
PENGARUH AIR LINDI *SLUDGE* SAMPAH TPA SARIMUKTI TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO PRAIMPLANTASI MENCIT (*Mus musculus L.*) SW

TANTRY AGNHITYA SARI

tantry@pradipta.org

Program Studi Pendidikan Biologi
Fakultas Teknik, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indraprasta PGRI

Abstrak. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh air lindi *sludge* terhadap perkembangan embrio praimplantasi mencit (*Mus musculus L.*) SW. Mencit dengan umur kebuntingan 0 hari dikelompokkan menjadi mencit kelompok perlakuan air lindi *sludge* (17%, 29%, 50%), mencit kelompok kontrol negatif yang diberi akuabidestilata steril, dan mencit kelompok kontrol positif yang diberi akrilamida (50 mg/kg berat badan) secara *intraperitoneal* hingga umur kebuntingan 3 hari. Pada umur kebuntingan 3,5 hari, mencit ‘dikorbankan’ dan kemudian uterusnya diisolasi. Embrio dipanen kemudian diamati di bawah mikroskop. Persentase embrio abnormal pada kelompok air lindi *sludge* sampah konsentrasi 17%, 29% dan 50% cenderung meningkat tetapi tidak melebihi persentase embrio abnormal kelompok akrilamida. Pemberian air lindi *sludge* sampah dengan konsentrasi 17%, 29% dan 50% cenderung menurunkan embrio yang mengalami kelambatan perkembangan tetapi meningkatkan malformasi embrio. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa air lindi *sludge* TPA Sarimukti mengganggu perkembangan embrio praimplantasi mencit.

Kata Kunci : air lindi *sludge* sampah, embrio praimplantasi, TPA Sarimukti, mencit (*Mus musculus L.*) SW

Abstract. The aim of this research is to evaluation municipal sludge waste leachate from TPA Sarimukti to the preimplantation embryonic development. Female mice (8-10 week-old, 30-37 g) with vaginal plug detected was confirmed as day 0 of gestation, and then mice divided in three groups. Leachate-treated mice received three range of municipal sludge waste leachate concentrations (17%, 29%, 50%), negative control group mice received sterile distilled water, while positive control group mice received acrylamide (50 mg/kg bw). Municipal sludge waste leachate, sterile distilled water and acrylamide were given by intraperitoneal injection until 3 days of gestation. At 3.5 days of gestation, mice were sacrificed and their uterus were removed. The embryos were harvested and examined under a microscope. The percentage of abnormal embryos in the group of waste sludge leachate concentration of 17%, 29% and 50% tended to increase. The percentage of abnormal embryos waste sludge leachate group does not exceed the percentage of abnormal embryos acrylamide groups. Provision of waste sludge leachate with a concentration of 17%, 29% and 50% tended to increases the embryonic malformations. The results of this study indicated that municipal sludge waste leachate from TPA Sarimukti potentially interfere with mice preimplantation embryonic development.

Keywords : municipal sludge waste leachate, preimplantation embryo, mice (*Mus musculus L.*) SW, TPA Sarimukti

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk sekitar 238 juta jiwa yang memiliki kecenderungan untuk menghasilkan sisa buangan berupa sampah. Secara umum penanggulangan sampah di Indonesia dilakukan melalui 3 tahapan kegiatan, yakni pengumpulan, pengangkutan dan pembuangan akhir/ pengolahan (Nandi, 2005). Sistem pengelolaan sampah TPAs di Indonesia pada umumnya adalah *landfilling* atau *open dumping*. Salah satu TPAs di Indonesia adalah TPAs Sarimukti Cipatat Kabupaten Bandung. Pengelolaan sampah di TPAs Sarimukti adalah dengan sistem *non-sanitary landfill*. TPAs Sarimukti ini menampung sampah yang berasal dari 3 daerah yaitu Kota Bandung, Cimahi dan Kabupaten Bandung barat.

Selama proses pembuangan, sampah akan mengalami dekomposisi dan dapat menghasilkan limbah berupa *sludge*. *Sludge* ini dapat menghasilkan air lindi apabila bercampur dengan air hujan ataupun air yang berasal dari sampah itu sendiri. Pengelolaan sampah secara *non-sanitary* memungkinkan air lindi *sludge* mencemari lingkungan sekitar. Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa air lindi yang berasal dari TPAs Sarimukti mengandung berbagai macam komponen organik, komponen anorganik dan logam berat (Garnasih & Yusuf, 2009; Yusuf & Kurnia, 2010). Tanpa disadari individu dewasa, anak-anak dan ibu hamil dapat terpapar oleh air lindi *sludge* dan dapat memberikan efek toksik. Pada ibu hamil terdapat individu yang sedang berkembang di dalam rahim yang jika terpapar oleh suatu toksikan maka tidak menutup kemungkinan perkembangannya dapat terganggu (Nagao *et al.*, 2006). Suatu toksikan dengan dosis teratogenik sering tidak disadari bahayanya karena tidak memberikan efek toksik yang terlihat nyata pada ibu (*maternal toxicity*) tetapi toksikan dengan dosis teratogenik tersebut kemungkinan dapat memberikan efek toksik terhadap embrio yang sedang berkembang di dalam rahim (*embryotoxicity*).

Perkembangan embrio praimplantasi dapat terganggu oleh air lindi *sludge* sampah. Penelitian terdahulu memperlihatkan bahwa air lindi yang berasal dari TPAs sarimukti mengandung amonia, nitrat dan fenol serta kandungan logam berat dengan konsentrasi terbanyak yaitu timbal (Pb) dan tembaga (Cu) (Mujadid, 2011). Giavini *et al.* (1980) membuktikan bahwa kadmium (Cd), timbal (Pb) dan tembaga (Cu) yang disuntikkan pada tikus umur kebuntingan 2 hari secara intraperitoneal menyebabkan terjadinya penurunan jumlah blastomer pada embrio praimplantasi. Cu dapat meningkatkan kelainan blastokista secara morfologi dan embrio terdegradasi. Ketiga logam berat tersebut dapat memberikan efek toksik terhadap embrio praimplantasi tikus terutama Pb dan Cu.

Air Lindi *Sludge* Sampah

Pengelolaan sampah di TPA pada umumnya ada dua jenis yaitu *Open Dumping* (sampah yang dibuang dibiarkan begitu saja terpapar diatas tanah) dan *Landfilling* (sampah yang dibuang dikelilingi dan ditutup oleh material lain). Di Indonesia, kebanyakan TPA dibangun berdasarkan perpaduan antara kedua jenis pengelolaan sampah tersebut. Pada awalnya sampah dikelola secara *open dumping* untuk suatu periode waktu tertentu, baru kemudian dilanjutkan dengan *landfilling*. Terdapat juga yang terjadi sebaliknya, TPA yang pada awalnya direncanakan akan dioperasikan secara *landfilling*, namun karena adanya keterbatasan dari pengelola maka sampah tersebut hanya ditimbun begitu saja tanpa perlakuan sedikitpun. Keberadaan TPA yang tidak sesuai standar akan memberikan dampak yang berarti terhadap degradasi lingkungan sekitarnya. Materi pencemar yang biasanya terbentuk di lingkungan sekitar TPA yaitu *sludge*, air lindi, dan gas.

Sludge sampah merupakan hasil dari dekomposisi timbunan sampah. Air hujan yang bercampur dengan *sludge* dapat menghasilkan air lindi yang membawa materi tersuspensi dan terlarut yang merupakan produk dari degradasi sampah. Komposisi *sludge* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis sampah, jumlah curah hujan di daerah TPA, iklim, sistem pengoprasian *landfill*, kondisi hydrogeological *landfill* (aktivitas biokimia, kelembapan, suhu, pH dan umur *landfill*) (Johansen & Carlson, 1976). *Sludge* sampah pada umumnya mengandung senyawa-senyawa organik, anorganik (magnesium, klor, sulfat, fosfat) dan logam berat (Zn, Cr, Pb, Cd) (Isidori *et al.*, 2003; Slomczynska & Slomczynski, 2004). TPA yang belum lama beroperasi (<5 tahun) biasanya menghasilkan air lindi dengan kandungan komponen organik dan rasio BOD/COD yang tinggi. Kandungan pH sekitar 3,7-6,5, yang memperlihatkan kehadiran *carboxylic acid* dan ion-ion bikarbonat dalam air lindi. Semakin lama, proses penguraian komponen organik secara biologis menurun sehingga TPA yang sudah lama beroperasi (5-10 tahun) biasanya mengasilkan lindi dengan kandungan komponen organik dan konsentrasi asam sulfat yang rendah serta rasio BOD/COD yang kecil (Ehrig, 1983).

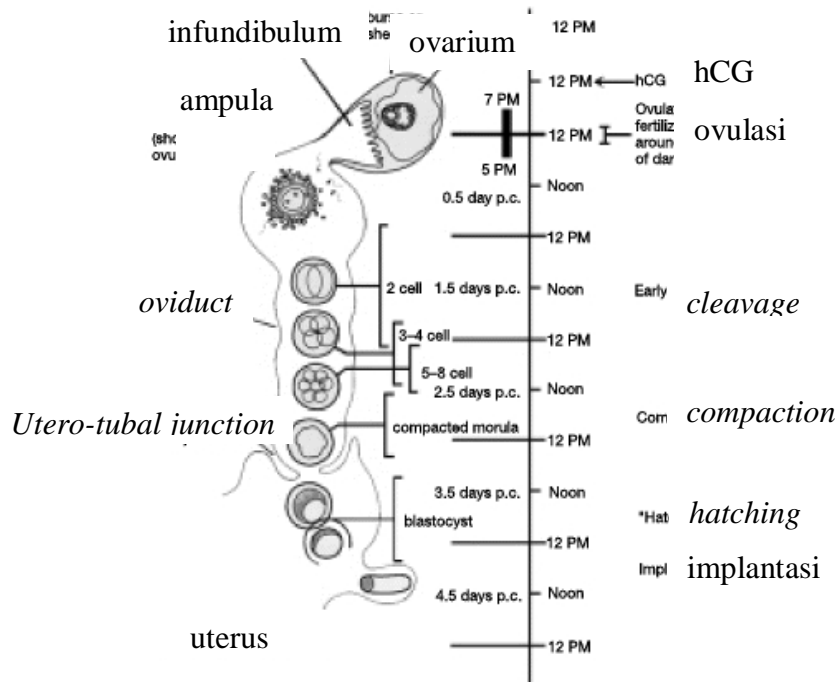
Toksisitas Air Lindi *Sludge* Sampah

Penelitian mengenai toksisitas air lindi sampah telah banyak dilakukan sebelumnya. Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa air lindi sampah dapat memberikan efek yang berbahaya bagi makhluk hidup. Alimba *et al.* (2009) memperlihatkan bahwa air lindi *sludge* sampah konsentrasi 1-25% yang diberikan pada tikus secara intraperitoneal (*single dose*) selama 48 jam dapat menyebabkan menurunnya jumlah leukosit.

Alimba *et al.* (2006) juga memperlihatkan bahwa air lindi konsentrasi 1-25 % yang disuntikan pada tikus selama dua hari berturut-turut secara intraperitoneal dapat menginduksi aberasi kromosom pada sel-sel sumsum tulang. Penelitian lainnya memperlihatkan bahwa air lindi konsentrasi 5, 10, 20, 40 dan 100 mg/L yang diberikan pada mencit jantan dan mencit betina melalui air minum selama 7 hari dapat menginduksi mikronukleus pada sel-sel sumsum tulang mencit (Li *et al.*, 2004). Li *et al.* (2004) juga memperlihatkan bahwa mencit betina lebih sensitif terhadap kemunculan mikronukleus yang diakibatkan oleh air lindi dengan konsentrasi yang tinggi.

Teratologi Praimplantasi

Praimplantasi merupakan tahap awal perkembangan embrio mulai dari fertilisasi hingga implantasi pada dinding uterus. Tahap praimplantasi dimulai saat fertilisasi yang akan membentuk zigot kemudian *cleavage* (2-8 sel), morula tidak mampat, morula mampat, blastokista, *hatched* blastokista hingga siap untuk implantasi (Gambar 1) (Nagy *et al.*, 2003).



Gambar 1. Perkembangan embrio praimplantasi mencit (Nagy *et al.*, 2003)

Air lindi *sludge* mengandung berbagaimacam senyawa-senyawa yang dapat bereaksi secara sinergis atau antagonis dalam meningkatkan efek yang berbahaya pada makhluk hidup (Bakare, 2005). Air lindi yang berasal dari TPA sarimukti mengandung amonia, nitrat dan fenol serta kandungan logam berat berupa timbal (Pb) dan tembaga (Cu) (Mujadid, 2011). Beberapa senyawa yang dikandung dalam air lindi diketahui bersifat teratogen yaitu senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan secara struktural terhadap individu yang berkembang. Senyawa-senyawa air lindi tersebut dapat masuk ke lingkungan uterus melalui pembuluh darah dan dapat memberikan efek secara langsung pada individu yang sedang berkembang. Paparan senyawa-senyawa kimia pada individu yang sedang berkembang dapat mengakibatkan berbagai macam gangguan, tergantung pada tahap perkembangan saat individu tersebut terpapar (Rutledge, 1997; Wilson, 1973).

Gangguan toksikan yang terjadi pada embrio praimplantasi dapat menyebabkan gangguan perkembangan dan bahkan kematian embrio. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuktikan gangguan-gangguan yang terjadi apabila suatu toksikan terpapar pada awal perkembangan embrio. Amstislavksy *et al.* (2003) memperlihatkan bahwa perkembangan embrio praimplantasi terhambat karena terpapar oleh methoxychlor yang banyak digunakan sebagai pestisida. Methoxychlor dengan dosis 16,5 mg/kg bb diberikan pada induk mencit secara subkutan pada umur kebuntingan 1-3 hari dan kemudian dilakukan pengamatan terhadap embrionya pada umur kebuntingan 3 hari. Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa perkembangan embrio praimplantasi menuju tahap blastokista menjadi terhambat, terjadi penurunan jumlah sel-sel penyusun embrio dan terbentuk blastokista abnormal.

Mencit umur kebuntingan 2 hari yang terpapar chlorpromazine dapat mengalami penurunan jumlah morula mampat, pembentukan blastokista, indeks mitosis dan jumlah sel penyusun embrio (Kola & Folb, 1986). Penurunan jumlah morula mampat dapat diakibatkan oleh gangguan dalam proses *compaction*. Proses *compaction* dimulai pada

tahap 8 sel pada mencit. Kalsium ekstraselular sangat penting untuk keberlangsungan proses *compaction*. Banyak faktor yang mempengaruhi proses pembentukan blastokista diantaranya adalah pembelahan nukleus, replikasi DNA atau kromosom yang telah terjadi sejak fertilisasi. Gangguan terhadap aktivitas Na/K-ATPase juga dapat mempengaruhi produksi cairan blastosol juga proses *cavitation* dalam pembentukan blastokista (Kola & Folb, 1986; Gilbert, 2003).

Penelitian terhadap toksikan yang dipaparkan pada hewan bunting sebelum implantasi ternyata memperlihatkan dapat menyebabkan terjadinya malformasi jika embrio tersebut terus berkembang. Mitomycin C dengan dosis 1-5 mg/kg bb (*single dose*) yang disuntikkan secara intraperitoneal pada mencit umur kebuntingan 0, 1, 2 dan 3 hari. Pada umur kebuntingan 18 hari, fetus diisolasi yang kemudian diamati di bawah mikroskop. Hasilnya memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan jumlah kematian awal, kelambatan perkembangan dan malformasi (Nagao, 1986). Acrilamida dosis 125 mg/kg bb (*single dose*) yang diberikan pada mencit umur kebuntingan 0, 1, 2 dan 3 hari kemudian fetus diisolasi pada umur kebuntingan 18 hari dapat menyebabkan menurunnya jumlah implantasi, meningkatnya kematian awal, dan malformasi (Nagao, 1994). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nagao (1994) diketahui bahwa umur kebuntingan 0 hari lebih rentan terhadap paparan akrilamida, hal ini dibuktikan dengan banyaknya malformasi yang terjadi pada fetus, dibandingkan dengan jika paparan akrilamida terjadi pada umur kebuntingan 1, 2 atau 3 hari.

METODE

Toksisitas Air Lindi *Sludge* terhadap Perkembangan Embrio Praimplantasi Mencit (*Mus musculus* L.) SW

Uji toksisitas air lindi *sludge* terhadap perkembangan embrio praimplantasi mencit terbagi menjadi 4 tahap, yaitu induksi superovulasi pada mencit, perlakuan pada mencit superovulasi, koleksi embrio praimplantasi dan analisis data.

Superovulasi Mencit

Seluruh mencit betina yang digunakan dalam penelitian diinduksi superovulasi terlebih dahulu. Kisaran berat badan mencit betina yang digunakan adalah 29-35 g dengan umur 8-10 minggu. Mencit betina diberi 5 IU PMSG (*pregnant mare serum gonadotropin*)/ekor secara intraperitoneal, diikuti dengan menyuntikkan 5 IU hCG (*human chorionic gonadotropin*)/ekor 48 jam kemudian untuk menginduksi superovulasi (Nagy *et al.*, 2003).

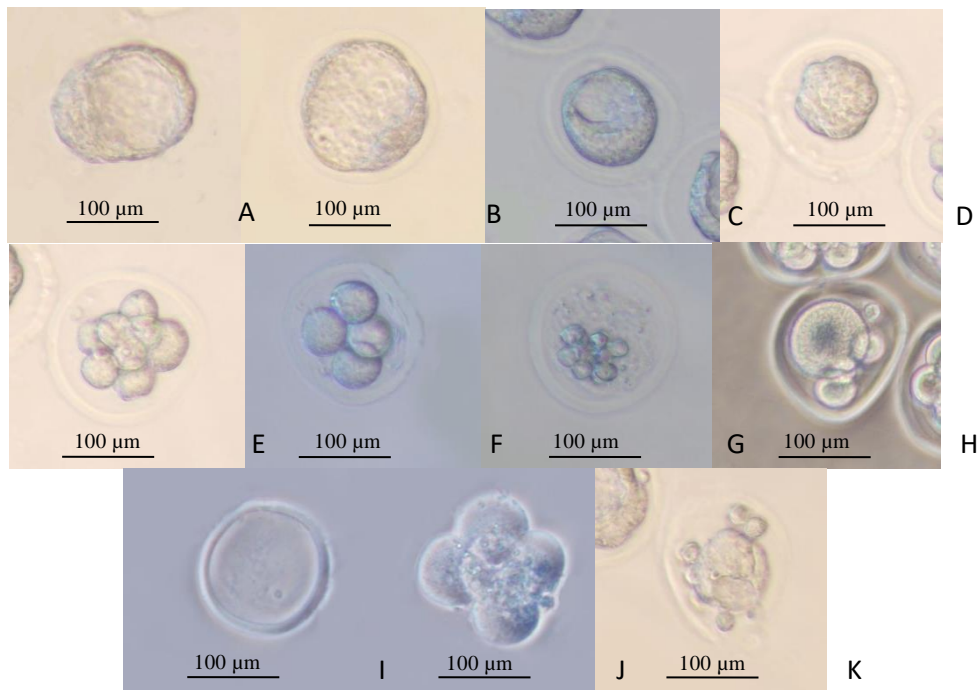
Perlakuan pada Induk Mencit yang sudah Disuperovulasi

Mencit betina yang sudah disuperovulasi dikawinkan dengan mencit jantan (umur 8-10 minggu) selama satu malam. Pagi harinya dilakukan pemeriksaan sumbat vagina, apabila pada mencit betina terdapat sumbat vagina maka mencit betina dinyatakan bunting 0 hari. Mencit bunting 0 hari dikelompokkan menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok perlakuan air lindi *sludge*, kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif. Mencit kelompok perlakuan air lindi *sludge* diberi 3 konsentrasi air lindi *sludge* (17%, 29%, 50%), mencit kelompok kontrol negatif diberi aquabidestilata steril, sedangkan mencit kelompok kontrol positif diberi akrilamida (50 mg/kg bb). Air lindi *sludge*, aquabidestilata steril dan akrilamida diberikan secara intraperitoneal dengan volume pemberian sebanyak 0,1 mL/10 g bb sampai umur kebuntingan 3 hari (tahap blastokista) (Nagy *et al.*, 2003).

Koleksi Embrio Pramplantasi

Pada umur kebuntingan 3,5 hari (tahap blastokista) (Nagy *et al*, 2003), induk mencit kelompok perlakuan air lindi dan kelompok kontrol ‘dikorbkan’ dengan cara dislokasi leher dan kemudian dibedah. Uterus diisolasi dan disimpan dalam cawan petri yang berisi larutan Phosphate Buffer Saline (PBS). Embrio dipanen dari uterus dengan cara membilas uterus (*flushing*) menggunakan larutan PBS dengan bantuan *syringe* 1mL dan jarum 26-G. Embrio yang diperoleh kemudian diamati dibawah mikroskop *inverted* kemudian dipindahkan ke dalam larutan PBS bersih dengan menggunakan pipet hisap.

Perhitungan dan pengamatan meliputi persentase embrio normal dan persentase embrio abnormal. Persentase embrio normal mempresentasikan peluang perkembangan embrio praimplantasi secara normal (% *hatched* blastokista, % blastokista akhir). Persentase embrio abnormal terdiri dari embrio yang mengalami kelambatan perkembangan dan embrio yang mengalami malformasi. Embrio yang mengalami kelambatan perkembangan mempresentasikan peluang kemungkinan mengalami malformasi saat dilahirkan (% blastokista awal, % morula mampat, % morula tidak mampat dan % 2-8 sel) dan embrio yang mengalami malformasi mempresentasikan peluang terjadinya kegagalan implantasi (% embrio terdegenerasi dan % abnormal *degenerating* blastokista). Embrio dengan blastomer yang terfragmentasi, embrio dengan blastomer yang tidak sama besar, zona pelusida saja dan embrio tanpa zona pelusida dikelompokkan sebagai embrio terdegenerasi. (Gambar 2).



Gambar 2. Perkembangan embrio praimplantasi. A. *hatched* blastokista; B. blastokista akhir; C. blastokista awal; D. morula mampat; E. morula tidak mampat; F. *cleavage* (2-8 sel); G. embrio terdegenerasi; H. embrio dengan blastomer yang tidak sama besar; I. zona plusida tanpa embrio; J. embrio tanpa zona pelusida; K. blastokista terdegenerasi. Sumber: Koleksi Pribadi

Analisis Data

Data perkembangan embrio praimplantasi yang di peroleh berupa persentase embrio abnormal, persentase embrio yang mengalami kelambatan dan persentase embrio normal. Data dianalisis untuk melihat distribusi data, variansi homogenitas dan signifikansi pada selang kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Data diasumsikan berdistribusi normal jika variansinya homogen dan grafik berbentuk lonceng. Data yang berjumlah banyak (≥ 30) dapat juga diasumsikan berdistribusi normal (Walpole & Myers, 1995).

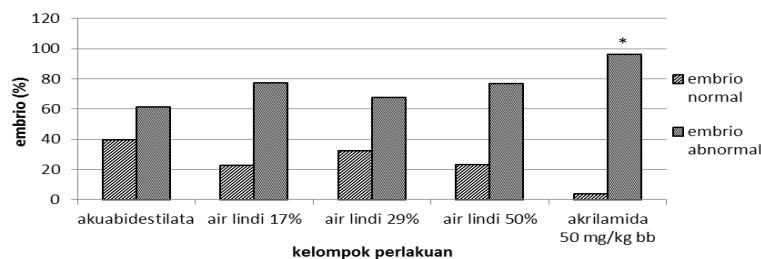
Data yang berdistribusi normal dianalisis dengan menggunakan statistik parametrik sedangkan data yang berdistribusi tidak normal dianalisis dengan menggunakan statistik non-parametrik. Data pada penelitian ini berdistribusi normal sehingga analisis statistik yang digunakan adalah statistik parametrik. Analisis statistik parametrik menggunakan ANOVA untuk melihat adanya perbedaan pada setiap kelompok perlakuan. Uji lanjutan dilakukan dengan menggunakan *Tukey's test* untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 3 memperlihatkan jumlah embrio normal dan embrio abnormal setelah pemberian air lindi *sludge* pada mencit umur kebuntingan 0-3 hari. Embrio normal adalah embrio yang telah mencapai tahap blastokista akhir dan *hatched* blastokista sedangkan embrio abnormal adalah embrio yang mengalami kelambatan perkembangan dan malformasi. Gambar 3 memperlihatkan terdapatnya peningkatan kemunculan embrio abnormal pada kelompok air lindi *sludge*.

Berdasarkan hasil uji statistik diketahui persentase embrio abnormal pada kelompok air lindi *sludge* tidak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok akuabidestilata. Gambar 3 memperlihatkan bahwa persentase embrio abnormal yang disebabkan oleh air lindi *sludge* sampah konsentrasi 17%, 29% dan 50% cenderung meningkat. Air lindi 17% dan 50% lebih banyak menyebabkan embrio abnormal dibandingkan dengan air lindi 29%. Air lindi 17% dan 50% menyebabkan terjadinya embrio abnormal sebanyak 77,44% dan 77,02% sedangkan air lindi 29% menyebabkan embrio abnormal sebanyak 67,57%. Persentase embrio abnormal yang disebabkan oleh air lindi *sludge* tidak lebih banyak dari persentase embrio abnormal yang disebabkan oleh akrilamida. Persentase embrio abnormal pada kelompok akrilamida berbeda nyata secara signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok air lindi *sludge* konsentrasi 0%.

Embrio abnormal yang mengalami kelambatan banyak terjadi di kelompok air lindi *sludge* konsentrasi 17% dengan persentase kemunculan sebesar 34,01% (Tabel 1). Air lindi *sludge* konsentrasi 29% menyebabkan terjadinya embrio yang mengalami kelambatan perkembangan paling sedikit yaitu sebesar 20,44%.



Gambar 3. Embrio normal dan embrio abnormal mencit setelah diberi perlakuan dari umur kebuntingan 0 - 3 hari secara *intrapertoneal*. Embrio dikoleksi pada umur kebuntingan 3,5 hari. (* berbeda signifikan dibandingkan kontrol menggunakan ANAVA ($p < 0,05$))

Namun, air lindi 29% dapat menyebabkan malformasi paling banyak diantara kelompok air lindi *sludge* yaitu sebesar 47,13%. Persentase kemunculan malformasi embrio yang disebabkan oleh air lindi *sludge* konsentrasi 29% tidak melebihi kemunculan malformasi embrio yang disebabkan oleh akrilamida.

Pada hasil pengamatan (tabel 1) terlihat bahwa embrio abnormal yang mengalami kelambatan perkembangan cenderung menurun pada kelompok air lindi *sludge* sedangkan embrio abnormal yang mengalami malformasi cenderung meningkat pada kelompok air lindi *sludge*. Secara statistik, embrio yang mengalami kelambatan perkembangan dan malformasi pada kelompok air lindi *sludge* tidak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok akuabidestilata.

Tabel 1. Embrio abnormal pada mencit (*Mus musculus* L.) SW setelah diberi perlakuan dari umur kebuntingan 0-3 hari secara *intrapertoneal*. Embrio dikoleksi pada umur kebuntingan 3,5 hari.

Kelompok	Jumlah embrio (□)	Embrio yang mengalami kelambatan perkembangan (□ ± SE)	Embrio yang mengalami malformasi (□ ± SE)
Akuabidestilata	220 (27,5)	33,64 ± 7,15	27,78 ± 4,95
Air lindi 17%	146 (29,2)	34,01 ± 7,01	43,43 ± 10,74
Air lindi 29%	111 (22,2)	20,44 ± 3,14	47,13 ± 13,05
Air lindi 50%	141 (28,2)	30,05 ± 6,11	46,97 ± 4,14
Akrilamida 50 mg/kg bb	198 (39,6)	28,90 ± 9,06	67,26 ± 6,68

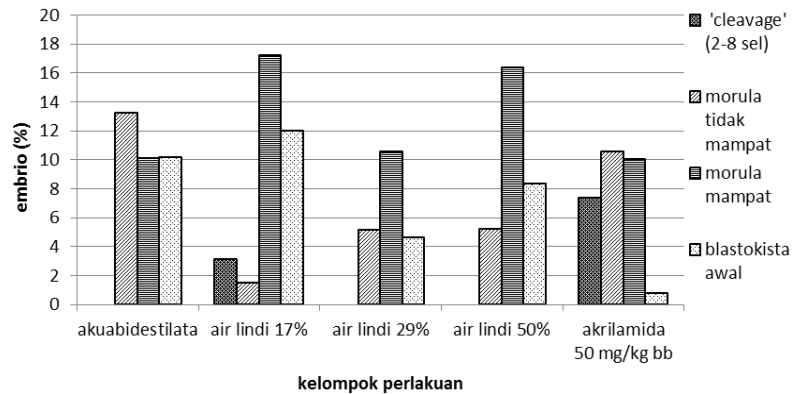
Embrio yang Mengalami Kelambatan Perkembangan

Embrio praimplantasi yang mengalami kelambatan yang ditemukan pada penelitian ini adalah embrio yang berada di tahap *cleavage* (2-8 sel), morula tidak mampat, morula mampat dan blastokista awal. Pada Gambar 4 terlihat bahwa air lindi *sludge* meningkatkan jumlah embrio praimplantasi yang mengalami kelambatan di tahap morula mampat. Air lindi *sludge* menyebabkan hambatan perkembangan embrio pada tahap morula mampat, sehingga embrio yang mencapai blastokista awal cenderung menurun. Pada kelompok akrilamida, hambatan perkembangan lebih banyak terjadi pada tahap morula tidak mampat.

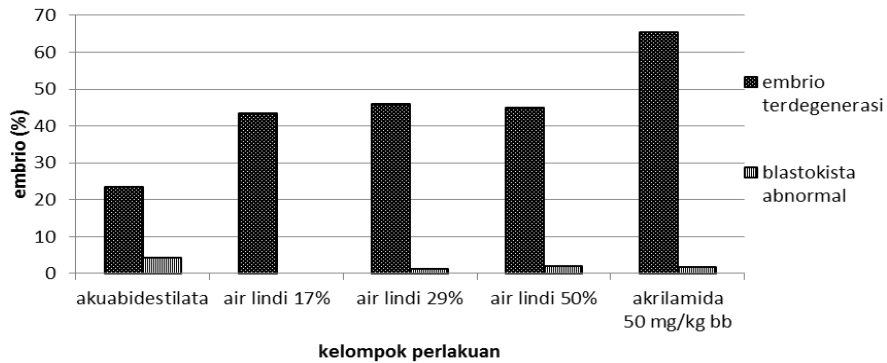
Embrio yang Mengalami Malformasi

Embrio yang mengalami malformasi yang ditemukan dalam penelitian ini antara lain adalah embrio yang terdegenerasi (termasuk embrio tanpa zona pelucida, embrio dengan blastomer yang tidak sama besar, embrio dengan blastomer yang terfragmentasi, blastokista yang menetas terlalu dini) dan blastokista abnormal yang terdegenerasi. Pada Gambar 5 terlihat bahwa embrio terdegenerasi cenderung meningkat pada kelompok air lindi *sludge*. Embrio terdegenerasi paling banyak ditemukan pada kelompok air lindi *sludge* konsentrasi 29% yaitu sebanyak 45,88%. Persentase embrio terdegenerasi yang disebabkan oleh air lindi *sludge* tidak melebihi persentase embrio terdegenerasi yang disebabkan oleh akrilamida. Akrilamida dapat menyebabkan terjadinya embrio

terdegenerasi sebanyak 65,44%. Selain embrio yang terdegenerasi, ditemukan juga blastokista abnormal terdegenerasi. Blastokista abnormal terdegenerasi yang ditemukan adalah blastokista yang terdegenerasi dan blastokista dengan akumulasi cairan yang abnormal. Blastokista abnormal terdegenerasi yang ditemukan jumlahnya tidak sebanyak embrio yang terdegenerasi.



Gambar 4. Kelambatan perkembangan embrio praimplantasi setelah pendedahan air lindi *sludge* dari umur kebuntingan 0-3 hari secara *intraperitoneal*. Embrio dikoleksi pada umur kebuntingan 3,5 hari.



Gambar 5. Malformasi embrio setelah pendedahan air lindi *sludge* dari umur kebuntingan 0-3 hari secara *intraperitoneal*. Embrio dikoleksi pada umur kebuntingan 3,5 hari

Berdasarkan hasil pengamatan, pada penelitian ini tampak bahwa air lindi *sludge* dapat menyebabkan kelainan berupa malformasi pada embrio praimplantasi mencit. Tipe malformasi yang banyak ditemukan akibat air lindi *sludge* yaitu embrio terdegenerasi.

Gangguan perkembangan embrio praimplantasi yang terjadi, baik yang mengalami kelambatan perkembangan maupun yang mengalami malformasi diakibatkan oleh pemberian air lindi *sludge* sampah dari TPA Sarimukti. Air lindi yang diberikan secara *intraperitoneal* pada umur kebuntingan 0 hari hingga umur kebuntingan 3 hari dapat tersebar ke seluruh bagian tubuh induk melalui pembuluh darah dan dapat sampai di saluran reproduksi sehingga dapat mengganggu secara langsung perkembangan embrio yang ada di dalamnya. Hasil pemeriksaan kandungan air lindi menurut Mujadid (2011) bahwa komponen-komponen yang terkandung dalam air lindi yang berasal dari TPA Sarimukti yaitu amonia, nitrat dan fenol serta kandungan logam berat berupa timbal (Pb)

dan Tembaga (Cu). Logam berat diketahui bersifat mutagenik, klastogenik dan menyebabkan efek teratogenik dan karsinogenik (Tewari, 2006). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa air lindi TPAs Sarimukti bersifat genotoksik (Garnasih & Yusuf, 2009; Yusuf & Kurnia, 2010). Berdasarkan hal tersebut, air lindi dapat mempengaruhi proses sintesis DNA yang sangat penting untuk terjadinya mitosis. Gangguan sintesis DNA dapat mempengaruhi siklus sel sehingga dapat menyebabkan terjadinya embrio yang abnormal (Warren, 1990).

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam air lindi *sludge* dapat bereaksi secara sinergis atau antagonis dalam mempengaruhi perkembangan embrio praimplantasi. Giavini (1980) memperlihatkan bahwa logam berat seperti kadmium (Cd), Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu) dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah blastomer. Kelainan blastokista secara morfologi dan embrio terdegradasi lebih banyak disebabkan oleh tembaga (Cu).

Pada saat embrio masih berada di tahap *cleavage* dan morula, antar blastomernya masih terjadi *gap junction* sehingga dapat terjadi pertukaran zat-zat dan molekul-molekul yang diperlukan untuk pengaturan pembelahan sel (Chambell *et al.*, 2006; Browder *et al.*, 1991). Berdasarkan hal tersebut, senyawa yang terkandung dalam air lindi juga dapat masuk ke dalam embrio dan mengganggu perkembangan embrio praimplantasi. Diketahui logam berat dapat berikatan dengan protein membran dan dapat merusak fungsi protein (Hanna *et al.*, 1997). Kalsium ekstraseluler diperlukan untuk proses *compaction* dan kalsium intraseluler yang di modulasi oleh *calmodulin* berhubungan dengan induksi proses *compaction* (Pakrasi & Dey, 1984). *Calmodulin* dapat berikatan dengan logam berat seperti Pb^+ sehingga proses *compaction* dapat terganggu dan dapat terlihat dengan terjadinya penurunan jumlah embrio yang mencapai tahap blastokista.

Senyawa-senyawa air lindi *sludge* yang masuk ke dalam blastomer-blastomer juga tidak menutup kemungkinan mengganggu aktivitas Na-K ATPase. Na-K ATPase berperan dalam memompa ion-ion sodium ke dalam pusat rongga. Sejalan dengan peningkatan ion-ion sodium maka terjadilah penarikan air secara osmosis dan menyebabkan blastosol semakin membesar (Browder *et al.*, 1991). Pada saat senyawa-senyawa yang dikandung oleh air lindi *sludge* mengganggu aktifitas Na-K ATPase, maka dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan blastokista karena proses osmosis untuk membentuk blastocoel terhambat (Kola & folb, 1986).

PENUTUP

Simpulan

Air lindi *sludge* sampah TPA Sarimukti dapat menyebabkan peningkatan embrio abnormal dalam perkembangan embrio praimplantasi pada mencit (*Mus musculus* L.) SW. Embrio abnormal yang terjadi adalah kelambatan perkembangan dan malformasi pada embrio praimplantasi. Air lindi *sludge* sampah menyebabkan menurunnya jumlah embrio yang mengalami kelambatan perkembangan sedangkan jumlah embrio yang mengalami malformasi meningkat. Tipe malformasi yang paling banyak terjadi akibat pemberian air lindi *sludge* sampah adalah embrio terdegenerasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alimba, C.G., Bakare, A.A. & C.A. Latunji. (2006). **Municipal Landfill Leachates Induced Chromosome Aberrations in Rat Bone Marrow Cells.** *African Journal of Biotechnology*, 5(22):2053-2057
- Alimba, C.G., Bakare, A.A. & O.G. Arinola. (2009). **Effects of Municipal Solid Waste Leachate on Leucocyte and Differential Counts in Rats.** *Global Journal of Environmental Research*, 3(3):135-140

- Amstislavksy, S.Y., Kizilova, E.A. & V.P. Eroschenko. (2003). **Preimplantation Mouse Embryo Development as A Target of The Pesticide Methoxychlor.** *Reproductive Toxicology*, 17: 79-86
- Bakare, A.A., Mosuro, A.A. & asibanjo, O. (2005). **An In Vivo Evaluation of induction of Abnormal Sperm Morphology in Mice by Landfill Leachates.** *Mutation Research*, 582: 28-34
- Carlson, B.M. (1996). *Patten's Foundations of Embryology*. 6th Ed. McGraw Hill Inc. USA. p. 151-188
- Ehrig, H.J. (1983). **Quality and Quantity of Sanitary Landfill Leachate.** *Waste Manag Res.* 1(1):53-68
- Garnasih, I. & A.T. Yusuf. (2009). **Study Pendahuluan Potensi Tosisitas dan Genotosisitas Air Lindi Sampah dari TPA Sarimukti-Kabupaten Bandung Pada Tikus.** Presentasi oral pada seminar nasional biologi XX dan kongres PBI XIV, Juli 2009 di Malang
- Giavini, E., Prati, M. & C. Vismara. (1980). **Effects of Cadmium, Lead and Cooper on Rat Preimplantation Embryos.** *Bull Environm Contam.* 25: 702-705
- Gilbert, S.F. (2003). *Developmental Biology*. 7th Ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland. Massachusetts. p. 363-372
- Holland, N., Ahlborn, T., Turteltaub, K., Markee, C., Moore, D., Wyrobek, A.J. & M.T. Smith. (1999). **Acrylamide Causes Preimplantation Abnormalities in Embryos and Induces Chromatin-Adducts in Male Germ Cells of Mice.** *Reproductive Toxicology*, 13(3):167-178
- Hanna, L.A., Petersb, J.M., Wileyb, L.M., Clegg, M.S., C.L. Keen. (1997). **Comparative Effects of Essential and Nonessential Metals on Preimplantation Mouse Embryo Development in Vitro.** *Toxicology*, 116:123-131
- Hood, R.D. (1997). *Handbook of Developmental Toxicology*. CRC Press
- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A. & A. Parrella. (2003). **Toxicity Identification Evaluation of Leachates from Municipal Solid Waste Landfills: A Multispecies Approach.** *Chemosphere*, 52:85-94
- Johansen, O.J. & Carlson, D.A. (1976). **Characterization of Sanitary Landfill Leachates.** *Water Research*, 10(12):1129-1134
- Kola, I. & P.I. Folb. (1986). **Chlorpromazine Inhibits The Mitotic Index, Cell Number, and Formation of Mouse Blastocysts, and Delays Implantation of CBA Mouse Embryos.** *Reprod Fert*, 76: 527-536
- Li, G., Sang, N. & Zhao, Y. (2004). **Mikronuclei Induced by Municipal Landfill leachate in Mouse Bone Marrow Cells In Vivo.** *Environmental Research*, 95 : 77-81
- Mills, J.S. & J.D. Johnson. (1985). **Metal Ions as Allosteric Regulators of Calmodulin.** *Biological Chemistry*, 260(28): 15100-15105
- Moore, K.L. (1989). *Before We Are Born: Basic Embryology and Birth Defects*. 3th Ed. W.B. Saunders Company. p. 25-42
- Mujadid, F. (2011). **Evaluasi Kerusakan DNA pada Sel Darah Perifer dan Sel Sumsum Tulang Tikus (*Rattus norvegicus L.*) yang Diinduksi oleh Air Lindi dari TPA Sarimukti dengan Menggunakan Tes Komet Versi Alkali.** Skripsi (S1) Sarjana Biologi Institut Teknologi Bandung
- Nagao, T. (1994). **Developmental Abnormalities Due to Exposure of Mouse Paternal Germ Cells, Preimplantation Embryos, and Organogenic Embryos to Acrylamide.** *Cong. Anom.* 34: 35-46

- Nagao, T., Ishizuka, Y. & M. Mizutani. (1986). **Effects of Mitomycin C Treatment Before Implantation on Development of Mouse Embryo.** *Cong anom.* 26: 93-101
- Nagao, T., Shirota, M. & M. Sato. (2006). **Treatment of Mouse Preimplantation Embryos with Adriamycin, Methyl Methanesulfonate and Congenital Defects.** *Congenital Anomalies*, 37(1):21-29
- Nagy, A., Gertsensyein, M., Vintersten, K. & R. Behringer. (2003). *Manipulating The Mouse Embryo.* 3th Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. p.31-72
- Nandi. (2005). **Kajian Keberadaan Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Leuwigajah Dalam Konteks Tata-Ruang.** *GEA Jurusan Pendidikan Geografi*, 5(9)
- Pakrasi, P.L. & S.K. Dey. (1984). **Role of Calmodulin in Blastocyst Formation in The Mouse.** *Reprod. Fert.* 71: 513-517
- Pey, R., Vial, C., Schattens, G. & M. Hafner. (1998). **Increase of Intracellular Ca⁺ and Relocation of E-cadherin During Experimental Decompaction of Mouse Embryo.** *Cell Biology*, 95:12977-12982
- Rutledge, J.C. (1997). **Developmental Toxicity Induced During Early Stages of Mammalian Embryogenesis.** *Mutat Res.* 396:113-127
- Slomczynska, B. & T. Slomczynski. (2004). **Physico-Chemical and Toxicological Characteristics of Leachates from MSW Landfills.** *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(6):627-637