

Efek Teratogenik Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L) terhadap Fetus Tikus Putih Galur Wistar

ERJON*, JOULIYANO DWIPUTRI, SARI MEISYAYATI

STIFI Bhakti Pertiwi Palembang

Intisari: Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L) telah terbukti efektif pada penderita kejang, inflamasi, asam urat, hiperglikemia dan hipertensi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek teratogenisitas ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L) pada tikus Wistar. Ekstrak etanol daun sirsak diberikan secara oral dengan dosis 98, 196, dan 392 mg/kg bb pada hari ke 8 sampai hari ke 18 kehamilan tikus. Pada hari ke 20 kehamilan, dilakukan laparotomi untuk mengambil janin. Evaluasi dilakukan terhadap kerangka janin, organ dan berat janin. Pada semua dosis tidak menyebabkan resorpsi janin, tidak menyebabkan malformasi organ dan kerangka tapi menyebabkan gangguan pertumbuhan janin. Ekstrak daun etanol daun sirsak pada dosis 98, 196, dan 392 mg/kgbb pada tikus tidak menimbulkan efek teratogenik.

Kata kunci: Sirsak, *Annona muricata* L, malformasi, efek teratogenic

Abstract: Ethanolic extract of leaves of "sirsak" (*Annona muricata* L) has been proven to be effective in convulsant, inflammatory, hiperuresemia, hyperglycemia and hypertension to patients. The aim of this study was to evaluated teratogenicity effect of ethanolic extract of leaves of sirak (*Annona muricata* L) leaves in Wistar rats. Ethanolic extract of leaves of "sirsak" were administered orally at dose level of 98 mg/kgbw, 196 mg/kg bw, 392 mg/kgbw on day eighth to eighteenth of gestation. At day 20th of gestation, laparotomy was performed to retrieve the fetuses. Evaluation was done towards the fetus skeletal, organ and fetal weight. The at all doses did not cause any fetus resorption, did not cause malformation in organ and skeleton but cause fetus growth failure. Ethanolic extract of leaves of sirak at doses of 98, 196, and 392 mg/kgbw in rats did not have the teratogenic effect.

Keywords: sirak, *Annona muricata* L, malformation, teratogenic effect.

*Corresponding Author: erjonplg@gmail.com

1 PENDAHULUAN

Setiap obat baik tradisional maupun modern harus mempunyai data keamanan berupa data toksisitasnya. Pengujian toksikologi merupakan salah satu pengujian yang harus dipenuhi oleh sediaan obat termasuk sediaan herbal yang mempunyai grade herba terstandar maupun fitofarmaka. Salah satu uji toksikologi yang penting adalah uji teratogenik (Departemen Kesehatan RI, 1995). Uji teratogenik merupakan salah satu pengujian toksikologi selektif. Pengujian teratogenik ini ditujukan untuk melihat pengaruh suatu bahan terhadap perkembangan fetus. Teratogenik berarti terjadinya perkembangan tidak normal dari sel selama kehamilan yang menyebabkan kerusakan pada embrio sehingga pembentukan organ-organ berlangsung tidak sempurna (terjadi cacat lahir) (Wilson and Freser,

1995). Bahan-bahan yang bersifat teratogenik dikontra indikasikan kegunaannya pada kehamilan (Brunton et al, 2006).

Salah satu obat tradisional yang sering dimanfaatkan untuk pengobatan alternatif adalah daun sirak. Kandungan kimia ekstrak etanol dari daun sirak adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid antrakuinon dan terpenoid (Vimala et al, 2012). Sedangkan ekstrak n-butanol daun sirak terdapat senyawa triterpenoid (Artini et al, 2012). Daun sirak memiliki beberapa khasiat diantaranya adalah untuk pengobatan demam, diare, antikejang, anti jamur, anti parasit, antimikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, flu dan lain-lain (Gajalaksami et al, 2011). Dilaporkan pula pada fraksi n-butanol daun sirak dapat menurunkan kadar asam urat tikus wistar (Artini et al, 2012). Pada penelitian lain juga dilaporkan ekstrak daun sirak memiliki efek

berkhasiat sebagai antihipertensi, vasodilatasi, antikonvulsi, relaksasi dan sedatif (Mishra et al, 2013). Holdsworth (1990), melaporkan bahwa daun sirsak juga berpotensi sebagai antihipertensi, antispasmodik, obat pereda nyeri, hipoglikemik, antiemetik dan antelmentik. Menurut (Anggina, 2014) daun sirsak memiliki efek sebagai antikonvulsi.

Dari data penelitian ilmiah di atas belum ditemukan data toksikologi terutama data teratogenik dari daun sirsak. Untuk itu perlu diteliti pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak pada perkembangan fetus atau sifat teratogenik dari ekstrak daun sirsak

2 METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan adalah : seperangkat alat destilasi, rotary evaporator, botol maserasi, timbangan analitik, kertas saring, kertas perkamen, erlenmeyer, gelas ukur, corong gelas, mortir dan stamper, jarum oral, spuit 1 cc, mikroskop, kaca objek, wadah perendaman fetus dan alat-alat bedah.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah : daun sirsak, etanol destilasi, tween 80, aquades, NaCl fisiologis, larutan Bouin's (formaldehid 14%, asam asetat glacial, asam pikrat jenuh), larutan merah alizarin (KOH 1%, merah alizarin 6ml/L), gliserin.

Metodologi Penelitian

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) segar yang diambil di daerah Bukit Lama Palembang Sumatera Selatan.

Identifikasi Tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini diklarifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Padang.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak

1000 gram daun sirsak segar dimaserasi dengan etanol. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Dosis dan Pembuatan Sediaan Uji

Dosis ekstrak daun sirsak yang digunakan adalah 98, 196 dan 392 mg/kgbb. Sediaan uji yang dibuat dihomogenkan dengan menambahkan tween 80 sebanyak 1% b/v.

Pembuatan Larutan Merah Alizarin

Larutan merah alizarin digunakan untuk mewarnai bagian skeletal dan pertulangan tikus. Pembuatannya adalah dengan menambahkan 6 mg merah alizarin pada 1 liter KOH 1%.

Pembuatan Larutan Bouin's

Larutan bouin's digunakan untuk melihat bagian-bagian visceral fetus tikus. Cara pembuatannya adalah: asam pikrat dilarutkan dalam air panas dan dibuat jenuh, biarkan satu malam, kemudian ditambahkan formaldehid 14% dan asam asetat glacial masing-masing dengan perbandingan 75:20:5 (Wilson and Freser, 1995).

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus betina yang berumur kurang lebih 2-3 bulan, dengan berat rata-rata 200 gram dengan siklus estrus yang teratur 4-5 hari.

Pengawinan Hewan Uji

Hewan dikawinkan pada masa estrus dengan perbandingan jantan dan betina 1: 4. Tikus jantan dimasukkan ke kandang tikus betina estrus pada pukul empat sore dan dipisahkan lagi besok paginya. Dan dilakukan pemeriksaan sumbat vagina. Adanya sumbat vagina menunjukkan hari pertama dari kehamilan (Yatim,1996). Tikus yang hamil dipisahkan, tikus

yang belum hamil dikawinkan lagi keesokan paginya.

Uji Efek Teratogenik

1. Pada hari ke 8 sampai 18 kehamilan dilakukan pemberian sediaan uji
 - a. Kelompok I : diberikan ekstrak daun sirsak dengan dosis 98 mg/ kgbb
 - b. Kelompok II : diberikan ekstrak daun sirsak dengan dosis 196 mg/ kgbb
 - c. Kelompok III : diberikan ekstrak daun sirsak dengan dosis 392 mg/ kgbb
 - d. Kelompok kontrol : diberikan air suling 100 g/kgbb
2. Pada hari ke 20 kehamilan, dilakukan laparotomi pada induk tikus yang sebelumnya induk tikus dimatikan dengan cara dislokasi leher. Setelah mati dilakukan pembedahan pada bagian abdomen perutnya kearah atas sampai terlihat uterus yang berisi fetus.
3. Fetus yang telah dikeluarkan dibersihkan kemudian dicatat jumlah fetus betina dan jantan dan ditimbang berat masing-masing fetus.
4. Selanjutnya dilakukan pengamatan visual terhadap adanya kelainan. Misalnya, bentuk ekor, telinga, kelopak mata, jumlah kaki depan dan belakang (Departemen Kesehatan RI, 1995 ; Wilson and Freser, 1995).
5. Setelah diamati secara visual, sepertiga dari fetus dilakukan fiksasi dengan larutan Bouin's selama dua minggu sampai fetus berwarna kuning dan keras. Setelah itu fetus dikeluarkan dan dikeringkan, kemudian diperiksa bagian luar fetus yang meliputi telinga, mata, kaki dan ekor.
6. Dua pertiga fetus lagi, direndam dengan larutan merah alizarin yang akan menyebabkan fetus menjadi transparan. Perendaman dalam larutan merah alizarin dilakukan selama 2 sampai 3 hari sambil sekali-kali digoyang. Kemudian fetus dikeluarkan dan disimpan dalam larutan yang terdiri dari etanol 70%, gliserin dan formaldehid 14%. Pengamatan dilakukan di tulang dada, tulang punggung, tulang ekor, tulang kaki dan jari-jari kaki. Semua hasil pengamatan dibandingkan dengan kontrol (Wilson and Freser, 1995).

Pengumpulan dan Analisa Data

Data kuantitatif diperoleh dengan melakukan pengamatan jumlah fetus hidup, jumlah fetus mati, berat fetus, panjang fetus. Data kualitatif diperoleh dengan mengamati morfologi fetus (mata, telinga, ruas jari, tengkorak, ekor dan lainnya yang dianggap abnormal) dan sistem skeletonya (bentuk tulang, jumlah tulang, dan hasil proses penulangan). Data dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) satu jalur dan *Pearson Correlation*.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dapat dipaparkan sebagai berikut :

Tabel 1. Rata-rata jumlah fetus dan berat badan fetus dari kelompok kontrol dan kelompok pemberian ekstrak daun sirsak dengan dosis 98, 196 dan 392 mg/kgbb.

Kelompok dosis	Rata-rata jumlah Fetus ± standar deviasi	Rata-rata berat badan fetus ± standar deviasi (gram)
Tween 80 1%	8,8 ± 1,30	4,58 ± 0,06
Ekstrak daun sirsak 98 mg/kgbb	8,0 ± 1,22	4,37 ± 0,09
Ekstrak daun sirsak 196 mg/kgbb	7,6 ± 0,54	4,00 ± 0,11
Ekstrak daun sirsak 392 mg/kgbb	7,0 ± 1,00	3,83 ± 0,14

Tabel 2. Parameter pengamatan fetus secara visual kelompok kontrol dan kelompok pemberian ekstrak daun sirsak dengan dosis 98, 196 dan 392 mg/kgbb.

Kecacatan Fetus	Kontrol	Dosis ekstrak daun sirsak (mg/kgbb)		
		98 mg/kgbb	196 mg/kgbb	392 mg/kgbb
Bentuk ekor	0	0	0	0
Kelopak mata	0	0	0	0
Telinga	0	0	0	0
Kaki depan	0	0	0	0
Kaki belakang	0	0	0	0
Hemoragi	2 ^{*)}	7 ^{*)}	11 ^{*)}	14 ^{*)}
Tapak resorpsi	-	-	-	-
Sistem rangka	0	0	0	0

Keterangan: 0 : normal; *) jumlah hemoragi; - : tidak ada

Pembahasan

Ekstrak kental etanol dari daun sirsak memenuhi persyaratan dan dapat digunakan

sebagai bahan uji pada penelitian. Sediaan uji yang dibuat dihomogenkan dengan menambahkan tween 80 sebesar 1%v/v. Sediaan uji diberikan pada ke 8 sampai hari 18 kehamilan tikus, karena pada priode ini merupakan priode pematangan organ-organ pada fetus selama di dalam rahim.

Pada hari ke 20 kehamilan dari tikus atau satu hari sebelum kelahiran normal dilakukan laparaktomi. Laparaktomi dilakukan untuk mencegah induk tikus memakan anaknya yang mengalami kecacatan, mati, atau yang hampir mati, sehingga akan mengakibatkan perubahan data yang didapat. Disamping itu dengan dilaparaktomi dapat juga dapat diamati tapak resorpsi dan hemoragi yang terjadi pada fetus (Wilson and Freser, 1995).

Dari hasil laparaktomi tidak ditemukan tapak resorpsi, tetapi ditemukan hemoragi. Hemoragi yang ditemukan yang berbeda dari dari setiap kelompok perlakuan (Tabel 2). Hemoragi merupakan peristiwa keluarnya darah dari sistem kardiovaskuler yang disertai dengan penimbunan didalam jaringan tubuh (Wilson and Freser, 1995). Kemungkinan hemoragi dapat terjadi karena ekstrak diberikan berulang kali pada dosis cukup tinggi, sehingga konsentrasi didalam darah tinggi, akibatnya terjadi ketidakseimbangan osmotik. Pada keadaan normal, embrio berkembang dalam cairan amnion yang isotonis dengan cairan tubuh. Masuknya zat asing dalam jaringan dapat mengubah tekanan osmosis. Ketidakseimbangan osmotik dapat menyebabkan gangguan tekanan dan viskositas cairan pada bagian embrio yang berbeda, antara plasma darah dan ruang ekstra kapiler atau cairan ekstra dan intra embrionik. Perbedaan ini menyebabkan pembuluh darah pecah dan terjadi hemoragi (Wilson and Freser, 1995). Dari hasil uji T tes menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara dosis dengan adanya efek hemoragi pada fetus tetapi pada dosis 196 mg/kgbb dengan 392 mg/kgbb tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$).

Pengamatan terhadap jumlah fetus pada pemberian ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 392 mg/kgbb, 196 mg/kgbb, 96 mg/kgbb menunjukkan adanya penurunan jumlah fetus dapat dilihat pada (Tabel 1). Setelah dilakukan uji *One Way Anova* terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) antara kontrol

dengan semua kelompok uji terhadap jumlah fetus. Hasil uji statistik lanjut dengan *Duncan* menggunakan SPSS untuk parameter pengamatan jumlah fetus kelompok ekstrak 98 mg/kgbb dan 196 mg/kgbb terlihat tidak berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol, untuk dosis 392 mg/kgbb menunjukkan ada perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol.

Pengamatan terhadap berat badan rata-rata fetus menunjukkan penurunan berat badan rata-rata fetus (Tabel 1). Analisa menggunakan *One way Anova* menunjukkan hasil perbedaan bermakna disetiap kelompok dosis terhadap kontrol ($p < 0,05$). Hasil uji *Duncan* secara statistik kelompok 98 mg/kgbb dan 196 mg/kgbb terlihat tidak berbeda makna terhadap kelompok kontrol, tetapi pada kelompok dosis 392 mg/kgbb menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol ($p < 0,05$). Penurunan berat badan fetus merupakan bentuk teringan dari suatu efek senyawa yang bersifat teratogenik (Wilson and Freser, 1995). Berat badan merupakan parameter yang cukup sensitif untuk mengetahui pengaruh senyawa asing terhadap pertumbuhan fetus. Penurunan rata-rata berat badan fetus dapat disebabkan karena berkurangnya transfer nutrisi pada masa perkembangan fetus yang dapat menyebabkan penurunan berat badan fetus.

Hasil uji *Pearson Corellation* baik untuk parameter jumlah fetus dan berat badan fetus menunjukkan korelasi negatif antara peningkatan dosis dengan jumlah fetus dan berat badan fetus. Hal ini menunjukkan dengan adanya peningkatan dosis pemberian ekstrak daun sirsak akan menyebabkan penurunan jumlah dan berat badan fetus. Dari uji *Pearson Corellation* juga terlihat hubungan yang sedang ($r=0,563$) dari peningkatan dosis pemberian ekstrak daun sirsak terhadap jumlah fetus. Sedangkan untuk penurunan berat badan rata-rata fetus terlihat hubungan yang sangat kuat ($r=0,939$) dari peningkatan dosis pemberian ekstrak daun sirsak terhadap penurunan berat badan rata-rata fetus ($p < 0,05$).

Bentuk tulang diamati setelah fetus direndam dengan larutan alizarin yang menyebabkan fetus berwarna transparan dengan tulang berwarna merah keunguan. Hasil penelitian tidak menunjukkan ada kelainan

bentuk tulang pada semua tingkatan dosis pemberian, sehingga ekstrak etanol daun sirsak diperkirakan tidak mempengaruhi pertumbuhan tulang.

Parameter yang diamati setelah fetus direndam dalam larutan Bouin's antara lain bentuk ekor, kelopak mata, bentuk telinga, kaki depan dan kaki belakang tidak menunjukkan adanya cacat morfologis dibanding dengan kelompok kontrol.

IV KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian efek teratogenik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap fetus yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 98 mg/kgbb, 196 mg/kgbb dan 392 mg/kgbb tidak menimbulkan efek teratogenik pada fetus tikus
2. Peningkatan dosis pemberian ekstrak etanol daun sirsak dapat meningkatkan penurunan jumlah dan berat badan fetus.

REFERENSI

- [1] Anggina, Y. (2014). *Uji Efek Antikonvulsi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Terhadap Mencit Putih Jantan Galur Swiss Webster*. Skripsi sarjana Sekolah Tinggi Farmasi. Palembang
- [2] Artini, Ni puturahayu,. Rahayu,S., wahyu dwi jani Sulihingtyas, W, D,J. (2012). *Ekstrak daun sirsak (Annona muricata, L.) Sebagai Antioksidan Pada Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Wistar*. Jurnal kimia 6 (2) : 127-137. Universitas udayana
- [3] Brunton, L.L.; Lazo,J.S. & Parker, K.L. (2006) : Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division, USA. R
- [4] Departemen Kesehatan RI, (1995). *Farmakope Indonesia* (Edisi IV), Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [5] Departemen Kesehatan RI,(2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*.Jakarta : Dirjen POM Direktorat Pengawasan Obat Tradisional
- [6] Gajalakshmi.,Vijayalakshmi., & Devi Rajeswari. (2011). *Phytochemical and pharmacological properties of AnnonaMuricata A review*. Vol 4.Issue 2. India.
- [7] Holdsworth D. K. (1990). Traditional Medicinal Plants of Rarotonga, Cook Islands. I Part I. Int. J. Crude Drug Res. 28(3), 209-218
- [8] Mishra,S., Shamim, A., Nilesh K., Brijesh K, S. (2013). *Annona muricata (The cancer killer) : A Review* .The Global Journal of Pharmaceutical Research Vol. 2(1), pp. 1613-1618.
- [9] Vimala, J. Rosaline., A. Lena Rose, S. Raja.(2012). *A Study On The Phytochemical Analisis And Corrosion Inhibitor On Mild Steel By Annona muricata, L Leaves Extract In 1 Hydrochloric Acid*. India. 3(3):582-588.
- [10] Wilson, J.G and J. Warkany. (1995). *Teratology Principle ang Techniues*, university of chicago press, Chicago IL
- [11] Wilson, J. G., and Freser, F, G. (1978). *Handbook of Teratology*. Plenum Press, New York.
- [12]Yatim, W., (1996). *Reproduksi dan Embriologi*.(Edisi II), Tarsito, Bandung. _____