

Studi Efek Teratogenik Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) pada Tikus Wistar Putih

Kusnandar Anggadiredja¹, Elin Yulinah Sukandar¹, Slamet Santosa²

¹Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

²Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

Abstrak

Pengembangan sediaan fitofarmaka yang berasal dari bahan alam, khususnya tanaman telah banyak dilakukan. Pemakaian luas sediaan fitofarmaka tidak menutup kemungkinan akan penggunaannya oleh wanita hamil. Oleh karenanya perlu dilakukan uji efek teratogenik yang akan memeriksa kemungkinan kelainan morfologik pada fetus. Pada penelitian ini dilakukan uji efek teratogenik ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*), salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat dan berasal dari suatu sediaan kapsul ekstrak buah mengkudu pada tikus Wistar. Suspensi ekstrak (dalam pembawa tragakan 2%) pada dosis 27, 500, dan 1000 mg/kg bobot badan diberikan secara oral pada hari ke 8,9 dan 10 kehamilan. Pada hari ke-19 kehamilan, tikus dibedah untuk pengambilan fetus. Pemeriksaan terhadap jaringan lunak maupun kerangka fetus tidak menunjukkan adanya kelainan morfologik akibat pemberian ekstrak buah mengkudu. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak buah mengkudu aman untuk digunakan oleh wanita hamil.

Kata kunci: teratogen, mengkudu, *Morinda citrifolia*, tikus

Pendahuluan

Dewasa ini ada fenomena kembali ke alam dalam mengatasi berbagai masalah kesehatan. Pengembangan bentuk-bentuk sediaan asal alam (fitofarmaka) serta pemanfaatannya dalam pengobatan telah banyak dilakukan. Di Jerman, misalnya, pada tahun 1995 kurang lebih 7% dari resep obat yang ditanggung oleh asuransi kesehatan merupakan obat yang berasal dari tanaman.¹

Mengkudu (*Morinda citrifolia*) adalah salah satu jenis tanaman yang telah sering digunakan oleh masyarakat Indonesia. Secara tradisional, buah dan daun mengkudu digunakan sebagai obat batuk dan obat radang usus; dan daunnya berkhasiat sebagai obat masuk angin, obat amandel, obat mulas serta obat kencing manis. Daun dan buah mengkudu mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan antrakuinon; disamping

itu daunnya mengandung polifenol.²

Seiring dengan pengembangan sediaan fitofarmaka tanaman mengkudu, penggunaannya pun semakin meluas, termasuk oleh wanita hamil. Sehubungan dengan kasus yang terakhir, maka perlu dilakukan suatu uji efek teratogenik, terutama bila rentang waktu penggunaan obat juga mencakup tahap organogenesis fetus. Hal ini dikarenakan meskipun obat yang berasal dari tanaman dipercaya memiliki efek samping yang kecil, akan tetapi bahan-bahan kimia yang terkandung di dalamnya dapat juga mempengaruhi kondisi fetus yang dikandung oleh wanita hamil.

Penelitian ini bertujuan untuk memeriksa efek samping, pada tingkat organ, yang mungkin terjadi pada janin tikus dari induk yang diberi ekstrak buah mengkudu pada fase organogenesis.

Bahan dan Cara

Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini mengikuti prosedur yang dilakukan pada penelitian uji efek teratogenik yang sudah dilakukan^{3,4}, yang mengacu pada suatu prosedur baku untuk uji efek teratogenik.⁵ Tikus putih galur Wistar dibagi secara acak menjadi empat kelompok, yaitu: satu kelompok kontrol yang diberi tragakan 2%; dan tiga kelompok yang diberi ekstrak mengkudu (ekstrak mengkudu diperoleh dari suatu produk fitofarmaka kapsul

ekstrak buah mengkudu) pada dosis 27, 500 dan 1000 mg/kg bobot badan (berbentuk suspensi dalam tragakan 2%). Dosis terendah merupakan hasil konversi dari dosis pemakaian pada manusia; sedangkan dosis tertinggi adalah suatu dosis batas pada uji teratogenisitas, dan jika pada dosis ini tidak didapati adanya toksisitas embrio atau teratogenisitas, maka tidak perlu dilakukan pengujian pada dosis lainnya. Obat diberikan secara oral satu kali sehari pada hari ke 8, 9 dan 10 kehamilan. Periode pemberian obat ini berada kira-kira pada pertengahan fase organogenesis kehamilan tikus.

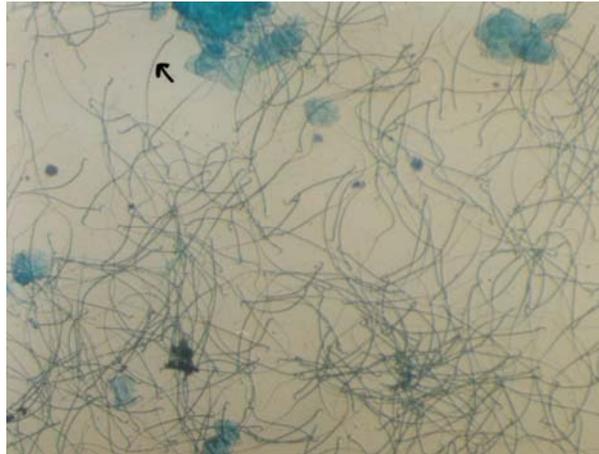
A. Penentuan Awal Kehamilan.

Tikus jantan dan betina dicampurkan dalam satu kandang dengan perbandingan satu jantan untuk tiga betina. Mulai satu hari setelah pencampuran dilakukan pemeriksaan apusan vagina tikus betina. Ke dalam lubang vagina tikus dibilaskan larutan NaCl 0,9% secukupnya menggunakan ujung pipet. Air bilasan kemudian diteteskan ke atas kaca objek sambil diratakan. Setelah kering, apusan diwarnai dengan metilen biru 0,1%. Apusan kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Hari ke nol kehamilan ditentukan dengan teramatinya sumbat vagina atau terdapatnya sperma dalam apusan vagina, seperti dapat dilihat pada Gambar 1.

B. Pembedahan dan Pengamatan.

Pada hari ke-19 kehamilan, tikus dibedah untuk pengambilan fetus. Tiap fetus kemudian dike-

ringkan dan ditimbang. Fetus normal yang baru diambil dari uterus ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Pengamatan di bawah mikroskop apusan vagina tikus yang telah melakukan kopulasi. Terdapat banyak sperma pada apusan, seperti ditunjukkan dengan tanda panah.



Gambar 2. Fetus normal saat baru diambil dari uterus.

C. Penyiapan Awetan Kerangka.

- *Penyiapan*: Fetus difiksasi dalam larutan etanol 90% sekurang-kurangnya 1-2 minggu. Setelah dikeringkan fetus dikuliti dengan sempurna. Mata dan gumpalan lemak di tengkuk dibuang, dan trakea dipotong. Selangkangan kaki dan ketiak disayat agar tidak menempel pada badan. Dinding perut dirobek dan jenis kelamin fetus diperiksa. Setelah dikuliti dan dibuang organ bagian dalamnya, fetus dikembalikan ke dalam botol fiksasi.
- *Penjernihan*: Setelah fetus dikuliti dan dibuang organ dalamnya, larutan fiksasi etanol diganti dengan KOH 0,5%. Penjernihan berlangsung selama satu hari. Sekali-sekali wadah digoyang untuk mengeluarkan udara dari rongga dada.
- *Pemutihan*: Setelah penjernihan sempurna, larutan KOH dibuang, fetus dibilas dengan air dan sisa lemak dibuang. Air kemudian diganti dengan larutan hidrogen peroksida 1%. Fetus dibiarkan berada di dalamnya selama 2-3 jam, sambil sekali-sekali digoyang. Pemutihan dianggap sempurna jika bagian dalam tulang berwarna putih.
- *Pewarnaan*: Setelah pemutihan sempurna, fetus dibilas dan direndam dalam air selama ± 10 menit. Air kemudian diganti dengan larutan pewarna alizarin. Fetus dibiarkan berada di dalamnya selama tidak lebih dari 24 jam. Pewarnaan dianggap sempurna jika kerangka telah terlihat jelas.
- *Pembersihan akhir*: Setelah pewarnaan sempurna, larutan pewarna alizarin dibuang, fetus dibilas dengan air beberapa kali kemudian direndam secara bertahap dalam larutan gliserol 5%, 20%, 40%, 80% dan terakhir gliserol murni, masing-masing selama 1 minggu.
- *Penilaian kerangka*: Penilaian dilakukan setelah preparat direndam dalam gliserol 80% selama paling sedikit 1 minggu. Mula-mula kerangka diamati bagian belakangnya: tulang tengkorak, tulang belakang, tulang rusuk diperiksa. Kerangka kemudian dibalik untuk pengamatan bagian depannya: kerangka rongga mulut, tulang yang melingkari bahu dan pinggul, anggota tubuh bagian depan dan belakang. Hasil pemeriksaan struktur, morfologi, jumlah dan posisi tulang kemudian dicatat.

D. Penilaian Jaringan Lunak.

Setelah 1-2 minggu difiksasi dalam larutan Bouin, fetus dari satu induk dipindahkan ke dalam gelas piala berisi air. Fetus kemudian dikeringkan dengan *tissue*, dan disayat dengan pola tertentu. Bagian kepala di antara rahang atas dan bawah dipotong menggunakan pisau silet, dan langit-langit diperiksa. Pada potongan kepala bagian atas dibuat sayatan melintang dari hidung ke arah belakang de-

ngan jarak maksimum 1 mm dengan mengutamakan hidung, mata, dan ventrikel lateral. Selanjutnya kulit di sekitar perut ditoreh dengan pisau bedah, bagian depan dipotong dan dibuang, organ di dalam rongga perut dikeluarkan hati-hati. Keadaan ureter, kelenjar-kelenjar kelamin, dan kandung kemih diperiksa. Semua ketidaknormalan dicatat.

Hasil dan Pembahasan

Pemberian ekstrak buah mengkudu pada rentang dosis yang digunakan dalam penelitian ini tidak menimbulkan aborsi atau resorpsi fetus. Hanya teramati satu kasus pada seekor tikus yang diberi ekstrak obat pada dosis 1000

mg/kg yang mana fetus terlihat mengalami keterlambatan perkembangan (data tidak ditunjukkan di sini). Salah satu kemungkinan yang menyebabkan hal ini adalah kesalahan pada penentuan awal kehamilan, sehingga pembedahan tikus dilakukan terlalu cepat.

Hasil pengamatan terhadap bobot badan janin, seperti dapat dilihat pada Tabel 1, tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata di antara perlakuan.

Hasil pengamatan terhadap kerangka fetus tidak menunjukkan adanya kelainan pada semua fetus yang diamati (seperti ditunjukkan pada Tabel 2, Tabel 3, dan Gambar 3).

Tabel 1. Pengamatan fetus hidup dan bobot badannya

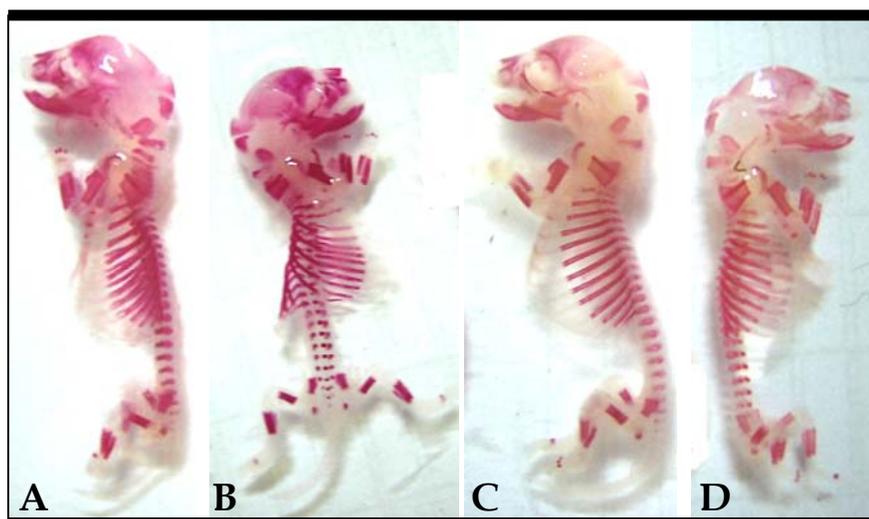
Dosis (mg/kg)	Fetus hidup		Resorpsi		Bobot badan rata-rata (gram)
	Jumlah	%	Jumlah	%	
Kontrol	22	100	0	0	2,09
27	35	100	0	0	2,07
500	31	100	0	0	2,24
1000	34	100	0	0	2,15

Tabel 2. Pengamatan vertebrae fetus hidup

Dosis (mg/kg)	Jumlah fetus total	Jumlah fetus diamati	Kejadian kelainan vertebrae			
			Servikal	Toraks	Lumbal	Sakro kaudal
Kontrol	22	10	0	0	0	0
27	35	17	0	0	0	0
500	31	14	0	0	0	0
1000	34	17	0	0	0	0

Tabel 3. Pengamatan kelengkapan tulang anggota tubuh fetus hidup

Dosis (mg/kg)	Jumlah fetus total	Jumlah fetus diamati	% fetus dengan kelainan jumlah tulang anggota tubuh yang teramati					
			Ruas tulang jari anggota tubuh depan			Ruas tulang jari anggota tubuh belakang		
			Dista l	Prok-simal	Meta-karpal	Dista l	Prok-simal	Meta-karpal
Kontrol	22	10	0	0	0	0	0	0
27	35	17	0	0	0	0	0	0
500	31	14	0	0	0	0	0	0
1000	34	17	0	0	0	0	0	0



Gambar 3. Pengamatan kerangka fetus hidup. Tidak ada kelainan yang teramati pada fetus dari induk yang diberi tragakan 2% (A; kontrol); dan ekstrak buah mengkudu pada dosis 27 (B), 500 (C) atau 1000 mg/kg bobot badan (D). Kerangka ditampakkan dengan pewarna alizarin.

Adapun susunan dan jumlah rangka normal adalah: 7 ruas tulang servikal, 13 ruas tulang toraks, 6 ruas tulang lumbal dan 4 ruas tulang sakral, yang menyusun tulang belakang; tulang anggota tubuh depan terdiri dari 5 ruas tulang distal, 4 ruas tulang proksimal, 4 ruas tulang metakarpal; tu-

lang anggota tubuh bagian belakang terdiri dari 5 ruas tulang distal, 4 ruas tulang proksimal dan 5 ruas tulang metatarsal.

Hasil pengamatan terhadap jaringan lunak fetus juga tidak menunjukkan adanya ketidakknormalan (Tabel 4). Beberapa contoh

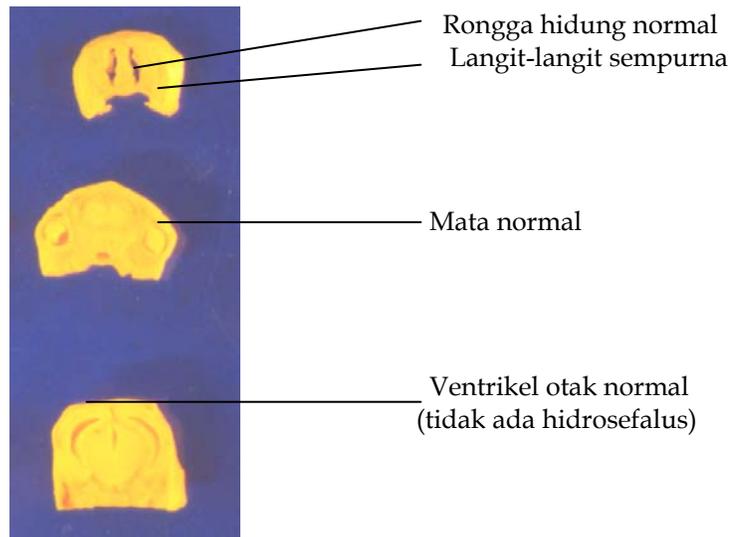
kondisi organ ditunjukkan pada Gambar 4.

Tabel 4. Pengamatan jaringan lunak fetus hidup

Dosis (mg/kg)	Jml fetus total	Jml fetus diamati	Jumlah fetus dengan kelainan organ internal secara makroskopis											
			Hs	Mt	Cp	Jt	Ht	Gj	Tt	Ov	Tg	Kk	Ek	
Kontrol	22	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	35	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	31	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	34	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan:

Hs: hidrocefalus, Mt: mata, Cp: *cleftpalate*, Jt: jantung, Ht: hati, Gj: ginjal, Tt: testis, Ov: ovarium, Tg: tangan, Kk: kaki, Ek: ekor



Gambar 4. Contoh pengamatan jaringan otak pada fetus hidup

Secara keseluruhan, pemberian sediaan fitofarmaka ekstrak buah mengkudu pada tikus hamil pada penelitian ini tidak menimbulkan efek samping pada fetus. Adapun kelainan pada satu ekor tikus yang diberi dosis 1000 mg/kg bobot badan seperti diuraikan di

atas, walaupun ini benar-benar diakibatkan oleh obat, hanya terjadi pada dosis yang sangat tinggi, jauh di atas dosis pemakaian.

Kesimpulan dan Saran

Data dari penelitian ini mengindikasikan bahwa pemberian sediaan ekstrak buah mengkudu pada kondisi kehamilan tidak menyebabkan timbulnya kelainan morfologik pada fetus. Akan tetapi, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba untuk menguji pengaruh obat terhadap perilaku keturunan pasca kelahiran.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada laboran dan analis di sekolah Farmasi: Sdr. Warsidi, Dian dan Nuri, yang telah banyak membantu dalam teknis pengerjaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. **Schulz, V., Hansel R., Tyler V.E.** 1998. *Rational Phytotherapy*. Springer, Berlin.
2. **Balitbangkes** 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Depkes-Depsos RI, Jakarta: 159
3. **Mutiaticum, D.** 1998. *Studi Efek Teratogenik Infus Buah Pinang (Areca catechu L.) pada Tikus Galur Wistar*, Tesis S-2, Program Studi Farmasi, Institut Teknologi Bandung.
4. **Yulianti, H.** 2000. *Efek Teratogenik Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman (Elephantopus scaber L.) dan Kulit Batang Pule (Alstonia scholaris R. BR.) pada Tikus Wistar Putih*, Skripsi S-1, Program Studi Farmasi, Institut Teknologi Bandung.
5. **Omori, Y.** 1981. *OECD Guidelines for Testing of Chemicals*. Kagaku Kogyo Nipposha, Tokyo: 492-497.

