

UJI EFEK TERATOGEN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L) TERHADAP FETUS MENCIT PUTIH

Ifora²⁾, Suhatri¹⁾, Suzie Yolanda²⁾

¹⁾Fakultas Farmasi Universitas Andalas

²⁾ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

ABSTRACT

Research on test teratogenic effects of ethanol extract of leaves of the soursop (*Annona muricata* L.) have been conducted on white mice fetus. Animal experiments are grouped into 4 group consisting of Group I as a negative control only granted suspension of Na CMC 0.5%, Group II, Group III and Group IV granted soursop leaf ethanol extract at a dose of 250 mg / kg, 500 mg / kg, and 1000 mg / kg once daily from day 6 to day 15 of pregnancy. The 18th day of pregnancy mice were dissected. Results of the study at a dose of 250 mg / kg, a dose of 500 mg / kg, a dose of 1000 mg / kg give teratogen effects. A dose of 250 mg / kg, a dose of 500 mg / kg give teratogen effect with the discovery of skeletal abnormalities. A dose of 1000 mg / kg give teratogen effect with the discovery of late growth. Results showed that the ethanol extract of the leaves of the soursop affect weight loss parent mice were significantly ($p < 0.05$) when compared to the negative control. The quantity of fetuses decreased significantly ($p < 0.05$) when compared to the negative control. Fetal body weight showed a significant effect ($p < 0.05$) when compared to the negative control.

Keywords : Extract *Annona Muricata* White Mice, Teratogenic

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji efek teratogen ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap fetus mencit putih. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok yang terdiri dari kelompok I sebagai kontrol negatif hanya diberikan suspensi Na CMC 0,5%, kelompok II, Kelompok III dan kelompok IV diberikan ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB satu kali sehari mulai hari ke 6 sampai hari ke 15 kehamilan. Hari ke 18 kehamilan mencit dilaparaktomi. Hasil penelitian pada dosis 250 mg/kg BB, dosis 500 mg/kg BB, dosis 1000 mg/kgBB menimbulkan efek teratogen. Dosis 250 mg/kg BB, dosis 500 mg/kg BB memberikan efek teratogen dengan ditemukannya kelainan tulang rangka. Dosis 1000 mg/kg BB memberikan efek teratogen dengan ditemukannya pertumbuhan lambat. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak mempengaruhi penurunan berat badan induk mencit secara bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Jumlah fetus berkurang dengan signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Berat badan fetus menunjukkan efek yang signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol negatif.

Kata kunci: Ekstrak Etanol Daun Sirsak, Mencit Putih, Teratogen

PENDAHULUAN

Di Indonesia “ self medication “ nampaknya masih banyak dilakukan di masyarakat baik dengan obat-obatan modern maupun dengan obat-obatan tradisional. Pengobatan tradisional di Indonesia masih menduduki posisi penting, karena sejumlah besar penduduknya hidup di pedesaan yang kaya akan tumbuhan dan tanaman obat. Penggunaan tumbuhan obat ini masih didasarkan pada dugaan dan digunakan

secara turun-temurun secara tradisional atau empirik (Darsono dan Kuntorini, 2012). Sirsak mengandung alkaloid, asetogenin, minyak atsiri yang memiliki sifat sitotoksik yang digunakan untuk pengobatan sel tumor dan aktivitas molusisidal. Ekstrak daun sirsak memiliki sifat antioksidan (Kossuch *et al.*, 2007).

Annona muricata mengandung senyawa *Annonaceous acetogenins* yang merupakan prekursor penyebab terjadinya gangguan pada susunan syaraf. Sirsak

telah digunakan untuk pengobatan kanker. Senyawa yang berefek anti kanker umumnya bekerja pada sel-sel yang sedang aktif membelah dan jaringan yang berproliferasi cepat termasuk sel-sel pada proses embriogenesis (Tuchman, *et.al* 1975). Oleh sebab itu, penggunaan ekstrak etanol daun sirsak yang luas di masyarakat memerlukan pengajian terhadap keamanan tanaman tersebut khususnya pada janin.

Pada penelitian sebelumnya, kulit batang, akar, daun sirsak diketahui dapat menurunkan kadar gula darah (Rahmawati, 2013). Daun sirsak juga dapat menghilangkan rasa nyeri dan menurunkan kadar asam urat pada penderita gout (Wirahmadi, 2013). Selain itu, rebusan daun sirsak juga dapat menurunkan kadar kolesterol (Florinda, 2012). Ekstrak daun sirsak juga bermanfaat terhadap viabilitas galur sel kanker prostat (Yulianti, 2014). Senyawa *Annonaceous Acetogenins* dari daun sirsak, *Annona mucirata* dapat sebagai senyawa bioaktif antikanker (Wijaya, 2012). Ekstrak daun sirsak juga dapat menurunkan kadar kolesterol (Supanda, 2014).

Dengan melihat banyaknya manfaat tumbuhan sirsak sebagai tumbuhan obat maka harus dapat dipertanggung jawabkan 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 pada ibu hamil selama penggunaannya ini bisa saja terjadi gejala toksisitas seperti teratogenik

Penelitian mengenai manfaat dan toksisitas kronik dari daun sirsak sebelumnya telah dilakukan Suratmo (2015). Oleh sebab itu, untuk mengetahui apakah penggunaan daun sirsak aman untuk dikonsumsi oleh ibu hamil dan apakah dapat menyebabkan teratogen

terhadap fetus mencit putih betina, diperlukan penelitian lebih lanjut.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan dan kandang perlakuan, TLC *silica gel 60 F₂₅₄* (Merck), chamber kromatografi, lumpang dan stamfer, sudip, pisau bedah, gunting bedah, cawan petri, tisu gulung, kaca arloji, timbangan analitik, kertas millimeter blok, kaca pembesar, pinset, *beaker glass* (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, batang pengaduk, timbangan hewan, kandang mencit, spatel (Meiden), spuit, jarum oral (Terumo), wadah perendam fetus, wadah pewarnaan, *handscoon*, masker, *Rotary evaporator* (IKA RV 10) jas labor.

Daun segar sirsak, aquadest, Natrium Carboxy Methyl Cellulose (NACMC) (Brataco), etanol 70% (Novalindo), kuersetin, asam asetat (PT. Brataco), dikloroetana, formaldehid 14 % (PT. Brataco), asam pikrat (Merck), asam asetat (PT. Brataco), Kalium Hidroksida (KOH) (Merck) dan alizarin merah 6 mg/L.

Penelitian ini telah dilaksanakan selama lebih kurang 3 bulan dari Bulan Agustus - Bulan Oktober 2015 di Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang.

PEMBUATAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK

Ekstrak dibuat dengan cara mengeringkan 1,5 kg daun sirsak segar dengan cara dikering anginkan, kemudian didapatkan simplisia kering yang dihaluskan. Dari proses ini di dapatkan simplisia sebanyak serbuk daun sirsak didapatkan 1500 gram, ekstrak kental 70 gram. Kemudian masukan serbuk simplisia kering ke dalam botol reagen yang gelap, tambahkan

pelarut (etanol 70 %). Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam pada temperature ruangan (kamar). Pisahkan maserat dengan cara filtrasi menggunakan kain flanel, ulangi proses penyarian sebanyak dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama (remaserasi). Kumpulkan semua maserat kemudian dipiekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Setelah itu hitunglah rendemen ekstrak.

PENGUJIAN EFEK TERATOGEN TERHADAP FETUS MENCIT

Hewan uji dipilih sebanyak 20 ekor mencit putih betina dan 4 ekor mencit putih jantan untuk dibagi menjadi 4 kelompok percobaan yang terdiri dari kelompok I sebagai kontrol negatif hanya diberikan suspensi Na CMC 0,5%, kelompok II, Kelompok III dan kelompok IV diberikan ekstrak etanol daun sirih merah dengan variasi dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB satu kali sehari mulai hari ke 6 sampai hari ke 15 kehamilan

Pada masa estrus hewan dikawinkan dengan perbandingan jantan dan betina 1: 5. Mencit jantan dimasukkan ke kandung mencit betina pada pukul empat sore 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 (Almahdy, 2011; Kauffman, 1992).

Sediaan uji diberikan dengan jarum sonde secara peroral selama 10 hari berturut-turut mulai hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan, tanpa memuaskan

hewan. Laparaktomi dilakukan pada hari ke-18 kehamilan. Mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, kemudian lakukan laparaktomi untuk mengeluarkan fetus mencit, amati apakah terdapat tapak resorpsi, jumlah fetus, 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 sebagian fetus direndam dengan larutan Bouin's amati ada tidaknya kelainan secara visual misalnya ekor, daun telinga, kelopak mata, jumlah jari kaki depan dan belakang, sisanya direndam dengan larutan alizarin merah digunakan untuk mewarnai skeletal dan pertulangan mencit, amati ada tidaknya kelainan tulang (Wilson,1975).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kental yang diperoleh 70 gram, nilai rendemen yang didapat adalah sebesar 5,18 %. Kadar abu ekstrak etanol daun sirih adalah 2,23 % kadar abu ini memenuhi syarat karena hasil pengukurannya dibawah 6 %. Hasil pengukuran susut pengeringan ekstrak adalah 10,07 %. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

Ekstrak dibuat menjadi tiga variasi dosis yaitu ; 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB dalam bentuk suspensi Natrium metil carboxy selulosa 0,5%.



Gambar 1. Tanaman daun sirih

Hasil pengamatan terhadap jumlah fetus dapat dilihat pada (Tabel I) .

Tabel I. Jumlah fetus pada masing-masing kelompok sediaan uji.

Tabel XV. Jumlah rata-rata fetus pada masing-masing kelompok sediaan uji

No mencit	Jumlah fetus			
	Kontrol	Dosis 250 mg/kg BB	Dosis 500 mg/kg BB	Dosis 1000 mg /kg BB
1	7	8	8	2
2	8	8	6	0
3	8	6	2	0
4	7	7	8	0
5	8	10	8	0
Jumlah	38	33	32	2

Dari analisa data secara statistik diketahui bahwa ada perbedaan bermakna

antara jumlah fetus pada kelompok kontrol dengan kelompok uji $p < 0,05$, (Tabel II) .

Tabel II. Berat badan fetus masing-masing

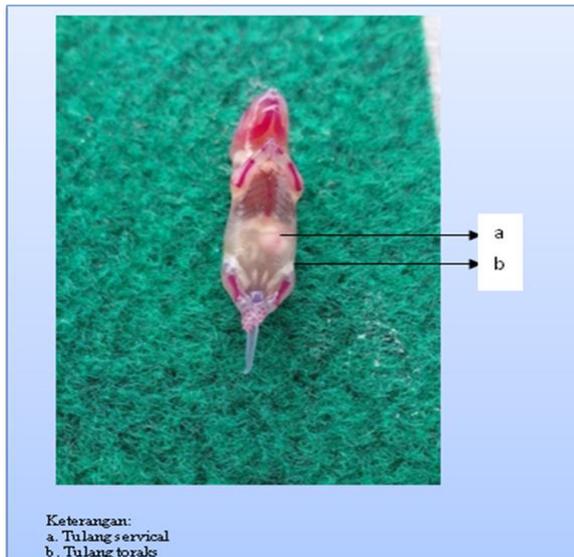
Tabel XVI. Berat badan fetus masing-masing kelompok sediaan uji

No mencit	Berat badan rata-rata fetus (g)			
	Kontrol	Dosis 250 mg/kg BB	Dosis 500 mg/kg BB	Dosis 1000 mg /kg BB
1	1,028	0,247	0,233	0,253
2	1,009	0,302	0,283	0
3	0,977	0,315	0,235	0
4	1,003	0,253	0,233	0
5	0,986	0,273	0,284	0
Jumlah	5,00	1,39	1,258	0,253
Rata-rata	1,00	0,278	0,2516	0,0506
SD	0,0199825	0,029816	0,027309	0,113145

Dari analisa data secara statistik diketahui bahwa perbedaan bermakna

antara berat badan fetus pada kelompok kontrol dengan kelompok uji $p < 0,05$.

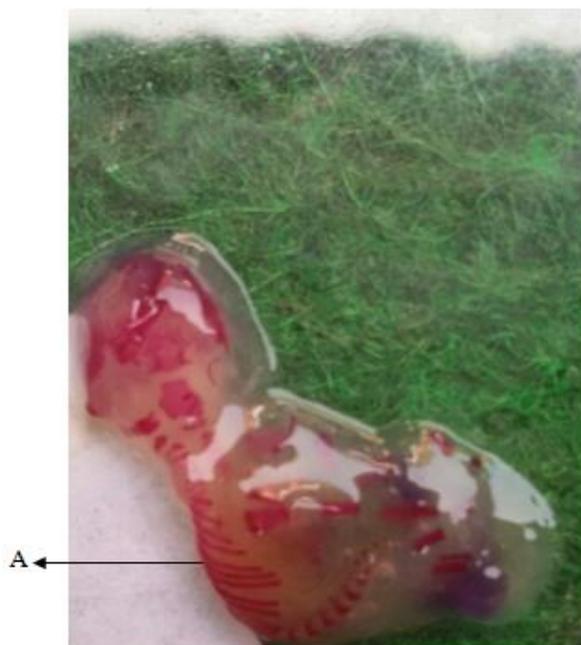
Dalam penelitian ini terdapat perbedaan antara pertulangan kelompok uji dengan kelompok kontrol (Gambar 3, 4, dan 5).



Gambar 2. Fetus yang direndam dengan larutan Alizarin merah pada kelompok kontrol.



Gambar 4. Fetus yang direndam dengan larutan Alizarin merah pada kelompok Dosis 500 mg/kg BB.



Gambar 3. Fetus yang direndam dengan larutan Alizarin merah pada kelompok Dosis 250 mg/kg BB.



Gambar 5. Fetus yang direndam dengan larutan Bouin's pada kelompok kontrol.



Gambar 6. Fetus yang direndam dengan larutan Bouin's pada kelompok Dosis 250 mg/kg BB mengalami ekor *curlyng*.



Gambar 7. Fetus yang direndam dengan larutan Bouin's pada kelompok Dosis 1000 mg/kg BB mengalami pertumbuhan lambat atau *Late grow*.

Jadi dari pengamatan terhadap hasil perendaman dengan larutan Alizarin merah dapat disimpulkan bahwa sediaan menimbulkan cacat pada fetus secara makroskopis, sedangkan dari pengamatan terhadap hasil perendaman dengan larutan Bouin's hanya pada dosis 250 mg/kg BB yang terdapat 1 ekor fetus yang mengalami ekor *curlyng*, pada dosis 1000 mg/kg BB mengalami pertumbuhan lambat atau *Late grow*.

Untuk mengamati keadaan morfologi dan adanya celah pada langit-langit maka fetus direndam dalam larutan Bouin's sampai fetus mengeras dan berwarna kuning. Dari hasil perendaman tersebut dapat diamati kelopak mata, ekor, daun telinga, dan jari-jari. Semua hasil pengamatan pada kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol terdapat adanya perbedaan (Gambar 5, 6, dan 7).

ANALISA DATA

Data hasil penelitian dianalisa secara statistika dengan menggunakan metoda uji statistik analisa variansi (Anova) satu arah dan dilanjutkan dengan uji wilayah Duncan

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etanol dan sirsak dapat menyebabkan teratogen.
2. Kelainan rangka pada kelompok uji pada dosis 250 mg/kg BB dan dosis 500 mg/kg BB.
3. Terjadi malformasi yaitu ekor *curlying* dan tapak resorpsi pada kelompok uji dosis 250 mg/kg BB.
4. Terjadi pertumbuhan lambat atau *Late growth* pada kelompok uji dosis 1000 mg/kg BB

DAFTAR PUSTAKA

- Almahdy, A. (2011). *Uji aktivitas vitamin A terhadap efek teratogen warfarin pada fetus mencit putih*. Medan : USU Press.
- Darsono, P.V.& Kuntorini, E.M. (2012). Gambaran Struktur Anatomis Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Serta Batang *Hydroleaspinosa*. *Bioscientia. J.* Vol 9. No 2. Hal 63-73
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. (Edisi I). Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Florinda, Y. (2012). *Pengaruh Pemberian Air Rebusan Daun Sirsak (Annona mucirata L) Terhadap Kadar Asam Urat, Kolesterol, dan Glukosa Darah Mencit Putih Jantan*. (Skripsi Fakultas Farmasi). Padang: Universitas Andalas
- Kauffman, M. H. (1992). *The atlas of Mouse Development*. London : Academic Press Limited.
- Kossuch, C., Moudachirou, M., Adjakidje, V., Chalcat, J.C. and Fiqueerodo, G. (2007). Essential Oil of Chemical Composition of *Annona mucirata L*, leaves from Benin. *Journal Essent, Oil Res.* Vol 19. Hal 307-309
- Rahmawati, S. (2013). Efektifitas Ekstrak Kulit Batang, Akar, Dan daun Sirsak (*Annona mucirata L*) Terhadap Kadar Glukosa Darah. Yogyakarta. UIN Sunan Kalijaga
- Supanda, O. (2014). *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata) Terhadap Kadar LDL Pada Mencit Putih Jantan*. (Skripsi Fakultas Farmasi) Padang: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
- Suratmo. (2015). Isolasi Karakterisasi Senyawa Turunan Acetogenin dari Daun Sirsak (*Annona muricata*) Serta Uji Toksisitas. *Jurnal Kimia Student*. Vol 1.Hal 798-804
- Tuchman, D. (1975). *Drug Effect on The Fetus*. New York: Adis Press
- Wijaya, M. (2012). *Ekstraksi Annonaceous acetogenin dari Daun Sirsak Annona muricata Sebagai Senyawa Bioaktif Anti Kanker*. (Skripsi Fakultas Teknik Program Studi Teknologi Bioproses). Jakarta: Universitas Indonesia
- Wilson, J.G and Warkany, J. (1975). *Teratology Principles and Techniques*. Chicago : University of Chicago Press.
- Wirahmadi, I.K.N. (2013). *Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Sirsak Terhadap Nyeri Pada Penderita Gout Di Kelurahan Genuk Barat Kecamatan Unggaran Barat Kabupaten Semarang*. (Skripsi Fakultas Ilmu Keperawatan). Semarang: Stikes Ngudi Waluyo Ungaran
- Yulianti, R. (2014). Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Viabilitas Galur Sel Kanker Prostat. *J. MKA.* Vol 37. No 3. Hal 187-19

