

# STUDI PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN KONDROSIT EMBRIO AYAM DALAM KULTUR DENGAN ASAM BORAT

Nur Ducha\*, Mammed Sagi\*\*, dan Istriyati\*\*

\* Jurusan Biologi Fakultas MIPA UNESA

\*\* Jurusan Biologi UGM

## ABSTRACT

*The teratogenicity mechanism of boric acid is less known. There are contradictory observation on the effect of boric acid on the fetus malformation. An observation reported that boric acid is bound to the riboflavin and this complex causes a riboflavin deficiency on fetus. However, the other observation suggested that the present of riboflavin and boric acid had no decreased malformation on fetus, but increased malformation. It is giving an idea that the one of teratogenicity mechanism of boric acid may be the biological mechanism to the target cells. The goal of this study was to evaluate the effect of boric acid on the growth and development of cultured chick embryo chondrocytes. Chondrocytes were dispersed from sternal cartilage of 12-d chick embryos (*Gallus gallus*). Randomized completely design was used to arrange this treatment with five replicates for each treatment. The dosage of boric acid were 10, 20, 40, 60, 80, and 100 µg/ml. The cultures were observed on 1, 3, 5, 7, 9 day after boric acid treatment, including: the cell proliferation, cell adhesion, cell attachment and colony formation. The data were analyzed descriptively. Result of this experiment showed that on high dose (80 and 100 µg/ml) cell adhesion was not formed, therefore the colony was not formed, and formed vacuola in the cell. This study indicated that boric acid on the high dose can inhibit the cell proliferation, cell adhesion, cell attachment and colony formation.*

**Key words:** boric acid, chondrocyte, cell culture, cell growth

## PENGANTAR

Penggunaan bahan kimia dalam makanan pada umumnya bertujuan untuk meningkatkan keawetan. Salah satu bahan kimia yang sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan adalah asam borat. Menurut Pangestiniingsih (1994) asam borat terkenal sebagai pengawet makanan karena tidak memiliki bau dan rasa yang mencolok.

Weir dan Fisher (1972 dalam Smallwood, 1998) melakukan penelitian asam borat pada tikus dengan dosis 2,6; 8,8; 26,3; 87,5; dan 262,5 mg/kg bb per hari. Pada dosis tertinggi asam borat menunjukkan kematian pada semua hewan uji, sedangkan dosis 87,5 mg/kg bb per hari menyebabkan terjadinya penurunan berat pada badan, hati, ginjal, otak, kelenjar adrenal, ovarium, dan testis.

Asam borat juga menyebabkan teratogenesis pada embrio. Hasil penelitian Wijayanto (1993) yaitu pemberian asam borat pada tikus dengan dosis 30 sampai 90 mg/200 g bb/hari menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan tulang dan bentuk kosta yang abnormal terutama pada dosis 90 mg/200 g bb/hari, tetapi tidak menunjukkan fusi kosta. Hasil penelitian Kusmiyati (1999) menyebutkan bahwa pemberian asam borat pada mencit bunting dengan dosis 4 sampai 20 mg/20 g bb setiap hari menyebabkan terhambatnya pertumbuhan tulang ekstremitas dan kosta, serta berkurangnya tebal lapisan kondrosit kartilago epifisial femur pada fetus.

Dari beberapa penelitian asam borat secara *in-vivo* belum banyak yang diketahui tentang mekanisme toksisitas dan teratogenisitas asam borat. Menurut Rinie *et al.* (1990) diperkirakan bahwa natrium borat dan borat yang lain berikatan dengan sisi ribitil riboflavin, membentuk suatu kompleks yang larut dalam air dan merupakan metabolit yang tidak aktif. Kompleks riboflavin-borat terdapat dalam plasma darah dan mengurangi jumlah riboflavin bebas yang seharusnya masuk ke sirkulasi fetus. Menurut Smith *et al.* (1983) riboflavin berperan pada berbagai fungsi penting, antara lain sebagai koenzim pada sistem enzim respirasi, pada pertumbuhan dan perkembangan fetus, memelihara nukleus epitel dan jaringan penyusunan mata. Dengan demikian apabila riboflavin yang masuk ke fetus berkurang, maka akan dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan fetus.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Pangestiniingsih ternyata berbeda dengan yang diperkirakan oleh Rinie *et al.* (1990) dan Goldstein *et al.* (1974). Pemberian riboflavin mulai dosis rendah sampai dosis yang berlebihan ternyata tidak mengurangi terjadinya cacat pada fetus, tetapi justru memperparah terjadinya cacat (malaformasi).

Ku dan Chapin (1992) melaporkan bahwa pada penelitian secara *in-vivo* pada tikus terdapat perubahan struktur dan berat testis setelah mengkonsumsi 17,5 mg/kg bb per hari selama 9 minggu. Penelitian dilanjutkan,

hasilnya menunjukkan bahwa asam borat tidak berpengaruh terhadap perubahan hormon yang menyebabkan terjadinya atrofi pada testis. Untuk mengetahui lebih lanjut mekanisme toksisitas asam borat Ku dan Chapin (1992) melakukan penelitian secara *in-vitro* dengan mengkultur sel Leydig dan sel calon spermatogonium yang diberi perlakuan asam borat. Hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan metabolisme energi yang ditandai dengan penurunan laktat, piruvat pada media dan ATP seluler. Di samping itu juga terjadi penurunan sintesis DNA, sehingga menghambat terjadinya proliferasi sel pada sel Leydig maupun sel calon spermatogonium. Uji secara *in-vitro* tersebut dapat memperlihatkan manifestasi secara *in-vivo* yaitu penurunan rasio sel calon spermatogonium dan sel sertoli yang menyebabkan atrofi pada testis.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ku dan Chapin (1992) muncul pemikiran kemungkinan lain dari mekanisme teratogenisitas asam borat terhadap fetus yaitu terhadap mekanisme biologi sel target (pada sel calon pembentuk tulang atau sel kondrosit). Metode yang dapat digunakan adalah dengan memperlakukan asam borat pada kultur kondrosit dan diamati perubahan yang tampak pada kultur kondrosit.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Pembuatan Medium DMEM (Metode SIGMA)

Serbuk medium *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM), Sigma Chemical Co, ST Louis sebanyak 25 gram dilarutkan dalam 1000 ml air bebas ion pada gelas Erlenmeyer yang dihomogenisasi dengan pengaduk magnet. Setelah larut ditambahkan Natrium Fosfat 0,5 gram sehingga warnanya menjadi merah, pH diatur menjadi 7,3 dengan cara menambahkan NaOH (0,1 M) bila pH kurang dari 7,3 atau menambahkan NaCl (0,1 M) bila pH lebih dari 7,3. Larutan medium kemudian disaring membran millipore dengan ukuran pori 0,22  $\mu\text{m}$  dan dibantu dengan pompa vakum yang dilakukan dalam ruang steril. Dari gelas Erlenmeyer medium dilewatkan pipa elastik masuk pompa, pada ujung pipa dipasang saringan steril/membran milipore dengan ukuran lubang 0,22  $\mu\text{m}$ . Tetesan medium ditampung dalam botol steril, kemudian disimpan dalam lemari es dengan suhu 4 °C. Menjelang pelaksanaan kultur, medium dicampur dengan zat perangsang tumbuh dengan komposisi campuran: 89,49% DMEM, 10% *Foetal Calf Serum* (FCS), 0,5% streptomisin + penisilin, fungizon 0,01% (Sigma Chemical Co, ST Louis)

### Preparasi Kondrosit (Metode Watanabe)

Preparasi kondrosit dilakukan dalam ruangan steril dan di bawah mikroskop stereo. Kondrosit diambil dari calon sternum embrio ayam umur 12 hari. Calon sternum diangkat dengan pinset mikro, dibersihkan dari jaringan otot dan jaringan lain, dicuci dengan *Phosphate Buffered Solution* (PBS), dimasukkan dalam tabung sentrifuse dan diberi enzim tripsin 0,025%. Tripsinasi bertujuan untuk memisahkan sel satu dengan sel yang lainnya (disosiasi) dilakukan dalam penangas air 39 °C, selama 5 menit, setiap 5 menit dikocok dengan vortex agar sel terpisah satu sama lain. Tripsinasi dalam penangas air dan dengan *vortex* dilakukan tiga kali secara bergantian, sehingga masing-masing waktunya 15 menit. Tripsinasi dilanjutkan dengan dipusingkan selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm agar sel terkumpul di dasar tabung. Untuk menghentikan tripsinasi ditambahkan serum beberapa tetes, kemudian supernatan disedot dengan pipet pastur, selanjutnya suspensi sel dicuci dengan PBS. PBS disedot dengan pipet Pastur, kemudian diganti dengan medium dengan cara menyempromkannya dengan pipet agar sel tersuspensi merata. Suspensi sel dalam medium disaring dengan kain kasa steril berlapis tiga atau empat. Untuk menentukan jumlah sel dilakukan penghitungan dengan hemositometer. Jumlah kondrosit ditentukan 5000 sel/ml medium agar penyebaran sel tidak terlalu rapat.

### Persiapan dan Pelaksanaan Biakan

Suspensi kondrosit 5000 sel/ml medium dipersiapkan dalam cawan mikro yang berisi 96 sumuran. Setiap cawan biakan diisi 100  $\mu\text{l}$  suspensi sel dengan menggunakan pipet mikro. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan 5 sumuran, 6 macam dosis, 1 kontrol, sehingga dalam satu seri percobaan terdapat:  $7 \times 5 = 35$  sumuran biakan. Biakan ditumbuhkan dalam inkubator CO<sub>2</sub> dengan kelembapan 95% selama 13 hari

### Menentukan Konsentrasi Asam Borat Dalam Medium

Batas toksisitas suatu agen kimia dalam kultur menurut Wilson, 1984 (dalam Freshney, 1988) adalah 100  $\mu\text{g/ml}$ . Dalam penelitian ini dosis yang dipakai adalah antara 0 sampai 100 yaitu 10, 20, 40, 60, 80, dan 100  $\mu\text{g/ml}$ . Asam borat terlebih dahulu disterilkan.

### Perlakuan dan Pengamatan

Hari pertama perlakuan adalah setelah sel melekat pada dasar sumuran atau hari keempat setelah inokulasi.

Medium lama diganti dengan medium baru yang berisi asam borat dengan dosis 10, 20, 40, 60, 80, dan 100  $\mu\text{g/ml}$  dan kontrol, setiap sumuran diisi dengan 100  $\mu\text{l}$  medium. Sebelum medium diganti dengan yang baru, terlebih dahulu biakan dicuci dengan PBS untuk menghilangkan sel yang mati (Frehsney, 1988). Cawan biakan diamati setiap 6 jam sekali dalam mikroskop balik untuk mengetahui pelekatan sel di dasar cawan. Parameter yang diamati meliputi adesi sel, proliferasi sel, pelekatan sel, dan tingkat konfluensi dari kultur sel kondrosit.

## HASIL

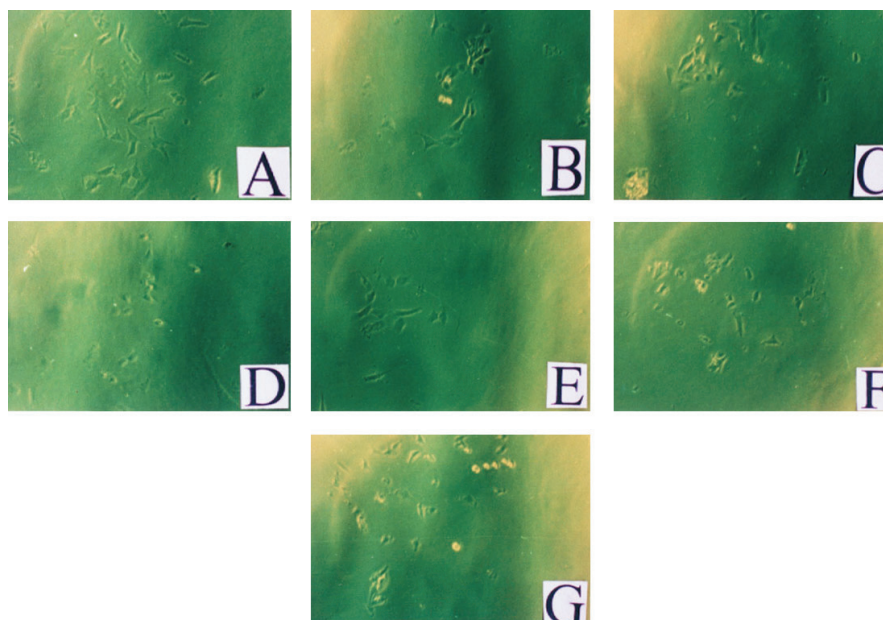
Pengamatan terhadap kultur kondrosit dilakukan secara kualitatif menggunakan mikroskop inversi untuk mengamati tingkah laku dan perubahan kultur kondrosit baik pada kontrol maupun pada perlakuan asam borat. Hasil pengamatan kualitatif menunjukkan bahwa kondrosit pertama kali melekat yaitu hari keempat dari inokulasi. Kondrosit di dalam biakan ada yang melekat dan ada yang tersuspensi. Sel yang hidup akan melekat kuat pada dasar cawan, sedangkan sel yang mati akan tersuspensi.

Hasil pengamatan mikroskopis pada hari pertama tersebut (Gambar 1), menunjukkan koloni belum terbentuk, sel masih terpisah antara sel yang satu dengan sel yang lain baik pada kontrol maupun perlakuan. Pada kontrol dan perlakuan dengan dosis rendah, sel yang melekat relatif

banyak, sedangkan sel yang tersuspensi relatif sedikit. Sel yang melekat berbentuk poligonal, fusiform, dan tampak terjadi mitosis pada beberapa sel. Pada dosis tinggi terutama dosis 80  $\mu\text{g/ml}$  dan 100  $\mu\text{g/ml}$  sel yang melekat relatif sedikit, sedangkan sel yang tersuspensi relatif banyak bila dibandingkan dengan kontrol. Sel yang tersuspensi terlihat berbentuk bulat.

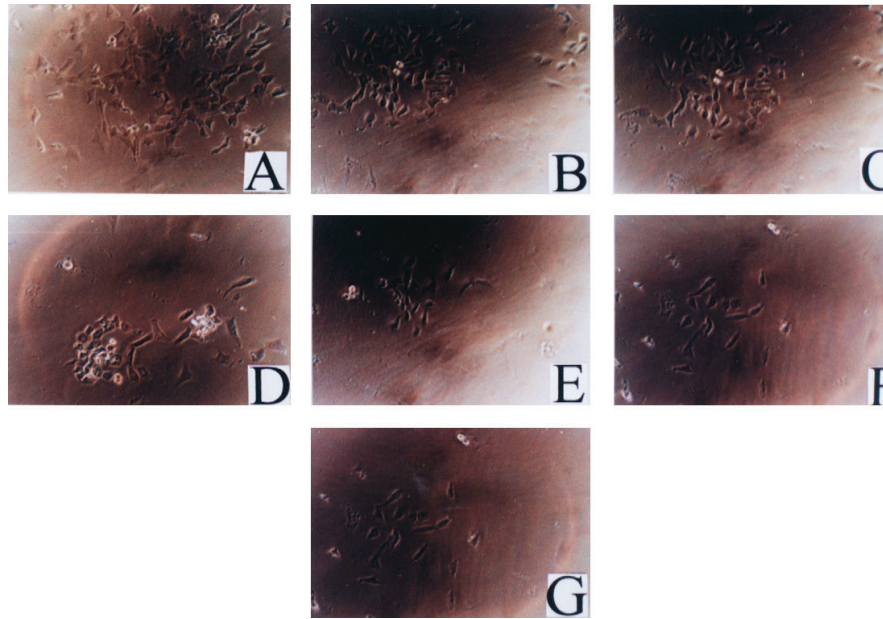
Hasil pengamatan secara mikroskopis pada hari ketiga setelah perlakuan (Gambar 2) menunjukkan bahwa kondrosit mulai membentuk koloni terutama pada kontrol dan perlakuan dengan dosis rendah. Pembentukan koloni tersebut berasal dari sel yang tunggal, selanjutnya bermitosis menjadi 2, 4, 8, dan seterusnya. Koloni yang terbentuk relatif kecil dan saling berjauhan. Antara koloni yang satu dengan koloni yang lain masih ada daerah kosong. Pada perlakuan dengan dosis tinggi (terutama pada dosis 80  $\mu\text{g/ml}$  dan 100  $\mu\text{g/ml}$  yaitu Gambar 2F dan Gambar 2G) koloni tidak terbentuk. Dengan tidak terbentuknya koloni, maka antara sel yang satu dengan sel yang lain tidak dapat saling komunikasi. Di samping itu pada dosis tinggi sel yang tersuspensi relatif banyak. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis tinggi asam borat dapat mengganggu pelekatan sel pada dasar cawan, sehingga sel terlepas dan terapung pada medium (sel tersuspensi).

Hasil pengamatan secara mikroskopis setelah hari kelima dari perlakuan (Gambar 3) menunjukkan adanya

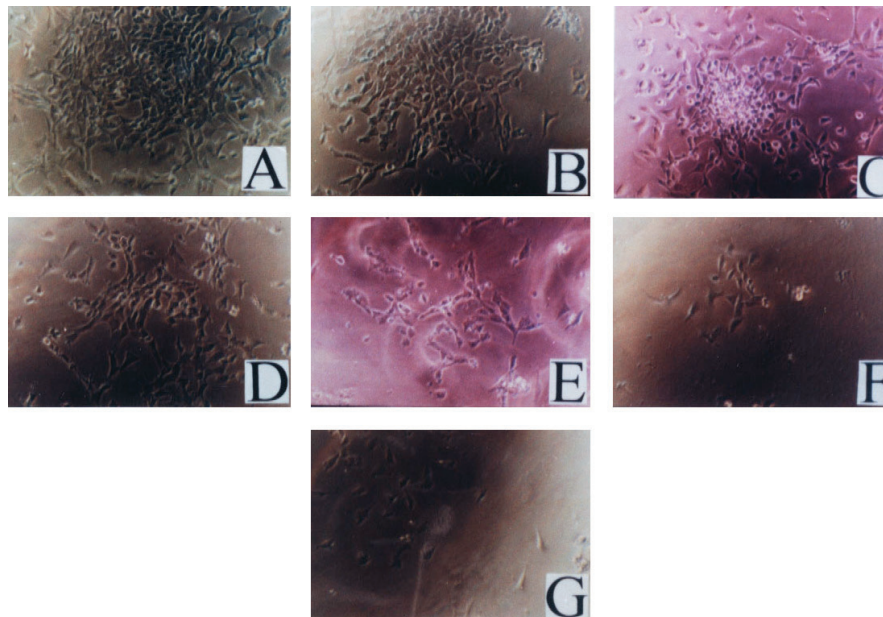


**Gambar 1.** Pengamatan mikroskopis kultur sel kondrosit pada hari pertama setelah perlakuan (Perbesaran 200 $\times$ ). A. Kontrol, B. Kondrosit + 10  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, C. Kondrosit + 20  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, D. Kondrosit + 40  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, E. Kondrosit + 60  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, F. Kondrosit + 80  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, G. Kondrosit + 100  $\mu\text{g/ml}$  asam borat.





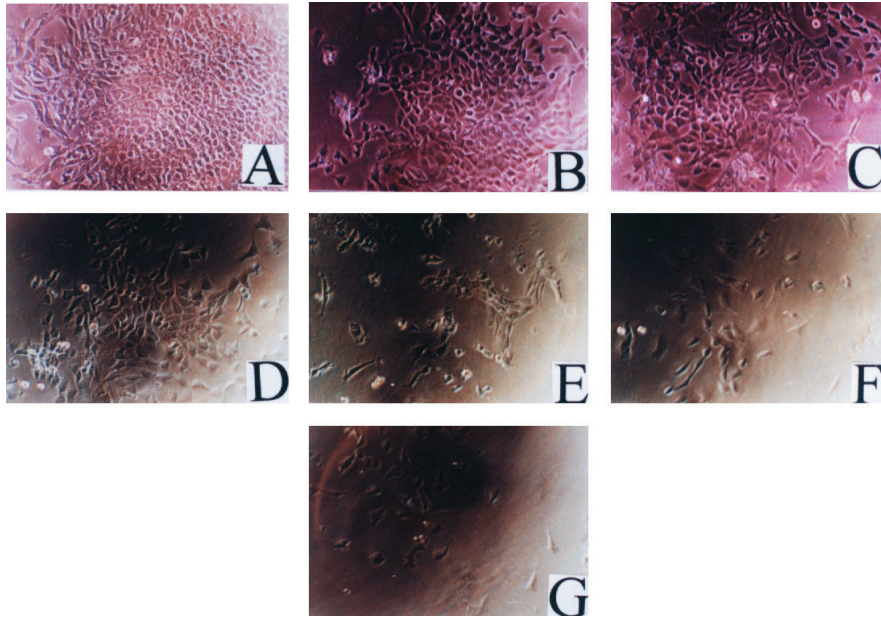
**Gambar 2.** Pengamatan mikroskopis kultur sel kondrosit pada hari ketiga dari perlakuan (Perbesaran 200×). A. Kontrol, B. Kondrosit + 10 µg/ml asam borat, C. Kondrosit + 20 µg/ml asam borat, D. Kondrosit + 40 µg/ml asam borat, E. Kondrosit + 60 µg/ml asam borat, F. Kondrosit + 80 µg/ml asam borat, G. Kondrosit + 100 µg/ml asam borat.



**Gambar 3.** Pengamatan mikroskopis kultur sel kondrosit pada hari kelima setelah perlakuan (Perbesaran 200×). A. Kontrol, B. Kondrosit + 10 µg/ml asam borat, C. Kondrosit + 20 µg/ml asam borat, D. Kondrosit + 40 µg/ml asam borat, E. Kondrosit + 60 µg/ml asam borat, F. Kondrosit + 80 µg/ml asam borat, G. Kondrosit + 100 µg/ml

perbedaan antara kontrol dan perlakuan. Pada kontrol koloni kondrosit tampak lebih besar bila dibandingkan dengan koloni pada hari ketiga dari inokulasi. Koloni yang besar

tersebut berasal dari koloni yang kecil. Pada koloni yang kecil tersebut sel terus bermitosis sehingga pada hari ke-5 koloni yang kecil akan saling bertemu dan bergabung untuk



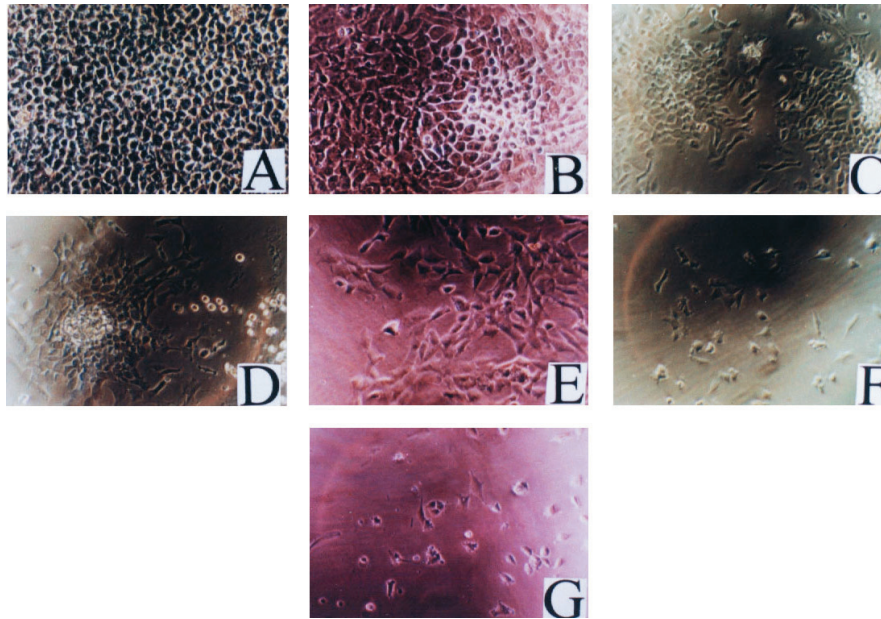
**Gambar 4.** Pengamatan mikroskopis kultur sel kondrosit pada hari ketujuh setelah perlakuan (Perbesaran 200x). A. Kontrol, B. Kondrosit + 10  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, C. Kondrosit + 20  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, D. Kondrosit + 40  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, E. Kondrosit + 60  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, F. Kondrosit + 80  $\mu\text{g/ml}$  asam borat, G. Kondrosit + 100  $\mu\text{g/ml}$  asam borat.

membentuk koloni yang lebih besar. Pada perlakuan dengan dosis rendah (10  $\mu\text{g/ml}$  dan 20  $\mu\text{g/ml}$ ) tampak terbentuk koloni besar, tetapi masih lebih besar koloni pada kontrol. Pada dosis 40  $\mu\text{g/ml}$  dan 60  $\mu\text{g/ml}$  belum terbentuk koloni yang besar. Koloni tampak relatif kecil dan letaknya saling berjauhan antara koloni yang satu dengan koloni yang lain, sehingga masih banyak terdapat daerah yang kosong. Pada dosis tinggi (80  $\mu\text{g/ml}$  dan 100  $\mu\text{g/ml}$ ), koloni tidak terbentuk. Sel saling berjauhan, sehingga antara sel yang satu dengan sel yang lain tidak saling komunikasi. Pada perlakuan baik pada dosis rendah maupun dosis tinggi tampak masih adanya sel yang tersuspensi.

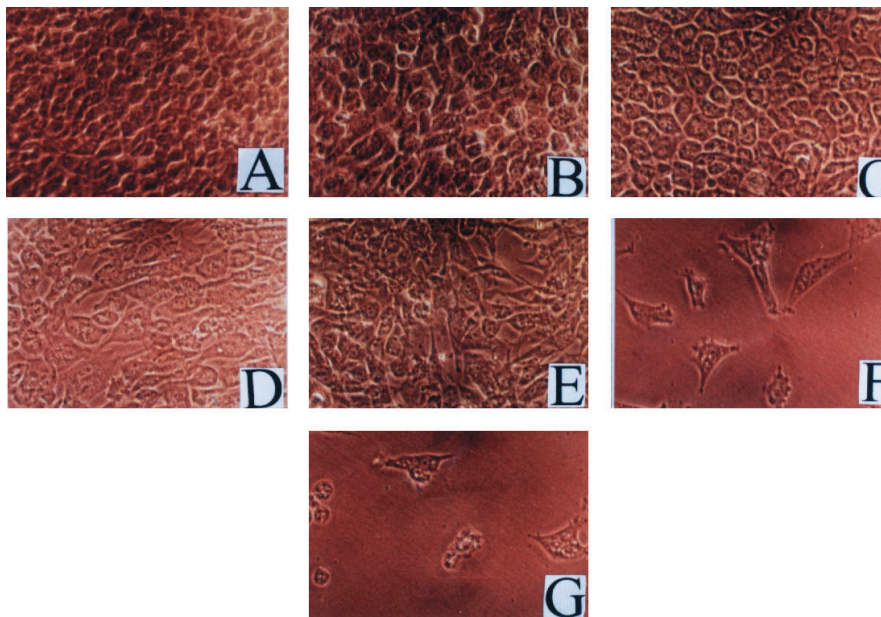
Hasil pengamatan secara mikroskopis hari ketujuh setelah perlakuan (Gambar 4) tampak adanya perbedaan antara kontrol dan perlakuan. Pada kontrol koloni tampak semakin besar jika dibandingkan dengan hari sebelumnya. Sel yang ada di tengah koloni berbentuk poligonal agak bulat, dan tampak lebih kecil jika dibandingkan dengan sel yang ada di pinggir. Sel yang ada di pinggir berbentuk poligonal agak lonjong, dan tampak lebih besar jika dibandingkan dengan sel yang ada di pinggir. Hal ini menunjukkan perkembangan kondrosit, yaitu sel semula berukuran besar, setelah sel yang satu dengan sel yang lain saling bersinggungan, ukuran sel menjadi mengecil dan akan mencapai tingkat konfluensi. Pada perlakuan dosis rendah (10  $\mu\text{g/ml}$ , 20  $\mu\text{g/ml}$ ) terbentuk koloni besar, tetapi

ukurannya masih lebih kecil bila dibandingkan dengan koloni pada kontrol. Pada dosis 40  $\mu\text{g/ml}$  dan 60  $\mu\text{g/ml}$ , belum terbentuk koloni besar. Koloni masih relatif kecil, dan letaknya saling berjauhan antara koloni yang satu dengan koloni yang lain, sehingga masih banyak terdapat daerah kosong. Pada dosis yang lebih tinggi (80  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ ) koloni tidak terbentuk. Antara sel yang satu dengan sel yang berjauhan, tidak saling komunikasi. Hal ini menunjukkan bahwa asam borat dapat menghambat pembentukan koloni terutama pada dosis tinggi (80  $\mu\text{g/ml}$  dan 100  $\mu\text{g/ml}$ ). Pada perlakuan mulai dosis rendah sampai dosis tinggi tampak adanya sel yang tersuspensi. Hal ini menunjukkan bahwa asam borat dapat mengganggu perlekatan sel pada dasar cawan.

Hasil pengamatan secara mikroskopis hari kesembilan setelah perlakuan (Gambar 5) menunjukkan adanya perbedaan antara kontrol dan perlakuan. Pada kontrol, koloni tampak padat dan kompak yang menunjukkan koloni mencapai tingkat konfluensi. Sel berbentuk poligonal dan agak bulat, berukuran lebih kecil. Hal ini menunjukkan perkembangan dari koloni kondrosit, yaitu setelah sel satu sama lain saling bersinggungan, ukuran sel mengecil, kemudian mencapai tingkat konfluensi, membentuk pusat-pusat perkembangan sebagai agregasi sel (*nodule*). Pada pusat-pusat perkembangan ini sel-sel akan mulai berdeferensiasi dengan mensekresikan matriks ekstraseluler,



**Gambar 5.** Pengamatan mikroskopis kultur sel kondrosit pada hari ke. sembilan setelah perlakuan (Perbesaran 200×). A. Kontrol, B. Kondrosit + 10 µg/ml asam borat, C. Kondrosit + 20 µg/ml asam borat, D. Kondrosit + 40 µg/ml asam borat, E. Kondrosit + 60 µg/ml asam borat, F. Kondrosit + 80 µg/ml asam borat, G. Kondrosit + 100 µg/ml asam borat.



**Gambar 6.** Pengamatan mikroskopis kultur sel kondrosit pada hari kesembilan setelah perlakuan (Perbesaran 400×). A. Kontrol, B. Kondrosit + 10 µg/ml asam borat, C. Kondrosit + 20 µg/ml asam borat, D. Kondrosit + 40 µg/ml asam borat, E. Kondrosit + 60 µg/ml asam borat, F. Kondrosit + 80 µg/ml asam borat, G. Kondrosit + 100 µg/ml asam borat.

sehingga lama-kelamaan antara sel yang satu dengan sel yang lain tidak bersinggungan langsung, tetapi dibatasi oleh matriks ekstraseluler. Hasil pengamatan secara mikroskopis pada perlakuan dengan dosis 10 µg/ml koloni tampak padat

dan kompak hampir sama dengan koloni pada kontrol, tetapi ukuran selnya lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol. Sel berbentuk poligonal dan agak lonjong. Pada dosis 20 µg/ml dan 40 µg/ml koloni besar sudah terbentuk,



tetapi koloni kecil masih banyak dan saling berjauhan. Koloni belum mencapai tingkat konfluensi, masih banyak terdapat daerah-daerah kosong. Pada dosis 60  $\mu\text{g/ml}$  koloni besar belum terbentuk, masih berupa koloni kecil. Pada dosis yang lebih tinggi (80 dan 100  $\mu\text{g/ml}$ ) koloni tidak terbentuk. Antara sel yang satu dengan sel yang saling berjauhan, sehingga tidak saling komunikasi. Pengamatan dengan perbesaran 400 $\times$  menunjukkan adanya vakuola lemak pada kondrosit dengan perlakuan dosis tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa asam borat dapat menghambat pembentukan koloni, terutama pada dosis tinggi.

## PEMBAHASAN

Dari pengamatan secara mikroskopis mulai hari pertama sampai hari kesembilan dari perlakuan menunjukkan adanya perbedaan antara kontrol dan perlakuan, antara dosis rendah dengan dosis tinggi. Pada kontrol dan perlakuan dengan dosis rendah, populasi sel masih dapat membentuk koloni, sehingga antara sel yang satu dengan sel yang lain dapat saling berkomunikasi. Pada perlakuan dengan dosis tinggi, populasi sel tidak dapat membentuk koloni, sehingga antara sel yang satu dengan sel yang tidak dapat saling berkomunikasi. Hal ini berarti asam borat dapat menghambat pembentukan koloni, sehingga antara sel yang satu dengan sel yang lain tidak dapat saling komunikasi. Pada populasi sel yang tidak dapat membentuk koloni, tidak akan mengalami diferensiasi. Pada tulang menyebabkan sel-sel pembentuk tulang tidak mengalami kondensasi, sehingga kemungkinan menyebabkan tulang menjadi abnormal dalam pertumbuhannya.

Menurut Muller (1997), membran sel dari sel hewan dilengkapi dengan protein dan glikoprotein. Adesi sel antara sel yang satu dengan sel yang lain untuk membentuk koloni dapat terjadi dengan membentuk ikatan nonkovalen dengan molekul permukaan dari sel tetangganya. Molekul spesifik dari permukaan sel tersebut disebut sebagai “Molekul Adesi Sel” (*Cell Adhesion Molecule/CAM*). Menurut Karp (1999), molekul adesi sel pada kondrosit adalah dari golongan “*cadherin*”. Adesi sel dapat terjadi dengan cara antara *cadherin* dari satu sel dengan sel tetangganya pada sel yang sama akan saling berikatan secara lateral untuk membentuk dimer. Terputusnya ikatan ini dapat menyebabkan tidak terbentuknya adesi. Kemungkinan asam borat yang diperlakukan pada kultur kondrosit dengan dosis tinggi dapat menyebabkan terputusnya ikatan tersebut, sehingga antara sel yang satu dengan sel yang lain tidak dapat membentuk adesi sel. Jika adesi sel tidak terbentuk, maka koloni juga tidak dapat terbentuk.

Menurut Walum *et al.* (1990), suatu bahan kimia dapat bersifat toksik terhadap proliferasi sel dengan menghambat sintesis makromolekul (DNA, RNA, protein) atau menyebabkan pertumbuhan yang tidak seimbang dan memengaruhi rata-rata pertumbuhan populasi.

Ku dan Chapin (1992) melaporkan bahwa pada penelitian asam borat terhadap kultur sel sertoli dan sel calon spermatogonium menunjukkan penurunan sintesis DNA dan penurunan produksi energi pada pemberian asam borat dengan dosis tinggi, yang selanjutnya menginduksi sitotoksitas dan menyebabkan penghambatan pada proliferasi sel dan diduga menyebabkan terjadinya atrofi pada testis.

Terhambatnya atau menurunnya sintesis DNA dan produksi energi pada kultur sel sertoli dan sel calon spermatogonium yang diberi perlakuan asam borat, kemungkinan juga dapat terjadi pada kultur kondrosit yang diberi perlakuan asam borat sehingga menyebabkan terhambatnya proliferasi kondrosit. Penghambatan pada metabolisme makromolekul ini mungkin secara langsung dengan menghambat kerja enzim yang berperan pada sintesis makromolekul, atau secara tidak langsung dengan menghambat atau menurunkan produksi energi. Menurut Karp (1999), untuk dapat terjadinya sintesis DNA dibutuhkan enzim dan empat macam deoksiribonukleosida trifosfat/asam nukleat berenergi tinggi (dTTP, dATP, dCTP, dGTP). Penghambatan pada kerja enzim dan produksi energi maka akan dapat menghambat sintesis DNA. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa asam borat dapat menghambat adesi sel, sehingga menyebabkan koloni pada kultur kondrosit tidak terbentuk dan juga menghambat pelekatan sel pada dasar cawan, sehingga menyebabkan sel terlepas (sel tersuspensi). Hal ini kemungkinan dapat menyebabkan tidak akan terjadinya kondensasi, sehingga tulang menjadi abnormal.

## KEPUSTAKAAN

- Freshney RI, 1988. *Animal Cell Culture, A Practical Approach*. IRL Press, Oxford.
- Goldstein A, Ardnaw L, Kalman SM, 1974. *Principles of Drug Action, second edition*. A. Wiley Biomedical Publication, New York, 158–175.
- Karp G, 1999. *Cell And Molekular Biology*, Concepts and Experiments, 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Ku WW dan Chapin RE, 1992. *Mechanism of the Testicular Toxicity of Boric Acid in Rats: In vivo and In vitro Studies*. University of California.

- Kusmiyati, 1999. *Pengaruh Asam Borat Terhadap Perkembangan Embrio dan Ekstremitas Mencit (Mus musculus)*. Tesis, Fakultas Biologi UGM Yogyakarta.
- Muller WA, 1997 *Developmental Biology*. Springer-Verlag New York, Inc.
- Pangestiniingsih TW, 1994. *Pengaruh Dosis Sodium Borat pada Tikus (Rattus norvegicus albinus) Induk terhadap Fetus*. Tesis, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM Yogyakarta.
- Rinnie JS, Whitehed CC, Montanari A, 1990. *Effect of Dietary Borate an Aluminate on Riboflavin Metabolism in the Breeding Hen*. V. Res. In Vet. Science, 49.
- Smith EL, Hill RL, Lehman IR, Lefkowitz RJ, Handler P, White A, 1983. *Principles of Biochemistry, Mammalian Biochemistry*, 7<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Book Co, New York: 644.
- Smallwood C, 1998. *Boron, Environmental Health Criteria 204*. World Health Organozation, Geneva, 13, 21, 27, 49–50, 54–62, 77–94.
- Walum E, Stenberg K, Jensen D, 1990. *Understanding Cell Toxicology, Principles and Practice*. Ellis Horwood Limited, New York, 13–20, 64–70.
- Wijayanto H, 1993. *Gambaran Anatomi Fetus Tikus Akibat Pemberian Asam Borat Pada Induk*. Laporan Penelitian FKH, UGM.

Reviewer: **Prof. Dr. Mamed Sagi**