

Efek Toksin T-2 terhadap Perkembangan Embrio Praimplantasi dan Fetus Mencit Swiss Webster

The Effects of T-2 Toxin on Preimplantation Embryos and Fetuses of Swiss Webster Mice

AGUS HARYONO^{1*}, TIEN WIATI SURJONO², SRI SUDARWATI²

¹Study Programme of Biology Education, Palangkaraya University, Jalan Yos Sudarso C-11, Kampus Tunjung Nyaho, Palangkaraya 73112, Indonesia

²School of Life Sciences and Technology, Bandung Institute of Technology, Jalan Ganesha 10, Bandung 40132, Indonesia

Received July 26, 2006/Accepted February 28, 2007

T-2 toxin is a toxic and teratogenic mycotoxin produced by *Fusarium tricinctum* which may contaminate cereal, seed, and food. The aim of this research is to find out the effects of T-2 Toxin on preimplantation embryos and fetuses of Swiss Webster mice. Pregnant female of Swiss Webster mice on 0 or 2 day of gestation was injected intraperitoneally with T-2 toxin at doses 0.05 or 0.10 mg/kg body weight (bw) and the dam was observed at 3.5 and 18 days of gestation. At 0 day of gestation, embryos were arrested at one to eight cell and uncompacted morulae stages ($P < 0.01$) compared to control, in both 0.05 and 0.10 mg/kg bw doses. The cell numbers of late blastocyst at all treated groups were decreased significantly compared to control. At 2 day of gestation, most of embryos were arrested on compacted morulae stage at dose 0.10 mg/kg bw ($P < 0.01$), the late blastocyst and its cell number were dose-dependently decreased. The live fetuses decreased significantly at all dose of T-2 toxin. No external malformation occurred in the fetuses. Results showed that T-2 toxin given at preimplantation stages inhibited development of preimplantation embryos as indicated by decreased number of live fetuses. Therefore, it was grouped as embryotoxic agent but those dosages did not cause malformation of the external appearance of Swiss Webster mice fetuses.

Key words: *Fusarium tricinctum*, T-2 toxin, mycotoxin, preimplantation embryos, embryotoxic

PENDAHULUAN

Beberapa jenis jamur dapat tumbuh pada makanan dan bahan makanan, seperti jamur *Fusarium* (Russell *et al.* 1991). Di Indonesia, jenis *Fusarium tricinctum* merupakan jamur yang tumbuh pada beras, kacang tanah dan jagung yang disimpan di dalam gudang (Haryoso 1976; Soesilowati 1992).

Fusarium tricinctum dapat menghasilkan toksin T-2 sebagai salah satu mikotoksin dari golongan Trikoteken yang bersifat toksik dan teratogenik (Schieffer *et al.* 1987). Setiap 1 kg berat kering biji-bijian yang terkontaminasi dengan *F. tricinctum* menghasilkan 2 mg toksin T-2 (Smalley 1973). Toksin T-2 dapat masuk ke dalam sel tubuh embrio dan menghambat sintesis protein, DNA dan RNA, serta mengganggu pembentukan gelendong pembelahan (Gyongyossy-Isa *et al.* 1985; Rousseaux & Schieffer 1987). Bila diberikan pada tahap organogenesis mencit, toksin T-2 mengakibatkan oligodaktili, sindaktili, eksensefali, dan terganggunya perkembangan rahang, bahkan dapat mengalami kematian (Stanford *et al.* 1975; Rousseaux & Schieffer 1987). Penurunan kemampuan fagositosis sel makrofag pada mencit terjadi akibat perlakuan dengan toksin T-2, baik secara *in vivo* maupun *in vitro* (Vidal & Mavet 1989). Efek toksin T-2 yang diberikan pada tahap

pembentukan sistem saraf fetus mencit Swiss Webster menyebabkan apoptosis pada sel-sel mesenkim yang membangun sistem saraf pusat (Ishigami *et al.* 1999). Efek T-2 toksin pada tahap praimplantasi mencit Swiss Webster belum diketahui secara pasti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksin T-2 terhadap perkembangan embrio praimplantasi dan fetus mencit Swiss Webster. Perkembangan embrio diamati pada umur kebuntingan 3.5 hari dan kelainan pada fetus pada umur kebuntingan 18 hari.

BAHAN DAN METODE

Mencit Swiss Webster yang digunakan berjumlah 90 ekor berumur 10-12 minggu dengan berat 25-35 g. Sebanyak 72 ekor digunakan untuk pengamatan praimplantasi dan sisanya untuk pengamatan kelainan perkembangan pascaimplantasi. Penentuan umur kebuntingan dilakukan dengan cara mengawinkan mencit pada sore hari dan adanya sumbat vagina pada keesokan harinya ditentukan sebagai umur kebuntingan 0 hari (Taylor 1987).

Toksin T-2, Dosis, dan Umur Perlakuan. Toksin T-2 berasal dari Makor Chemical Ltd, Jerusalem. Dosis yang digunakan yaitu 0.05 atau 0.10 mg/kg bb, dosis tersebut didasarkan pada efek toksin T-2 bila diberikan pada tahap organogenesis dapat memunculkan berbagai kelainan

*Corresponding author. Phone/Fax: +62-536-3222157,
E-mail: h.suga@lycos.com

(Stanford *et al.* 1975). Pemberian toksin T-2 dilakukan secara intraperitoneal dalam 0.1 ml/10 g berat badan (bb) mencit pada umur kebuntingan nol hari atau dua hari. Sebagai kontrol, induk mencit hanya diberi propilen glikol 0.1 ml/10 g bb sebagai pelarut toksin T-2.

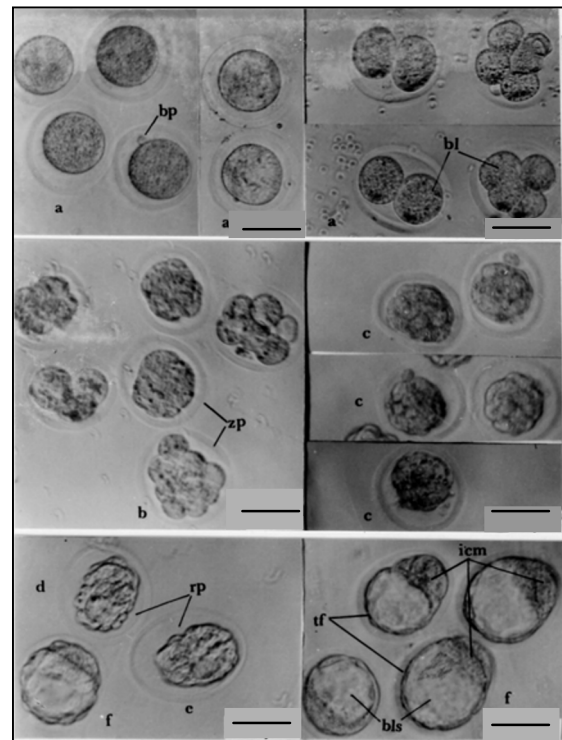
Koleksi Embrio, Penentuan Tahap Embrio Praimplantasi, dan Jumlah Sel Blastosis Akhir. Induk mencit yang diberi perlakuan dengan toksin T-2 maupun pelarut toksin T-2 pada umur kebuntingan nol atau dua hari, kemudian dibunuh pada umur kebuntingan 3.5 hari secara dislokasi leher dan dibedah. Uterus dan oviduk diambil dan ditempatkan dalam kaca arloji yang berisi larutan Hank. Embrio dikumpulkan dengan cara menyemprot oviduk dan uterus dengan larutan Hank menggunakan jarum 30 G, kemudian embrio dicuci dua kali dengan larutan Hank. Tahap perkembangan embrio ditentukan berdasarkan Setiorini *et al.* (1991), kemudian dihitung jumlahnya. Jumlah sel embrio yang mencapai tahap blastosis akhir dihitung dengan metode Tarkowski (1966) yang dimodifikasi. Zona pelusida dihancurkan dengan larutan tyrode (Hogan *et al.* 1986) dan dibiarkan 1 menit. Larutan tyrode dibuang, kemudian embrio dicuci dengan larutan NaCl 0.9% dua kali. Larutan tersebut diganti dengan larutan hipotonis (Natrium sitrat 0.7%) dan dibiarkan selama 15-20 menit. Setelah embrio mengembang, larutan hipotonis dibuang, kemudian ditetaskan larutan fiksatif (metanol:asam asetat glacial = 3:1) dan dikeringkan. Embrio pada kaca objek kemudian diwarnai dengan Giemsa 2.5% selama 5 menit, dan dicuci dengan air mengalir. Jumlah blastomer dihitung menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran lensa objektif 20 x. Uji beda nyata ditentukan dengan uji *t Student* dan uji jumlah pangkat Wilcoxon (Steel & Torrie 1997).

Pengamatan Kelainan pada Fetus Mencit Swiss Webster. Induk mencit yang diperlakukan dengan toksin T-2 pada umur kebuntingan dua hari, kemudian dibunuh secara dislokasi leher pada umur kebuntingan 18 hari. Selanjutnya dilakukan pengamatan mengenai jumlah implantasi, fetus hidup, fetus mati, jumlah embrio yang diresorpsi, dan jumlah korpus luteumnya. Fetus yang hidup ditimbang dan diamati adanya kelainan eksternal menggunakan mikroskop stereo. Untuk mengetahui persentase kematian intrauterus, fetus hidup, kelainan eksternal, dan kehilangan praimplantasi digunakan rumus menurut Manson dan Kang (1989). Selanjutnya uji beda nyata dilakukan dengan uji *t Student* atau uji jumlah pangkat Wilcoxon (Steel & Torrie 1997).

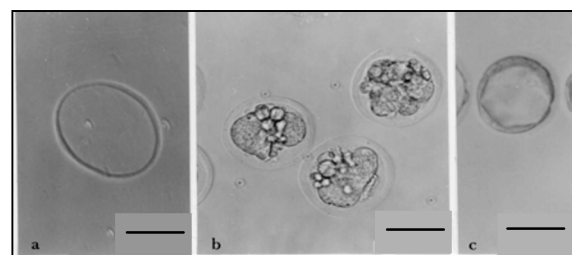
HASIL

Pengaruh Toksin T-2 yang Diberikan pada Umur Kebuntingan Nol Hari. Embrio yang ditemukan terdiri atas embrio satu sampai dengan delapan sel, morula tidak kompak, morula kompak, morula, blastosis awal, blastosis akhir (Gambar 1) dan embrio yang mengalami kelainan perkembangan (Gambar 2). Persentase embrio yang mencapai tahap blastosis akhir, baik pada dosis 0.05 maupun 0.10 mg/kg bb, menurun dan berbeda nyata ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kontrol. Penurunan ini disebabkan oleh peningkatan jumlah embrio yang terhambat perkembangannya. Pada perlakuan dengan

dosis 0.05 mg/kg bb, embrio yang terhambat perkembangannya terjadi pada tahap 1-8 sel mencapai 37.12% dan pada dosis perlakuan 0.10 mg/kg bb meningkat menjadi 39.03% lebih tinggi ($P < 0.01$) dibandingkan dengan kontrol. Demikian pula dengan embrio yang terhambat pada tahap morula, persentase total meningkat sejalan dengan kenaikan dosis. Pada perlakuan dengan dosis 0.05 mg/kg bb, jumlah embrio mencapai 41.79% dan pada dosis 0.10 mg/kg bb meningkat menjadi 46.86% yang berbeda dibandingkan dengan kontrol. Jumlah sel yang menyusun blastosis akhir mengalami penurunan ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kontrol. Pada perlakuan dengan dosis 0.05 mg/kg bb jumlah sel menurun (35.85 ± 1.31), bahkan pada



Gambar 1. Berbagai tahap perkembangan embrio praimplantasi mencit Swiss Webster yang diberi perlakuan dengan toksin-T-2 dosis 0.1 mg/kg berat badan. a. satu sampai delapan sel, b. morula tidak kompak, c. morula kompak, d. blastosis awal, e. blastosis sedang, f. blastosis akhir, zp: zona pelusida, bl: blastomer, rp: rongga perivitelin, bp: badan polar, tf: trofektoderm, icm: inner cell mass, bls: blastosol. Bar = 50 μ m.



Gambar 2. Berbagai kelainan pada embrio praimplantasi mencit Swiss Webster yang diberi perlakuan dengan toksin-T-2 dosis 0.5 mg/kg berat badan. a. zona pelusida tanpa embrio, b. embrio degeneratif, c. blastosis abnormal. Bar = 50 μ m.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2086154>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2086154>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)