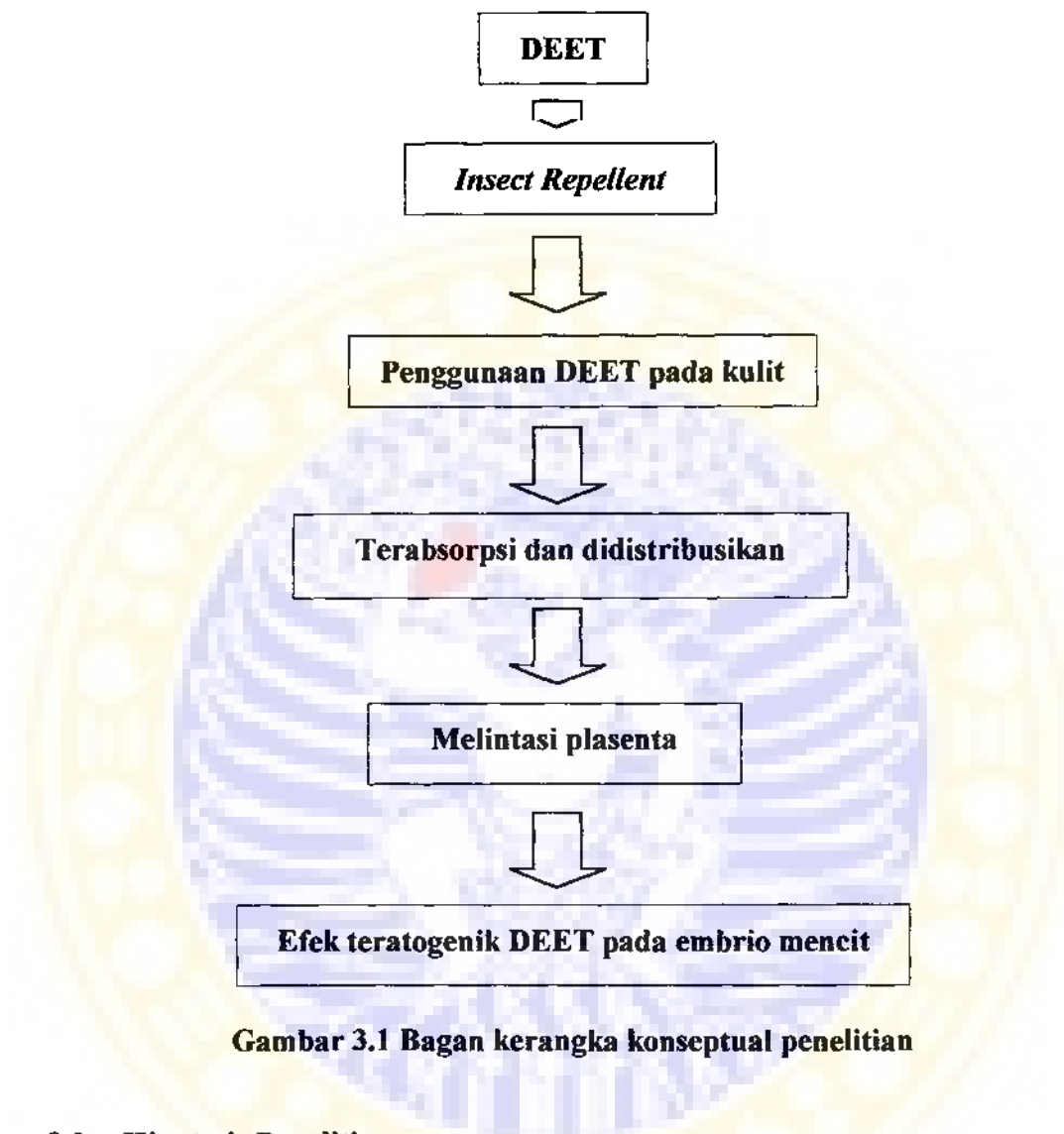
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Diethyltoluamide (DEET) merupakan pestisida kelompok pengusir serangga (*insect repellent*). *Insect repellent* yang mengandung DEET digunakan untuk mengusir gigitan lalat hitam, lalat rusa, lalat kuda, lalat pasir, kutu kucing, kutu anjing, agas ataupun nyamuk (famili Culicidae) (The Poison Center, 2002; WNV, 2002). DEET ini merupakan pestisida yang sangat unik, karena dapat digunakan secara langsung pada kulit manusia dengan tujuan untuk mencegah gigitan serangga (EXTOXNET, 2002).

DEET dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dan didistribusikan pada seluruh organ termasuk otak dan fetus (EXTOXNET, 2002). Sesudah enam jam, sebanyak 9 – 56% dari dosis DEET yang diberikan pada kulit dapat terabsorpsi (Annals of Internal Medicine, 1998; Cecchine *et al.*, 2002; CMAJ, 2003). Studi yang dilakukan terhadap tikus dengan perlakuan DEET selama kebuntingan, ternyata senyawa ini ditemukan dapat terabsorpsi masuk ke dalam kulit dan dapat melintasi plasenta (ITIS, 1992; MOTIS, 2003).

Urutan kejadian embrionik menunjukkan bahwa tiap organ dan sistem organ mengalami periode kritis pada saat mengadakan diferensiasi. Selama periode kritis inilah kepekaan embrio terhadap bahan teratogen paling besar, sehingga dapat mengakibatkan malformasi pada organ tertentu sesuai dengan masa kritis pembentukan organ tersebut atau bahkan menyebabkan kematian (Wilson dalam Ikhwan, 1997).



Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis penelitian ini meliputi:

1. DEET mempengaruhi kemampuan reproduksi induk mencit galur BALB/C.
2. DEET menyebabkan kelainan eksternal fetus mencit.
3. DEET menyebabkan kelainan rangka fetus mencit.
4. DEET menyebabkan kelainan organ internal fetus mencit.



BAB IV MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan ulangan/replikasi sebanyak tujuh kali.

4.2 Sampel

Hewan percobaan yang digunakan adalah 35 mencit betina dara galur BALB/C, umur 2 bulan dengan berat 20 – 25 g dan 10 mencit jantan umur 3 bulan yang sehat yaitu tampak dari luar dengan bulu yang mengkilat dan fertil artinya dapat membuntingi mencit betina pada saat dilakukan uji fertilitas dengan mencit betina lain paling sedikit satu kali (bukan mencit betina yang digunakan untuk perlakuan). Sampel diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Sampel penelitian ini dibagi atas 5 kelompok, masing-masing kelompok adalah 7 ekor mencit betina bunting yang diberi DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB.

4.3 Variabel penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas (*independent variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai dosis DEET.

2. Variabel tergantung (*dependent variable*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah:

- a. Kemampuan reproduksi induk, dengan sub variabel: jumlah induk hidup dan mati, penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus, panjang fetus, implantasi, jumlah fetus mati, jumlah resorpsi dan kematian intrauterus.
 - b. Kelainan eksternal dengan sub variabel: anggota gerak (sindaktili, ektrodaktili, brakhidaktili, polidaktili, fokomelia, mikromelia dan talipes), ekor (ekor pendek, bergelung, kinky, tidak ada ekor), mata, organ kelamin luar, palatoschisis, cheiloschisis dan hematoma.
 - c. Kelainan rangka dengan sub variabel: rangka (tulang supraoksipital, tulang sternum, tulang vertebralis, tulang sakrokaudalis, rangka anggota).
 - d. Kelainan organ internal fetus dengan sub variabel: hidrosefalus dan ginjal ektopik.
3. Variabel kendali dalam penelitian ini meliputi: galur, berat badan, umur, pakan, kandang dan perawatan mencit.

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

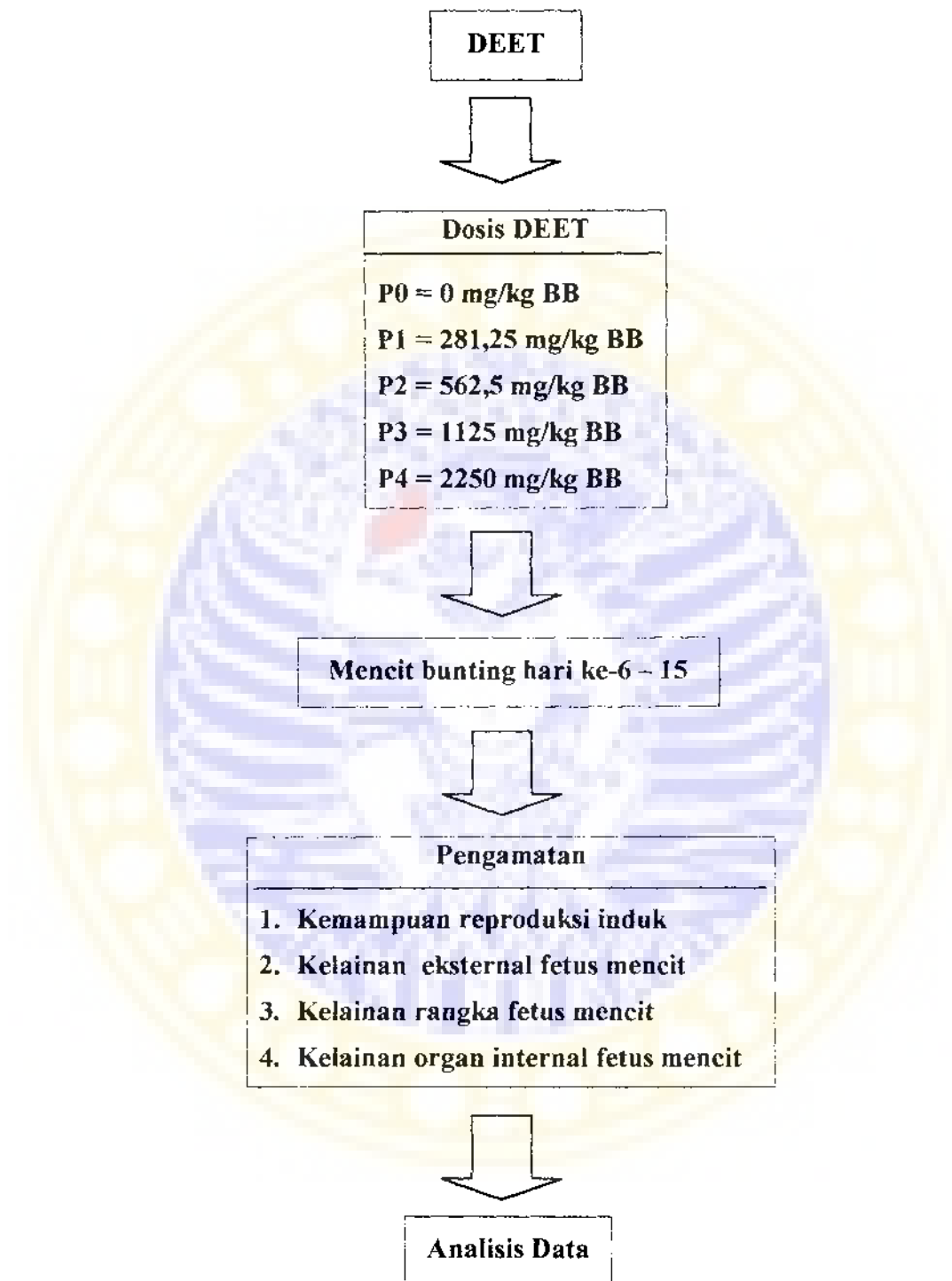
1. Dosis DEET adalah 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB.
2. Kemampuan reproduksi induk adalah jumlah induk hidup dan mati, penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus, panjang fetus, implantasi, jumlah fetus mati, jumlah resorpsi dan kematian intrauterus.

- a. Jumlah induk hidup dan mati adalah banyaknya induk hidup dan mati setelah perlakuan.
 - b. Pertambahan berat badan induk adalah selisih berat badan induk (g) sebelum perlakuan dan setelah perlakuan (sebelum dibedah).
 - c. Jumlah fetus hidup adalah banyaknya fetus hidup setelah perlakuan.
 - d. Berat fetus adalah berat badan fetus (mg) setelah perlakuan.
 - e. Panjang fetus adalah panjang badan fetus (cm) setelah perlakuan.
 - f. Implantasi adalah banyaknya embrio yang bersarang pada endometrium kornu uteri setelah perlakuan.
 - g. Jumlah fetus mati adalah banyaknya fetus mati setelah perlakuan.
 - h. Jumlah resorpsi adalah proses perkejuan pada uterus akibat tidak berkembangnya fetus setelah perlakuan.
 - i. Kematian intrauterus adalah total embrio diresorpsi ditambah jumlah fetus mati setelah perlakuan.
3. Kelainan eksternal adalah kelainan pada anggota gerak (sindaktili, ektrodaktili, brakhidaktili, polidaktili, fokomelia, mikromelia dan talipes), ekor (ekor pendek, bergelung, kinky, tidak ada ekor), mata, organ kelamin luar, palatoschisis, cheiloschisis dan hematoma.
- a. Kelainan anggota gerak adalah kelainan pada anggota tubuh fetus yang berfungsi pada sistem pergerakan setelah perlakuan.
 - ✓ Sindaktili adalah bentuk jari menyatu pada fetus setelah perlakuan.
 - ✓ Ektrodaktili adalah jari hilang atau berkurang pada fetus setelah perlakuan.

- ✓ Brakhidaktili adalah bentuk jari pendek akibat jumlah (anggota depan atau belakang) berkurang paling sedikit satu phalanx pada fetus setelah perlakuan.
 - ✓ Polidaktili adalah jumlah jari berlebihan pada fetus setelah perlakuan.
 - ✓ Fokomelia adalah salah satu atau dua jari berkembang seperti sirip anjing laut pada fetus setelah perlakuan.
 - ✓ Mikromelia adalah bentuk jari (anggota depan atau belakang) mengecil (ukurannya separuh) pada fetus setelah perlakuan.
 - ✓ Talipes adalah bentuk kaki pengkor pada fetus setelah perlakuan.
- b. Kelainan ekor adalah kelainan pada ekor fetus setelah perlakuan.
- ✓ Ekor pendek adalah bentuk ekor fetus pendek secara abnormal setelah perlakuan.
 - ✓ Ekor bergelung adalah bentuk ekor fetus bergelung (melingkar) setelah perlakuan.
 - ✓ Kinky adalah bentuk ekor fetus mengecil atau mengecil bengkok setelah perlakuan.
 - ✓ Tidak ada ekor adalah tidak adanya ekor pada fetus setelah perlakuan.
- c. Kelainan mata adalah kelainan pada mata fetus (mata fetus terbuka) setelah perlakuan.
- d. Kelainan organ kelamin luar adalah kelainan pada organ kelamin luar fetus setelah perlakuan.

- e. Palatoschisis adalah celah/sumbing pada palatum/lamgit-langit fetus setelah perlakuan.
 - f. Cheiloschisis adalah celah/sumbing pada bibir atas fetus setelah perlakuan.
 - g. Hematoma adalah genangan darah setempat, di dalam kulit, di bawah kulit atau di dalam jaringan lain fetus setelah perlakuan.
4. Kelainan rangka adalah kelainan pada rangka (tulang supraoksipital, tulang sternum, tulang vertebralis, tulang sakrokaudalis, rangka anggota).
- a. Kelainan rangka adalah kelainan pada rangkaian tulang fetus yang mendukung dan melindungi organ-organ lunak setelah perlakuan.
 - ✓ Tulang supraoksipital adalah tulang di atas tulang tengkorak bagian belakang.
 - ✓ Tulang sternum adalah tulang dada.
 - ✓ Tulang vertebralis adalah tulang belakang.
 - ✓ Tulang sakrokaudalis adalah tulang kelangkang dan dada.
 - ✓ Rangka anggota meliputi tulang phalanx anggota depan dan belakang.
5. Kelainan organ internal fetus adalah hidrosefalus dan ginjal ektopik.
- a. Hidrosefalus ditandai dengan pengumpulan cairan otak abnormal di dalam susunan ventrikel.
 - b. Ginjal ektopik merupakan letak ginjal yang tidak sejajar.

4.4 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Bagan kerangka operasional

4.5 Bahan-Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari DEET dengan kemurnian 97% berupa cairan yang diproduksi oleh *Sigma-Aldrich Pte. Ltd.* Pakan berupa pelet butiran PIA LL 1 yang diproduksi oleh PT Matahari Sakti Indonesia. Minuman yang diberikan adalah air PDAM. NaCl fisiologis digunakan untuk pemeriksaan siklus birahi mencit betina dan merendam fetus selama pengamatan kelainan anggota. Kloroform sebagai bahan untuk membius induk mencit pada saat akan dilakukan pembedahan pada umur kebuntingan ke-18 hari. Larutan Bouin antara lain: formalin 40% 25 ml, asam pikrat 75 ml dan *glacial acetic acid* 5 ml. Larutan Bouin dipakai untuk menyimpan fetus sebelum pengamatan organ internal. Bahan untuk pewarnaan tulang antara lain: gliserin, KOH 1% dan Alizarin Red S sebanyak 250 ml bila perlu sedikit fenol untuk mencegah tumbuhnya jamur.

4.6 Alat-Alat

Peralatan yang digunakan meliputi: sarung tangan, bak plastik sebagai kandang mencit, botol tempat air minum, pipet tetes, kaca obyek, kaca penutup, mikroskop cahaya, gunting bulu, kapas, gelas ukur, botol gelas, *beaker glass*, *disecting set*, papan seksi, timbangan untuk menimbang berat mencit, penggaris untuk mengukur panjang mencit dan alat fotografi.

4.7 Waktu dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini berlangsung pada bulan Juli sampai dengan bulan Desember 2004. Pemeliharaan hewan coba mencit dan pemeriksaan bentuk kecacatan fetus mencit dilakukan di laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

4.8 Cara Pemeriksaan Siklus Estrus Mencit

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan poliestrus artinya dalam 1 tahun terjadi beberapa kali birahi, kecuali bila dalam keadaan bunting. Dalam 1 siklus birahi dibagi menjadi 4 fase yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Hafez, 1970). Tiap fase siklus birahi dapat dideteksi melalui hapusan mukosa vagina. Hapusan ini dibuat dengan cara memakai larutan garam fisiologis sebanyak 2 tetes menggunakan pipet berujung halus, kemudian larutan tersebut disemprotkan ke dalam vagina dan disedot kembali. Dengan demikian di dalam pipet sudah terisi cairan yang mengandung sel-sel mukosa vagina. Cairan ini ditetaskan di atas kaca obyek kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali atau 400 kali.

Pada hapusan vagina, fase proestrus ditandai dengan adanya sebagian besar sel epitel berinti dan sel leukosit dengan jumlah sedikit. Pada fase estrus hanya terlihat adanya sel-sel menanduk dengan jumlah yang dominan, sedangkan pada fase metestrus ditandai dengan banyaknya leukosit dan sedikit sisa sel yang menanduk. Hal ini berbeda dengan fase diestrus dimana pada fase ini sel leukosit berjumlah banyak sedangkan sel epitel berinti sangat sedikit (Hafez, 1970).

4.9 Mengawinkan Mencit

Mengawinkan mencit dengan cara mencit betina dikumpulkan dengan mencit jantan dalam satu kandang dengan menggunakan metode *one mating*.

Untuk mengetahui apakah pada mencit betina sudah dikawini atau belum, maka pada hari berikutnya setelah dikawinkan, diamati adanya sumbat vagina (*vaginal plug*). Sumbat vagina ini terdiri dari gelatin yang sudah menggumpal yang berfungsi untuk menjaga agar spermatozoa tidak tumpah keluar. Apabila terdapat sumbat vagina maka dapat dianggap bahwa kopulasi telah terjadi dan pada saat ini dianggap sebagai kebuntingan hari ke nol. Dengan adanya tanda kebuntingan ini, mencit betina diletakan pada kandang individual. Nomor mencit diberikan dengan cara pemberian tanda pada bagian kuping mencit, kemudian dicatat tanggal estrus, tanggal kopulasi, tanggal pemberian DEET dan tanggal saat dikorbankan.

4.10 Metode Penelitian

4.10.1 Pembuatan Larutan

Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB. Dosis tersebut merupakan $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ dan $\frac{1}{16}$ dosis kisaran terendah dari LD_{50} pada mencit yaitu 4500 mg/kg BB (INCHEM, 1990). Cara pembuatan larutan dapat dilihat pada lampiran 1.

4.10.2 Cara Perlakuan

Mencit betina bunting dikelompokkan menjadi empat kelompok (terdiri dari satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan). Sebelum digunakan untuk pengujian, mencit tersebut selama seminggu diadaptasikan untuk hidup bersama dalam satu kandang dan ditimbang berat badannya. Pada kelompok perlakuan diberi DEET dermal pada

tulang punggung terukur dengan ukuran 2 cm x 2 cm pada dosis 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB pada umur kebuntingan ke-6 – 15 hari. Untuk dosis 0 mg/kg BB (kontrol) hanya diberikan etanol.

4.10.3 Pengamatan

Pada umur kebuntingan ke-18 hari, induk mencit ditimbang kemudian dikorbakan untuk pembedahan. Pada setiap pembedahan diawali dengan pembiusan menggunakan kloroform, kemudian hewan coba ditelentangkan di atas papan seksi dan mulai dilakukan pembedahan. Pembedahan dimulai dari vagina menuju ke arah perut dengan menggunakan gunting kecil. Selanjutnya dicari uterus untuk mengeluarkan fetus dan dimasukkan ke dalam NaCl 0,9%, kemudian ditimbang, diukur dan diamati malformasi eksternal dengan menggunakan mikroskop bedah.

Setengah dari jumlah fetus hidup difiksasi dalam larutan Boiun's untuk pengamatan serebrum dan diensefalon serta letak ginjal. Fetus sisanya difiksasi dengan menggunakan alkohol 96% untuk selanjutnya dilakukan pewarnaan rangka dengan menggunakan Alizarin Red S 0,01%. Cara pewarnaan tulang secara rinci dapat dilihat pada lampiran 2.

4.11 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis varians (ANOVA) satu jalur dengan signifikansi sebesar 95% dan dilanjutkan dengan uji BNT apabila terdapat perbedaan pada perlakuan (Sudjana, 1984). Data hasil penelitian meliputi:

1. Pertambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus, panjang fetus, persentase embrio diresorpsi, persentase fetus mati dan persentase total kematian intrauterus.
2. Persentase kelainan eksternal fetus, persentase kelainan anggota gerak fetus, persentase kejadian sindaktili pada fetus, persentase kejadian ektrodaktili pada fetus, persentase kejadian brakhidaktili pada fetus, persentase kejadian polidaktili pada fetus, persentase kejadian fokomelia pada fetus, persentase kejadian mikromelia pada fetus, persentase kejadian talipes pada fetus, persentase kelainan ekor pada fetus, persentase kejadian ekor pendek pada fetus, persentase kejadian ekor bergelung pada fetus, persentase kejadian kinky pada fetus, persentase kejadian tidak ada ekor pada fetus, persentase kelainan mata pada fetus, persentase kelainan organ kelamin luar pada fetus, persentase kejadian palatoschisis pada fetus, persentase kejadian cheiloschisis pada fetus, persentase kejadian hematoma pada fetus.
3. Persentase kelambatan penulangan pada tulang supraoksipital fetus, jumlah tulang sternum fetus, jumlah tulang vertebralis fetus, jumlah tulang sakrokaudalis fetus, jumlah tulang phalanx proksimal anggota depan, jumlah tulang phalanx median anggota depan, jumlah tulang phalanx distal anggota depan, jumlah tulang phalanx proksimal anggota belakang, jumlah tulang phalanx median anggota belakang dan jumlah tulang phalanx distal anggota belakang.
4. Persentase kejadian hidrosefalus pada fetus dan persentase kejadian ginjal ektopik pada fetus.

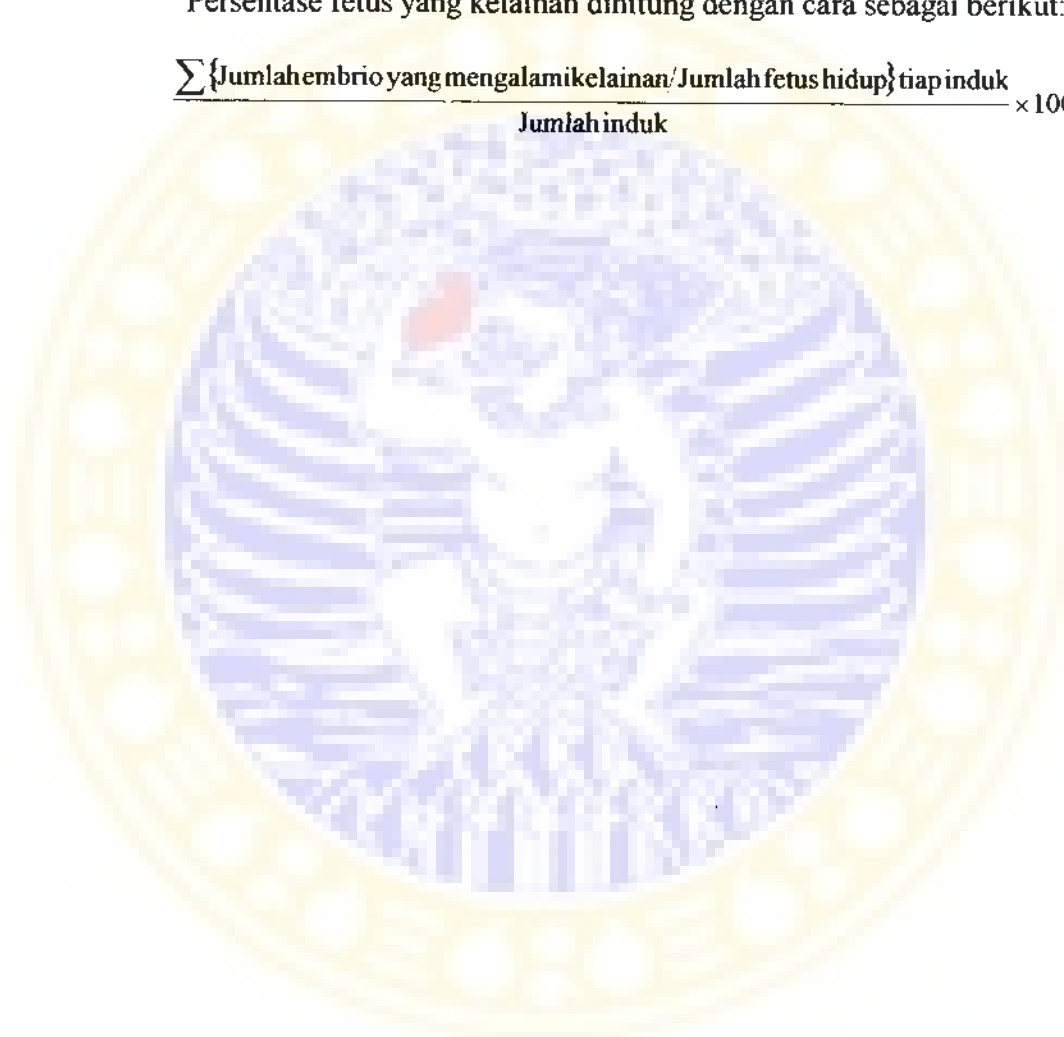
Persentase embrio diresorpsi dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\frac{\sum \{\text{Jumlah embrio yang diresorpsi} / \text{Jumlah implantansi}\} \text{ tiap induk}}{\text{Jumlah induk}} \times 100\%$$

Perhitungan yang sama juga dilakukan untuk persentase fetus yang mati dan persentase fetus yang hidup.

Persentase fetus yang kelainan dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\frac{\sum \{\text{Jumlah embrio yang mengalami kelainan} / \text{Jumlah fetus hidup}\} \text{ tiap induk}}{\text{Jumlah induk}} \times 100\%$$





BAB V ANALISIS HASIL PENELITIAN

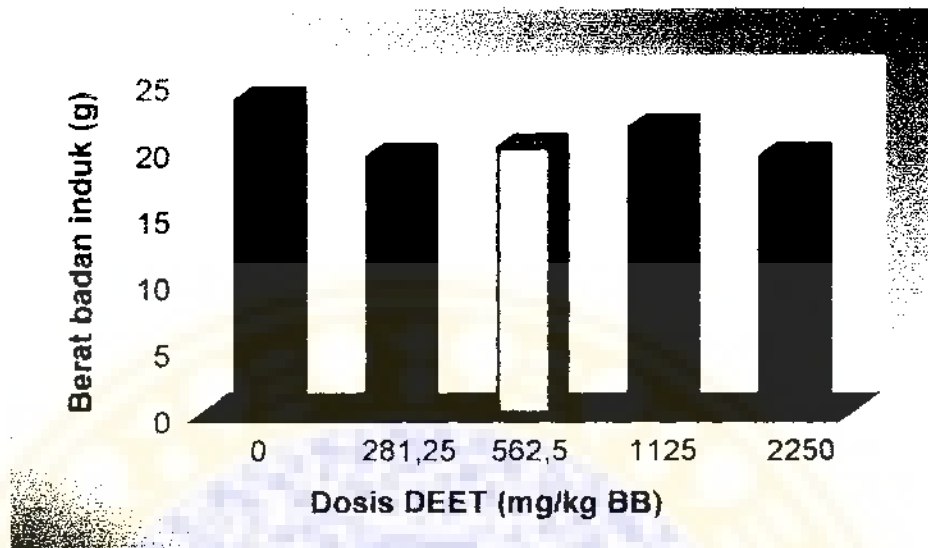
5.1 Kemampuan Reproduksi Induk Mencit Dan Keadaan Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET

Kemampuan reproduksi induk mencit ditandai dengan pertambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus dan panjang fetus. Selain itu diamati pula kematian intrauterus yang terdiri dari jumlah fetus mati dan embrio diresorpsi.

Pemberian DEET dengan dosis 2250 mg/kg BB ditemukan kematian induk mencit sebanyak dua ekor (5,7%). Data rata-rata pertambahan berat badan induk (Tabel 5.1 dan Gambar 5.1) ditransformasi data dengan rumus $\sqrt{y + \frac{1}{2}}$ dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Rata-rata pertambahan berat badan induk (g) setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data

Dosis DEET (mg/kg BB)	Rerata pertambahan berat badan induk (g)	$\sqrt{y + \frac{1}{2}}$
0	23,5714	34,3034
281,25	19,2857	30,6849
562,5	20,0000	31,3816
1125	21,4286	32,6001
2250	13,5714	23,0438



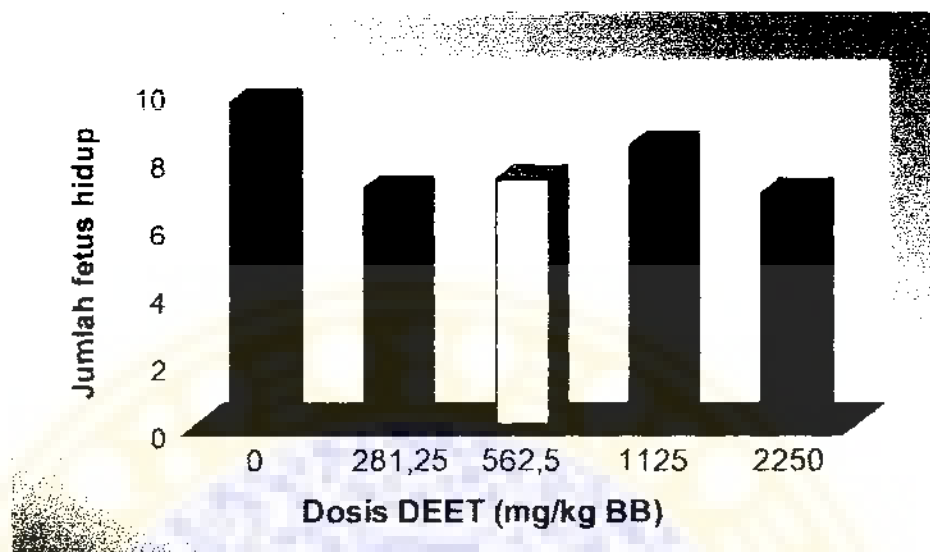
Gambar 5.1 Rata-rata pertambahan berat badan induk (g) setelah pemberian dosis DEET

Dari hasil analisis varians satu jalur menunjukkan bahwa pertambahan berat badan induk setelah pemberian berbagai dosis DEET tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

Data rata-rata jumlah fetus hidup (Tabel 5.2 dan Gambar 5.2) ditransformasi data dengan rumus $\sqrt{y + \frac{1}{2}}$ dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rata-rata jumlah fetus hidup setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data

Dosis DEET (mg/kg BB)	Rerata jumlah fetus hidup	$\sqrt{y + \frac{1}{2}}$
0	9,5714	22,2082
281,25	7,0000	17,4580
562,5	7,2857	18,5943
1125	8,2857	20,4950
2250	4,1429	12,3914



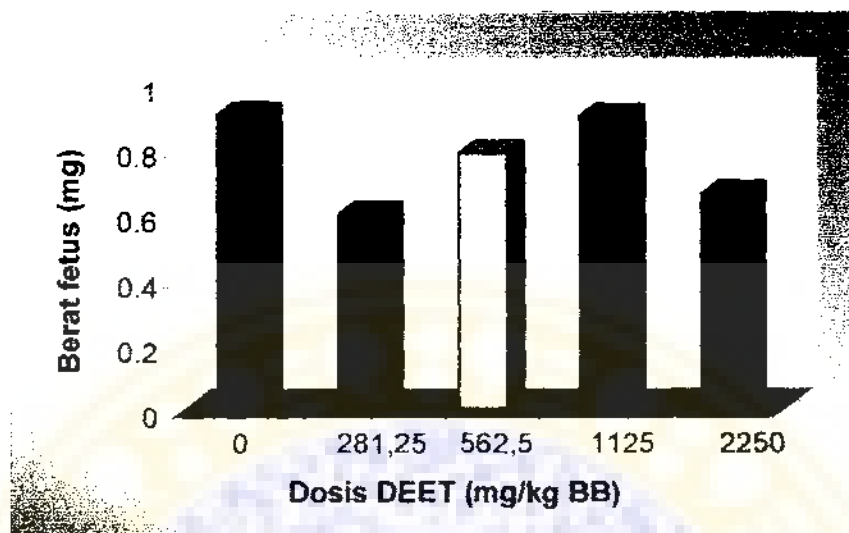
Gambar 5.2 Rata-rata jumlah fetus hidup setelah pemberian dosis DEET

Dari hasil analisis varians satu jalur menunjukkan bahwa jumlah fetus hidup setelah pemberian berbagai dosis DEET tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

Data rata-rata berat fetus (Tabel 5.3 dan Gambar 5.3) ditransformasi data dengan rumus $\sqrt{y + \frac{1}{2}}$ dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata berat fetus (mg) setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data

Dosis DEET (mg/kg BB)	Rerata berat fetus (mg)	$\sqrt{y + \frac{1}{2}}$
0	0,9049	8,2904
281,25	0,5964	7,1864
562,5	0,7837	7,8424
1125	0,8979	8,2772
2250	0,6573	6,3948



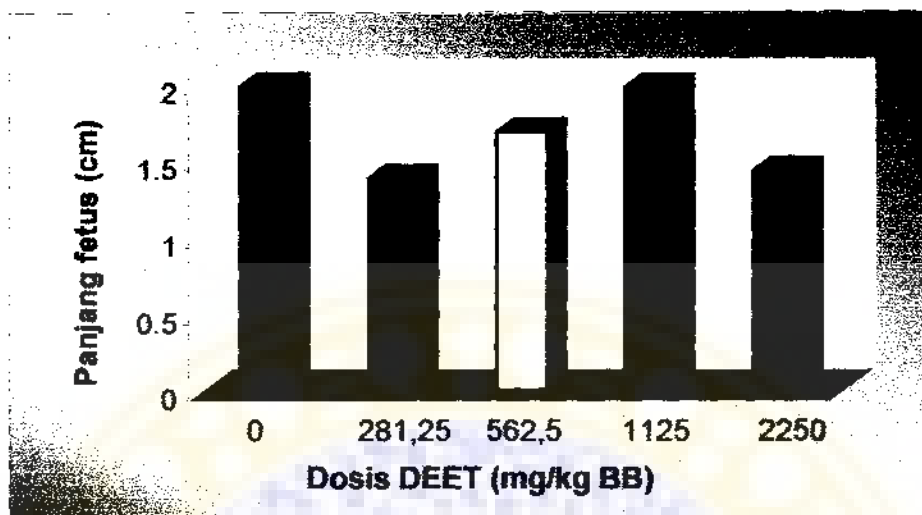
Gambar 5.3 Rata-rata berat fetus (mg) setelah pemberian dosis DEET

Dari hasil analisis varians satu jalur menunjukkan bahwa berat fetus tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

Data rata-rata panjang fetus (Tabel 5.4 dan Gambar 5.4) ditransformasi data dengan rumus $\sqrt{y + \frac{1}{2}}$ dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Rata-rata panjang fetus (cm) setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data

Dosis DEET (mg/kg BB)	Rerata panjang fetus (cm)	$\sqrt{y + \frac{1}{2}}$
0	1,9859	11,0391
281,25	1,3829	9,2174
562,5	1,6831	10,1237
1125	1,9738	11,0071
2250	1,4284	7,5781



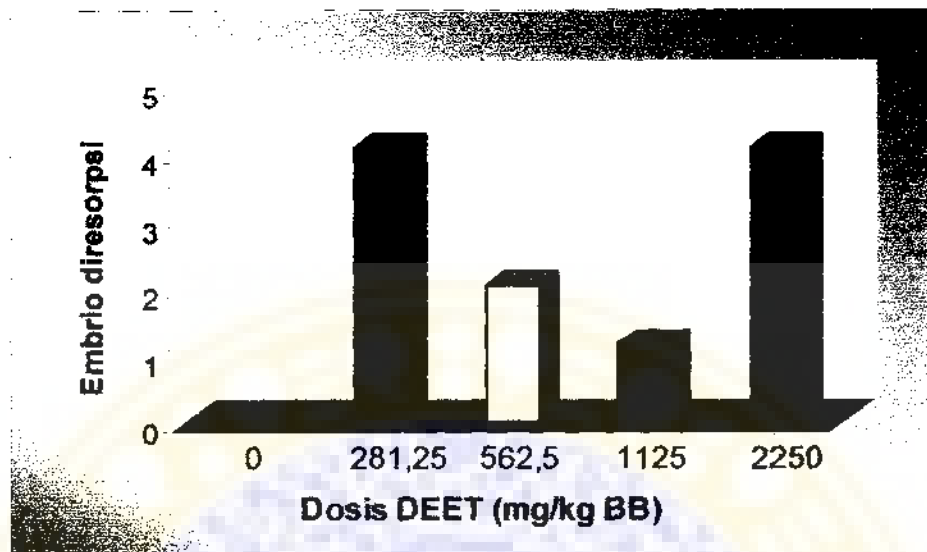
Gambar 5.4 Rata-rata panjang fetus (cm) setelah pemberian dosis DEET

Dari hasil analisis varians satu jalur menunjukkan bahwa panjang fetus tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

Pemberian DEET dengan dosis 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB ditemukan induk dengan embrio diresorpsi (Tabel 5.5 dan Gambar 5.5). Kematian fetus tidak ditemukan pada seluruh dosis DEET yang digunakan. Data persentase embrio diresorpsi ditransformasi data dengan rumus $\sqrt{y + \frac{1}{2}}$ dapat dilihat pada Tabel 5.5. Adapun bentuk fetus hidup dapat dilihat pada Gambar 5.6 sedangkan uterus fetus menciit dapat dilihat pada Gambar 5.7.

Tabel 5.5 Persentase embrio diresorpsi setelah pemberian berbagai dosis DEET dan transformasi data

Dosis DEET (mg/kg BB)	Persentase embrio diresorpsi	$\sqrt{y + \frac{1}{2}}$
0	0	0,7071
281,25	4,0816	11,2271
562,5	2,0408	8,0884
1125	1,1662	7,1854
2250	4,0816	11,2271



Gambar 5.5 Persentase embrio diresorpsi setelah pemberian dosis DEET

Dari hasil analisis varians satu jalur menunjukkan bahwa persentase embrio diresorpsi tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan $p > 0,05$.

5.2 Kelainan Eksternal Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET

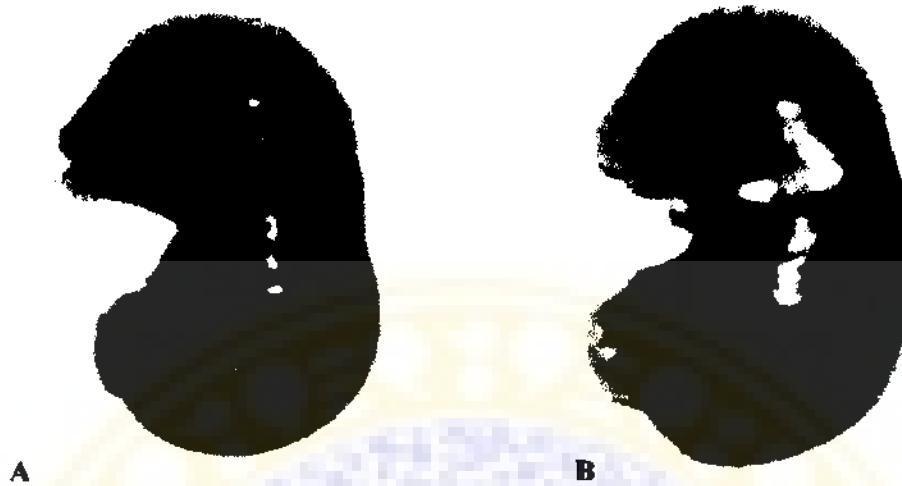
Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB tidak ditemukan kelainan anggota gerak fetus yang meliputi kejadian sindaktili, ektrodaktili, brakhidaktili, polidaktili, fokomelia, mikromelia dan talipes. Pengamatan terhadap kelainan ekor fetus mencit setelah pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB juga tidak ditemukan. Pengamatan terhadap eksternal fetus mencit menunjukkan bahwa setelah pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB juga tidak ditemukan kelainan mata, organ kelamin luar, kejadian palatoschisis, cheiloschisis dan hematoma.

5.3 Kelainan Rangka Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET

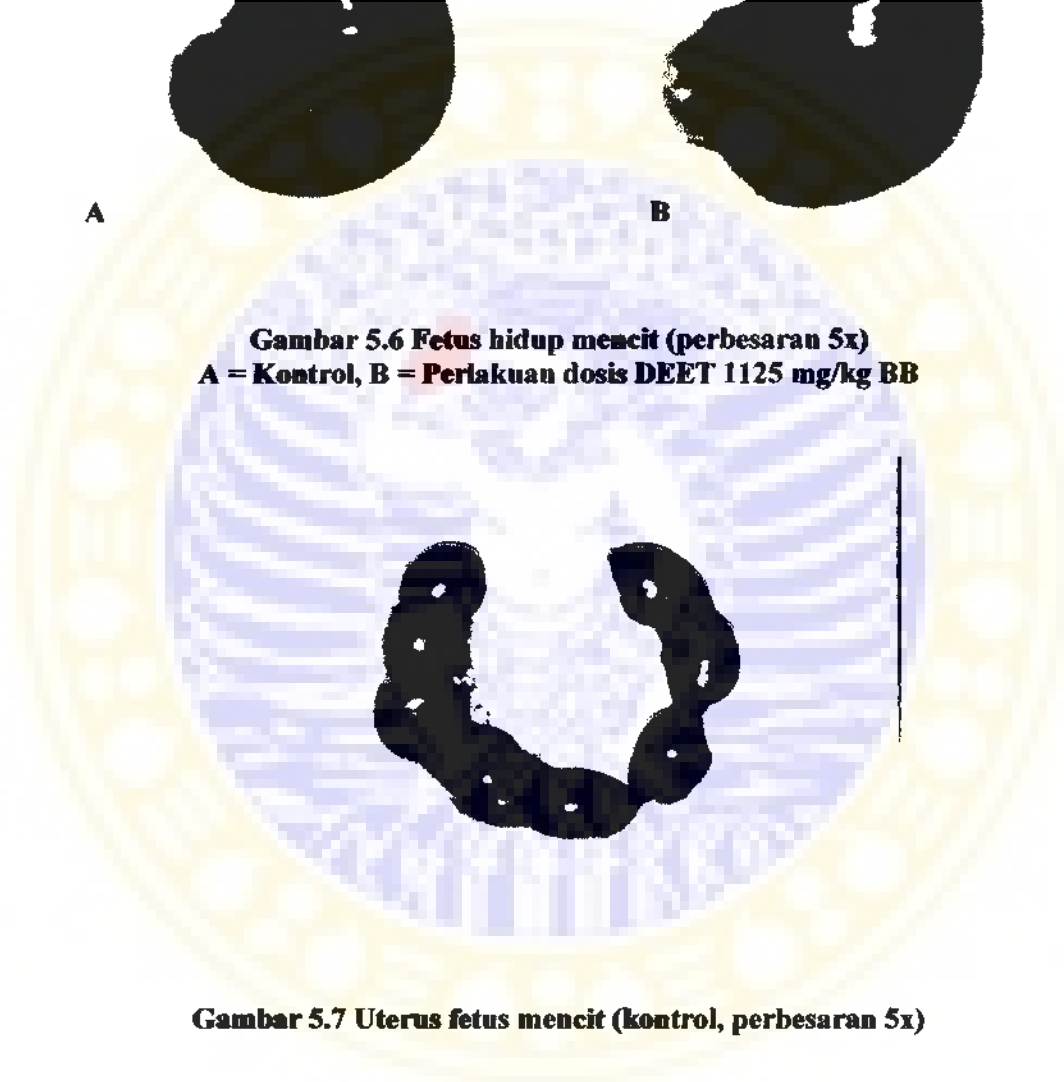
Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB tidak ditemukan kelambatan penulangan pada tulang supraoksipital, kelainan jumlah tulang sternum, tulang vertebralis, tulang sakrokaudalis dan tulang phalanx anggota (depan dan belakang). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB tidak ditemukan kelambatan penulangan pada digit yang diketahui dari jumlah tulang phalanx anggota yang meliputi: anggota depan maupun belakang.

5.4 Kelainan Organ Internal Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB tidak ditemukan kelainan organ internal fetus meliputi pengamatan terhadap hidrocefalus dan ginjal ektopik.



**Gambar 5.6 Fetus hidup menciit (perbesaran 5x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 1125 mg/kg BB**



Gambar 5.7 Uterus fetus menciit (kontrol, perbesaran 5x)



Gambar 5.8 Tulang supraokspital fetus mencit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 2250 mg/kg BB
so = Tulang supraokspital



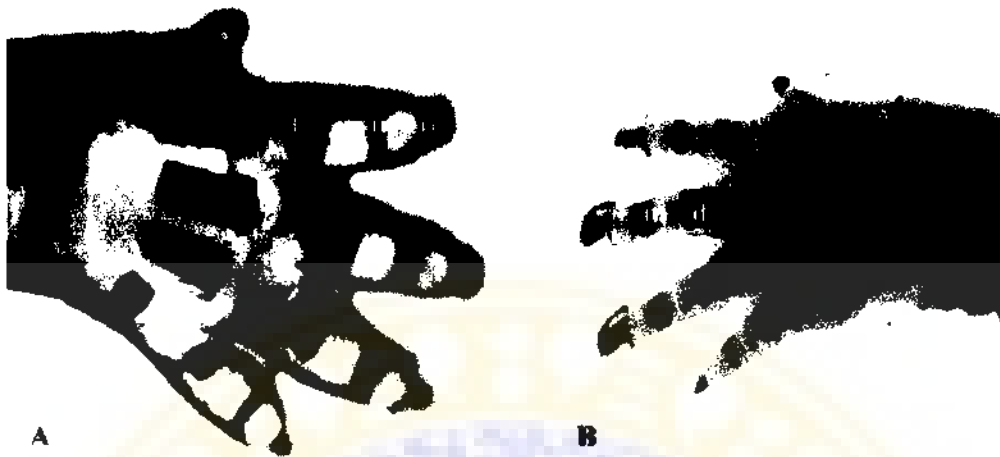
Gambar 5.9 Tulang sternum fetus mencit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 2250 mg/kg BB
st = Tulang sternum



Gambar 5.10 Tulang vertebralis fetus mencit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 2250 mg/kg BB
v = Tulang vertebralis



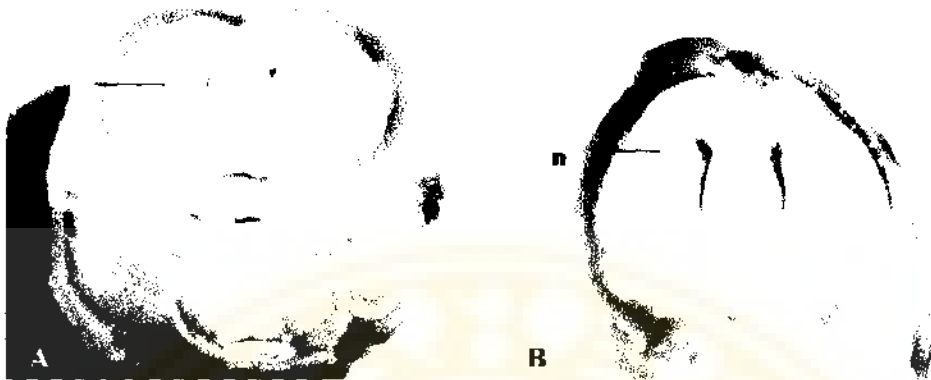
Gambar 5.11 Tulang sakrokaudalis fetus mencit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 2250 mg/kg BB
sk = Tulang sakrokaudalis



**Gambar 5.12 Tulang phalanx anggota depan fetus menciit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 2250 mg/kg BB
p = proksimal, m = median, d = distal**



**Gambar 5.13 Tulang phalanx anggota belakang fetus (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 2250 mg/kg BB
p = proksimal, m = median, d = distal**



Gambar 5.14 Potongan otak fetus mencit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 1125 mg/kg BB
n = normal



Gambar 5.15 Tulang phalanx anggota depan fetus mencit (perbesaran 10 x)
A = Kontrol, B = Perlakuan dosis DEET 1125 mg/kg BB
n = normal



BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Kemampuan Reproduksi Induk Mencit dan Keadaan Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET

Kemampuan reproduksi induk mencit ditandai dengan penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus dan panjang fetus. Selain itu diamati pula kematian intrauterus yang meliputi jumlah fetus mati dan embrio teresorpsi.

Pemberian DEET dengan dosis 2250 mg/kg BB ditemukan kematian induk mencit sejumlah 5,7%. Hal ini berarti dosis DEET yang digunakan bersifat toksik. Penelitian yang dilakukan oleh INCHEM (1990) menunjukkan bahwa mencit yang mati pada dosis LD₅₀ menunjukkan gejala lakrimasi, depresi, gangguan pada kelenjar prostat, gemetar, kejang dan kegagalan respirasi dilanjutkan dengan gagal jantung. Sedangkan pada tikus yang mati pada dosis LD₅₀ menunjukkan gejala gangguan pada alat pendengaran, lakrimasi, gangguan pada alat respirasi, gemetar dan kejang (INCHEM, 1990).

Pada penelitian ini, pemberian berbagai dosis DEET menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus dan panjang fetus. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sesudah DEET diberikan pada kulit, DEET akan mengalami metabolisme oleh enzim oksidatif pada ginjal. DEET diekskresikan melalui urin dan feses (INCHEM, 1990; The Poison Center,

2003). Pada fase awal pemberian DEET, absorpsi terjadi dengan cepat, tetapi tidak lebih dari 50% dosis yang terabsorpsi diekskresikan melalui ginjal (INCHEM, 1990). Senyawa ini paling utama diekskresikan melalui urin (EXTOXNET, 2002).

Studi yang dilakukan pada tikus, kelinci dan anjing yang diberi DEET dengan konsentrasi 75% dalam pelarut etanol berlabel bahan radioaktif selama tujuh hari, DEET diekskresikan melalui urin dalam waktu 24 jam dengan sedikit akumulasi pada beberapa jaringan dan anjing mempunyai potensi absorpsi terendah (Schmidt, Smith dan Selim dalam Cecchine *et al.*, 2002).

Blomquist *et al.* dalam EXTOXNET (2002) mengatakan bahwa dengan menggunakan radioautografi, injeksi DEET yang berlabel ^{14}C intravena ditelusuri. Kadar DEET tinggi pada jaringan terdapat pada hati, ginjal, kelenjar lakrimal dan mukosa nasal. Konsentrasi DEET ditemukan lebih tinggi pada sirkulasi darah daripada tiroid dan jaringan lemak. Konsentrasi DEET tertinggi terdapat pada kelenjar lakrimal. Empat jam sesudah pemberian DEET, radioaktivitas berkurang kecuali pada kelenjar lakrimal. Konsentrasi DEET pada fetus lebih rendah daripada induk.

DEET dengan konsentrasi murni berlabel ^{14}C diberikan pada lengan bawah para sukarelawan. Radioaktivitas plasma mengindikasikan absorpsi DEET terjadi dalam waktu dua jam dan ekskresi terjadi dalam waktu empat jam sesudah pemberian DEET (Annals of Internal Medicine, 1998; Selim *et al.* dalam Cecchine *et al.*, 2002).

Pemberian berbagai dosis DEET menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap persentase embrio diresorpsi. Hasil penelitian menunjukkan juga tidak ditemukan adanya kematian fetus pada seluruh dosis yang digunakan. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa DEET tidak bersifat embriotoksik pada mencit strain BALB/C dengan dosis berulang pada umur kebuntingan ke-6 – 15 hari pada kulit bagian dorsal, namun pada dosis paling tinggi 2250 mg/kg BB menunjukkan kecenderungan resorpsi fetus. Hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan pada tikus yang menunjukkan bahwa tidak terdapat efek embriotoksik akibat pemberian DEET (INCHEM, 1990).

6.2 Kelainan Eksternal, Rangka dan Organ Internal Fetus Setelah Pemberian Berbagai Dosis DEET

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian berbagai dosis DEET tidak ditemukan kelainan eksternal yang diamati pada anggota gerak fetus yang meliputi: kejadian sindaktili, ektrodaktili, brakhidaktili, polidaktili, fokomelia, mikromelia dan talipes. Pengamatan terhadap kelainan ekor yaitu kejadian ekor pendek, bergelung, kinky dan tidak ada ekor ataupun kelainan mata, organ kelamin luar, kejadian palatoschisis, cheiloschisis dan hematoma tidak ditemukan pada fetus pada seluruh dosis DEET yang digunakan.

Pemberian berbagai dosis DEET juga tidak ditemukan kelainan rangka yang meliputi kelambatan penulangan pada tulang supraoksipital, kelainan jumlah tulang sternum, vertebralis, sakrokaudalis dan tulang phalanx baik itu anggota depan maupun belakang.

Pengamatan kelainan organ internal yang meliputi: kejadian hidrosefalus dan ginjal ektopik tidak ditemukan pada seluruh dosis DEET yang digunakan.

Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukannya kelainan eksternal, rangka maupun organ internal pada fetus mencit. Hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan pada kelinci bunting yang diberi DEET 0, 50, 100, 1000 atau 5000 mg/kg BB dalam pelarut etanol pada tulang punggung terukur pada umur kebuntingan ke-0 - 29 hari. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tidak ada peningkatan kejadian anomali skeletal ataupun jaringan lunak yang diamati pada kelompok perlakuan dan kontrol (EXTOXNET, 2002).

Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa pemberian DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2252 mg/kg BB pada umur kebuntingan ke-6 - 15 hari pada kulit bagian dorsal mencit strain BALB/C tidak bersifat teratogenik. Hal ini sesuai dengan studi reproduksi dan teratogenitas pada tikus setelah pemberian DEET 100 atau 1000 mg/kg BB dermal selama kebuntingan yang tidak mengakibatkan efek teratogenik (INCHEM, 1990).



BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Pemberian berbagai dosis DEET 0; 281,25; 562,5; 1125 dan 2250 mg/kg BB dermal pada umur kebuntingan ke-6 – 15 hari menunjukkan bahwa:

1. DEET tidak berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi induk mencit galur BALB/C yaitu penambahan berat badan induk, jumlah fetus hidup, berat fetus, panjang fetus, jumlah fetus mati, jumlah resorpsi dan kematian intrauterus, sehingga dapat dikatakan DEET tidak bersifat embriotoksik, namun ada kecenderungan menyebabkan resorpsi embrio pada dosis 2250 mg/kg BB.
2. DEET tidak menyebabkan kelainan eksternal fetus mencit yaitu kelainan anggota gerak, ekor, mata, organ kelamin luar, kejadian palatoschisis, cheiloschisis dan hematoma.
3. DEET tidak menyebabkan kelainan rangka yaitu kelambatan penulangan pada tulang supraoksipital, kelainan jumlah tulang sternum, tulang vertebralis, tulang sakrokaudalis dan tulang phalanx anggota.
4. DEET tidak menyebabkan kelainan organ internal fetus yang diamati pada kelainan hidrosefalus dan ginjal ektopik.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, bagi peneliti yang ingin mendalami pengaruh DEET terhadap perkembangan embrio mencit sebaiknya menggunakan dosis DEET dibawah 2250 mg/kg BB pada hewan coba selain mencit strain BALB/C.



DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim¹, 2002. **DEET**. meyergs.com/in_h.htm – 17k. Akses 27 November 2003.
- Anonim¹, 2003. **Obat Nyamuk Bakar Indonesia Berbahaya?**. www.kalbe.co.id/kfportal.nsf/0/865f2d77ad7b39d447256da40003a7c8?OpenDocument&AutoFramed - 17k. Akses 2 Desember 2003.
- Anonim², 2003. **Jangan Asal Semprot**. <http://www.indomedia.com/intisari/Intisari.cdf>. Akses 2 Desember 2003.
- Anonim³, 2003. **Jangan Remehkan Efek Negatif Anti-Nyamuk!**. Suara Karya, Kamis, 11 September 2003.
- Annals of Internal Medicine, 1998. **Mosquitoes and Mosquito Repellents: A Clinician's Guide**. <http://www.acponline.org/journals/annals/01jun98/mosquito.htm>. Akses 25 Desember 2003.
- A Teratogen Information Services (OTIS), 2003. **DEET (N,N-diethyl-m-toluamide) and Pregnancy**. <http://www.otispregnancy.org/pdf/DEET.pdf>. Akses 25 Desember 2003.
- Canadian Medical Association (CMAJ), 2003. **DEET- Based Insect Repellent: Safety Implication for Children and Pregnant and Lactating Women**. <http://www.cmaj.ca/>. Akses 06 Januari 2004.
- Cecchine, G., Beatrice A. Golomb, Lee H. H., Dala M. Spektor, C. Ross Anthony, 2002. **A Review of the Scientific Literature as it Pertains to Gulf War Illnesses, Volume 8: Pesticide**. www.fwjjustice.org/EHP%20Training/chap%205%20repro.pdf. Akses 27 November 2003.
- Darmanto, W., 1993. **Pengaruh Asam Metoksiasetat terhadap Perkembangan Pralahir Mencit (*Mus musculus*) Albino Galur A/J**. Tesis. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Environmental Protection Agency (EPA), 1999. **Pesticides and Birth Defect**. <http://www.mindfully.org/Pesticide/pesticide.htm>. Akses 25 Desember 2003
- Environmental Protection Agency (EPA), 2003. **Diethyltoluamide (DEET)**. <http://www.mindfully.org/Pesticide/pesticide.htm>. Akses 25 Desember 2003.
- Foster, H. L., 1983. **The Mouse in Biomedical Research; Normative Biology, Immunology and Husbandry**. Volume III. Academic Press, Inc. San Diego. P. 121 – 129.

- Extension Toxicology Network (EXTOXNET), 2002. **DEET**. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/Exttoxnet/carbaryl-dicrotophos/deet-ext.html>. Akses 27 November 2003.
- Hafez, E. S. E., 1970. **Reproduction and Breeding Technique for Laboratory Animals**. 3th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. P. 305.
- Herman, M. J. dan Mutiatikum D., 1990. **Efek Teratogenik–Dismorfogenik Masalah Akibat Penggunaan Obat dalam Kehamilan**. *Cermin Dunia Kedokteran*. 65: 34 – 35.
- Illinois Teratogen Information Services (ITIS), 1992. **Insecticides**. <http://www.fetal-exposure.org/INSECT.html>. Akses 27 November 2003.
- INCHEM, 1990. **Pesticide Documents (PDs) DEET**. http://www.inchem.org/document/pds/pds/pest80_e.htm. Akses 27 November 2003.
- INCHEM, 1990. **Poisons Information Monographs (PIMs) DEET**. <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/deet.htm>. Akses 25 Desember 2003.
- Ikhwan, 1997. **Pengaruh Ekstrak Biji Kapas (*Gosypium hissutum*) Terhadap Fertilitas dan Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus*) Betina**. Tesis. Universitas Airlangga Surabaya. Surabaya.
- Jacoby, R. O. and J. G. Fox, 1984. **Biology and Disease of Mice**. Academic Press, Inc. New York.
- Knobil, E. J. D. Neill, L. L. Ewing, G. S. Greenwald, C. L. Maarket and D. W. Pfaf, 1988. **The Physiology of Reproduction**. Volume II. Raven Press. New York.
- Kusumawati, D., 1993. **Pengaruh Pemberian Stevoisida Terhadap Reproduksi dan Perkembangan Embrio Tikus Putih**. Disertasi. Universitas Airlangga Surabaya. Surabaya.
- Langman, J., 1975. **Medical Embriology**. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. P. 25 – 104.
- Mountain States Genetics Network (MOSTGENE), 1995. **Etiology of Congenital Malformations in Humans**. <http://www.mostgene.org/gd/gdlist.htm>. Akses 25 Desember 2003.
- Missouri Teratogen Information Services (MOTIS), 2003. **Bug Repellent and Pregnancy**. www.genetics.missouri.edu/motis/bug_repellany_and_pregnancy.htm. Akses 27 November 2003.

- Partodihardjo, S., 1992. **Ilmu Reproduksi Hewan**. Cetakan ke-3. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Poernomo, B., 1999. **Teratology High Light**. Surabaya: Post Graduate Programme. Airlangga University. Surabaya. P. 5 – 9, 21-22.
- Rugh, R., 1968. **The Mouse; Its Reproduction and Development**. Burgess Publishing Company. Mineapolis. P. 237 - 238.
- Sadler, T. W., 2000. **Embriologi Kedokteran Langman**. Edisi ke-7. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Hal.: 280 – 281.
- Subianto, A., 1988. **Pengaruh Penyuntikan Methyl Methacrylate terhadap Janin Mencit**. Tesis. Fakultas Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya. Surabaya.
- Schardein, J. L., 1985. **Chemically Induced Birth Defect**. Marcel Dekker Inc. New York. P. 764 – 768.
- Smith, J. B. dan Mangkoewidjojo, S., 1988. **Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan Daerah Tropis**. UI Press. Jakarta. Hal.: 10 – 57.
- Sukra, Y., 1981. **Kepastian Teratogenitas dalam Percobaan Binatang**. Medika. 10: 687 – 690.
- Susanto, I., 1985. **Embriologi Kedokteran**. Edisi 5. Penerbit EGC Buku Kedokteran. Jakarta.
- Taylor, P., 1986. **Practical Teratology**. Academic Press. London.
- Theiler, K., 1983. **Embriology**. In (Foster); **The Mouse in Biomedical Research; Normative Biology, Immunology and Husbandry**. Volume III. Academic Press, Inc. San Diego, California. P. 121 – 129.
- The Poison Center, 2002. **Insect Repellent**. <http://www.mnpoison.org/mnpoison/pdfs/Insect%20Repellent.pdf>. Akses 27 November 2003.
- University of Nebraska, 1997. **Signs and Symptoms of Pesticide Poisoning**. <http://www.lanr.uni.edu/pubs/pesticides/ec2505.htm>. Akses 25 Desember 2003.
- West Nile Virus (WNV), 2002. **DEET (Insect Repellent)**. http://212.187.155.84/wnv/List_WPMod_Cont/westnile/Chemical?deet.htm. Akses 27 November 2003.

Lampiran 1

Prosedur Pembuatan Larutan DEET

Cara pembuatan larutan DEET dosis 2250 mg/kg BB adalah:

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 2250 \text{ mg/kg BB} &= 2250 \text{ mg} \times 20 \text{ g} \times 10^{-3} \\ &= 45 \text{ mg} \\ &= 0,045 \text{ g} \end{aligned}$$

DEET berbentuk cair mempunyai BM DEET = 191,26 dan BJ DEET = 0,996, maka:

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 2250 \text{ mg/kg BB} &= \frac{0,045}{0,996} \\ &= 0,045 \end{aligned}$$

Karena DEET yang tersedia kemurniannya 97%, maka harus diambil:

$$\begin{aligned} &= 0,045 \times \frac{100}{97} \\ &= 0,046 \text{ ml} \end{aligned}$$

DEET dermal diberikan 1 mg /cm², jika DEET diberikan dengan luas 4 cm² maka:

$$\begin{aligned} &= \frac{4 \text{ cm}^2}{1 \text{ cm}^2} \times 1 \text{ mg} \\ &= 4 \text{ mg} \end{aligned}$$

Karena : 1 mg ~ 0,1 cc

$$\begin{aligned} &= \frac{4 \text{ cm}^2}{1 \text{ cm}^2} \times 0,1 \text{ cc} \\ &= 0,4 \text{ cc} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 0,4 cc larutan DEET dosis 2250 mg/kg BB dengan cara mengambil 0,046 ml DEET, kemudian ditambahkan pelarut hingga mencapai volume 0,4 cc.

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 1125 \text{ mg/kg BB} &= \frac{1125}{2250} \times 0,046 \text{ g} \\ &= 0,023 \text{ g} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 0,4 cc larutan DEET dosis 1125 mg/kg BB dengan cara mengambil 0,023 ml DEET, kemudian ditambahkan pelarut hingga mencapai volume 0,4 cc.

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 562,5 \text{ mg/kg BB} &= \frac{562,5}{2250} \times 0,046 \text{ g} \\ &= 0,011 \text{ g} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 0,4 cc larutan DEET dosis 562,5 mg/kg BB dengan cara mengambil 0,011 ml DEET, kemudian ditambahkan pelarut hingga mencapai volume 0,4 cc.

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 281,25 \text{ mg/kg BB} &= \frac{281,5}{2250} \times 0,046 \text{ g} \\ &= 0,006 \text{ g} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 0,4 cc larutan DEET dosis 281,5 mg/kg BB dengan cara mengambil 0,006 ml DEET, kemudian ditambahkan pelarut hingga mencapai volume 0,4 cc.

Lampiran 2

Prosedur Pewarnaan Tulang

1. Fetus mencit dikeluarkan dari uterus 1 hari sebelum waktu kelahiran (hari ke-18 waktu kebuntingan).
2. Fetus difiksasi dalam etanol 96% selama 1 minggu.
3. Fetus dimasukan ke dalam larutan KOH 1% selama 24 jam agar otot-ototnya transparan. Larutan KOH 1% diganti yang baru jika larutan telah berubah menjadi keruh. Penggantian larutan terus dilakukan sampai otot fetus benar-benar menjadi transparan.
4. Fetus dimasukan ke dalam larutan KOH 1% kemudian diberi beberapa tetes Alizarin Red S (5 – 6 tetes untuk larutan 250 ml) sampai larutan berwarna merah muda. Fetus dibiarkan dalam larutan ini sampai tulang-tulangnya berwarna merah muda (biasanya 24 jam).
5. Fetus dipindahkan ke dalam campuran larutan KOH dan gliserin dengan perbandingan 75:25, 50:50, 25:75 (masing-masing selama 24 jam) dan fetus dibiarkan sampai tenggelam.
6. Fetus dimasukan ke dalam tempat yang permanen yang telah diisi gliserin murni. Untuk mencegah tumbuhnya jamur ditambahkan sedikit fenol.

Lampiran 3
Analisis Varians Satu Jalur Pertambahan Berat Badan Induk
Summarize
Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BBI * Dosis DEET	35	100.00%	0		35	100.00%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

			BBI
Dosis DEET	0	1	25
		2	25
		3	20
		4	20
		5	25
		6	25
		7	25
		Total	N
	281.25	1	25
		2	25
		3	20
		4	20
		5	25
		6	10
		7	10
		Total	N
	562.5	1	25
		2	15
		3	20
		4	20
		5	25
		6	25
		7	10
		Total	N
	1125	1	20
		2	15
		3	15
		4	25
5		25	
6		25	
7		25	
Total		N	7
2250	1	0	
	2	0	
	3	25	
	4	25	
	5	25	
	6	10	
	7	10	
	Total	N	7
Total	N	35	

a Limited to first 100 cases.

Descriptives
BBI

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	23.5714	2.4398	0.9221	21.315	25.8278	20	25
281.25	7	19.2857	6.7259	2.5422	13.0653	25.5062	10	25
562.5	7	20	5.7735	2.1822	14.6604	25.3396	10	25
1125	7	21.4286	4.7559	1.7976	17.0301	25.8271	15	25
2250	7	13.5714	11.4434	4.3252	2.988	24.1548	0	25
Total	35	19.5714	7.3135	1.2362	17.0592	22.0837	0	25

ANOVA
BBI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	390	4	97.5	2.048	0.113
Within Groups	1428.571	30	47.619		
Total	1818.571	34			

Lampiran 4
Analisis Varians Satu Jalur Jumlah Fetus Hidup
Summarize

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
JFH * Dosis DEET	35	100.00%	0	0.00%	35	100.00%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

			JFH
Dosis DEET	0	1	10
		2	10
		3	9
		4	10
		5	9
		6	9
		7	10
		Total	N
	281.25	1	10
		2	10
		3	10
		4	9
		5	10
		6	0
		7	0
		Total	N
	562.5	1	10
		2	5
		3	9
		4	7
		5	10
		6	10
		7	0
		Total	N
	1125	1	9
		2	3
		3	7
		4	10
5		9	
6		10	
7		10	
Total		N	7
2250	1	0	
	2	0	
	3	9	
	4	10	
	5	10	
	6	0	
	7	0	
	Total	N	7
Total	N	35	

a Limited to first 100 cases.

Descriptives
JFH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	9.5714	0.5345	0.202	9.0771	10.0658	9	10
281.25	7	7	4.7958	1.8127	2.5646	11.4354	0	10
562.5	7	7.2857	3.7289	1.4094	3.837	10.7344	0	10
1125	7	8.2857	2.5635	0.9689	5.9149	10.6565	3	10
2250	7	4.1429	5.1778	1.957	-0.6458	8.9315	0	10
Total	35	7.2571	3.973	0.6716	5.8924	8.6219	0	10

ANOVA
JFH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	113.257	4	28.314	2.006	0.119
Within Groups	423.429	30	14.114		
Total	536.686	34			

Lampiran 5
Analisis Varians Satu Jalur Berat Fetus
Summarize
Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BF * Dosis DEET	35	100.00%	0	0.00%	35	100.00%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

			BF
Dosis DEET	1	1	0.94
		2	0.91
		3	0.89
		4	0.87
		5	0.89
		6	0.89
		7	0.93
		Total	N
	2	1	0.68
		2	0.85
		3	0.89
		4	0.89
		5	0.86
		6	0
		7	0
		Total	N
	3	1	0.81
		2	0.98
		3	0.9
		4	1.01
		5	0.87
		6	0.92
		7	0
		Total	N
	4	1	0.94
		2	0.9
		3	0.8
		4	0.9
5		0.91	
6		0.9	
7		0.94	
Total		N	7
5	1	0.9	
	2	0.96	
	3	0.91	
	4	0.93	
	5	0.9	
	6	0	
	7	0	
	Total	N	7
Total	N	35	

a Limited to first 100 cases.

Descriptives**BF**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	0.9049	2.50E-02	9.46E-03	0.8818	0.9281	0.87	0.94
281.25	7	0.5964	0.4134	0.1562	0.2141	0.9787	0	0.89
562.5	7	0.7837	0.3519	0.133	0.4582	1.1091	0	1.01
1125	7	0.8979	4.74E-02	1.79E-02	0.854	0.9418	0.8	0.94
2250	7	0.6573	0.4494	0.1699	0.2417	1.073	0	0.96
Total	35	0.768	0.3227	5.45E-02	0.6572	0.8789	0	1.01

ANOVA**BF**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.543	4	0.136	1.359	0.272
Within Groups	2.997	30	9.99E-02		
Total	3.54	34			

Lampiran 6
Analisis Varians Satu Jalur Panjang Fetus
Summarize

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PF * Dosis DEET	35	100.00%	0	0.00%	35	100.00%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

		PF	
Dosis DEET	1	1	2.03
		2	1.99
		3	1.97
		4	1.97
		5	1.99
		6	1.96
		7	2
		Total	N
	2	1	1.94
		2	1.85
		3	2
		4	1.94
		5	1.95
		6	0
		7	0
		Total	N
	3	1	1.99
		2	1.98
		3	1.99
		4	1.94
		5	1.9
		6	1.98
		7	0
		Total	N
	4	1	2.03
		2	1.9
		3	2.01
		4	1.99
5		2	
6		1.92	
7		1.96	
Total		N	7
5	1	1.99	
	2	1.99	
	3	2.01	
	4	2.03	
	5	1.98	
	6	0	
	7	0	
	Total	N	7
Total	N	35	

a Limited to first 100 cases.

Descriptives

PF

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	1.9859	2.49E-02	9.40E-03	1.9629	2.0089	1.96	2.03
281.25	7	1.3829	0.9457	0.3574	0.5082	2.2575	0	2
562.5	7	1.6831	0.7429	0.2808	0.996	2.3702	0	1.99
1125	7	1.9738	4.95E-02	1.87E-02	1.9281	2.0196	1.9	2.03
2250	7	1.4284	0.9759	0.3689	0.5258	2.331	0	2.03
Total	35	1.6908	0.7014	0.1186	1.4499	1.9318	0	2.03

ANOVA

PF

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.316	4	0.579	1.206	0.329
Within Groups	14.411	30	0.48		
Total	16.727	34			

Lampiran 7
Analisis Varians Satu Jalur Persentase Embrio Diresorpsi
Summarize

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
ER * Dosis DEET	35	100.00%	0	0.00%	35	100.00%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

			ER
Dosis DEET	1	1	0
		2	0
		3	0
		4	0
		5	0
		6	0
		7	0
		Total	N
	2	1	0
		2	0
		3	0
		4	0
		5	0
		6	14.29
		7	14.29
		Total	N
	3	1	0
		2	0
		3	0
		4	0
		5	0
		6	0
		7	14.29
		Total	N
	4	1	0
		2	8.16
		3	0
		4	0
5		0	
6		0	
7		0	
Total		N	7
5	1	0	
	2	0	
	3	0	
	4	0	
	5	0	
	6	14.29	
	7	14.29	
	Total	N	7
Total	N	35	

a Limited to first 100 cases.

Descriptives
ER

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	7	0	0	0	0	0	0	0
281.25	7	4.0816	6.9707	2.6347	-2.3652	10.5285	0	14.29
562.5	7	2.0408	5.3995	2.0408	-2.9529	7.0345	0	14.29
1125	7	1.1662	3.0854	1.1662	-1.6874	4.0197	0	8.16
2250	7	4.0816	6.9707	2.6347	-2.3652	10.5285	0	14.29
Total	35	2.2741	5.1622	0.8726	0.5008	4.0473	0	14.29

Oneway
ANOVA
ER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	90.914	4	22.729	0.836	0.513
Within Groups	815.136	30	27.171		
Total	906.05	34			