Evaluasi Efek Teratogen Ekstrak Terpurifikasi yang Diisolasi dari Fraksi Etil Asetat Daun Surian (*Toona sureni* (Blume) Merr)

Suhatri[1], Rahmi Yosmar[1], Ade Fitriani[1], Almahdy A[1]

ABSTRACT: *Evaluation of teratogenic effects of purified extract isolated from ethyl acetate fractionation of surian leaves (*Toona sureni (Blume) Merr.*) on white female fetus mice has been carried out. The extract was given to mice orally in solution at doses of 5, 10, and 20 mg/kg BW on 6th until 15th day of pregnancy. On 18th day of pregnancy, laparatomy was performed, then two – third of fetuses were immersed in alizarin red solution and the remaining in Bouin's solution. The analyzed parameters were the weight of pregnant mice, the number of fetuses, the weight of fetuses, skeletal malformation and morphology. The result showed that malformations were not shown in dose of 5 mg/kg BW, but in dose of 10 mg/kg BW from one mice found one fetus caused late growth and death. While on dose 20 mg/kg BW, one mice was not death.*

Key words: *teratogenic, surian, purified extract*

ABSTRAK: Evaluasi efek teratogen ekstrak terpurifikasi yang diisolasi dari fraksi etil asetat daun surian *(Toona Sureni (Blume) Merr.)* telah dilakukan terhadap fetus mencit betina putih. Ekstrak diberikan pada mencit secara per oral dalam bentuk larutan dengan variasi dosis 5, 10, dan 20 mg/kg BB pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan. Pada hari ke-18 kehamilan dilakukan laparatomi, kemudian dua pertiga jumlah fetus direndam dalam larutan alizarin merah dan sisanya dalam larutan Bouin's. Parameter yang diamati adalah berat badan induk selama kehamilan, jumlah fetus, berat badan fetus, kelainan tulang dan morfologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis 5 mg/kg BB tidak menimbulkan kecacatan, tetapi pada dosis 10 mg/kg BB dari satu ekor induk mencit terdapat satu ekor fetus mengalami lambat pertumbuhan dan mati. Sementara pada dosis 20 mg/kg BB satu ekor induk mencit mengalami satu tapak resorpsi.

Faculty of Pharmacy, Andalas University,Padang, Indonesia

Key words: teratogenik, surian, ekstrak terpurifikasi

E-mail address:
rahmi.yosmar@gmail.com
suhatriaini@rocketmail.com

PENDAHULUAN

Pengobatan secara tradisional dari tumbuhan terus meningkat karena obat-obat tradisional tersebut dianggap sebagian masyarakat lebih aman dari obat modern. Walaupun demikian, bukan berarti pengobatan tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan, terutama bila penggunaannya tidak tepat. Banyak ilmuwan yang meneliti tentang khasiat yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan tersebut. Berkembangnya teknologi menjadi salah satu faktor penelitian tentang penemuan obat baru, karena setiap *Herbal Medicine Product* (HMP) yang digunakan harus dibuktikan keamanan khasiatnya (1).

Pemakaian obat pada wanita hamil dapat menimbulkan masalah tidak hanya pada ibu, tetapi juga pada fetus. Sekitar 50% ibu hamil dan menyusui menggunakan obat-obatan atau produk herbal yang sering dikonsumsi pada trimester pertama kehamilan. Frekuensi pemakaian obat-obatan atau produk herbal yang berulang dapat menyebabkan akumulasi pada janin, sementara janin belum mempunyai sistem metabolisme yang berfungsi secara sempurna (2). Zat aktif obat dapat masuk ke peredaran darah janin dan mempengaruhi proses pembentukan organ pada fetus yang akhirnya berefek teratogen (3). Ada sekitar 8000 wanita di seluruh dunia yang mengkonsumsi thalidomid melahirkan bayi dengan gangguan perkembangan anggota badan (phocomelia) (4).

Salah satu tumbuhan obat yang dapat digunakan oleh masyarakat adalah surian yang termasuk ke dalam family meliaceae. Beberapa penelitian terdahulu diketahui bahwa daun surian mengandung senyawa flavonoid (kuersetin), terpenoid (tetranortriterpenoid yaitu surenon dan surenin), karotenoid dan saponin (5,6,7,8,9). Selain itu, daun surian mempunyai aktivitas sebagai antimikroba sehingga digunakan sebagai astringen, tonikum, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya (10).

Tumbuhan Surian (*Toona sureni (*Bl) Merr) dari famili Meliaceae merupakan tanaman yang banyak mengandung senyawa, seperti pada akar dan daunnya mengandung β-karoten, asam amino, dan vitamin (7). Pada tumbuhan surian juga terdapat senyawa kimia lain, diantaranya senyawa fenolik yaitu metil galat, asam galat, kaempferol, kuersitrin, rutin, katekin, epikatekin, dan kuersetin. Sedangkan senyawa lainnya adalah glukosida, asam stearat, asam palmitat, β-sitosterol, stigmasterol, β-sitosteril-glukosida, dan stigmasteril-glukosida (11).

Dari penelitian sebelumnya, ekstraksi dan fraksi etil asetat daun surian memiliki aktivitas antioksidan yang diuji dengan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) sebagai radikal bebas (12). Hal tersebut disebabkan karena daun surian mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid dan fenolik yaitu metil galat. Penelitian terhadap surian juga dilaporkan bahwa hasil isolasi dari fraksi etil asetat daun surian mengandung metil galat, yang mana diketahui metil galat ini memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan alami (1,13).

Ekstrak terpurifikasi daun surian menunjukan efek yang baik dalam menangkal radikal bebas dan memblok serta menekan kehadiran bahan-bahan kimia bersifat karsinogenik. Antioksidan menghambat reaksi radikal bebas pada sel endotel dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari LDL (14,15).

Pada penelitian mengenai efek proteksi ekstrak terpurifikasi daun surian terhadap disfungsi sel endotel pada tikus hiperkolesterolemia, dari 4 kg daun surian segar diperoleh ±4,18 g (3,805 %) senyawa hasil isolasi daun surian. Ekstrak terpurifikasi daun surian mengandung asam galat sebanyak 50,3 % dan senyawa lain yang belum teridentifikasi. Ekstrak terpurifikasi daun surian pada dosis 5 mg/kg BB dapat mencegah disfungsi sel endotel dan mengurangi kerusakan yang terjadi pada dinding aorta, tetapi pada dosis 10 mg/kg BB dan 20 mg/kg BB ekstrak terpurifikasi daun surian tidak dapat memproteksi disfungsi

sel endotel (16). Dengan melihat banyaknya manfaat tumbuhan surian sebagai calon obat baru maka harus dapat dipertanggungjawabka keamanan penggunaan tumbuhan tersebut. Keamanan ini patut dicurigai, karena pandangan masyarakat yang selama ini menganggap penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional adalah "aman" belum tentu benar, apalagi tumbuhan tersebut digunakan dalam jangka waktu yang lama (17).

Penggunaan yang lama ini bisa saja terjadi gejala toksisitas seperti toksisitas sub kronik, toksisitas kronik, karsinogenik, mutagenik, dan teratogenik (9).

Dalam penelitian ini akan dilakukan uji tertogenik ekstrak terpufikasi dari fraksi etil asetat daun surian terhadap fetus mencit betina putih. Penelitian ini dilakukan selama masa gestasi pada mecit putih betina dengan berbagai dosis. Sejumlah kelainan pada skeletal dan visceral akan diamati sebagai indikator teratogen, di samping ada tidaknya kelainan morfologis yang terjadi pada fetus.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak terpurifikasi daun surian selama masa gestasi pada mencit betina putih. Dari penelitian ini akan didapatkan data keamanan penggunaan dari daun surian terhadap fetus yang dapat digunakan sebagai data penunjang untuk pengembangan senyawa hasil isolasi dari daun surian sebagai fitofarmaka.

PROSEDUR PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan dan kandang perlakuan, pisau bedah, gunting bedah, cawan petri, tisu gulung, kaca arloji, timbangan analitik, timbangan hewan, kertas millimeter blok, pinset, *beaker glass,* gelas ukur, pipet tetes, batang pengaduk, kandang mencit, spatel, spuit, jarum oral, wadah perendam fetus, wadah pewarnaan, *handscoon,* masker, jas laboratorium dan kamera digital.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian. Selain itu, penelitian ini juga menggunakan bahan-bahan berupa aquades, larutan bouin's (formaldehid 14 %, asam pikrat jenuh, asam asetat glacial) dan larutan alizarin merah (KOH 1% dan alizarin merah 6 mg/L).

Perencanaan Dosis

Pada penelitian ini digunakan dosis ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian (5; 10; 20) mg/kg BB. Dosis ini dipilih berdasarkan dosis yang dipakai pada penelitian sebelumnya yang menguji tentang efek proteksi disfungsi sel endotel oleh senyawa hasil isolasi dari fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr.) pada keadaan hiperkolesterolemia (16).

Persiapan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan pada percobaan ini adalah mencit betina berumur lebih kurang 2 bulan, sehat, *nullipara*, memiliki daur estrus yang teratur yaitu 4-5 hari, belum pernah mengalami perlakuan terhadap obat dan berat badan berkisar 20-30 gram.

Aklimatisasi Hewan Percobaan dan Penentuan Daur Estrus

Aklimatisasi dilakukan selama 10 hari untuk membiasakan hewan berada pada lingkungan percobaan. Makanan (pelet mencit) dan minuman (air suling) diberikan secukupnya, berat badan ditimbang setiap hari dan diamati tingkah lakunya. Selama aklimatisasi dilakukan penentuan daur estrus dengan cara pengamatan vagina mencit secara visual, mencit dalam masa estrus ditandai dengan vagina mencit berwarna lebih merah dan bergetah.

Hewan yang digunakan dianggap sehat apabila perubahan bobot badan tidak lebih dari 10 %, secara visual menunjukkan perilaku yang normal dan mempunyai daur estrus yaitu 4 – 5 hari (18).

Pengawinan Hewan Percobaan

Pada masa estrus hewan dikawinkan dengan perbandingan jantan dan betina 1: 4. Mencit jantan dimasukkan kekandang mencit betina pada sore hari dan dipisahkan lagi besok paginya. Pada pagi harinya dilakukan pemeriksaan sumbat vagina. Sumbat vagina menandakan mencit telah mengalami kopulasi dan berada hari kehamilan ke-0. Mencit yang telah hamil dipisahkan dan yang belum kawin dicampur kembali dengan mencit jantan (19,20).

Pembuatan Sediaan Uji

Sediaan uji dibuat dengan melarutkan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian pada berbagai dosis (5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, dan 20 mg/kg BB) masing-masingnya didalam 10 ml aquadest pada suhu 40^0C. Volume pemberian obat secara peroral adalah 1% dari berat badan mencit.

Pemberian Sediaan Uji

Pemberian sediaan uji ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian dilakukan dengan jarum sonde secara peroral. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok, dimana satu kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok perlakuan kontrol diberi aquadestilata steril. Dosis yang digunakan untuk kelompok uji adalah 5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, dan 20 mg/kg BB. Sediaan uji diberikan 10 hari berturut-turut mulai hari ke-enam sampai hari ke-lima belas kehamilan (18). Volume sediaan uji diberikan 1% dari berat badan mencit secara per oral dengan frekuensi 1x sehari.

Pengamatan Selama Pemberian Sediaan Uji

Setiap hari dilakukan penimbangan dan diamati kenaikan berat badan mencit. Jika terjadi penurunan berat badan yang drastis dan disertai pendarahan di sekitar vagina, kemungkinan hewan tersebut mengalami keguguran atau abortus maka hewan tersebut harus dibunuh dan diperiksa. Pada waktu pemberian sediaan uji juga diperhatikan adanya mencit yang sakit karena perlakuan atau karena penyakit maka tidak diikutsertakan lagi (21).

Pembuatan Larutan Alizarin Merah dan Larutan Bouin's

Larutan alizarin merah dibuat dengan cara menambahkan 6 mg alizarin merah pada satu liter larutan KOH 1 %. Larutan ini digunakan untuk mewarnai skeletal dan pertulangan mencit. Larutan Bouin's dibuat dengan cara melarutkan asam pikrat dalam air panas dan dibuat jenuh, biarkan satu malam. Kemudian ditambahkan formaldehid 14 % dan asetat glasial masing–masing dengan perbandingan 75:20:5. Larutan Bouin's digunakan untuk melihat bagian visceral fetus mencit (2).

Laparatomi

Laparatomi dilakukan pada hari ke-18 kehamilan. Mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, kemudian lakukan laparatomi untuk mengeluarkan fetus mencit. Caranya mencit dibedah pada bagian abdomen kearah atas sampai terlihat uterus yang berisi fetus. Fetus dikeluarkan dengan memotong uterus dan plasenta. Selanjutnya diamati apakah terdapat tapak resorpsi yang ditandai dengan adanya gumpalan merah sebagai tempat tertanamnya fetus. Jumlah fetus dihitung pada masing – masing bagian uterus, fetus yang masih hidup dan fetus yang telah mati. Setelah itu fetus dikeringkan dengan tisu, berat masing – masing fetus ditimbang untuk mengetahui berat rata–rata kelahiran. Kemudian amati ada tidaknya kelainan secara visual misalnya ekor, daun telinga, kelopak mata, jumlah jari kaki depan dan belakang (22).

Fiksasi dan Pengamatan Cacat Morfologi

Setelah diamati secara visual, sepertiga dari jumlah fetus dari satu induk difiksasi dengan larutan Bouin's selama 14 hari sampai berwarna kuning dan keras, fetus dikeluarkan dan dikeringkan. Bagian luar fetus yang diperiksa telinga, mata, kaki, dan ekor. Selanjutnya diamati

ada tidaknya celah pada langit – langit dengan menyelipkan pisau bedah pada geraham, sayat kepalanya menurut bidang datar tepat dibagian tengah daun telinga (10). Sisanya dua pertiga bagian lagi direndam dengan larutan merah alizarin, biarkan dua sampai tiga hari, sambil sekali – kali digoyang sampai fetus menjadi transparan dan akan terlihat tulang yang berwarna merah, amati kelainan tulang dan hitung jumlahnya, kemudian fetus dikeluarkan dan disimpan dalam larutan yang terdiri dari etanol 70 %, gliserin, dan formaldehid 14 %. Pengamatan dilakukan terhadap tulang dada, tulang kaki, dan jari – jari kaki, semua hasil pengamatan dibandingkan dengan kontrol (10).

Analisis Data

Data dari hasil penelitian ini dianalisa secara statistik menggunakan Analisis Variasi (ANOVA) satu arah untuk parameter berat badan induk mencit, jumlah fetus dan berat badan fetus. Analisa lanjut digunakan metode uji jarak berganda Duncan.

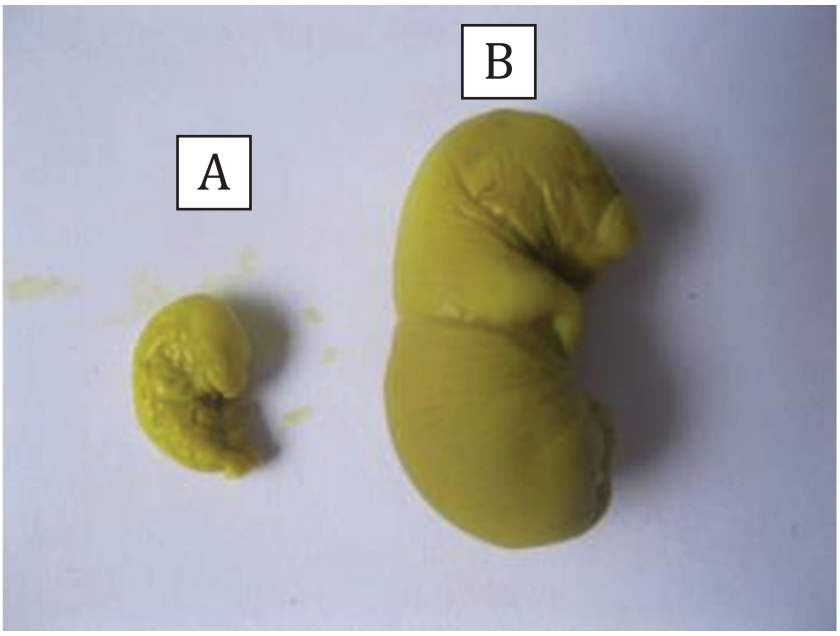
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil menunjukkan pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian pada kelompok uji tidak mempengaruhi berat badan induk mencit selama kehamilan. Rata-rata berat badan induk mencit selama kehamilan pada kelompok kontrol, dosis 5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, 20 mg/kg BB secara berturut-turut adalah 32,54 gram, 35,77 gram, 32,96 gram, dan 33,70 gram. Bila diperhitungkan secara statistika dengan analisa varian terhadap peningkatan berat badan induk mencit selama kehamilan didapatkan bahwa tidak terdapat peningkatan yang bermakna pada kelompok uji jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Sig > 0,05).

Tabel 1. Berat badan rata-rata induk mencit selama kehamilan

Hari ke	Berat Badan Induk Mencit (gram)			
	D0	D1	D2	D3
6	27,92	30,30	29,86	31,44
7	28,38	30,10	30,60	31,46
8	29,04	30,40	30,90	31,82
9	29,44	31,70	31,18	32,40
10	30,44	31,50	31,50	32,70
11	30,70	33,20	32,86	33,00
12	31,86	34,00	34,10	34,30
13	33,68	36,14	35,80	36,00
14	34,16	36,50	36,00	36,66
15	35,70	38,20	38,00	39,38
16	36,56	39,56	39,44	41,10
17	37,28	41,86	40,70	43,10
18	37,92	43,50	43,20	45,00
X±SD	32,54±3,538	35,77±4,548	32,96±4,329	33,70±4,689

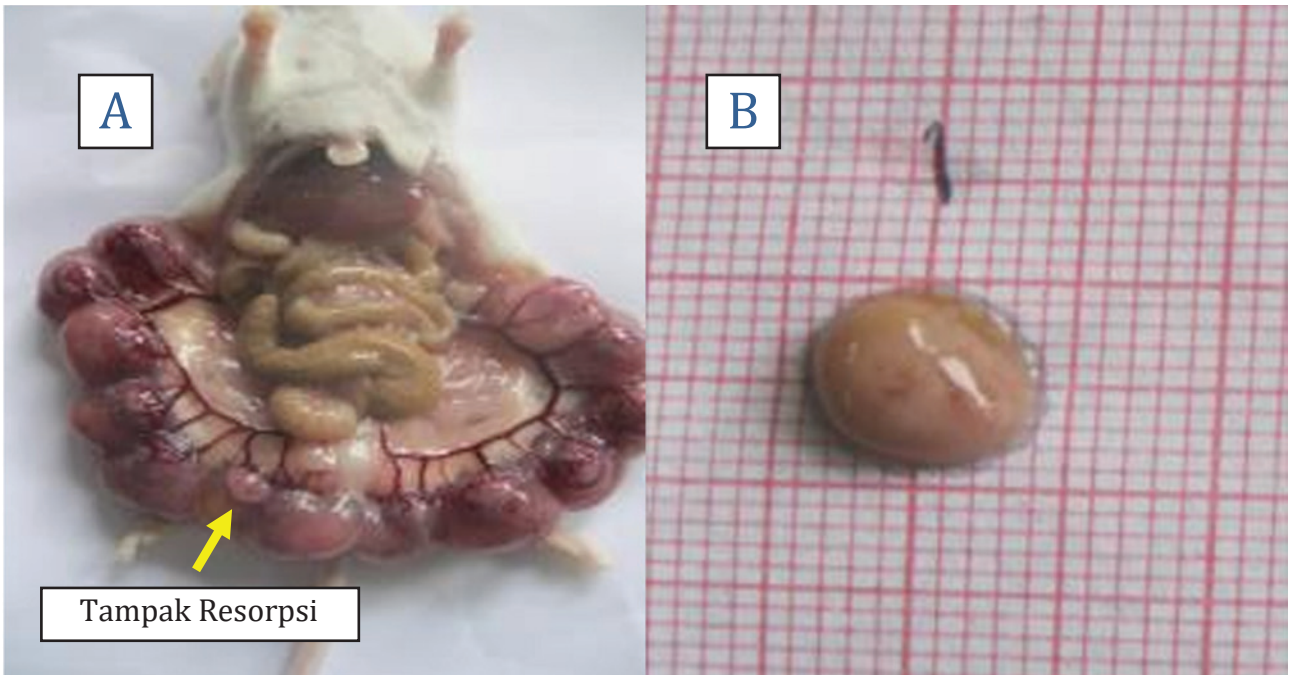
Keterangan : D0 : Kelompok kontrol negatif
D1 : Kelompok dosis 5 mg/kg BB
D2 : Kelompok dosis 10 mg/kg BB
D3 : Kelompok dosis 20 mg/kg BB



Gambar 1. Fetus yang mengalami lambat pertumbuhan dan mati dibandingkan dengan fetus normal
A. Fetus yang mengalami lambat pertumbuhan pada dosis 10 mg/kg BB
B. Fetus normal

Pada kelompok dosis 10 mg/kg BB satu ekor fetus dari satu ekor induk mencit mengalami lambat pertumbuhan dan mati. Lahir mati dicirikan dengan tidak adanya pergerakan fetus saat dikeluarkan dari uterus (19). Fetus mati diduga karena adanya kerentanan individu terhadap lingkungan, sedangkan fetus mencit lainnya berada dalam keadaan normal.

Sedangkan pada kelompok dosis 20 mg/kg BB ditemukan satu tapak resorpsi dari satu ekor induk mencit, resorpsi berupa gumpalan merah yang tertanam pada uterus. Hal ini menunjukan bahwa sifat toksik dari senyawa yang terdapat dalam sediaan uji pada dosis ini berkerja pada masa awal organogenesis dan langsung mematikan embrio, sehingga embrio



Gambar 2. Tapak resorpsi pada dosis 20 mg/kg BB
A. Mencit yang mengalami tapak resorpsi
B. Tapak resorpsi yang telah dikeluarkan dari uterus

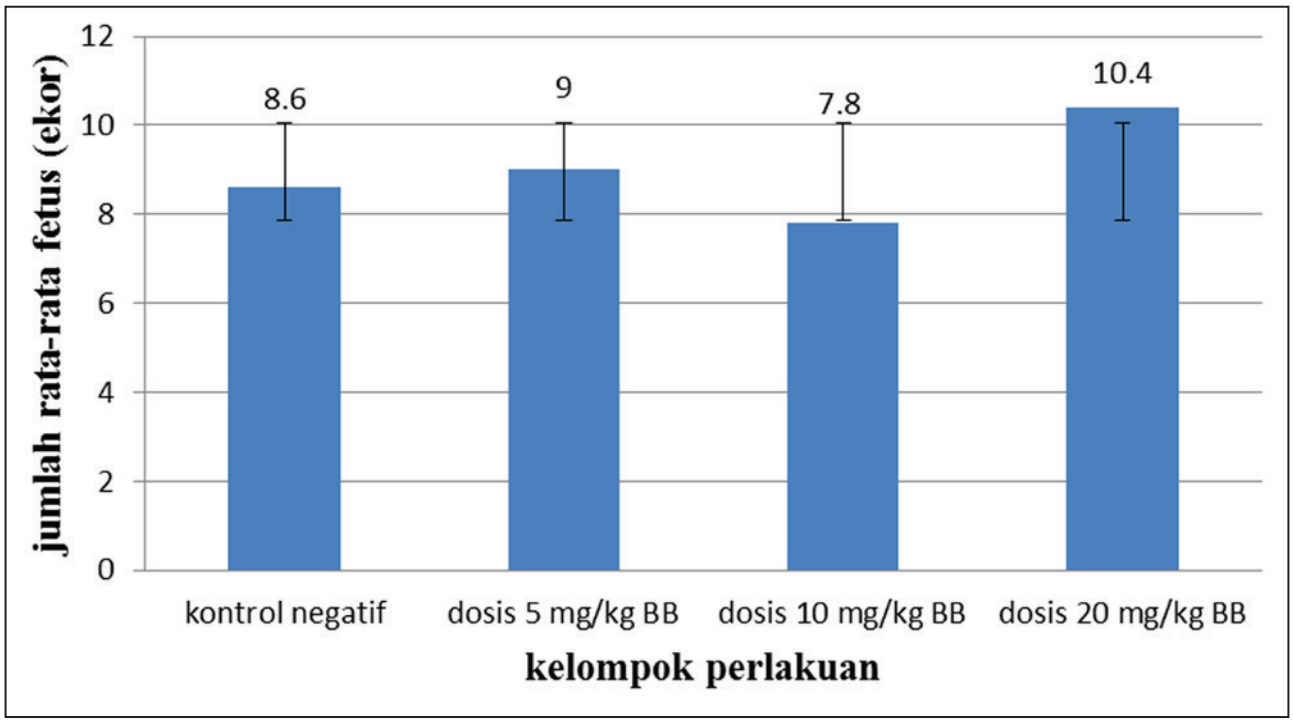
yang sedang berkembang mati. Pada masa ini tidak terdapat lagi sifat totipotensi sehingga tidak terjadi perbaikan kerusakan pada jaringan serta tidak terjadi perkembangan selanjutnya. Hal ini mungkin disebabkan adanya kerentanan genetik. Reaksi fetus terhadap senyawa kimia bereaksi bukan hanya antar spesies hewan akan tetapi juga antar ras dan bahkan antar individu dari induk yang sama (11).

Hasil pengamatan terhadap rata-rata jumlah fetus pada pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian pada dosis 5 mg/kg BB , dosis 10 mg/kg BB , dosis 20 mg/kg BB secara berturut-turut menghasilkan rata-rata jumlah fetus 9 ekor, 8 ekor, dan 10 ekor. Jika dibandingkan dengan rata-rata jumlah fetus kontrol negatif 9 ekor secara statisika menggunakan analisa varian satu arah didapat bahwa pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian tidak mempengaruhi jumlah fetus mencit secara bermakna (Sig > 0,05).

Pengaruh pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian terhadap berat badan fetus memperlihatkan bahwa pemberian larutan sedian uji tidak mempengaruhi berat badan rata-rata fetus secara bermakna (Sig > 0,05). Berat badan rata-rata fetus terhadap kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, 20 mg/kg BB secara berturut-turut adalah 1,08 ± 0,08 gram, 1,24 ± 0,47 gram, 1,12 ± 0,215 gram, 0,98 ± 0,436 gram.

Dari penelitian teratogenitas ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian ditemukan satu fetus mengalami lambat pertumbuhan dan mati pada kelompok dosis 10 mg/kg BB dan pada dosis 20 mg/kg BB ditemukan atu tapak resorpsi dari satu ekor induk mencit. Hal ini sudah menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian dapat menyebabkan teratogen karena apabila terdapat satu fetus saja yang mengalami kelainan maka itu sudah menunjukkan efek teratogen (16).

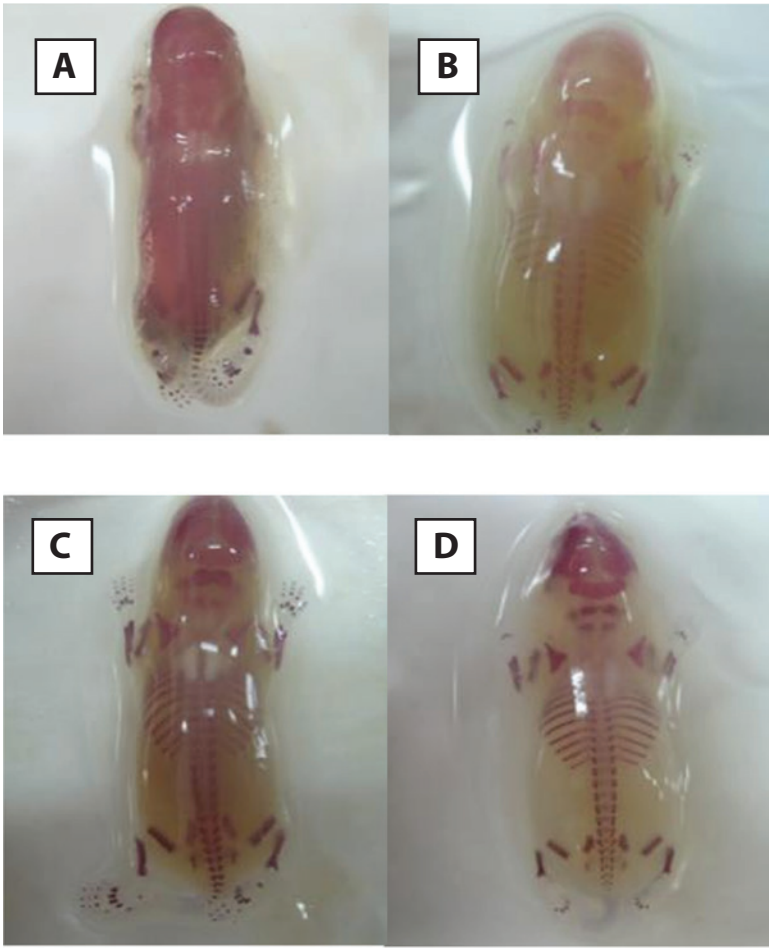
Namun demikian potensi teratogen ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian



Gambar 3. Diagram batang jumlah rata-rata fetus pada masing-masing dosis

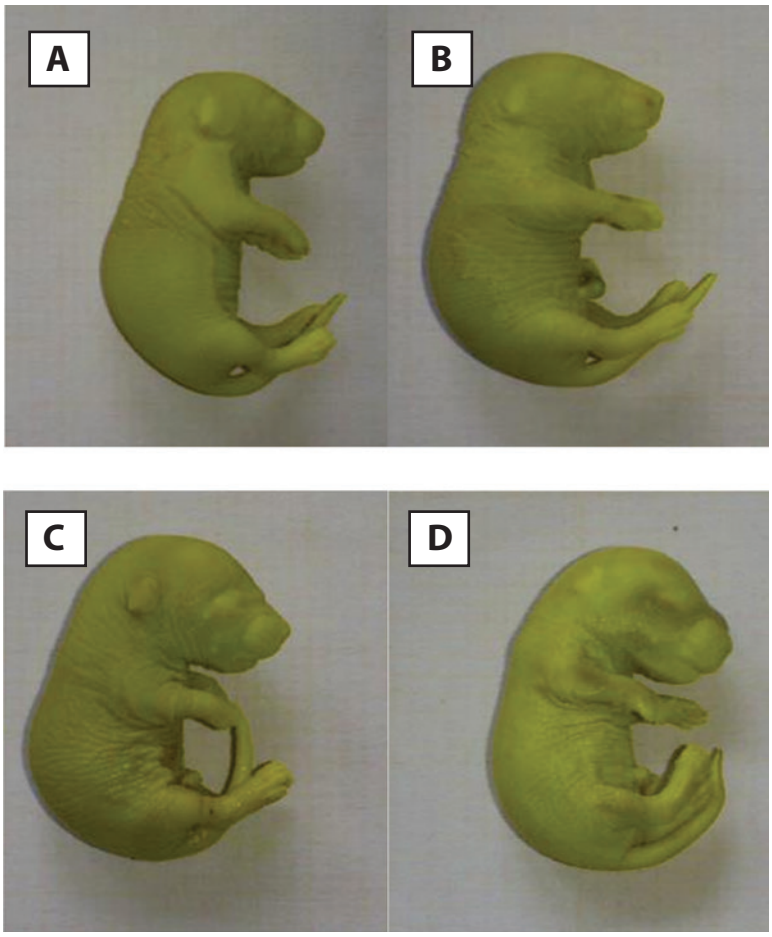
Gambar 4. Fetus yang telah direndam dengan larutan Alizarin

A. Kelompok kontrol negatif
B. Kelompok dosis 5 mg/kg BB
C. Kelompok dosis 10 mg/kg BB
D. Kelompok dosis 20 mg/kg BB



Gambar 5. Fetus yang telah direndam dengan larutan Bouin's

A. Kelompok kontrol negatif
B. Kelompok dosis 5 mg/kg BB
C. Kelompok dosis 10 mg/kg BB
D. Kelompok dosis 20 mg/kg BB



ini masih belum dapat dipastikan karena ekstrak daun surian mengandung senyawa yang belum teridentifikasi selain metil galat. Selain itu juga adanya sifat kerentanan antar individu walaupun berasal dari induk yang sama. Disamping itu cacat juga disebabkan oleh faktor lingkungan, infeksi tertentu, dan defisiensi vitamin. Oleh karena itu, masih perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan spesies jenis lain.

KESIMPULAN

1. Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian maka didapat kesimpulan bahwa pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) pada dosis 5 mg/kg BB tidak menimbulkan efek teratogen pada fetus sehingga aman untuk digunakan pada dosis tersebut.
2. Pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) pada dosis 10 mg/kg BB dan dosis 20 mg/kg BB diduga dapat menyebabkan teratogen. Efek teratogen yang ditemukan pada dosis 10 mg/kg BB menyebabkan satu fetus dari satu ekor induk mencit mengalami lambat pertumbuhan dan mati, sedangkan pada dosis 20 mg/kg BB menyebabkan satu ekor induk mencit mengalami satu tapak resorpsi.
3. Pemberian larutan ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) selama masa organogenesis pada hari ke-6 sampai hari ke-18 kehamilan tidak mempengaruhi berat badan induk mencit, jumlah rata-rata fetus, serta berat badan fetus secara bermakna (Sig > 0,05).

SARAN

Bagi peneliti selanjutnya, disarankan untuk melakukan penelitian lanjut tentang potensi teratogen ekstrak terpurifikasi dari fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr) pada spesies hewan uji yang lain seperti tikus atau kelinci. Penelitian tersebut diharapkan dapat memberikan `hasil yang lebih signifikan untuk mengetahui keamanan dari daun surian secara akurat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Universitas Andalas atas dukungan finansial dibawah dana DIPA Universitas Andalas sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ekaprasada, M. T., Nurdin, H., Ibrahim, S., dan Dachriyanus. *Antioxidant Activity Of Methyl Gallate Isolated From The Leaves Of Toona sureni.* Indo. J. Chem. 2009; 9(3), 457-460.
2. Lu F. C. *Toksikologi Dasar.* Edisi 2. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 1995. Malole MBM dan CSU
3. Baillie, M., Allen, D and Elkington, A. R. The Congenital Warfarin Syndrome : A Case Report. *British Jurnal of Ophthalmology*. 1980; 64, 633-635.
4. Batagol, R., Obstetrics Editor: Hughes, J., Donelly, R., Chatgilaou, G.J., in Clinical Charmacy: A Practical Approach, Edisi V. The Society of Hospital Parmacists of Australia, Australia. 1998.
5. Hsieh, MM., Chen, C.Y., Hsieh, S.L., Hsien, S.F., Lee, P.H.B., Li, C.T., and Hsieh, T.J. Sparation of Phenols from the leaves of Toona sinensis (Meliaceae) by Capillary Electrophoresis*. Chinese Chemical Society*. 2006; 53: 1203-1208.
6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia*. (Edisi V). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979.
7. Djam'an, D.F. *Informasi Singkat Benih Toona sureni* (Blume)Merr..http://www.dephut.go.id/INFORMASI/RRL/IFSP/Toona_sureni%20_Blume.pdf. November 2002. Diakses tanggal 26 Maret 2013.
8. Kauffman, M.H. *The atlas of mouse development*.

London : Academic Press Limited. 1992.

9. Manson, J.M., Zenick, H., and Costlow, R. D. *Teratology Test Methods For Laboratory Animals*. New York : Ravent press. 1982.
10. Suhatri. *Efek Proteksi Ekstrak Terpurifikasi Daun Surian* (*Toona sureni (Bl..) Merr) Terhadap Disfungsi Sel Endotel Pada Tikus Hiperkolesterolemia.* (Disertasi). Padang: Universitas Andalas. 2013.
11. Harbinson, R.D. *The Basic Science of Poison Cassaret and Doull's Toxicology*. New York : Macmillan Publishing Co.Inc. 2001.
12. Reiterer, G.T., Michal and H Bernhard. Quercetin Protecs Agains Linoleic Acid-Induced Porcine Endothelial Cell Dysfunction. The American Society for Nutritional sciences J. Nutr. 2004; 134: 771-775
13. Ekaprasada, M. T., Nurdin, H., Ibrahim, S., dan Dachriyanus. *Antibacterial Activity Of Methyl Gallate Isolated From The Leaves Of Toona sureni.* Indo. J. Chem. 2013; 1(1-6).
14. Nurdin, H., Mukhtar, H., Sugiyanto, Juita, D., Syaftimah dan Harisman. *Isolasi Karotenoid Dari Daun Surian (Toona sureni (Bl.) Merr) Dan Kajian Bioaktifitasnya Terhadap Pencegahan Penyakit Jantung.* Indonesian Science and Technology 2001. Digital Lybrary dari http://elib.pdii.lipi.go.id/katalog/index.php/searchkatalog/byId/115456
15. Yuhernita dan Juniarti. Skrining Awal Bioaktivitas Daun Surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr.) dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dan Perendaman 2,2–Diphenyl–1–Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 2009; 6 (2) : 33–36.
16. Sherry, C. J. *Birth Defects: Are We Doing Enough?.* Texas :Christian Century. 1984.
17. Anonim. *WHO Drug Information,*. Geneva: World Health Organization. 2000; Vol 16, No.3.
18. Almahdy A. *Teratologi Eksperimental*. Padang: Universitas Andalas Press. 2012.
19. Almahdy, A. *Uji aktivitas vitamin A terhadap efek teratogen warfarin pada fetus mencit putih*. Medan : USU Press. 2011.
20. Ifmaily. *Isolasi Flavonoid dari Daun Surian (Toona sureni (Bl.) Merr)*. (Skripsi). Padang: Universitas Andalas. 1996.
21. Kraus, W. K., and K. Kypke. *Surenone and Surenin, Two Novel Tetranortriterpenoid From Toona sureni (Bl.) Merr Tetrahidron Lett*. 1979; 2715-2716.
22. Almahdy, A., Arifin, H. & Delvita, V. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap fetus pada mencit diabetes. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 2007; 12(1), 32-40.