

BAB. I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Muntingia calabura L. dikenal dengan nama talok. Tanaman ini biasanya digunakan sebagai tanaman peneduh (Suryowinoto, 1997). Selain itu, talok (*M. calabura* L.) juga digunakan sebagai obat tradisional (Pandji, 2009). Menurut hasil penelitian Zakaria *et al.* (2007c), ekstrak daun talok mempunyai aktivitas antikanker melawan *cancer cell lines* MCF-7 (sel kanker payudara) dan HT-29 (sel kanker kolon) secara *in vitro*. Ekstrak metanol dan ekstrak air daun talok mempunyai aktivitas penghambatan terhadap sel MCF-7 dan HT-29, tetapi ekstrak kloroform daun talok hanya efektif untuk melawan sel MCF-7 saja. Besarnya IC₅₀ ekstrak air, kloroform, dan metanol dari daun talok dalam melawan sel MCF-7 secara berturut-turut adalah 19.5, 98, dan 23 µg/ml. Adapun IC₅₀ ekstrak air dan metanol dari daun talok dalam melawan sel HT-29 adalah 18 dan 47.5 µg/ml. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak air daun talok paling efektif melawan sel MCF-7 dan HT-29 (Zakaria *et al.*, 2007c).

Daun talok mengandung flavonoid (Jung *et al.*, 2005; Ramdhani, 2008; Zakaria *et al.*, 2006; Zakaria *et al.*, 2008), tanin (Zakaria *et al.*, 2006; Zakaria *et al.*, 2008), glikosida, saponin (Zakaria *et al.*, 2006), triterpen (Zakaria *et al.*, 2007c), steroid, minyak esensial (Zakaria *et al.*, 2008), khalkon sitotoksik seperti *dihydrochalcones*, *2', 4'- dihydroxy - 3 - methoxydihydrochalcone*, *(-) - 3'*

methoxy - 2', 4', - trihydroxydihydrochalcone (Jung *et al.*, 2005), *2', 4'-dihydroxychalcone* (Nshimo *et al.*, 1993), dan polifenol (Warintek, 2009).

Menurut Zakaria *et al.* (2007c), flavonoid, tanin, saponin, dan triterpen telah dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker. Flavonoid telah dilaporkan dapat menunjukkan aktivitas antikanker melalui modulasi siklus sel dengan menahannya pada fase G1/S, *down-regulation* pada produk gen antiapoptosis, penghambatan faktor transkripsi inflamasi, menginduksi penghambat *cyclin dependent kinase* (CDK) dan menghambat *cell-survival kinase* (Agarwal *et al.*, 2006 dalam Zakaria, 2007c), serta menginduksi *Ca²⁺-dependent apoptotic mechanism* (Sergeev *et al.*, 2006 dalam Zakaria, 2007c). Adapun contoh inhibitor spesifik dari CDK adalah polihidroksilasi flavon (Azevedo *et al.*, 1996). Saponin dapat menyebabkan aktivitas antikanker melalui kematian sel (nekrosis), yang didasarkan pada tipe dan sel kanker yang dipengaruhinya (Russo *et al.*, 2005 dalam Zakaria, 2007c), atau melalui permeabilisasi membran mitokondria (Lemeshko *et al.*, 2006 dalam Zakaria, 2007c). Triterpen juga menyebabkan respon apoptosis pada sel kanker dengan menghambat *nuclear factor-kappa B* (NF- B) (Lee *et al.*, 2006 dalam Zakaria, 2007c), atau karena menyebabkan gangguan pada siklus sel, dengan cara mengurangi jumlah sel dalam fase G0/G1 dengan peningkatan inisiasi pada S dan G2/M (Roy *et al.*, 2007 dalam Zakaria, 2007c).

Berdasarkan uraian tersebut di atas, telah kita ketahui bahwa daun talok mempunyai aktivitas antikanker. Menurut Blagosklonny (2005), sebagian besar obat antikanker adalah teratogen, karena target mereka adalah fungsi vital seluler

yang dapat mengganggu jalur sinyal embrionik. Adapun mekanisme teratogen suatu obat sesuai dengan mekanisme obat antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Salah satu contoh obat antikanker yang dapat menyebabkan teratogen adalah *hydroxyurea*. *Hydroxyurea* dapat menghambat leukemia pada tikus dan juga menunjukkan aktivitas pengobatan melawan kanker dan leukemia pada manusia. *Hydroxyurea* yang diberikan pada tikus hamil menunjukkan terjadinya malformasi pada fetusnya. Adapun malformasi yang terjadi adalah *exencephaly*, *encephalocele*, *cleft palate*, *cleft lip*, *clubbed appendages*, penghambatan pertumbuhan alat gerak, *ectrodactily*, *polydactily*, ekor pendek, dan ekor keriting. Penyebab terjadinya abnormalitas tersebut karena *hydroxyurea* mampu menghambat sintesis DNA dan menyebabkan gangguan terhadap replikasi DNA (Chaube and Murphy, 1966). Daun talok mengandung senyawa flavonoid dan triterpen yang diketahui dapat mengganggu siklus sel. Flavonoid diketahui dapat menyebabkan gangguan pada fase G1/S dan triterpen juga dapat mengurangi jumlah sel dalam fase G0/G1 dengan peningkatan inisiasi pada S dan G2/M. Perkembangan sebuah sel telur yang telah dibuahi sampai menjadi organisme multisel yang majemuk harus melalui peristiwa replikasi sel, pertumbuhan, dan spesialisasi (diferensiasi) progresif untuk berbagai fungsi. Mekanisme replikasi semua sel kecuali sel benih adalah dengan mitosis, setelah mitosis sel anak memasuki tahap pertumbuhan dan aktivitas metabolik sebelum melanjutkan pembelahan mitosisnya. Tahapan siklus yang terjadi pada selang waktu antar pembelahan mitosis, yaitu fase mitotik dan interfase (fase non-pembelahan) disebut juga dengan siklus sel, yang terdiri dari fase sintesis (S), fase

G₁, fase G₂, dan G₀ (Burkitt, 1995). Berdasarkan hal tersebut di atas, rancangan penelitian ini disusun untuk mengetahui kemungkinan efek teratogenik ekstrak air daun talok terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*Mus musculus* L.).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka penelitian ini dapat dirumuskan permasalahannya sebagai berikut :

1. Bagaimanakah pengaruh ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*M. musculus* L.)?
2. Apakah kenaikan dosis ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) berpengaruh terhadap peningkatan hambatan pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*M. musculus* L.)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengkaji pengaruh ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*M. musculus* L.).
2. Mengkaji pengaruh kenaikan dosis ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) terhadap peningkatan hambatan pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*M. musculus* L.).

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kemungkinan efek negatif penggunaan daun talok (*M. Calabura* L.) terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus.

BAB. II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Teratologi

Teratologi adalah studi tentang penyebab, mekanisme dan manifestasi dari perkembangan yang menyimpang dari sifat struktural dan fungsional (Loomis, 1978). Cacat lahir sering disebut juga malformasi kongenital atau anomali kongenital. Malformasi atau anomali kongenital adalah istilah yang digunakan untuk menerangkan kelainan struktur, perilaku, faal, dan kelainan metabolik yang ditemukan pada waktu lahir (Datu, 2005). Penyebab terjadinya malformasi kongenital dikelompokkan menjadi dua, yaitu faktor genetik (abnormalitas kromosom) dan faktor lingkungan. Akan tetapi, pada umumnya malformasi kongenital terjadi karena pengaruh dari kedua faktor tersebut secara bersamaan. Hal ini disebut sebagai *multifactorial inheritance* (Moore, 1988). Adapun dasar-dasar umum teratologi adalah:

- a. Kerentanan (suseptibilitas) terhadap teratogen yang bervariasi.
- b. Kerentanan terhadap teratogen bersifat spesifik untuk setiap tingkat pertumbuhan.
- c. Mekanisme teratogenesis spesifik untuk setiap teratogen.
- d. Teratogenesis tergantung pada dosis.
- e. Teratogen dapat menyebabkan kematian, retardasi pertumbuhan, malformasi, dan gangguan fungsi (Utoro, 2008).

a. Teratogen

Teratogen adalah agen-agen kimiawi, fisik, dan biologik yang menyebabkan terjadinya anomali pertumbuhan dan perkembangan (Utoro, 2008). Tanimura (1986) dalam Datu (2005) melaporkan bahwa dari seluruh anomali kongenital, 10 % disebabkan oleh faktor lingkungan, 25 % oleh faktor keturunan, dan sisanya masih belum diketahui dengan jelas. Beberapa faktor lingkungan yang dapat menyebabkan cacat lahir antara lain, penyakit infeksi dan non infeksi yang menyerang ibu hamil, zat-zat kimia lingkungan dan obat-obatan, hormon, defisiensi nutrisi, radiasi, rokok, alkohol, obat narkotika, dan faktor mekanis (Datu, 2005).

Menurut Lu (1995), teratogen dapat menimbulkan efek:

- 1). Aberasi, yaitu cacat morfologi meliputi struktur luar dan dalam serta kelainan fungsional, terdiri atas:

Anomali minor : adanya tulang rusuk tambahan, kelainan penulangan pada sternum, ekor keriting, kaki lurus, malrotasi anggota badan atau cakar, lidah menonjol, kelainan pembentukan pelvis ginjal, dan kulit transparan.

Anomali mayor : *spina bifida* dan *hydrocephalus* yang akan mengganggu kelangsungan hidup, pertumbuhan, perkembangan, kesuburan, dan panjang usia hewan.

- 2). Resorpsi yang merupakan manifestasi kematian hasil konsepsi.
- 3). Toksisitas pada janin juga tampak dari berkurangnya berat badan fetus yang tidak dapat bertahan hidup.

b. Toksisitas dalam Tahapan Perkembangan

Perkembangan adalah proses yang dinamis. Ciri pokok perkembangan terletak pada adanya gejala perubahan yang terus-menerus (Hutahean, 2002). Setelah pembuahan, sel telur mengalami proliferasi sel, diferensiasi, migrasi sel, dan organogenesis. Embrio kemudian melewati periode perkembangan janin sebelum dilahirkan (Lu, 1995)

Pada mamalia, perkembangan dimulai dari sel tunggal (zigot) hasil fertilisasi yang terus membelah menghasilkan struktur berupa bola berongga multiseluler yang disebut blastula. Setelah blastula terbentuk, terjadi dinamika perpindahan sel sedemikian rupa sehingga terbentuk embrio dengan 3 lapis benih (ektoderm, mesoderm, dan endoderm). Pada tingkat sel, saat itu telah terjadi diferensiasi. Sel-sel yang memiliki potensi genetik sama karena berasal dari mitosis sel zigot yang sama, membuat komitmen untuk secara spesifik hanya mengekspresikan gen tertentu saja. Pola bentuk tubuh telah ditentukan (*pattern formation*) antara kiri-kanan, depan-belakang, dan *cranial-caudal*. Dari ketiga lapis benih itu kemudian berkembang organ-organ tubuh melalui proses morfogenesis. Tiap sel hasil pembelahan zigot itu mengambil tempat dan waktu yang tepat (*presisi spatiotemporal*) untuk mengekspresikan DNA tertentu dan bekerja bersama-sama dengan sel lain menuju terwujudnya individu. Oleh karena itu, embrio yang sedang berkembang sangat rentan terhadap gangguan. Gangguan kecil yang tidak dapat ditoleransi pada salah satu tahapan perkembangan dapat menjelma menjadi kecacatan atau malformasi saat

kelahiran (Hutahean, 2002). Tingkat perkembangan fetus dan tempat zat teratogenik bekerja menentukan kerentanan terhadap zat teratogenik. Kerusakan spesifik dapat terjadi dengan mudah selama periode organogenesis (Ariens dkk., 1986).

Perkembangan embrio mamalia dapat dibagi menjadi 3 tahapan, yaitu tahap pra-implantasi, tahap organogenesis, dan tahap fetogenesis. Dari segi toksikologi perkembangan, ketiganya memiliki kepekaan yang berbeda-beda.

1). Tahap pra-implantasi

Tahap ini dimulai dari fertilisasi, pembelahan awal (*cleavage*), blastulasi, hingga gastrulasi awal (Hutahean, 2002). Periode pra implantasi terjadi pada umur kebuntingan kurang dari tiga minggu pada manusia atau 1-6 hari pada mencit atau tikus. Pengaruh buruk yang mungkin timbul pada periode ini menganut hukum *all or nothing* (Santoso, 1990 dalam Lina, 2008). Adanya zat teratogen dapat menyebabkan kematian embrio akibat matinya sebagian besar sel embrio, atau tidak menimbulkan efek yang nyata (Lu, 1995). Pada tahap ini diferensiasi sel belum berlanjut, atau sering disebut tahap pradiferensiasi. Apabila satu atau sekelompok sel rusak oleh gangguan agensia toksis, masih memungkinkan bagi sel-sel sehat di sekitarnya untuk membelah dan menggantikan posisi serta peran sel yang rusak tadi. Dengan demikian, embrio pulih dan perkembangan dapat berlanjut tanpa ada efek gangguan yang menetap. Sebaliknya, jika

embrio tidak dapat mentoleransi kerusakan itu, maka embrio tidak dapat melanjutkan perkembangannya dan mati. Oleh karena itu, efek gangguan agensia toksis pada embrio pada tahap praimplantasi tidak menyebabkan kelainan perkembangan (Hutahean, 2002; Hidayati, 2000).

2). Tahap organogenesis

Tahap organogenesis adalah tahap ketika sel secara intensif menjalani diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi. Selama periode ini sebagian besar organogenesis terjadi (Lu, 1995). Pada tahap ini sel-sel mulai menampakkan perbedaan morfologi yang nyata karena terjadi diferensiasi intensif, sehingga adanya zat teratogen yang aktif pada tahapan ini dapat menyebabkan gangguan perkembangan organ dan menghasilkan banyak kemungkinan kelainan-kelainan atau cacat bawaan yang teramati waktu lahir. Jenis kelainan tergantung dari organ mana yang paling peka pada saat zat teratogenik tersebut bekerja (Hutahean, 2002; Hidayati, 2000). Tidak semua organ rentan pada saat yang sama dalam suatu kehamilan, pada hari ke-8 sampai hari ke-12 sebagian besar organ embrio tikus sangat rentan, tetapi *palatum* dan organ *urogenital* baru rentan pada tahap berikutnya (Lu, 1995). Periode ini berkisar antara 3-8 minggu kebuntingan pada manusia dan 6-15 hari kebuntingan pada mencit (Santoso, 1990 dalam Lina, 2008).

3). Tahap fetogenesis

Fetogenesis adalah tahap dimana sebagian besar organ-organ telah terbentuk. Pada tahap ini embrio sering disebut fetus. Mulai periode fetal adalah ketika diferensiasi organ utama telah terjadi, tetapi diferensiasi genital eksterna, perkembangan susunan saraf pusat, dan penutupan rongga mulut (*palate*) sedang berlangsung. Selama masa ini adanya zat teratogen dapat menyebabkan kelainan otak, gangguan penutupan *palate* atau *pseudohemaphroditisme* (Herman dan Mutiatikum, 2008). Apabila efek agensia toksis mengenai embrio ketika sebagian besar organ-organ telah terbentuk dan fetus tinggal melanjutkan pertumbuhan organ-organ itu, maka manifestasi gangguan seperti ini jarang terwujud menjadi kecacatan, melainkan berupa hambatan pertumbuhan dan gangguan fungsi (Hutahean, 2002). Cacat morfologik umumnya mudah dideteksi pada saat kelahiran atau sesaat sesudah kelahiran, tetapi kelainan fungsi seperti gangguan susunan saraf pusat mungkin tidak dapat didiagnosa segera setelah kelahiran (Lu, 1995).

c. Embriogenesis dan Siklus Sel

Perkembangan sebuah sel telur yang telah dibuahi sampai menjadi organisme multisel yang majemuk harus melalui peristiwa replikasi sel, pertumbuhan, dan spesialisasi (diferensiasi) progresif untuk berbagai fungsi. Mekanisme replikasi sel di dalam semua sel, kecuali sel benih jantan dan betina dikenal sebagai mitosis. Mitosis atau pembelahan

mitotik sebuah sel menghasilkan dua sel anak, masing-masing secara genetik identik dengan sel induknya. Setelah mitosis, sel anak memasuki tahap pertumbuhan dan aktivitas metabolik sebelum melanjutkan pembelahan mitosisnya. Tahapan antar pembelahan mitosis, yaitu siklus hidup sebuah sel disebut dengan siklus sel (Burkitt dkk., 1995).

Secara historis, hanya dikenal dua fase siklus sel, yaitu fase mitotik (fase M) yang relatif singkat dan fase non pembelahan (interfase). Dengan dikembangkannya radio-isotop, maka diketahui bahwa ada periode tersendiri selama interfase ketika DNA inti direplikasi, fase ini disebut sebagai fase sintesis (S) yang telah diselesaikan sesaat sebelum dimulai mitosis. Interfase dibagi dalam 3 fase terpisah. Di antara akhir fase M dan awal fase S terdapat fase G_1 atau fase rekah pertama, fase ini biasanya jauh lebih lama dari fase lain dari siklus sel. Selama fase G_1 , sel itu tumbuh dan melakukan fungsi khususnya berkenaan dengan jaringan sebagai kesatuan. Jarak antara akhir fase S dan awal fase M adalah fase G_2 , atau fase rekah kedua, relatif pendek dan merupakan periode persiapan sel untuk pembelahan mitosis. Beberapa jenis sel secara tetap melalui siklus sel untuk menjamin pertumbuhan jaringan atau pergantian sel, sedangkan sel-sel yang sempurna akan keluar dari siklus sel setelah fase M dan masuk dalam keadaan yang disebut fase G_0 (Burkitt, 1995).

d. Hambatan Perkembangan Embrio

Menurut Ritter (1977) dalam Lina (2008), embrio yang terpapar teratogen dapat mengalami perubahan-perubahan sitologis dan akhirnya

akan menjadi fetus yang cacat. Embriogenesis secara normal akan berakhir dengan terbentuknya individu baru yang bentuk dan strukturnya sama dengan induknya, tetapi pada embriogenesis yang abnormal berakhir dengan terbentuknya individu yang bervariasi. Dasar dari perkembangan abnormal adalah sebagai berikut:

- 1). Cacat struktural (malformasi), merupakan hasil akhir perkembangan embrio yang menunjukkan kelainan struktural meliputi kelainan anatomik, histologi, dan berkurang atau bertambahnya jumlah komponen penyusun tubuh embrio.
- 2). Hambatan pertumbuhan, merupakan hasil akhir perkembangan embrio yang menunjukkan ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan embrio normal. Penyebabnya adalah gangguan sintesis pada tingkatan molekul dari DNA, RNA, protein, karbohidrat, dan lemak.
- 3). Penurunan fungsi, merupakan hasil akhir perkembangan embrio yang menunjukkan penurunan fungsi suatu organ atau sebagian organ, sehingga vitalitas hidup individu menjadi lebih pendek daripada normal.
- 4). Kematian, embrio yang mengalami kelainan perkembangan sangat parah akan mati sebelum lahir. Hal ini terjadi karena kelainan struktural maupun fungsional yang sangat besar, sehingga tidak mampu beradaptasi untuk bertahan hidup.

Adapun mekanisme yang terlibat dalam efek teratogen menurut Lu (1995) adalah:

- 1). Gangguan terhadap asam nukleat, banyak zat kimia mempengaruhi replikasi dan transkripsi asam nukleat, atau translasi RNA.
- 2). Kekurangan pasokan energi dan osmolaritas, teratogen tertentu dapat mempengaruhi pasokan energi yang dipakai untuk metabolisme dengan cara langsung mengurangi persediaan substrat (misalnya defisiensi makanan) atau bertindak sebagai analog atau antagonis vitamin, asam amino esensial, dan lainnya. Selain itu, hipoksia dan zat penyebab hipoksia dapat bersifat teratogen dengan mengurangi oksigen dalam proses metabolisme yang membutuhkan oksigen dan mungkin juga dengan menyebabkan ketidakseimbangan osmolaritas. Hal ini dapat menyebabkan edema dan hematoma, yang pada gilirannya dapat menyebabkan kelainan bentuk atau iskemia jaringan.
- 3). Penghambatan enzim, penghambat enzim, seperti 5-fluorourasil, dapat menyebabkan cacat karena mengganggu diferensiasi dan pertumbuhan sel melalui penghambatan timidilat sintetase.
- 4). Penyebab lainnya, contohnya hipervitaminosis A dapat menyebabkan kerusakan ultrastruktural pada membran sel embrio hewan pengerat. Faktor fisika juga dapat menyebabkan cacat, contohnya adalah radiasi, hipotermia dan hipertermia, serta trauma mekanik.

2. *Muntingia calabura* L.

Tanaman *M. calabura* L. di Indonesia dikenal dengan nama kersen atau talok. Nama-nama lainnya di beberapa negara adalah: *datiles*, *aratiles*, *manzanitas*

(Filipina), *mât sâm* (Vietnam), *khoom sômz*, *takhôb* (Laos), *takhop farang* (Thailand), *krâkhôb barang* (Kamboja), dan *kerukup siam* (Malaysia). Selain itu juga dikenal sebagai *capulin blanco*, *cacaniqua*, *nigua*, *niguito* (Spanyol), *Jamaican cherry*, *Panama berry*, *Singapore cherry* (Inggris), dan *Japanse kers* (Belanda). Tanaman ini berasal dari Amerika tropis (Meksiko bagian selatan, Karibia, Amerika Tengah sampai ke Peru, dan Bolivia), kemudian dibawa masuk ke Filipina pada akhir abad ke-19, dan menyebar dengan cepat ke seluruh wilayah tropis di Asia Tenggara (Anonim, 2009).

Talok dapat tumbuh dengan baik di tempat-tempat terbuka dan terkena sinar matahari langsung, baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi, yaitu sampai ketinggian 1000 m di atas permukaan laut (Suryowinoto, 1997). Pohon ini awalnya sering tumbuh sebagai semai liar di tepi jalan, selokan, atau muncul di tengah retakan lantai atau pagar, dan akhirnya tumbuh membesar sebagai pohon naungan. Oleh karena itulah pohon talok seringkali ditemukan di wilayah perkotaan yang ramai dan padat, di tepi trotoar dan lahan parkir, di tepi sungai yang tidak terurus, atau tempat-tempat yang biasa kering berkepanjangan. Karena sifat-sifat dan daya tahannya itu, talok menjadi salah satu tumbuhan pionir yang paling banyak dijumpai di wilayah hunian manusia di daerah tropis (Anonim, 2009).

a. Deskripsi

Talok merupakan jenis tanaman perdu atau pohon kecil yang tingginya bisa mencapai 12 m, meskipun pada umumnya hanya memiliki tinggi sekitar 3-6 m saja. Tanaman ini kelihatan selalu hijau dan terus-

menerus berbunga serta berbuah sepanjang tahun. Cabang-cabangnya mendatar, sehingga membentuk naungan yang rindang (Anonim, 2009). Ranting-rantingnya berambut halus yang rapat dan berambut kelenjar (Suryowinoto, 1997).

Daunnya tunggal, duduk daun berseling, helaian daun tidak sama sisi, berbentuk bulat telur, lanset, ujung dan pangkal daun runcing (Suryowinoto, 1997), dan bergerigi (Steenis, 1975). Permukaan daun bagian atas dan bawah berambut rapat seperti wol. Daun ini mempunyai panjang 4,5-14 cm, lebar 1,5-4 cm, dan bertangkai pendek. Tiap pasang daun pelindung terdapat 1 rudimenter dan 1 berbentuk benang bentuk paku dengan panjang 0,5 cm (Suryowinoto, 1997).



Gambar 1. *Muntingia calabura* L. (The Cook Islands Natural Heritage Trust, 2007; Greenpeace International, 2009).

Bunga 1-3 menjadi satu di ketiak daun, perhiasan bunga berbilangan 5, dan berkelamin 2. Kelopak bunga berbagi dalam, taju meruncing menjadi bentuk benang dan berambut halus. Daun mahkota bunga bertepi rata, berbentuk bulat telur terbalik, gundul, berwarna putih, dan panjangnya 8-11 mm. Tonjolan dasar bunga bentuk cawan. Benang

sari berjumlah banyak, terutama pada tonjolan dasar bunga (Suryowinoto, 1997).

Bakal buah bertangkai pendek, gundul, beruang 5-6. Kepala putik hampir duduk, berlekuk 5-6. Buahnya termasuk buah buni yang dimahkotai oleh tangkai putik yang tetap dengan panjang 1 cm (Steenis, 1975). Buahnya berbentuk bulat dengan diameter sekitar 1 cm (Suryowinoto, 1997). Buah yang masih muda berwarna hijau dan ketika sudah masak warnanya menjadi merah. Buah yang masak rasanya manis dan memiliki banyak biji-biji kecil seperti pasir (Pandji, 2009).

b. Klasifikasi

Adapun sistematika klasifikasi dari tanaman talok (*M. calabura* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Malvales

Famili : Tiliaceae

Genus : *Muntingia*

Spesies : *Muntingia calabura* L. (Steenis, 1975).

c. Kegunaan

Di Meksiko buah talok sangat digemari dan umumnya banyak dijual di pasar-pasar tradisional, sedangkan di Srilangka buah ini sering diawetkan dengan cara diolah menjadi selai (Pandji, 2009). Selain berperan sebagai tanaman peneduh, talok juga digunakan sebagai obat tradisional. Di Peru, daun talok telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit kepala dan antiradang (Pandji, 2009). Daun talok juga dikenal berkhasiat sebagai obat batuk dan peluruh dahak, serta buah yang telah masak untuk obat sakit kuning (Priharyanti, 2009). Bunganya digunakan sebagai antiseptik, infus bunganya digunakan sebagai obat kejang, obat sakit kepala, dan gejala-gejala influenza. Daunnya digunakan untuk mengobati luka di saluran pencernaan atau mengurangi pembengkakan kelenjar prostat (Zakaria *et al.*, 2007a; Zakaria *et al.*, 2008). Kayu talok lunak dan mudah kering, sangat berguna sebagai kayu bakar (Anonim, 2009). Di Brazil, kayunya juga digunakan sebagai sumber *pulp* untuk bahan pembuatan kertas (Florido *et al.*, 1991; Tan, 2001). Kulit kayunya yang mudah dikupas digunakan sebagai bahan tali dan kain pembalut. Daunnya juga dapat dijadikan semacam teh (Anonim, 2009).

Ekstrak daun talok mempunyai aktivitas *antistaphylococcal* (Zakaria *et al.*, 2007b), antibakteri (Zakaria *et al.*, 2006), dan antioksidan (Zakaria, 2007e). Selain itu, ekstrak daun talok juga mempunyai aktivitas *antinociceptive*, antiinflamasi, dan antipiretik dengan dosis konsentrasi 5 %, 10%, dan 50% pada mencit (Zakaria *et al.*, 2007d), serta dapat

menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus dengan kisaran dosis 0,039-0,13 mg/g BB pada mencit (Ramdhani, 2008). Ekstrak daun talok juga mempunyai aktivitas antikanker melawan *cancer cell lines* MCF-7 dan HT-29 secara *in vitro* (Zakaria *et al.*, 2007c).

d. Kandungan Senyawa Kimia

Daun talok (*M. calabura* L.) mengandung beberapa senyawa flavonoid (Jung *et al.*, 2005; Ramdhani, 2008; Zakaria *et al.*, 2006; Zakaria *et al.*, 2008), tanin (Zakaria *et al.*, 2006; Zakaria *et al.*, 2008), glikosida, saponin (Zakaria *et al.*, 2006), triterpen (Zakaria *et al.*, 2007c), steroid, minyak esensial (Zakaria *et al.*, 2008), khalkon sitotoksik seperti *dihydrochalcones*, 2', 4'- *dihydroxy* - 3 - *methoxydihydrochalcone*, (-) - 3'- *methoxy* - 2', 4', - *trihydroxydihydrochalcone* (Jung *et al.*, 2005), 2', 4'- *dihydroxychalcone* (Nshimo *et al.*, 1993), dan polifenol (Warintek, 2009). Adapun jenis flavonoid yang sudah diisolasi dari daun talok (*M. calabura* L.) antara lain, dari golongan flavon yaitu *chrysin* (Nshimo *et al.*, 1993), flavanon yaitu (2*S*)-(-)-5- *hydroxy*- 7,3,4'- *trimethoxyflavanone*, flavonol yaitu *galangin 3, 7-dimethyl ether* (Nshimo *et al.*, 1993), derivat flavonol yaitu *muntingone* (Jung *et al.*, 2005), dihidroflavonol yaitu (2*R*,3*R*)-3,5,8-*Trihydroxy-7-methoxyflavanone* (Williams and Grayer, 2004), 5, 7-*dihydroxy-8-methoxyflavonol*, *tiliroside* dan *buddlenoid A* (Nshimo *et al.*, 1993), serta *kuersetin* (Sulistyowati, 2009).

e. Sifat dan Khasiat Bahan Aktif

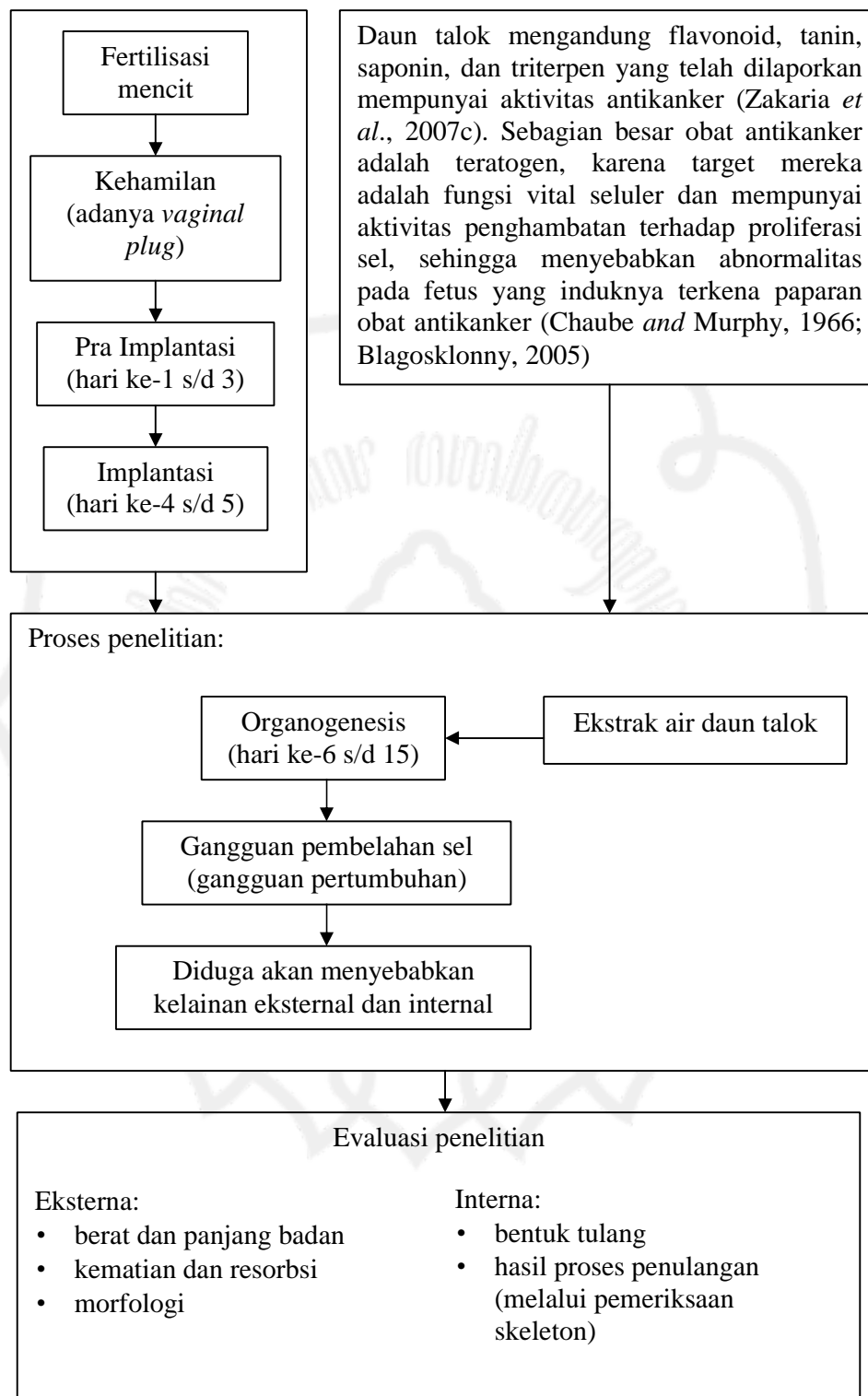
Daun talok mengandung flavonoid *chrysin*, *2', 4'-dihydroxychalcone*, dan *galangin 3, 7-dimethyl ether*. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai efek sitotoksik yang aktif melawan satu atau lebih sebuah *panel* manusia dan *murine cell lines* (Nshimo *et al.*, 1993). *(2S)-5'-hydroxy-7,3,4'- trimethoxyflavanone*, *4'-hydroxy-7- methoxyflavanone*, *2',4'- dihydroxychalcone*, dan *2,4/- dihydroxy-3/-methoxychalcone* juga mempunyai aktivitas sitotoksik menghambat *P-388* dan *HT-29 cell lines in vitro* (IC_{50} values < 4pg/ml) (Jung *et al.*, 2005). Menurut Su *et al.* (2003), ekstrak daun talok terutama golongan *flavanones* dan *flavones* dapat menyebabkan adanya aktivitas *quinone reductase*. Adapun senyawa-senyawa tersebut adalah *flavanone with an unsubstituted B-ring*, *(2R,3R)-7-methoxy-3,5,8-trihydroxyflavanone*, *(2S)-5- hydroxy-7- methoxyflavanone*, *2',4'-dihydroxychalcone*, *4,2',4'-trihydroxychalcone*, *7-hidroksiflavin*, dan *7,3',4'-trimethoxyisoflavone*.

Menurut Zakaria *et al.* (2007c), flavonoid, tanin, saponin, dan triterpen telah dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker. Triterpen dan saponin tanaman berpengaruh juga terhadap permeabilitas membran sel. Peningkatan permeabilitas membran sel dapat menyebabkan cairan elektrolit di luar sel akan mudah masuk ke dalam sel, akibatnya sel akan membengkak dan mudah pecah. Disamping itu, berperan sebagai sarana transportasi nutrisi yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Permeabilitas membran sel telur dan embrio berhubungan erat dengan proses pertumbuhan dan perkembangan embrio yaitu dapat menyebabkan pengkerutan membran sehingga integritas membran akan

menurun (Wurlina, 2006). Perubahan membran erat hubungannya dengan besar kecilnya berat molekul zat asing yang bisa melewati membran. Bila zat asing lebih bebas masuk, hal ini dapat menyebabkan kelainan fungsinya sehingga berakibat buruk pada perkembangan embrio (Wilson, 1973 dalam Astirin dkk., 1999).

B. Kerangka Pemikiran

Kerangka pemikiran dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak air daun talok kepada mencit hamil pada saat organogenesis yaitu pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kebuntingan. Daun talok mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan triterpen yang telah dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker (Zakaria *et al.*, 2007c). Menurut Blagosklonny (2005), sebagian besar obat antikanker adalah teratogen, karena target mereka adalah fungsi vital seluler. Obat antikanker mempunyai aktivitas penghambatan terhadap proliferasi sel, sehingga dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas pada fetus yang induknya terkena paparan obat antikanker (Chaube *and* Murphy, 1966). Oleh karena itu, pemberian ekstrak air daun talok pada masa organogenesis diduga akan menyebabkan kelainan pada pertumbuhan dan perkembangan fetus. Adapun bagan kerangka pemikiran penelitian ini adalah sebagai berikut:

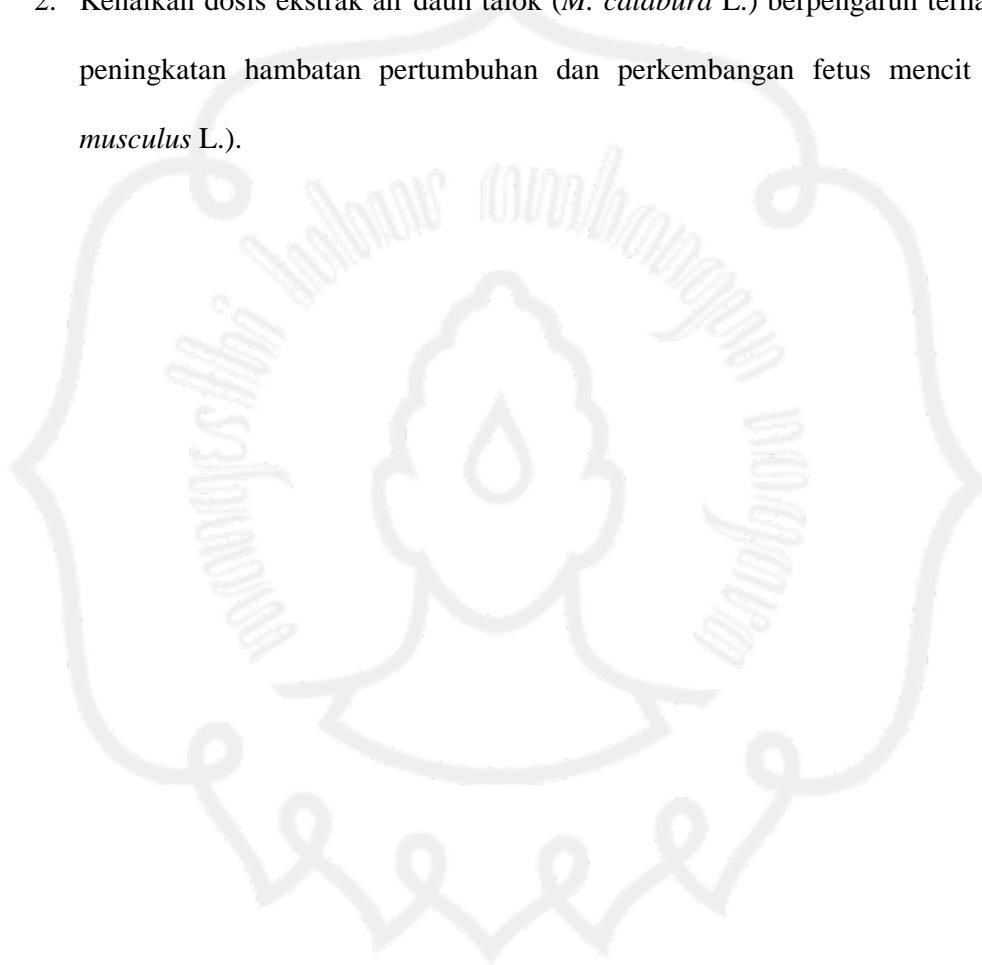


Gambar 2. Skema Kerangka Pemikiran (dikompilasi dari berbagai sumber).

C. Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*M. musculus* L.).
2. Kenaikan dosis ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) berpengaruh terhadap peningkatan hambatan pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*M. musculus* L.).



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juli tahun 2009 di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta dan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT-LP3HP) UGM Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang akan dipergunakan dalam penelitian ini meliputi:

- a. Alat untuk pembuatan ekstrak daun talok: pisau, oven, blender, *freeze dryer*, kertas saring, erlenmeyer, corong saring, gelas ukur, timbangan digital, spatula, dan gelas beker.
- b. Alat untuk perlakuan: kandang pemeliharaan mencit, tempat minum, timbangan digital, spuit 1 ml dan 0,5 ml, serta kanul.
- c. Seperangkat alat untuk pembuatan preparat *wholemout* fetus: gunting bedah, pinset, jarum, botol jam, gelas ukur, dan erlenmeyer.
- d. Alat untuk pengamatan preparat: kertas milimeter blok, lampu, dan lup.
- e. Alat untuk dokumentasi: kamera digital.

2. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi:

- a. Bahan untuk pembuatan ekstrak: daun talok yang diperoleh dari daerah Surakarta dan sekitarnya, serta akuades.
- b. Bahan untuk perlakuan: hewan uji yang digunakan adalah mencit galur BALB/C umur 3 bulan hamil 5 hari, dengan berat badan rata-rata 30 gram berjumlah 25 mencit yang diperoleh dari LPPT-LP3HP UGM Yogyakarta, pellet BR2 sebagai pakan sehari-hari, ekstrak air daun talok, dan air minum.
- c. Bahan kimia untuk pembuatan preparat *wholemound* fetus: garam fisiologis, alkohol 96%, aseton, gliserin murni, zat warna *Alcian Blue*, zat warna *Alizarin Red S*, asam asetat glasial, akuades, alkohol 70%, dan KOH.

C. Cara Kerja

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu tahap persiapan yang meliputi persiapan hewan uji mencit dan pembuatan ekstrak daun talok, tahap pemberian perlakuan, serta tahap pembuatan preparat dan pemotretan fetus mencit. Pada penelitian ini digunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang menggunakan 5 perlakuan dengan 5 ulangan pada masing-masing perlakuan.

1. Pembuatan ekstrak daun talok

Daun talok dibersihkan dari kotoran, kemudian dikeringanginkan pada suhu ruangan (27 ± 2)°C selama sekitar 2 minggu atau dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C sampai daun mengering. Daun yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender. Serbuk daun kemudian direndam pada akuades selama 72 jam dengan perbandingan 1:20 (w/v), setelah itu dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat. Filtrat tersebut kemudian dikeringbekukan dalam *freeze dryer* pada suhu -60°C sekitar 48 jam hingga didapatkan ekstrak kering (Zakaria, 2007c).

2. Penentuan dosis perlakuan

Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari satu kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri 5 hewan uji. Hewan uji diberi pakan dan minum secara *ad libitum*, serta diberi larutan ekstrak secara oral pada hari ke-6 sampai hari ke-15. Dosis perlakuan pada penelitian ini berdasarkan dosis yang digunakan pada uji antiulcer yaitu: 0 mg/kg BB (kontrol plasebo), 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, 750 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB (Komunikasi pribadi Zakaria*, 2009). Ekstrak dilarutkan dalam 0,5 ml akuades untuk tiap pencekokan, dan dalam sehari dilakukan pencekokan sebanyak 1 kali (Lina, 2008).

3. Pemberian ekstrak daun talok

Pada hari ke-5 kebuntingan, semua mencit ditimbang satu persatu. Pemberian larutan ekstrak daun talok disesuaikan dengan berat mencit dan diberikan secara oral menggunakan spuit yang jarumnya telah diganti kanul.

*Zainul Amiruddin Zakaria, Ph.D, peneliti dari Fakultas Farmasi Universitas Teknologi MARA, Shah Alam, Selangor, Malaysia.

Pemberian perlakuan dilakukan pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kebuntingan (masa organogenesis), setelah itu mencit dipelihara sampai hari ke-18 (Widiyani dan Sagi, 2001).

4. Pembedahan mencit

Pada hari ke-18 hewan uji dibedah untuk diambil fetusnya. Sebelum dibedah mencit ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berat akhirnya, kemudian dieutanasi dengan cara dislokasi serviks (Santoso, 2004).

5. Pemeriksaan fetus

Fetus yang hidup dan mati ditimbang dan diukur panjang tubuhnya satu persatu. Setelah itu dihitung jumlah fetus yang mengalami resorpsi. Morfologi fetus juga diperiksa yang meliputi mata, telinga, ruas jari, tengkorak, ekor, dan lain-lain yang dianggap abnormal. Setelah diperiksa, semua fetus dimasukkan ke dalam larutan fiksasi alkohol 96% dan dibiarkan selama 3 hari (Widiyani dan Sagi, 2001).

6. Pembuatan Preparat *Wholemout* Fetus dan Pemeriksaan Skeleton

Setelah pemeriksaan luar, kemudian dilakukan pembuatan preparat *wholemout* fetus. Setelah fetus difiksasi dalam alkohol 96% selama 3 hari, dilanjutkan dengan viscerasi, yaitu membuang kulit, *viscera*, dan jaringan lemak. Proses ini dilakukan dengan hati-hati supaya ujung jari kuku dan ekor tidak terlepas atau berubah kedudukannya. Setelah itu fetus dimasukkan ke dalam aseton selama satu hari untuk melarutkan lemak. Pada hari ke-4 setelah fiksasi, fetus diwarnai dengan pewarna ganda *Alizarin red S* dan *Alcian blue* selama 1-3 hari pada suhu 37°C. Komposisi pewarna tersebut adalah *Alcian*

Blue 0,3% dalam alkohol 70% 1 bagian, *Alizarin red S* 0,1% dalam alkohol 96% 1 bagian, asam asetat glasial 1 bagian, dan alkohol 70% 1 bagian. Setelah pewarnaan, kemudian dicuci dengan air beberapa kali sampai bersih. Selanjutnya fetus dijernihkan dengan larutan KOH 1% dalam air selama 2 hari hingga jaringan yang membungkus skeleton menjadi transparan, dan yang berwarna hanya pada jaringan tulang. Tulang keras akan berwarna merah sedang tulang rawan akan berwarna biru. Fetus dipindahkan ke dalam larutan gliserin 20% dalam air yang mengandung KOH 1% selama 1-4 hari, kemudian diletakkan secara berturut-turut ke dalam gliserin 50% dan 80% dalam air, masing-masing selama 1 jam. Lalu disimpan dalam gliserin murni, kemudian dilakukan pengamatan (Inouye, 1976).

Sistem skeleton diamati strukturnya dengan menyinari lampu dari bagian belakang fetus, kemudian tulangnya diamati dengan menggunakan lup dari depan. Jumlah ruas tulang ekor, tulang belakang, tulang rusuk, dan tulang jari dihitung. Selain itu, diamati bentuk tulang dan hasil penulangannya.

7. Pemotretan fetus

Morfologi abnormal eksterna dan interna fetus diamati, kemudian didokumentasikan dengan menggunakan kamera digital.

D. Teknik Pengambilan Data

Data yang diambil meliputi data kuantitatif dan data kualitatif. Data kuantitatif diperoleh dengan melakukan pengamatan jumlah implantasi yang terdiri dari jumlah fetus yang hidup, jumlah fetus mati, jumlah resorpsi, berat dan

panjang fetus. Data kualitatif diperoleh dengan mengamati morfologi fetus dan sistem skeleton fetus (Rahayu dkk., 2005).

E. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan dan masing-masing perlakuan dengan 5 kali ulangan. Data kuantitatif (jumlah fetus hidup, jumlah fetus mati, jumlah resorpsi, berat fetus, panjang fetus) yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANAVA), jika ada perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5%. Data kualitatif yang diperoleh dianalisis secara deskriptif komparatif (Rahayu dkk., 2005).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak air daun talok yang diberikan pada mencit selama periode organogenesis pada hari ke-6 sampai ke-15 kehamilan dapat menyebabkan bermacam-macam abnormalitas eksterna dan interna pada fetus. Abnormalitas eksterna dalam penelitian ini diamati secara morfometri dengan melihat penampakan reproduksi induk mencit, yaitu dengan menghitung jumlah fetus hidup, jumlah kematian intrauterus (fetus mati dan resorpsi), mengukur berat badan dan panjang badan fetus, serta mengamati abnormalitas berupa hemoragi dan kelainan bentuk pada beberapa bagian tubuh. Adanya abnormalitas interna diamati pada struktur tulang dan hasil osifikasinya.

A. Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Talok terhadap Kematian

Intrauterus dan Morfometri Fetus Mencit

Pada hari ke-18 fetus dikeluarkan dengan cara bedah caesar, hewan uji tidak dibiarkan sampai melahirkan. Hal ini dimaksudkan untuk mencegah induk mencit memakan fetus yang cacat, mati, atau hampir mati sehingga dapat berpengaruh pada penghitungan data (Hutahean, 2002). Berdasarkan pengamatan diperoleh data dari tiap perlakuan seperti yang tercantum pada Tabel 1.

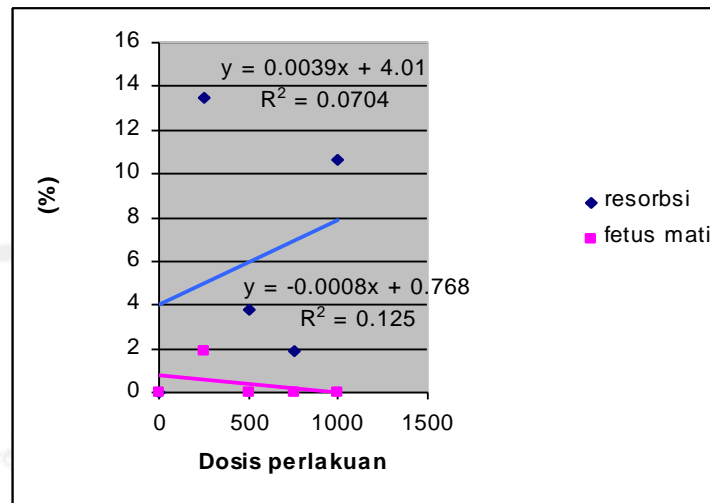
Tabel 1. Hasil pengamatan parameter reproduksi induk mencit (*M. musculus* L.) yang diberi ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) secara oral pada masa organogenesis.

No	Parameter	Dosis				
		0 mg/kg BB	250 mg/kg BB	500 mg/kg BB	750 mg/kg BB	1000 mg/kg BB
1.	Jumlah induk hamil	5	5	5	5	5
2.	Jumlah total implantasi	55	52	53	52	47
3.	Jumlah implantasi tiap induk (rata-rata)	11	10,4	10,6	10,4	9,4
4.	Jumlah dan persentase fetus hidup	55 (100%)	44 (84,62%)	50 (96,23%)	51 (98,08%)	42 (89,36%)
5.	Jumlah dan persentase kematian intrauterus					
	a. Resorbsi	0 (0%)	7 (13,46%)	2 (3,77%)	1 (1,92%)	5 (10,64%)
	b. Fetus mati	0 (0%)	1 (1,92%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
6.	Berat fetus rata-rata (g) ± SD	1,03 ± 0,149	0,84 ± 0,468	0,98 ± 0,126	1,01 ± 0,130	1,03 ± 0,064
7.	Panjang fetus rata-rata (cm) ± SD	2,23 ± 0,155	1,72 ± 0,960	2,13 ± 0,830	2,18 ± 0,077	2,12 ± 0,056

1. Kematian Intrauterus (Resorbsi dan Fetus Mati)

Kematian intrauterus terjadi di semua kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak air daun talok selama masa organogenesis. Pada dosis perlakuan 250 mg/kg BB sudah ditemukan adanya fetus mati dan resorbsi, sehingga dosis yang aman terhadap kematian intrauterus pada fetus mencit adalah di bawah dosis perlakuan terendah (250 mg/kg BB), sehingga untuk mengetahui dosis amannya masih perlu dilakukan pengujian lebih lanjut di bawah 250 mg/kg BB. Pengamatan kematian intrauterus meliputi adanya resorbsi dan fetus mati. Morfologi fetus mati dan resorbsi dapat dilihat pada

Gambar 4. Berdasarkan hasil analisis varian pada taraf signifikansi 5% tidak terdapat perbedaan yang signifikan untuk persentase jumlah fetus mati dan resorpsi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (Lampiran 1).

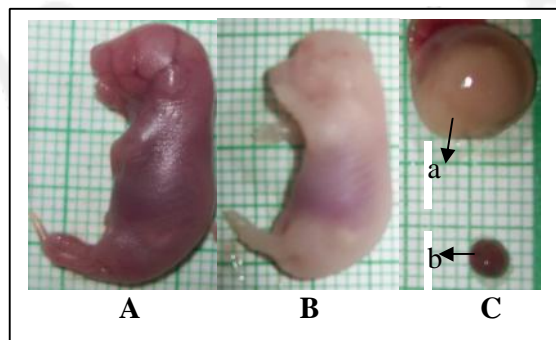


Gambar 3. Kurva persentase kematian intrauterus setelah induk mencit diberi ekstrak air daun talok secara oral pada masa organogenesis.

Pada penelitian ini resorpsi terjadi pada semua kelompok perlakuan dengan ekstrak air daun talok. Resorpsi ditandai dengan adanya gumpalan berwarna merah yang tidak merespon bila disentuh atau gumpalan berwarna kuning kecoklatan yang menunjukkan terjadinya resorpsi tingkat lanjut. Implantasi yang menunjukkan adanya ciri-ciri fetus tetapi mengalami autolisis digolongkan sebagai fetus yang diresorpsi pada tingkat lanjut (*late resorption*) (Gambar 4.C.a), sedangkan implantasi yang tidak menunjukkan adanya karakteristik fetus digolongkan pada fetus yang mengalami resorpsi dini (*early resorption*) (Gambar 4.C.b) (Hutahean, 2002). Resorpsi adalah manifestasi dari kematian hasil konsepsi (Lu, 1995), yang dapat terjadi akibat kesalahan

morfologi dengan berbagai cacat tubuh yang berakhir dengan kematian (Rugh, 1968).

Jika resorpsi ditemukan pada semua kelompok perlakuan, fetus mati hanya ditemukan pada kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB. Fetus yang dikategorikan fetus mati apabila fetus berkembang penuh dan tidak ada tanda-tanda autolisis tetapi tidak merespon sentuhan (Hutahean, 2002). Pada penelitian ini, fetus mati ditemukan dalam kondisi cacat *exencephaly*. Warna fetus terlihat pucat dan tidak bergerak ketika disentuh, otak fetus kelihatan dari luar karena tidak ada adanya tulang pelindung otak (neurokranium), massa otak hanya diselimuti oleh suatu selaput tipis. Menurut Lu (1995), suatu teratogen dapat menyebabkan aberasi, yaitu cacat morfologi meliputi struktur luar dan dalam serta kelainan fungsional. Cacat *exencephaly* termasuk dalam aberasi anomali mayor karena dapat mengganggu kelangsungan hidup, pertumbuhan, perkembangan, kesuburan, dan panjang usia hewan. Hal ini terbukti dengan fetus yang mengalami cacat *exencephaly* ditemukan dalam kondisi mati (Gambar 4.B).



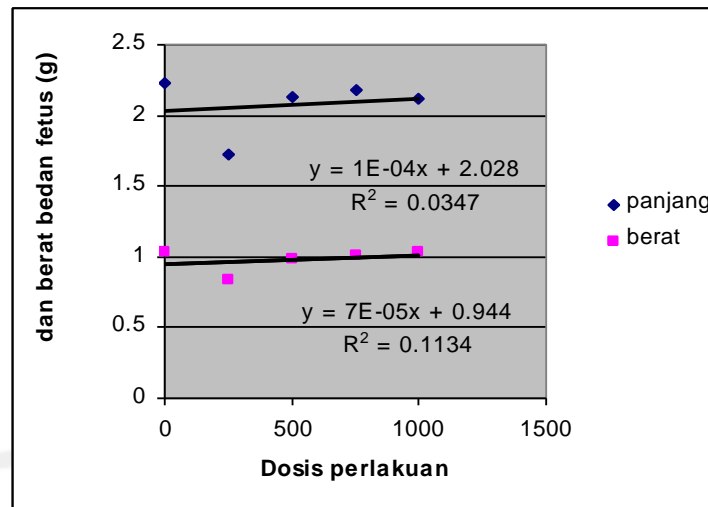
Gambar 4. Morfologi fetus *M. musculus* L. setelah pemberian ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) pada masa organogenesis. (A). Fetus hidup; (B). Fetus mati dengan kelainan *exencephaly* dari kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB; (C). Resorpsi, (a). *late resorption*, (b). *Early resorption*

Salah satu penyebab terganggunya perkembangan embrio yaitu belum sempurnanya fungsi organ-organ yang berperan dalam metabolisme dan ekskresi pada embrio sehingga menyebabkan zat-zat kimia bertahan lebih lama dan kadarnya lebih tinggi (Rugh, 1968). Menurut Goldstein *et al.* (1974) dalam Lina (2008), zat teratogen dengan dosis tinggi yang diberikan pada awal perkembangan embrio akan menyebabkan kematian yang diikuti aborsi atau pada rodentia menyebabkan resorpsi. Pada penelitian ini adanya fetus yang diresorpsi dan fetus mati mungkin disebabkan oleh adanya senyawa sitotoksik yang terkandung dalam daun talok. Senyawa-senyawa sitotoksik yang terkandung dalam daun talok diantaranya adalah *chrysin*, *2', 4'-dihydroxychalcone*, *galangin 3, 7-dimethyl ether*, *(2S)-5'-hydroxy-7,3,4<-trimethoxyflavanone*, *4'-hydroxy-7-methoxyflavanone*, *2',4'-dihydroxychalcone*, dan *2',4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone* (Nshimo *et al.*, 1993; Jung *et al.*, 2005). Selain itu, menurut hasil penelitian Zakaria (2007c) flavonoid, tanin, saponin, dan triterpen yang terkandung dalam daun talok juga menunjukkan adanya aktivitas antikanker melawan sel MCF-7 dan HT-29 dengan adanya gangguan pada siklus sel dan menyebabkan kematian sel. Kuersetin yang terkandung dalam daun talok kemungkinan juga menjadi penyebab terjadinya resorpsi dan kecacatan fetus yang menimbulkan kematian, karena menurut hasil penelitian Vidyalakshmi *et al.* (2007) kuersetin menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik dan antimitotik. Fetus yang mati maupun resorpsi terjadi karena sel-sel yang mengalami kerusakan akibat pengaruh paparan oleh ekstrak air daun talok tidak dapat mengalami *recovery*,

karena kemampuan embrio atau fetus untuk mengadakan perbaikan kembali pada sel-selnya yang rusak mempengaruhi tingkat kemampuan fetus untuk bertahan hidup. Kepekaan masing-masing individu dalam merespon zat asing juga mempengaruhi kemampuan fetus untuk bertahan hidup (Lina, 2008).

2. Berat dan Panjang Badan Fetus

Berat dan panjang fetus merupakan salah satu parameter yang penting untuk diamati dalam penelitian teratogenik. Menurut Wilson (1973), penurunan berat dan panjang badan fetus merupakan bentuk teringan dari suatu efek senyawa yang bersifat teratogenik. Berat dan panjang badan merupakan parameter yang cukup sensitif untuk mengetahui pengaruh senyawa asing terhadap pertumbuhan fetus. Menurut Ritter (1977) dalam Lina (2008), teratogen dosis rendah mengakibatkan kematian beberapa sel atau dapat pula terjadi pergantian sel, karena sel fetus mempunyai kemampuan regenerasi yang tinggi sehingga fetus normal morfologinya tetapi berukuran kecil. Apabila satu atau sekelompok sel rusak oleh gangguan agensia toksis, sel-sel sehat di sekitarnya dapat membelah dan menggantikan posisi serta peran sel yang rusak tadi. Penggantian sel fetus akan dipertahankan selama masa organogenesis agar terjadi morfologi yang normal. Apabila gagal atau tidak mencapai target pada organogenesis akan menyebabkan kecacatan atau malformasi.



Gambar 5. Kurva rata-rata berat dan panjang badan fetus mencit (*M. musculus L.*) setelah induknya diberi ekstrak air daun talok (*M. calabura L.*) secara oral selama masa organogenesis.

Berdasarkan analisis varian pada taraf signifikansi 5%, data rata-rata berat badan fetus dan panjang badan fetus tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (Lampiran 1). Akan tetapi, kelompok perlakuan dengan ekstrak air daun talok menunjukkan adanya penurunan berat dan panjang badan fetus apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 1 dan Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun talok yang diberikan pada masa organogenesis dapat menurunkan berat dan panjang badan fetus meskipun tidak signifikan. Berdasarkan grafik (Gambar 5) dapat diketahui adanya garis *trendline* yang menunjukkan kecenderungan adanya kenaikan berat dan panjang badan fetus seiring dengan kenaikan dosis, meskipun garis tersebut tidak menunjukkan adanya kenaikan yang signifikan. Selain itu, dari grafik tersebut juga dapat diketahui besarnya R^2 dari populasi data berat dan panjang badan fetus yang

tergolong rendah, yaitu 0.1134 dan 0.0347, karena besarnya nilai R^2 berkisar antara 0-1. Hal itu disebabkan karena data berat dan panjang badan fetus yang cenderung fluktuatif. Adanya data berat dan panjang badan fetus yang fluktuatif kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid, triterpen, saponin, dan tanin pada ekstrak daun talok yang selain berkhasiat sebagai antikanker (bersifat sitotoksik dan menyebabkan gangguan pada siklus sel), senyawa-senyawa tersebut juga bersinergi untuk menghasilkan efek antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan sel yang bisa berakibat pada kematian sel atau gangguan terhadap fungsi sel (Zakaria, 2007e), sehingga memungkinkan sel-sel embrio melakukan proses perbaikan kembali (*recovery*) ketika terkena efek toksik dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun talok. Menurut hasil penelitian Hosseini *et al.* (2009), pemberian suplemen antioksidan pada kultur embrio *bovine* (keluarga sapi) selama 8 hari dapat meningkatkan rata-rata *cleavage* dan produksi *blastocyst* pada hari ke-7 dan hari ke-8. Jadi, pemberian antioksidan dapat meningkatkan kesempatan semua sel embrio untuk berkembang dengan kualitas yang sama. Adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak air daun talok kemungkinan juga dapat meningkatkan kemampuan sel-sel embrio mencit untuk terus tumbuh dan berkembang.

B. Morfologi Fetus yang Mengalami Abnormalitas Eksterna setelah Pemberian Ekstrak Air Daun Talok

Terjadinya abnormalitas pada fetus dapat disebabkan masuknya zat teratogen ke dalam tubuh induk hamil ketika embrio sedang berada pada periode organogenesis. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun talok dapat menimbulkan abnormalitas fetus karena pada kelompok perlakuan ditemukan beberapa abnormalitas. Abnormalitas yang ditemukan dalam penelitian ini adalah tubuh bongkok (fleksi), tubuh kerdil, hemoragi, dan *exencephaly*. Persentase terjadinya abnormalitas eksterna pada fetus setelah pemberian ekstrak air daun talok secara oral pada masa organogenesis dapat dilihat pada Tabel 2.

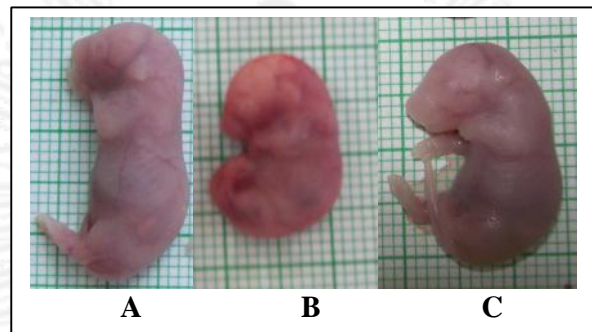
Tabel 2. Hasil pengamatan abnormalitas eksterna pada fetus setelah induknya diberi ekstrak air daun talok secara oral pada masa organogenesis.

Jenis abnormalitas eksterna	Dosis				
	0 mg/kg BB	250 mg/kg BB	500 mg/kg BB	750 mg/kg BB	1000 mg/kg BB
Jumlah fetus	55	52	53	52	47
Tubuh bongkok	-	3 (5,77%)	1 (1,89%)	2 (3,85%)	5 (10,64%)
Tubuh kerdil	-	-	1 (1,89%)	-	1 (2,13%)
<i>Exencephaly</i>	-	1 (1,92%)	-	-	-
Hemoragi	-	2 (3,85%)	3 (5,66%)	-	-

1. Tubuh Bongkok (Fleksi)

Abnormalitas berupa tubuh bongkok kemungkinan disebabkan oleh kelainan bentuk tulang atau adanya gangguan pada pertumbuhan tulang *vertebrae*. Kelainan ini dapat ditemukan pada semua kelompok perlakuan kecuali pada kelompok kontrol. Adanya gangguan pembelahan sel tulang pada

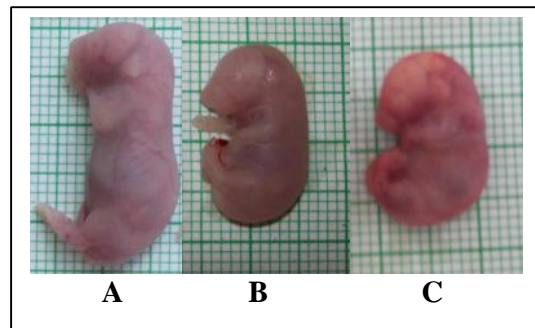
daerah *vertebrae* akibat aktivitas antimitotik senyawa saponin, flavonoid dan kuersetin, serta kematian beberapa sel penyusun *vertebrae* akibat aktivitas senyawa sitotoksik dan kuersetin yang terkandung dalam ekstrak air daun talok diduga mengakibatkan kecepatan pertumbuhan tulang tidak sama sehingga tulang menjadi bengkok. Kelainan ini juga dapat disebabkan oleh adanya tekanan mekanik yang berupa kontraksi otot polos uterus sehingga arah pertumbuhan berubah (Sarwono, 1984). Morfologi fetus dengan kelainan berupa tubuh bongkok dapat dilihat pada Gambar 6. B dan C.



Gambar 6. Morfologi fetus dengan kelainan berupa tubuh bongkok setelah induknya diberi ekstrak air daun talok secara oral pada masa organogenesis.
(A). Fetus normal
(B) dan (C). Fetus dengan kelainan tubuh bongkok atau fleksi

2. Tubuh Kerdil

Kelainan tubuh kerdil ditemukan pada kelompok perlakuan dengan dosis 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB (Gambar 7. B dan C). Panjang badan fetus normal pada usia kehamilan 17 hari rata-rata 19,31 mm dan pada usia kehamilan 18 hari panjangnya 20-23 mm (Kaufman, 1992). Fetus dengan kelainan tubuh kerdil pada penelitian ini adalah fetus pada usia kehamilan 18 hari yang mempunyai panjang badan kurang dari 19 mm.



Gambar 7. Morfologi fetus dengan kelainan berupa tubuh kerdil setelah induknya diberi ekstrak air daun talok secara oral pada masa organogenesis.

A). Fetus normal; B). Fetus kerdil dari kelompok perlakuan dosis 1000 mg/kg BB; C). Fetus kerdil dari kelompok perlakuan dosis 500 mg/kg BB.

Menurut Herbold (1985) dalam Lina (2008), tubuh kerdil kemungkinan disebabkan oleh perkembangan dan pertumbuhan sel-sel tubuh yang terhambat karena pembelahan sel terganggu, sehingga sintesis asam nukleat dan protein terganggu, serta sel-sel yang rusak tidak dapat diperbaiki. Pertumbuhan fetus terjadi karena proliferasi sel dengan jalan mitosis, kecepatan proliferasi merupakan fungsi kecepatan pertumbuhan. Masuknya agen asing ke dalam fetus mengakibatkan proliferasi terhambat, dan menyebabkan pertumbuhan menjadi lambat, akibatnya fetus menjadi berukuran kecil (Ekawati dkk., 2002). Pada penelitian ini adanya fetus yang mengalami hambatan pertumbuhan (kerdil) kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa sitotoksik yang terkandung dalam daun talok, adapun senyawa-senyawa sitotoksik tersebut adalah *chrysin*, *2', 4'-dihydroxychalcone*, *galangin 3, 7-dimethyl ether*, *(2S)-5'-hydroxy-7,3',4'- trimethoxyflavanone*, *4'-hydroxy-7- methoxyflavanone*, *2',4'- dihydroxychalcone*, dan *2',4'- dihydroxy-3'- methoxychalcone* (Nshimo *et al.*, 1993; Jung *et al.*, 2005). Menurut hasil penelitian Zakaria (2007c), ekstrak air daun talok yang

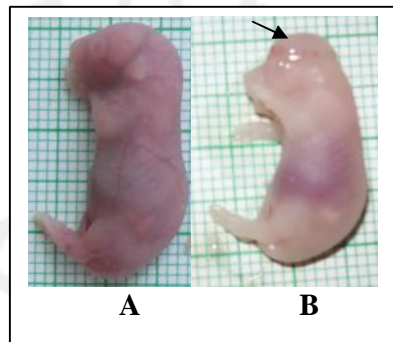
mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan menunjukkan aktivitas antikanker melawan sel MCF-7 dan HT-29 dengan adanya gangguan pada siklus sel yang menghambat terjadinya mitosis dan proliferasi sel, serta menyebabkan kematian sel. Selain itu, daun talok juga mengandung kuersetin yang juga menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik dan antimitotik (Vidyalakshmi *et al.*, 2007). Adanya gangguan pembelahan sel dan terjadinya kematian sel pada fetus diduga menjadi penyebab terhambatnya pertumbuhan fetus sehingga ukuran tubuhnya menjadi lebih kecil daripada fetus normal.

3. *Exencephaly*

Kelainan berupa *exencephaly* terjadi pada kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB. *Exencephaly* adalah salah satu jenis malformasi, yang mana fetus tidak mempunyai kulit kepala dan *calvarium*. Massa *cerebral* dilindungi oleh suatu membran yang tipis, sehingga otak tidak terorganisasi dan jaringan saraf tumbuh keluar (Larroche *and* Razavi, 1997). Fetus dengan kelainan ini ditemukan dalam keadaan mati ketika induknya dibedah. Fetus dengan bentuk kelainan berupa *exencephaly* ini dapat dilihat pada Gambar 8.B.

Tulang tengkorak yang membentuk pelindung di sekitar otak disebut neurokranium. Neurokranium terdiri dari bagian membranosa yang terdiri atas tulang-tulang pipih yang mengelilingi otak sebagai suatu kubah, serta bagian kartilaginosa atau kondrokranium yang membentuk tulang-tulang dasar tengkorak (Sadler, 2000). Fetus dengan kelainan *exencephaly* ini diduga akibat adanya gangguan pembelahan pada sel osteoprogenitor yang merupakan sel mesenkim, yaitu populasi sel induk yang memiliki daya mitotik tinggi. Sel

osteoprogenitor membentuk osteoblas yang berfungsi mensintesis dan mensekresi unsur organik dari matriks ekstrasel tulang baru (osteoid), dan membentuk osteosit yang berfungsi mempertahankan matriks tulang. Tulang neurokranium membranosa (sebagai pelindung otak di bagian atas) dibentuk melalui peletakan tulang di dalam jaringan mesenkim primitif, dengan cara penggantian mesenkim secara langsung dengan tulang (Burkitt dkk., 1995). Adanya senyawa flavonoid dan saponin yang mempunyai aktivitas antikanker dengan cara menyebabkan gangguan terhadap siklus sel, serta senyawa kuersetin yang juga mempunyai aktivitas antimitotik kemungkinan sebagai penyebab terganggunya proses mitosis sel osteoprogenitor sehingga mengakibatkan tulang neurokranium membranosa tidak dapat terbentuk.



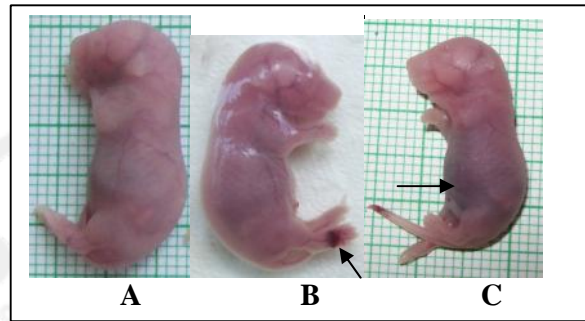
Gambar 8. Morfologi fetus dengan kelainan *exencephaly* setelah induknya diberi ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) secara oral pada masa organogenesis. (A). Fetus normal; (B). Fetus *exencephaly* dari kelompok perlakuan dosis 500 mg/kg BB; (→) Menunjukkan adanya kelainan *exencephaly* (otak kelihatan dari luar karena tidak adanya tulang yang melindungi, massa otak hanya dilindungi oleh selaput tipis).

4. Hemoragi

Kelainan pada fetus berupa hemoragi terdapat pada kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Hemoragi merupakan

kelainan berupa bercak-bercak darah yang terdapat di bawah kulit. Hemoragi atau perdarahan sebenarnya adalah suatu peristiwa keluarnya darah dari sistem kardiovaskuler yang disertai dengan penimbunan di dalam ruangan tubuh atau di dalam jaringan tubuh (Prince *and* Wilson, 1984 dalam Widiyani dan Sagi, 2001). Ada beberapa mekanisme yang memungkinkan terjadinya perdarahan, salah satu diantaranya adalah akibat ketidakseimbangan osmotik, karena adanya gangguan tekanan dan viskositas cairan pada bagian fetus yang berbeda yaitu antara plasma darah dan ruang ekstra kapiler atau cairan ekstraembrionik dan intraembrionik. Pada keadaan normal, embrio berkembang dalam amnion yang isotonis terhadap cairan tubuh. Adanya senyawa asing kemungkinan dapat mengganggu keseimbangan osmotik tersebut (Wilson, 1973). Senyawa saponin dan triterpen berpengaruh terhadap permeabilitas membran sel. Peningkatan permeabilitas membran sel dapat menyebabkan cairan elektrolit di luar sel akan mudah masuk ke dalam sel, akibatnya sel akan membengkak dan mudah pecah. Permeabilitas membran sel telur dan embrio juga dapat menyebabkan pengkerutan membran sehingga integritas membran akan menurun (Wurlina, 2006). Pada penelitian ini, adanya saponin dan triterpen pada daun talok diduga juga dapat meningkatkan permeabilitas membran dan penurunan integritas membran sel fetus sehingga senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak air daun talok dapat masuk ke dalam sel fetus yang mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan osmotik. Akibatnya, terjadi gangguan tekanan dan viskositas cairan pada bagian fetus yang berbeda yaitu antara plasma darah dan ruang ekstra kapiler

atau cairan ekstraembrionik dan intraembrionik sehingga menimbulkan adanya kelainan hemoragi. Contoh fetus yang mengalami kelainan hemoragi dapat dilihat pada Gambar 9. B dan C.



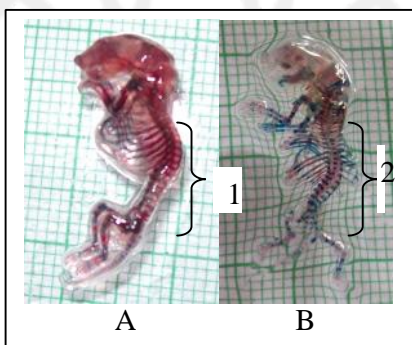
Gambar 9. Morfologi fetus dengan kelainan hemoragi setelah induknya diberi ekstrak air daun talok (*M. calabura* L.) secara oral pada masa organogenesis. (A). Fetus normal; (B). Fetus dengan kelainan hemoragi pada kaki; (C). Fetus dengan kelainan hemoragi pada perut. (→) menunjukkan adanya kelainan hemoragi.

C. Morfologi Tulang Fetus yang Mengalami Malformasi setelah Pemberian Ekstrak Air Daun Talok

Abnormalitas interna mencit yang diamati adalah kelainan perkembangan skeleton. Kelainan penulangan atau osifikasi ini dapat diamati setelah fetus dibuat preparat *wholemout* dengan metode pewarnaan ganda menurut Inouye (1976), bagian tulang keras akan berwarna merah sedangkan tulang rawan akan berwarna biru. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan skeleton aksial yang meliputi *cranium*, *vertebrae*, dan *sternebrae*, sedangkan skeleton apendikular meliputi *cingulum pectorals*, *cingulum pelvicales*, dan ekstremitas. Menurut Anderson and Conning (1988) dalam Widiyani dan Sagi (2001) ada tiga tolok ukur untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan skeleton yaitu:

1. Jumlah komponen skeleton dan tingkat osifikasinya
2. Ada tidaknya atau sempurna tidaknya osifikasi
3. Ada tidaknya kelainan dalam pembentukan skeleton

Berdasarkan hasil pengamatan pada jumlah komponen rangka aksial hanya terdapat satu perbedaan yang mencolok dengan kelompok kontrol, yaitu tidak adanya tulang neurokranium pada fetus dengan kelainan *exencephaly*. Selain itu, terdapat keterlambatan penulangan pada tulang penyusun *cranium* di semua kelompok perlakuan dengan ekstrak air daun talok. Hambatan penulangan pada tulang penyusun *cranium* dapat membahayakan kehidupan fetus selanjutnya karena *cranium* berfungsi sebagai pelindung sistem saraf pusat (otak), seperti yang terjadi pada fetus dengan kelainan *exencephaly* yang ditemukan dalam keadaan mati. Pada penelitian ini, adanya kelainan pertumbuhan tulang atau terjadinya keterlambatan proses penulangan terdapat pada semua kelompok perlakuan dengan ekstrak air daun talok. Berdasarkan hal tersebut dapat kita ketahui bahwa dosis ekstrak air daun talok yang aman terhadap pertumbuhan tulang fetus mencit adalah di bawah 250 mg/kg BB (dosis terendah pada perlakuan).

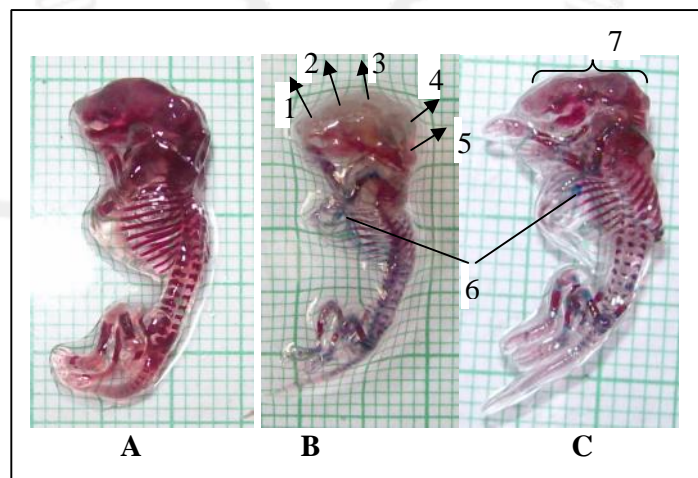


Gambar 10. Tulang fetus yang mengalami kelainan tubuh bongkok (Fleksi)
(1). Fleksi kifosis pada daerah *vertebrae lumbalis*
(2). Hambatan penulangan pada tulang-tulang *vertebrae*

Kelainan berupa badan bongkok (fleksio) kemungkinan karena tulang pada *columna vertebralis* pertumbuhannya terganggu. *Columna vertebralis* terdiri dari *vertebrae cervicalis*, *vertebrae thoracalis*, *vertebrae lumbalis* (*vertebrae sacralis*), dan *vertebrae caudalis*. Kelainan pada *vertebrae* dapat disebabkan oleh tiga kemungkinan yaitu gangguan pada somit, gangguan terhadap *chorda dorsalis* atau gangguan terhadap sklerotom. Gangguan terhadap migrasi sel-sel mesenkim pada waktu pembentukan *vertebrae* juga menyebabkan kelainan terhadap *centrum vertebrae* (Loegito dkk., 1995 dalam Ekawati, 2002). Penulangan fetus yang mengalami kelainan tubuh bongkok (fleksio) dapat dilihat pada Gambar 10. Dari Gambar 10. (A) menunjukkan bahwa tubuh bongkok disebabkan oleh terjadinya fleksi kifosis pada daerah *vertebrae lumbalis*, sedangkan dari Gambar 10. (B) menunjukkan bahwa tubuh bongkok disebabkan oleh hambatan penulangan pada tulang-tulang *vertebrae*.

Berdasarkan hasil pengamatan, hambatan penulangan ditunjukkan dengan warna biru atau putih bening pada kelompok perlakuan yang menunjukkan tulangnya masih berupa tulang rawan dan warna merah pada preparat yang menunjukkan penulangan normal. Pada rangka fetus dari kelompok perlakuan dengan dosis 250 mg/kg BB menunjukkan tidak tumbuhnya tulang neurokranium membranosa yang berfungsi sebagai pelindung otak, sehingga fetus mengalami kelainan *exencephaly*. Fetus lainnya yang tidak mengalami kelainan *exencephaly* mengalami hambatan penulangan pada tulang penyusun *cranium*, yaitu *os-nasal*, *os-frontal*, *os-parietal*, *os-interparietal*, dan *os-supraoccipital*. Selain hambatan penulangan pada daerah *cranium*, juga terdapat hambatan

penulangan pada daerah *sternebrae*, yaitu pada *os-centrum sternebrae* (Gambar 11). Pada kelompok dosis perlakuan 500 mg/kg BB juga terdapat hambatan penulangan pada tulang-tulang penyusun cranium (*os-nasal*, *os-frontal*, *os-parietal*, *os-interparietal*, dan *os-supraoccipital*) dan *os-centrum sternebrae*. Selain itu juga terdapat hambatan penulangan pada tulang ekstremitas anterior dan posterior, *costae*, dan *vertebrae lumbalis* (Gambar 12). Seperti yang terjadi pada 2 kelompok perlakuan sebelumnya, kelompok perlakuan dosis 750 mg/kg BB juga terlihat adanya hambatan penulangan pada daerah *cranium* yaitu pada *os-frontal*, *os-parietal*, dan *os-interparietal* (Gambar 13). Pada kelompok perlakuan dosis 1000 mg/kg BB juga terlihat adanya hambatan penulangan pada tulang penyusun *cranium*, yaitu pada *os-nasal*, *os-frontal*, *os-parietal*, *os-interparietal*, dan *os-supraoccipital* (Gambar 14).



Gambar 11. Perbandingan tulang kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB.

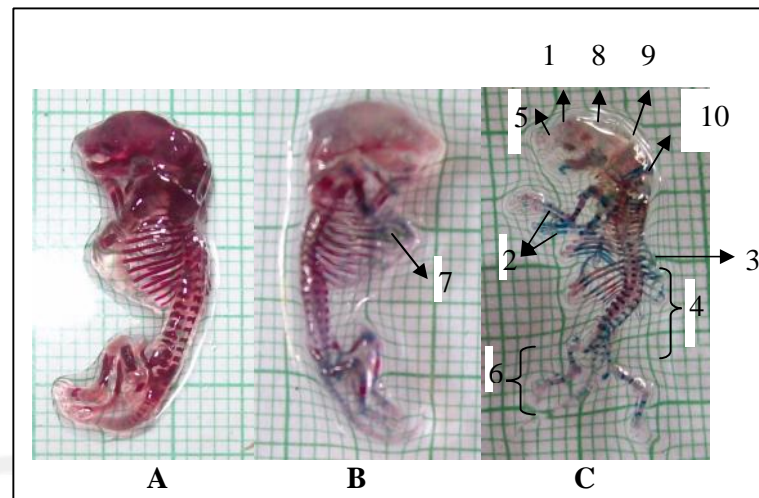
(A). Tulang fetus dari kelompok kontrol

(B) dan (C). Tulang fetus kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB

Hambatan penulangan pada:

(1). *Os-nasal*; (2). *Os-frontal*; (3). *Os-parietal*; (4). *Os-interparietal*; (5). *Os-supraoccipital*; (6). *Os-centrum sternebrae*

(7). Tidak tumbuhnya tulang neurokranium membranosa pada fetus yang mengalami kelainan *exencephaly*



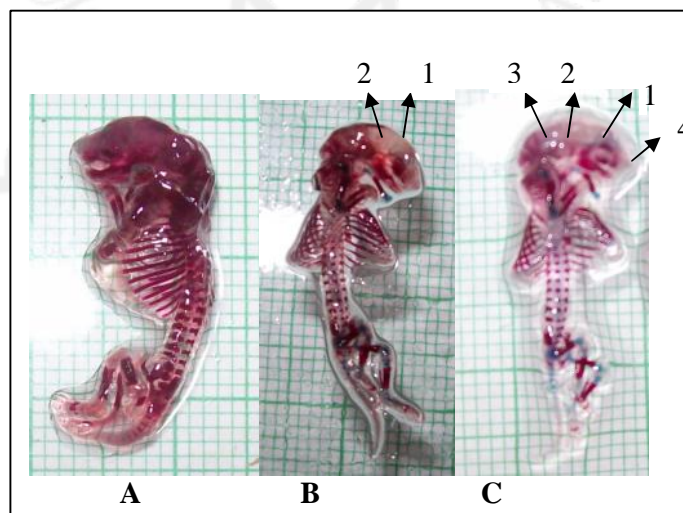
Gambar 12. Perbandingan tulang kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis 500 mg/kg BB.

(A). Tulang kelompok kontrol

(B) dan (C). Tulang kelompok perlakuan dosis 500 mg/kg BB

Hambatan penulangan pada:

(1). *Os-frontal*; (2). Ekstremitas anterior; (3). *Ribs*; (4). *Vertebrae lumbalis*; (5). *Os-nasal* (6). Ekstremitas posterior; (7). *Os-centrum sternebrae*; (8). *Os-parietal*; (9). *Os-interparietal*; (10). *Os-supraoccipital*.



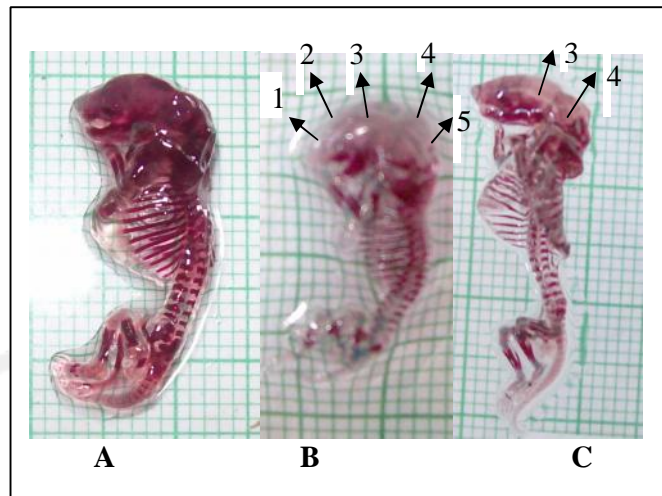
Gambar 13. Perbandingan tulang kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis 750 mg/kg BB.

(A). Tulang fetus dari kelompok kontrol

(B) dan (C). Tulang fetus dari kelompok perlakuan dosis 750 mg/kg BB.

Hambatan penulangan pada:

(1). *Os-frontal*; (2). *Os-parietal*; (3). *Os-interparietal*; (4). *Os-nasal*



Gambar 14. Perbandingan tulang kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis 1000 mg/kg BB.

(A). Tulang fetus dari kelompok kontrol

(B) dan (C). Tulang fetus dari kelompok perlakuan dosis 1000 mg/kg BB

Hambatan penulangan pada:

(1). *Os-nasal*; (2) *Os-frontal*; (3). *Os-parietal*; (4). *Os-interparietal*;

(5). *Os-supraoccipital*

Tulang merupakan salah satu jaringan terkeras di dalam tubuh. Sebagai unsur utama kerangka tubuh, tulang menyokong struktur-struktur berdaging, melindungi organ-organ vital yang terdapat di dalam rongga tengkorak dan dada, serta mengandung sumsum tulang sebagai tempat pembentukan sel darah (Junqueira, 1997). Komponen ekstrasel tulang mengalami mineralisasi, sehingga memberi sifat kekakuan dan kekuatan. Seperti jaringan penyambung atau penyokong lain, tulang terdiri atas sel dan matriks ekstrasel organik yang mengandung substansi dasar proteoglikans dan serat kolagen. Tulang kompak terdiri atas 70% garam anorganik dan 30% matriks organik. Kolagen merupakan penyusun unsur organik lebih dari 90%, sisanya adalah substansi dasar proteoglikan dan sekelompok molekul non kolagen yang terlibat dalam pengendalian mineralisasi tulang. Komponen mineral tulang terutama terdiri atas

kalsium dan fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit. Mereka ini terikat pada sedikit magnesium karbonat, ion natrium dan kalsium (Burkitt dkk., 1995).

Perkembangan tulang fetal terjadi melalui dua cara, keduanya melibatkan pergantian jaringan penyokong kolagen primitif dengan tulang. Tulang anyaman yang dihasilkan kemudian mengalami remodeling luas melalui resorpsi dan pertumbuhan aposisional dan membentuk kerangka dewasa yang tersusun dari tulang berlamel. Sesudah itu terjadi resorpsi dan peletakan tulang dengan kecepatan jauh lebih lambat untuk menyesuaikan diri terhadap perubahan tekanan fungsional dan mengadakan homeostasis kalsium. Tulang-tulang panjang, vertebra, pelvis, dan tulang-tulang basis kranii didahului oleh pembentukan model tulang rawan yang tumbuh terus, secara progresif diganti dengan tulang. Tulang dari atap tengkorak, maksila, dan sebagian mandibula dibentuk melalui peletakan tulang di dalam jaringan mesenkim primitif, melalui proses penggantian mesenkim secara langsung dengan tulang (Burkitt, 1995).

Sel-sel yang terdapat dalam tulang ada tiga tipe, osteoblas, osteosit, dan osteoklas. Osteoblas dan osteosit berkembang dari sel jenis mesenkim yang disebut osteoprogenitor. Sel osteoprogenitor merupakan populasi sel induk yang memiliki daya mitotik tinggi. Sel osteoprogenitor membentuk osteoblas yang berfungsi mensintesis dan mensekresi unsur organik dari matriks ekstrasel tulang baru (osteoid), dan membentuk osteosit yang berfungsi mempertahankan matriks tulang (Burkitt dkk., 1995). Menurut Zakaria (2007c) ekstrak daun talok mempunyai aktivitas antikanker karena kandungan flavonoid, triterpen, dan saponin. Flavonoid diketahui dapat mengganggu siklus sel dengan cara

menahannya pada fase G1/S dan menginduksi penghambat aktivitas *cyclin dependent kinase* (CDK), sedangkan saponin mengganggu siklus sel dengan mengurangi jumlah sel pada fase G0/G1. Daun talok juga mengandung kuersetin (kelompok flavonoid flavonol) yang juga mempunyai aktivitas antimitotik (Vidyalakshmi, 2007; Sulistyowati, 2009). Adanya senyawa-senyawa tersebut diduga juga dapat mengganggu pembelahan sel osteoprogenitor, sehingga menyebabkan proses osifikasi menjadi terhambat. Terjadinya hambatan penulangan kemungkinan juga disebabkan oleh adanya senyawa tanin dalam ekstrak air daun talok, karena menurut hasil penelitian Chang *et al.* (1994) pemberian tanin *cowpea* dan tanin teh pada pakan tikus yang mengandung nutrisi seimbang selama 11-18 hari menunjukkan adanya penurunan penyerapan kalsium yang nyata pada pakan yang mengandung tanin *cowpea* pada dosis tengah dan tinggi, serta pada pakan yang mengandung tanin teh pada semua level dosis. Apabila penyerapan kalsium oleh induk berkurang, maka bisa berakibat suplai kalsium dari induk ke fetus akan berkurang juga sehingga bisa mengakibatkan gangguan penulangan.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Hasil penelitian efek teratogenik ekstrak air daun talok terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak air daun talok pada semua perlakuan mampu menurunkan persentase fetus hidup, rata-rata panjang badan dan berat badan fetus, serta menimbulkan abnormalitas morfologi eksterna dan interna pada fetus mencit.
2. Kenaikan dosis ekstrak tidak berpengaruh terhadap peningkatan hambatan pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit.

B. Saran

1. Masyarakat hendaknya berhati-hati dalam penggunaan daun talok sebagai obat tradisional pada masa kehamilan, supaya janin yang dikandung terhindar dari kematian dan malformasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi teratogen daun talok secara histologis dan juga dilakukan hal yang sama pada spesies lain, sehingga dapat diketahui toksisitas tanaman ini secara lengkap serta dosis amannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. *Kersen*. <http://id.wikipedia.org/> [21 Januari 2009].
- Ariens, E. J., E. Mutschler, dan A. M. Simonis. 1994. *Toksikologi Umum Pengantar*. Diterjemahkan oleh: Yoke R. Wattimena, Mathilda B. Widiyanto dan Elin Y. Sukandar. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Astirin, O.P, A. Dwisetyawan, dan Isdaryanto. 1999. Teratogenesitas Embrio Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Laporan Penelitian Dose Muda*. Jurusan Biologi F MIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Azevedo, W.F.D., H.J.M. Dieckmann, U.S. Gahmen, P.J. Worland, E. Sausville, and S.H. Kim. 1996. Structural Basis for Specificity and Potency of a Flavonoid Inhibitor Human CDK₂, a Cycle Cell Kinase. *Biochemistry* 93: 2735-2740.
- Blagosklonny, M.V. 2005. Teratogens as Anti-cancer Drugs. *Cell cycle* 4 (11): 1518-1521.
- Burkitt, H. G., B. Young, dan J. W. Heath. 1995. *Histologi Fungsional Edisi 3*. Diterjemahkan oleh: Jan Tambajong. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Chang, M.-C.J, J.W Bailey, and J.L. Collins. 1994. Dietary Tannins From Cowpeas and Tea Transiently Alter Apparent Calcium Absorption But Not Absorption and Utilization of Protein In Rats. *The Journal Nutrition* 124 (2): 283-288.
- Chaube, S. and M.L. Murphy. 1966. The Effects of Hydroxyurea and Related Compounds on the Rat Fetus. *Cancer Research* 26(1): 1448-1457.
- Datu, A.R. 2005. Cacat Lahir Disebabkan Oleh Faktor Lingkungan. *J. Med. Nus.* 26 (3): 210-215.
- Ekawati, R., Sutarno, dan T. Widiyani. 2002. Struktur dan Perkembangan Embrio Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar setelah Pemberian Radiasi Sinar-X. *Enviro* 2 (2):19-25.
- Florida, H.B., J.C. Saplan, and R.P.Arcilla. 1991. Reforestation Species. *Research Information Series on Ecosystem* 3 (4): 1-15.
- Greenpeace International. 2009. *Planting Indigenous Trees Protects Livelihoods*. www.farmingsolutions.org/.../stories.asp?id=159 [22 Oktober 2009].

- Herman, M.J. dan D. Mutiatikum. 2008. *Efek Teratogenik-Dismorfogenik Masalah Akibat Penggunaan Obat dalam Kehamilan*. http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/11_EfekTeratogenik.pdf/11_EfekTeratogenik.html [7 Agustus 2008].
- Hidayati, R.S. 2000. *Embryologi dan Teratologi*. UNS Press, Surakarta.
- Hosseini, S.M., M. Forouzanfar, M. Hajian, V. Asgari, P. Abedi, L. Hosseini, S. Ostadhosseini, F. Moulavi, L.M. Safahani, H. Sadeghi, H. Bahramian, Sh. Eghbalsaied, and M.H Nasr-Esfahani. 2009. Antioxidant supplementation of culture medium during embryo development and/or after vitrification-warming; which is the most important? *J. Assist Reprod Genet.* 26 (6): 355-64.
- Hutahean, S. 2002. *Prinsip-prinsip Uji Toksikologi Perkembangan*. <http://library.usu.ac.id> [7 Agustus 2008].
- Inouye, M. 1976. Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Cong Anomali* 16(3): 171-173.
- Jung, C.J., L.H.Hsing, D.C.Yih, and C.I.Sheng. 2005. Cytotoxic Chalcones and Flavonoids from the Leaves of *Muntingia calabura*. *Planta Medica* 71(10): 970-973.
- Junqueira, L. C., J. Carneiro, dan R. O. Kelley. 1997. *Histologi Dasar*. Edisi 3. Diterjemahkan oleh: Jan Tambayong. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Larroche, J.C. and F.E. Razavi. 1997. Central Nervous System-Malformations. In E. Potter (Eds.). *Potter's Pathology of the Fetus and Infant*. Vol 2. Mosby-Year Book Inc., St Louis Missouri.
- Lina, F. 2008. Efek Teratogenik Ekstrak Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Fetus Mencit (*Mus musculus* L.). *Skripsi*. Jurusan Biologi F MIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Loomis, T.A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi ketiga. Diterjemahkan oleh: I.A. Donatus. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar. Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Penerbit UI, Jakarta.
- Moore, K. L. 1988. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*: Fourth Edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company.

- Nshimo, C.M., J.M. Pezzuto, A.D. Kinghorn, and N.R. Farnsworth. 1993. Cytotoxic Constituents of *Muntingia calabura* Leaves and Stems Collected in Thailand. *Pharmaceutical Biology* 31(1): 77-81.
- Pandji. 2009. *Gersen/Talok Tanaman Obat Berkasyat Besar*. <http://pandjiwinoto.co.cc/category.kesehatan/> [16 Januari 2009].
- Priharyanti, D. *Muntingia calabura*. <http://toiUSD.multiply.com> [16 Januari 2009].
- Rahayu, S. Y., T. Widiyani, dan Sutarno. 2005. Pertumbuhan dan Perkembangan Embryo Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) setelah Perlakuan Kebisingan. *BioSMART* 7 (1): 53-59.
- Ramdhani, R. 2008. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Muntingia calabura L. Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit (Mus musculus L.) Swiss Webster Jantan Dewasa yang Dikondisikan*. <http://www.sith.itb.ac.id/> [16 Januari 2009].
- Sadler, T.W. 2000. *Embriology Kedokteran Langman*. Edisi ke-7. diterjemahkan oleh: Joko Suyono. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Santoso, H.B. 2004. Kelainan Struktur Anatomi Skeleton Fetus Mencit Akibat Kafein. *Bioscientiae* 1(2): 23-30.
- Sarwono, P. 1984. *Ilmu Kebidanan*. Edisi 2. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka
- Steenis, C.G.G.J.V. 1975. *Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Su, B.N., E.J. Park, J.S. Vigo, J.G. Graham, F. Cabieses, H.H.S. Fong, J.M. Pezzuto, and A.D. Kinghorn. 2003. Activity-Guided Isolation of The Chemical Constituents of *Muntingia calabura* Using a Quinone Reductase Induction Assay. *Phytochemistry* 63(3): 335-341.
- Sulistyowati, V.Y. 2009. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Talok (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Kadar Asam Urat Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Galur Wistar Hiperurikemia. *Skripsi*. Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Suryowinoto, S.M. 1997. *Flora Eksotika Tanaman Peneduh*. Kanisius, Yogyakarta.
- Tan, R. 2001. *Jamaican Cherry Tree (Muntingia calabura)*. <http://www.naturia.per.sg/> [5 September 2008]

- The Cook Islands Natural Heritage Trust*. 2007. *Cook Island Biodiversity and Natural Heritage*. cookislands.bishopmuseum.org/species.asp?id=6410 [22 Oktober 2009].
- Utoro, T. 2008. *Malformasi Kongenital*. www.lib.fkuii.org/index.php?option=com [7 Agustus 2008].
- Vidyalakshmi, K.S., A.I.C Dorni, and H.R. Vasanthi. 2007. Anti-mitotic and Cytotoxic Effect of *Mussaenda queensirkit*. *Journal of Pharmacology and Toxicology* 2 (7):660-665.
- Warintek. 2008. *Muntingia calabura* L. <http://www.warintek.ristek.go.id/> [16 Januari].
- Widiyani, T. dan M. Sagi. 2001. Pengaruh Aflatoksin B₁ terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embryo dan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus* L.). *BioSMART* 3(2): 28-35.
- Williams, C.A. and R.J. Grayer. 2004. Anthocyanins and Other Flavonoids. *Nat Prod Rep* 21: 539-573.
- Wurlina. 2006. Pengaruh Antimitosis Ekstrak *Achyranthes Aspera* Linn pada Pembelahan Sel Embrio (*Cleavage*). *Berk. Penel. Hayati* 11: 161-165.
- Zakaria, Z.A., C.A. Fatimah, A.M.M. Jais, H. Zaiton, E.F.P. Henie, M.R. Sulaiman, M.N. Somchit, M. Thenamutha, and D. Kasthuri. 2006. The in vitro Antibacterial Activity of *Muntingia calabura* Extracts. *Intl. J. Pharmacol.* 2(4):439-442
- Zakaria, Z.A., S. Mustapha, M.R. Sulaiman, A.M.M. Jais, M.N. Somchit, and F.C. Abdullah. 2007a. The Antinociceptive Action of Aqueous Extract from *Muntingia calabura* Leaves the Role of Opioid Receptors. *Med Princ Pract* 16: 130-136.
- Zakaria, Z.A., M. Mat Jais, M. Mastura, S.H. Mat Jusoh, AM. Mohamed, N.S.M. Jamil, M.S. Rofiee and ZM.R. Sulaiman. 2007b. In vitro Antistaphylococcal Activity of the Extracts of Several Neglected Plants in Malaysia. *Intl. J. Pharmacol.* 3 (5): 428-431.

Zakaria, Z.A., A.M. Mohamed, M. Jamil, M.S. Rofiee, C.A. Fatimah, A.M.M. Jais, M.R. Sulaiman, and M.N. Somchit. 2007c. *In Vitro Anticancer Activity of Various Extracts of Neglected Malaysian Plants (**Muntingia calabura** and **Dicranopteris linearis**) Against MCF-7 and HT-29 Cancer Cell Lines*. <http://www.utim.edu.my> [17 Januari 2009].

Zakaria, Z.A., N.A.M.N. Hazalin, S.N.H.M. Zaid, M.A.Ghani, M.H. Hasan, H.K. Gopalan, and M.R. Sulaiman. 2007d. Antinociceptive, Anti-inflammatory, and Antipyretic Effects of *Muntingia calabura* Aqueous Extract in Animal Models. *J. Nat. Med.* 61: 443-448.

Zakaria, Z.A. 2007e. Free Radical Scavenging Activity of Some Plants Available in Malaysia. *IJPT* 6 (1): 87-91.

Zakaria, Z.A., M.N. Somchit, M.R. Sulaiman, A.M.M. Jais, and C.A. Fatimah. 2008. Effects of Various Receptot Antagonists, pH and Enzymes on *Muntingia calabura* Antinociception in Mice. *Res J Pharmacol* 2(3): 31-37.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel data hasil penelitian efek teratogenik ekstrak air daun talok (*Muntingia calabura* L.) terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*Mus musculus* L.)

Kelompok	Urutan	Berat Awal (g)	Berat akhir (g)	Pertambahan berat induk (g)	Jumlah implantasi	Panjang fetus (cm)	Berat fetus (g)	Jumlah kematian intra-uterus	Ket
I KONTROL	1	31,7	44,7	13	10	2,22	0,99	-	-
	2	33,8	44	10,2	10	2	0,83	-	-
	3	33,1	52,4	19,3	12	2,19	1	-	-
	4	27,1	52	24,9	13	2,42	1,25	-	-
	5	31,3	48,8	17,5	10	2,3	1,06	-	-
II 250 mg/kg BB	1	31,5	26,7	-4,8	5	-	-	5	resorbsi
	2	29,5	49,5	20	10	2,15	1,09	-	-
	3	33,4	52,3	18,9	13	2,15	1,01	-	-
	4	33,1	53,7	20,6	14	2,14	1,02	3	2 resorbsi, 1 mati <i>exencephaly</i>
	5	30,3	43,9	13,6	10	2,15	1,05	-	-
III 500 mg/kg BB	1	30,1	49,1	19	11	2,2	1,12	-	-
	2	27,2	46,1	18,9	10	2,2	1,03	-	-
	3	29,3	38,9	9,6	10	2,08	0,79	1	resorbsi
	4	33	55,2	22,2	12	2,14	1,05	-	-
	5	30,2	47,8	17,6	10	2,02	0,93	1	resorbsi
IV 750 mg/kg BB	1	28,2	34,3	6,1	9	2,05	0,79	1	resorbsi
	2	30	50,2	20,2	10	2,22	1	-	-
	3	29,5	51,2	21,7	12	2,22	1,08	-	-
	4	31,2	51,8	20,6	11	2,22	1,13	-	-
	5	30,2	47,3	17,1	10	2,18	1,03	-	-
V 1000 mg/kg BB	1	28,8	44,8	16	10	2,05	0,95	-	-
	2	33,3	53	19,7	11	2,09	1,07	2	resorbsi
	3	35	47,7	12,7	5	2,16	1,1	-	-
	4	31,1	43,3	12,2	10	2,1	0,98	-	-
	5	32,3	48	15,7	11	2,19	1,08	3	resorbsi

Lampiran 2. Hasil Uji Statistik Data Kuantitatif

		Descriptives						
		N	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	Upper Bound
					Lower Bound	Upper Bound		
m	1	1	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000
	1	1	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000
	2	1	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000
	3	1	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000
	4	1	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000	.00000
n	1	1	3.00000	2.75600	1.41400	4.47210	1.00000	3.00000
	2	1	1.00000	1.20000	.44433	1.95567	.00000	1.00000
	3	1	1.00000	1.00000	.00000	1.00000	.00000	1.00000
	4	1	1.00000	1.00000	.00000	1.00000	.00000	1.00000
	5	1	1.00000	1.00000	.00000	1.00000	.00000	1.00000
h	1	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	2	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	3	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	4	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	5	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
fe	1	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	2	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	3	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	4	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
	5	1	1.00000	1.17300	.92730	1.27270	.00000	1.00000
p	1	1	2.19000	2.00000	1.02400	3.15600	1.00000	2.19000
	2	1	2.03000	2.21100	1.06100	2.95900	1.00000	2.03000
	3	1	2.07000	2.20200	1.05100	2.96900	1.00000	2.07000
	4	1	2.13000	2.01000	1.03000	3.23000	1.00000	2.13000
	5	1	2.07000	2.20200	1.05100	2.96900	1.00000	2.07000

RIWAYAT HIDUP PENULIS

Nama lengkap : Yuyun Erniati

Tempat dan Tanggal Lahir : Wonogiri, 25 Maret 1985

Jenis Kelamin : Perempuan

Agama : Islam

Status Pernikahan : Belum Menikah

Alamat Asal : Bulusari RT 01 RW II, Slogohimo, Wonogiri
57694

Alamat di Solo : Jl. Surya I No. 53, Jebres Tengah, Surakarta

No. HP : 085647021828

Alamat E-mail : you_n_25@yahoo.co.id

Pendidikan Formal

Tingkat Pendidikan	Nama	Tahun Mulai	Tahun Selesai
TK	TK Pertiwi Slogohimo	1990	1991
SD	SD Negeri III Slogohimo	1991	1997
SLTP	SLTP Negeri I Purwantoro	1997	2000
SLTA	SMU Negeri I Wonogiri	2000	2003

Beasiswa yang Pernah Diperoleh

Nama Beasiswa	Instansi Pemberi	Tahun
1. Beasiswa Peningkatan Prestasi Akademik	UNS	2004-2005
2. Beasiswa Supersemar	Yayasan Supersemar	2005-2006
3. Beasiswa BBM	UNS	2006-2007

Pengalaman Organisasi

Organisasi	Jabatan	Tahun
1. HIMABIO (Himpunan Mahasiswa Biologi)	Wakil Bendahara Umum	2004-2005
2. HIMABIO (Himpunan Mahasiswa Biologi)	Bendahara Umum	2005-2006
3. Organisasi Pemuda Mekar Taruna Bulusari Slogohimo	Staff	2000-2002

Pengalaman Bekerja

Pekerjaan	Tahun
1. Asisten Praktikum Fisiologi Hewan, Kultur Jaringan Tumbuhan, dan Biologi Umum	2007-2009

Surakarta, September 2009

Yuyun Erniati