

**PENGARUH HIPERVITAMINOSIS A PADA PERTUMBUHAN TULANG
FEMUR ANAK MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

Riami
Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran
Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Vitamin A is important for ocular health, growth, reproduction, and immune system. However, if the concentration is excessive, it may induce negative effects, such as the inhibition of bone growth and increasing the risk of fracture, which results from the inhibition of chondrocyte proliferation and reduced RNA and protein synthesis. Retinoic acid, one of vitamin A metabolites, is not stored in the body although it is less toxic than retinol and retinal. However, it is not without serious effects on bone if it is consumed excessively in a longer period. Retinoic acid inhibits bone growth by three mechanisms. First, it restrains chondrocyte proliferation and chondrocyte hipertrophy, and, finally, it inhibits bone matrix synthesis. The objective of this study was to prove that hypervitaminosis A resulted in femoral growth disorder. This study observed femoral length and chondrocyte counts in proliferation zone and hipertrophy/maturation zone.

*This study used posttest only control group design involving 40 male mice (*Mus musculus* BALB/C strain), aged 3-4 weeks. Excessive vitamin A was given per oral in emulsion with the doses of (1) 1/8LD50 (160.62 iu)/grBW/day, (2) 1/6LD50 (214.16 iu)/grBW/day, and (3) 1/4LD50 (321.25 iu)/grBW/day, for 9 days. Two days after the final administration, the animals were sacrificed to remove femoral bones. The length of the bones was measured, and histological preparations were made using HE staining. Data on femoral length and chondrocyte count in proliferation and hipertrophy/maturation zones were analyzed using Anova with confidence level of 95%, followed with Least Significant Difference (LSD) test.*

Results of observation and data processing using quantitative analysis revealed that the administration of vitamin A in excessive dose of 1/8 LD50, 1/6 LD50, 1/4 and LD50 in young male mice for 9 consecutive days resulted in inhibited increase of femoral length and reduction of chondrocyte count in proliferation as well as hipertrophy/maturation zones.

Keywords: hypervitaminosis A, bone length, chondrocyte cells

PENDAHULUAN

Berbagai fungsi vitamin A sudah dipelajari secara intensif selama bertahun-tahun yang lalu, sejalan dengan penelitian tentang dampak dari kekurangan (defisiensi) dan kelebihannya (hipervitaminosis) pada manusia. Hingga saat ini, setidaknya diketahui ada 4 fungsi utama vitamin A yaitu (1) terkait dengan fungsi penglihatan (visual), (2) diferensiasi sel-sel epitel, (3) pertumbuhan dan (4) reproduksi (Linder, 1992).

Pada umumnya masyarakat awam lebih memahami dampak dari kekurangan konsumsi berbagai jenis vitamin, dan sebaliknya pengetahuan akan akibat kelebihannya sangat rendah, meskipun secara medik dampaknya juga sangat berbahaya. Pemberian megadosis vitamin-vitamin yang larut dalam air pada umumnya tidak membawa akibat yang buruk oleh sebab kelebihannya akan diekskresikan oleh ginjal, tetapi lain halnya dengan kelompok vitamin yang larut dalam lemak seperti vitamin A, D, E dan K. Kelebihan vitamin-vitamin ini ditimbun dalam jaringan hingga dapat meracuni tubuh (Solihin, 2000). Pemberian vitamin A yang berlebihan akan merupakan racun bagi tubuh. Keadaan demikian disebut hipervitaminosis A atau *vitamin A toxicity* (Solihin, 2000).

Disatu sisi vitamin A sangat penting bagi kesehatan mata, pertumbuhan, reproduksi, maupun sistem kekebalan tubuh, namun bila kadarnya berlebihan justru akan berdampak negatif antara lain dapat menghambat pertumbuhan tulang dan meningkatkan resiko patah tulang (Anonim, 2003). Cacat bawaan berupa pemendekan tulang-tulang ekstremitas setelah pemberian vitamin A berlebih terjadi pada kehamilan hari ke 8 maupun ke 11. Hal tersebut sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa cacat bawaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh hambatan proses kondrogenesis (Kochhar, 1985 *cit* . Wahyuni, 1991)

Mengingat pentingnya proses pertumbuhan tulang pada anak dan pubertas, kiranya perlu dicari informasi lebih lanjut untuk mengungkap sejauh mana peranan pemberian vitamin A dosis berlebihan terhadap proses pertumbuhan tulang. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pada hipervitaminosis A dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan tulang femur dan hambatan pada sel kondrosit pada zona proliferasi dan zona hipertrofi pada *epifiseal plate*.

MATERI DAN METODE

Rancangan yang digunakan adalah *The Posttest Only Control Group Design*. Jumlah sampel berdasarkan berdasarkan rumus dari Snedecor(1967) adalah 9 untuk tiap kelompok. Pengambilan sampel dilakukan secara random pada populasi mencit umur 3-4 minggu yang ada dilaboratorium Biokimia FK Unair, untuk masing-masing kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan penimbangan berat badan semua mencit yang menjadi sampel untuk menyesuaikan dengan dosis vitamin A yang diberikan. Mencit diberikan vitamin A per oral sesuai dengan dosis,yang diberikan setiap pagi hari selama 9 hari berturut -turut. Setiap 3 hari sekali dilakukan penimbangan ulang untuk penyesuaian dosis vitamin A. Satu hari setelah perlakuan terakhir, seluruh tikus akan dikorbankan, diambil sampel tulang femur kanannya dan dilakukan pengukuran panjang tulang mencit. Semua sampel tulang femur kanan mencit dikirimkan ke laboratorium Histologi untuk dilakukan pembuatan preparat histologis

Data yang didapat dari hasil penelitian berupa panjang tulang femur (cm), sediaan/preparat histologis dari *epifisial plate*. Terhadap data tersebut dilakukan analisis deskriptif, uji Anova (analisis varian) dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Besarnya taraf signifikansi ditetapkan 5 % dan seluruh diolah dengan program SPSS 10.0.

HASIL

Panjang tulang femur

Untuk menganalisa hasil penelitian digunakan uji satu arah (*oneway*). Dari data diskriptif didapatkan kesimpulan seperti tabel di bawah ini :

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku panjang tulang femur

Perlakuan	n	Rata-rata panjang femur (cm) \pm SD
K	10	1,29650 \pm 0,06028
A	10	1,25750 \pm 0,04843
B	10	1,23950 \pm 0,03378
C	10	1,22150 \pm 0,03317

Dari tabel di atas terlihat panjang tulang femur mengalami penurunan sesuai dengan dosis yang diberikan. Selanjutnya dilakukan *tes of homogeneity variance* dimana didapatkan nilai $P=0,05$ atau ($P>0,05$) artinya keempat kelompok mempunyai varians yang sama. Kemudian dilakukan uji Anova seperti tabel di bawah ini.

Tabel 2. Ringkasan Anova panjang tulang femur setelah pemberian emulsi vitamin A

Sumber	JK	DB	KT	F hitung	P
Perlakuan	3.085 E-02	3	1.028 E-02	5.003	0.005
Sisa	7.399 E-02	36	2.055 E-03		
Total	105	39			

Dari data Anova didapatkan $P= 0,005$ atau ($P<0,05$) artinya ada perbedaan signifikan panjang tulang femur diantara keempat kelompok tersebut.

Jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi

Untuk menganalisa hasil penelitian digunakan uji satu arah (*one way*). Dari data diskriptif didapatkan kesimpulan seperti tabel di bawah ini :

Tabel 3. Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi setelah diberi vitamin A selama 9 hari

Perlakuan	N	Jumlah sel kondrosit \pm SD
K	10	5,80 \pm 1,14
A	10	5,00 \pm 0,94
B	10	4,30 \pm 0,82
C	10	4,20 \pm 0,92

Dari tabel di atas terlihat jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi mengalami penurunan sesuai dengan dosis yang diberikan. Selanjutnya dilakukan *tes of homogeneity variance* dimana didapatkan nilai $P=0,685$ atau ($P>0,05$) artinya keempat kelompok mempunyai varians yang sama. Kemudian dilakukan uji Anova seperti tabel di bawah ini.

Tabel 4. Ringkasan Anova jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi setelah diberikan emulsi vitamin A selama 9 hari.

Sumber	JK	DB	KT	F Hitung	P
Perlakuan	16.475	3	5.492	5.937	0.002
Sisa	33.300	36	0.925		
Total	49.775	39			

Dari data Anova didapatkan $P = 0,002$ atau ($P < 0,05$) artinya ada perbedaan signifikan jumlah kondrosit pada zona proliferasi diantara keempat kelompok tersebut .

Jumlah sel kondrosit pada zona hipertrofi/maturasi

Untuk menganalisa hasil penelitian digunakan uji satu arah (*oneway*). Dari data diskriptif didapatkan kesimpulan seperti tabel di bawah ini :

Tabel 5. Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel kondrosit pada zona hipertrofi/maturasi

Perlakuan	N	Rata-rata sel kondrosit \pm SD
K	10	5,20 \pm 0,42
A	10	4,80 \pm 0,63
B	10	4,50 \pm 0,53
C	10	4,40 \pm 0,52

Dari tabel di atas terlihat jumlah sel kondrosit pada zona hipertrofi/maturasi mengalami penurunan sesuai dengan dosis yang diberikan. Selanjutnya dilakukan *test of homogeneity variance* dimana didapatkan nilai $P = 0,294$ atau ($P > 0,05$) artinya keempat kelompok mempunyai varians yang homogen. Kemudian dilakukan uji Anova seperti tabel di bawah ini.

Tabel 6. Ringkasan Anova jumlah sel kondrosit pada zona hipertrofi setelah diberikan larutan emulsi vitamin A selama 9 hari

Sumber	JK	DB	KT	F Hitung	P
Perlakuan	3.875	3	1.292	4.604	0.008
Sisa	10.100	36	0.281		
Total	13.975	39			

Dari data Anova didapatkan $P = 0,008$ atau ($P < 0,05$) artinya ada perbedaan signifikan jumlah sel kondrosit pada zona hipertrofi/maturasi diantara keempat kelompok tersebut.

PEMBAHASAN

Efek Pemberian vitamin A dosis berlebihan terhadap panjang tulang femur

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vitamin A $1/8 LD_{50}$, $1/6 LD_{50}$ dan $1/4 LD_{50}$ secara peroral selama 9 hari pada mencit (*Mus musculus*) jantan umur 3-4 minggu mempengaruhi secara signifikan ($p < 0,05$) panjang tulang femur dibandingkan kontrol. Penurunan panjang tulang femur ini akibat terhambatnya pertumbuhan oleh karena penutupan epifisis yang terlalu cepat (Hedi, 1995).

Penelitian pada mencit muda ditemukan bahwa hipervitaminosis A menghambat aktifitas diferensiasi dan proliferasi kondrosit dan osteoblast (Takaki *et al.*, 1996).

Vitamin A yang diberikan dalam jumlah besar akan mengaktifkan lisosom untuk melepaskan protease yang berakibat pada penurunan komponen protein struktural pada matriks tulang rawan (kartilago) dan mengakibatkan hilangnya mukopolisakarida, sehingga akan menyebabkan pemendekan panjang tulang (Bangham, 1964 *cit.* Kiptiyah, 2002).

Perpanjangan tulang ini secara keseluruhan, tergantung pada pertumbuhan tulang rawan yang terletak antara dua pusat penulangan yang menjalar kearahnya dari dua arah yang terus meninggi (Gunarso, 1978). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana pada sel-sel kondrosit pada zona proliferasi dan zona

hipertrofi/maturasi didapatkan jumlah sel yang menurun pada zona-zona tersebut dengan penambahan dosis yang semakin meningkat, sehingga akan mempengaruhi panjang tulang.

Efek Pemberian Vitamin A Dosis Berlebihan pada Jumlah Sel Kondrosit Zona Proliferasi

Dalam penelitian ini pemberian vitamin A dosis berlebihan peroral mengakibatkan penurunan jumlah sel kondrosit secara signifikan pada zona proliferasi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Mc Kinney (1996), pemberian vitamin A berlebihan mengakibatkan hambatan proliferasi kondrosit dan mengurangi sintesis dari RNA dan protein. Akibat langsung dari hambatan proliferasi sel kondrosit ini akan mengakibatkan hambatan bertambah banyaknya sel kondrosit pada zona proliferasi pada garis pertumbuhan, sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel kondrosit.

Retinoic acid yang tidak disimpan kurang beracun daripada retinol dan retinal tetapi mempunyai pengaruh yang serius pada tulang kalau dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dalam jangka waktu yang lama (Linder, 1992).

Berdasarkan penelitian dari De Luca *et al.* (2000) *retinoic acid* menghambat pertumbuhan tulang melalui 3 mekanisme yaitu menghambat proliferasi kondrosit, menghambat hipertrofi kondrosit, dan menghambat sintesis matriks tulang.

Pemberian *retinoid acid*, *all-trans-retinoic acid* dan *13-cis-retinoic acid* dosis tinggi pada kelinci yang diberikan secara injeksi intraperitoneal mengakibatkan penutupan dini *epifiseal plate*, dan pada sediaan histologi tampak hilangnya warna basifolik pada matriks ekstraseluler dan invasi osteoklast pada *epifiseal plate* (Standeven *et al.*, 1996).

Pemberian Vitamin A Dosis Berlebihan pada sel kondrosit pada Zona Hipertrofi / maturasi

Pada zona hipertrofi/maturasi jumlah sel kondrosit juga didapatkan hasil penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) sesuai dengan besarnya dosis vitamin A yang diberikan. Hal ini disebabkan karena jumlah sel kondrosit pada zona maturasi

merupakan pematangan dari zona proliferasi (Gunarso,1979). Menurunnya jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi akan mengakibatkan jumlah sel kondrosit pada zona hipertrofi juga menurun.

Dari hasil penelitian dikatakan bahwa *retinoic acid* mungkin berhubungan dengan osifikasi endokondral yaitu menghambat proses yang berhubungan dengan maturasi selama maturasi kondrosit (Pacifci *et al.*, 1991).

Diketahui pula, pada bayi babi dan ayam, pemberian vitamin A dosis tinggi menyebabkan pemendekan tulang panjang, dan rotasi epifisis, secara histologis dikatakan penyempitan dan penipisan *epifiseal plate* terjadi karena hambatan dari proliferasi kondrosit dan penurunan ukuran hipertrofi kondrosit. Keracunan vitamin A ini juga merangsang terjadinya osteoporosis karena penurunan jumlah sel osteoblast, sel osteoid, penipisan korteks, dan pemendekan bagian metafisis tulang panjang (Mc Kinney, 1996).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tentang pengaruh hipervitaminosis A pada pertumbuhan tulang femur didapatkan kesimpulan sebagai berikut : hipervitaminosis A menyebabkan hambatan bertambah panjangnya tulang femur , penurunan jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi pada *epifiseal plate*, dan penurunan jumlah sel hipertrofi/maturasi pada *epifiseal plate*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. Vitamin A. available at : [http:// www.medicastore.com](http://www.medicastore.com)
- Bloom W, Fawcett DW. 1971. A Textbook of Histology. 9th edition, pp:235-252
- Churh DC, Pond WG. 1988. Fat Soluble Vitamins (In Basic Animal Nutrition And Feeding). pp 224.
- Coom GF.1992. The Vitamin : Fundamental Aspect In Nutrition And Health. Sandiego, New York Akademik Press, inc, p p 123-135.
- Copenhaver WM, Kelly DE, Wood RL. 1987. Bailey's Textbook of Histology .17th ed, Waverly Press, Inc,pp 194.
- De Luca F, Uyeda JA, Mericq V, Mancilla EE.,Yanovski JA., Barnes KV, Zile MH, Baron, Retinoic acid is potent regulator of growth plate chondrogenesis, J. Endocrinology Vol 141, No I 346 -353.

- Endang, A.. 1985. Gambaran Histologis Garis Pertumbuhan Tulang Femur Anak Mencit Setelah Penyuntikan Berganda Tetracyclin Intramusculer. Tesis. Universitas Airlangga.
- Junqueira LC , Carneiro J. 1980. Basic Histology. 3rd edition, Jakarta :EGC, pp 137- 143.
- Kiptiyah. 2002. Efek Teratogenik Vitamin A Pada Mencit (Mus Muscules) Betina. Tesis. Universitas Airlangga.
- LTC Lunn McKinney. 1996.Results AFIP Wednesday Slide Conference -No.13.
- Murray RK,Granner DK, Mayes PA., Rodwel VW.2000. Harper's Biochemistry. 25thEdition, pp 642-643.
- Pacifici M, Golden EB, Iwamoto M, Adams SL. 1991. Retinoic acid induced type x collagen gene expression in culture chick chondrogenesis. Exp cell Res 195 (1): 38-46.
- Tan Hoan Tjay, Raharja K. 2002. Obat-obat Penting ; Khasiat, Penggunaan, dan efek-efek sampingnya. Edisi ke 5, Jakarta : Elex Media Komputindo, Hlm 801.
- Takaki H, Kodaka T, Soeta S, Mori R, Naito Y. 1998. Local Disappearance of Growth Plates in Rats with Hypervitaminosis A. Departement of Veterinary Internal Medicine, Iwate University .
- Wahyuni LA, Manoe ZJ, Yoshida, Wakaisaka H, Yohro T. 1991. Efek Hipervitaminosis Terhadap Perkembangan Tulang Ektremitas Embrio Mencit Dilihat Dengan Pewarnaan Ganda. Konas VII PAAI.