

**UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) PADA MENCIT PUTIH
(*Mus musculus*) TERHADAP KELAINAN
KERANGKA FETUS**



Oleh:

**Ezra Desipa Sitohang
20144336A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) PADA MENCIT PUTIH
(*Mus musculus*) TERHADAP KELAINAN
KERANGKA FETUS**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Ezra Desipa Sitohang
20144336A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**


PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul:

**UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura* L.) PADA MENCIT PUTIH
(*Mus musculus*) TERHADAP KELAINAN
KERANGKA FETUS**

**Ezra Desipa Sitohang
20144336A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 28 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,



Dr. Jason Merari P., S.Si., MM., M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,



Dra. Yul Mariyah., M.Si., Apt

Penguji :

1. Dr. Wiwin Herdwiani, SF., M.Sc., Apt
2. Dr. Ika Purwidyaningrum, S.Farm., M.Sc., Apt
3. Reslely Harjanti, S.Farm., M.Sc., Apt
4. Dr. Jason Merari P., S.Si., MM., M.Si., Apt



HALAMAN PERSEMBAHAN

“So do not fear, for I am with you, do not be dismayed, for I am your God. I will uphold you with my righteous right hand.”

Isaiah 41:10

Everything for You, GOD

because

without You, Ezra nothing's

Skripsi ini saya persembahkan pada:

✠ Tuhan Yesus Kristus, Juruslamat dan sahabat terbaikku

Kedua orang tua, abang, adik dan keluarga besar

Persekutuan Mahasiswa Kristen Katharos

Semua orang – orang yang ku kasihi

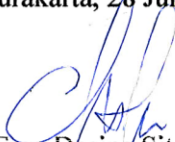
Almamater, Bangsa & Negara

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Juni 2018



Ezra Desipa Sitohang

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena kasih karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*) TERHADAP KELAINAN KERANGKA FETUS.”** Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini dan dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, M.BA. selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, M.Farm.,Apt. Selaku Ketua Program Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Prof. Dr. M. Muchalal, DEA. Selaku pembimbing akademik yang telah memberikan dukungan, masukan, arahan dan selama S1 di farmasi telah memberikan waktunya untuk membimbing kami.
5. Dr. Jason Merari P., S.Si., MM., M.Si., Apt., selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan saran selama penulisan skripsi ini.
6. Dra. Yul Mariyah., M.Si., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan saran selama penulisan skripsi ini.
7. Tim penguji yang telah memberikan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Segenap Dosen pengajar, Karyawan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, yang telah membantu selama penelitian skripsi ini.

9. Papa Porman Sitohang, mama Herdi Manullang, Abang Apriano Sitohang Amd, adik Tri Meliana & Guslou Sitohang serta seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan, menguatkan dan menasehati, sehingga menjadi motivasi dan semangat yang sangat berarti bagi penulis. “Aku mengasihi kalian”.
10. Teman-teman yang kukasihi, Wulan dan Yani (1 tim skripsi); Tiwi, Santi dan Anita (squad dolan); Regina, Yati, Stefani dan Angkatan 2014 serta PMK Katharos (Angkatan 2014 dan seluruh kakak dan adik-adik) yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan. “Aku mengasihimu saudaraku, Tuhan memberkati pelayanan kalian”.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini, masih terdapat banyak kekurangan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Surakarta, 28 Juni 2018

Ezra Desipa Sitohang

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Daun Kersen	6
1. Sistematika tanaman.....	6
2. Nama daerah.....	6
3. Deskripsi tanaman	6
4. Kandungan kimia	7
4.1. Flavonoid.	7
4.2. Tanin.	7
4.3. Saponin.	7
4.4. Alkaloid.....	7
5. Manfaat tanaman	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Pengeringan simplisia.....	8
C. Ekstraksi dan Penyarian	9

1.	Ekstraksi	9
2.	Penyarian	9
3.	Cairan penyari	10
4.	Metode penyarian	10
4.1.	Infundasi.	11
4.2.	Soxhletasi.....	11
4.3.	Metode maserasi.	11
4.4.	Metode perkolasi.....	12
D.	Hewan Uji.....	12
1.	Taksonomi dan morfologi	12
2.	Morfologi dan fisiologi mencit.....	12
3.	Perkembangan fetus mencit.....	13
3.1.	Tahap blastula.	13
3.2.	Tahap organogenesis.....	13
3.3.	Tahap pertumbuhan fetus.....	13
4.	Teknik memegang dan penanganan hewan uji.....	13
5.	Cara mengorbankan hewan uji	14
6.	Cara pemusnahan hewan uji.....	14
E.	Angiogenesis	14
1.	VEGF (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>).....	15
2.	FGF (<i>Fibroblast Growth Factor</i>)	16
3.	TGF (<i>Transforming Growth Factor</i>).....	16
F.	Toksikologi.....	17
1.	Uji potensi	17
2.	Uji teratogenik.....	17
3.	Uji reproduksi.....	17
4.	Uji mutagenik	17
5.	Uji kemampuan tumorigenisitas dan karsinogenisitas	18
6.	Uji perilaku.....	18
G.	Uji Teratogenik.....	18
1.	Gangguan terhadap asam nukleat.....	18
2.	Kekurangan pasokan energi dan osmolaritas	18
3.	Penghambat enzim	18
H.	Kerangka Fetus Mencit.....	19
I.	Landasan Teori	19
J.	Hipotesis	22
K.	Skema Kerangka Pemikiran	24
BAB III METODE PENELITIAN		25
A.	Populasi dan Sampel.....	25
B.	Variabel Penelitian	25
1.	Identifikasi variabel utama	25
2.	Klasifikasi variabel utama	25
C.	Definisi Operasional Variabel Utama	26
D.	Waktu, Bahan, Alat dan Hewan Percobaan.....	27
1.	Waktu penelitian.....	27

2.	Bahan.....	27
3.	Alat	27
4.	Hewan percobaan	27
E.	Jalannya Penelitian	28
1.	Determinasi tanaman kersen	28
2.	Pengambilan tanaman.....	28
3.	Pengeringan dan pembuatan serbuk daun kersen.....	28
4.	Pembuatan ekstrak etanol daun kersen.....	28
5.	Identifikasi kualitatif ekstrak etanol daun kersen.....	29
5.1.	Pemeriksaan organoleptik.....	29
5.2.	Identifikasi flavonoid.....	29
5.3.	Identifikasi alkaloid	29
5.4.	Identifikasi saponin.....	29
5.5.	Identifikasi tanin.....	29
6.	Uji bebas alkohol.....	30
7.	Uji teratogenik.....	30
7.1.	Pemilihan hewan uji.....	30
7.2.	Pengawinan dan penetapan masa bunting.....	30
7.3.	Perhitungan dosis dan penetapan dosis uji.....	30
7.4.	Pembuatan sediaan uji.....	31
7.5.	Pembuatan larutan <i>alcian blue-alizarin red s.</i>	31
8.	Pengamatan fetus.....	31
9.	Analisis data	31
F.	Skema Penelitian	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		34
A.	Identifikasi Tanaman Kersen.....	34
B.	Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Daun Kersen	34
C.	Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kersen	35
D.	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kersen.....	35
E.	Identifikasi Kandungan Serbuk dan Ekstrak Etanol Daun Kersen.....	36
F.	Uji Bebas Etanol Daun Kersen.....	37
G.	Hasil Uji Teratogenik Daun Kersen	38
1.	Hasil pengamatan berat badan hewan uji (induk) atau mencit	38
2.	Pengamatan jumlah fetus hewan uji.....	39
3.	Pengamatan tulang fetus.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		46
A.	Kesimpulan.....	46
B.	Saran	46
DAFTAR PUSTAKA		47
LAMPIRAN.....		52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema kerangka pemikiran uji teratogenik.....	24
2. Skema uji teratogenik.....	32
3. Berat badan induk mencit.....	39
4. Jumlah fetus yang mengalami kelainan pada tulang.....	42
5. Perbandingan tulang kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Definisi operasional	26
2. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun kersen	34
3. Penetapan kadar air serbuk daun kersen	35
4. Rendemen ekstrak etanol daun kersen	36
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa daun kersen dengan tabung reaksi.....	36
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa flavonoid daun kersen dengan KLT....	35
7. Uji bebas etanol daun kersen.....	37
8. Rata-rata berat badan induk mencit.....	38
9. Rata-rata jumlah fetus mencit	39
10. Jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang	40
11. Kelainan tulang yang terjadi pada fetus	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil identifikasi daun kersen	54
2. Surat keterangan ethical clearance	55
3. Foto tanaman kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.)	56
4. Ekstrak etanol daun kersen.....	57
5. Foto hasil identifikasi serbuk daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	58
6. Foto hasil identifikasi ekstrak daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	59
7. Sumbat vagina mencit dan mencit bunting	61
8. Fetus mencit	62
9. Perbandingan tulang fetus mencit setelah pewarnaan <i>Alcian Blue-Alizarin Red S</i>	63
10. Pewarna tulang fetus	64
11. Hasil perhitungan rendemen serbuk terhadap simplisia.....	65
12. Penetapan susut pengeringan serbuk.....	66
13. Hasil perhitungan rendemen ekstrak terhadap simplisia.....	67
14. Perhitungan dosis peroral.....	68
15. Data berat badan induk mencit.....	71
16. Data pengamatan kelainan tulang fetus mencit.....	72
17. Hasil analisis data SPSS 17	74

INTISARI

SITOHANG, ED., 2018, UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*) TERHADAP KELAINAN KERANGKA FETUS, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mengandung senyawa flavonoid (kuersetin) yang mempunyai aktivitas antiangiogenesis serta senyawa alkaloid, saponin dan tanin yang dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan fetus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kersen dosis 100, 200 dan 400 mg/kgbb terhadap berat badan induk, jumlah fetus dan kerangka fetus.

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan dan masing-masing kelompok perlakuan menggunakan 5 ulangan. Kelompok kontrol negatif dengan pemberian Na CMC 0,5 % dan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kersen dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kgbb diberi secara oral pada induk mencit selama masa organogenesis hari ke-6 sampai hari ke-15 kebuntingan. Pada hari ke-17 kebuntingan semua mencit dibedah untuk mengambil fetus dari uterus kemudian fetus diwarnai dengan *Alcian blue-Alizarin red s* lalu diamati tulang fetus hasil pewarnaan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen mempengaruhi berat badan induk, jumlah fetus serta menyebabkan kelainan tulang fetus pada dosis 200 dan 400 mg/kgbb.

Kata kunci : daun kersen, teratogenik, organogenesis, tulang.

ABSTRACT

SITOHANG, ED., 2018, TERATOGENIC TEST OF ETHANOL EXTRACT OF JAMAICAN CHERRY (*Muntingia calabura* L.) LEAVES ON SKELETON ABNORMALITIES OF MICE (*Mus musculus*) FETUS, SKRIPSI, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Jamaican cherry (*Muntingia calabura* L.) contains flavonoid (quercetin) that exhibit antiangiogenesis activity and alkaloid, saponin, tannin can be disrupt the growth and development of the fetus. The aim of the research were to find out the teratogenic effects of ethanol extract of jamaican cherry leaves on skeleton abnormalities of mice fetus.

This study used 4 treatment groups and each treatment used 5 repetitions. Negative control group with Na CMC 0,5 % and ethanol extract of jamaican cherry leaves dosage 100, 200, 400 mg/kgbw administered orally to mother mice during the organogenesis of 6th to 15th days of pregnancy. At 17th day of pregnancy, mice were sectioned to remove the fetus from uterine then the fetus was colored with *Alcian blue-Alizarin red s* and observed the fetus skeleton that had been colored.

The result of the research showed that dosage of ethanol extract of cherry leaves dose at 100 mg/kgbw was not caused ossification retardation while dose at 200 and 400 mg/kgbw caused ossification retardation in *cranium, costae, sternbrae, vertebrae and ekstremities*.

Keywords : cherry leaves, teratogenic, organogenesis, ossification.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi. Di hutan tropis Indonesia terdapat 30.000 spesies tumbuhan, dari jumlah tersebut sekitar 9.600 spesies diketahui berkhasiat obat, dan kurang lebih 300 spesies telah dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat tradisional. Tumbuhan yang memiliki potensi sehingga dapat dikembangkan menjadi bahan baku obat-obatan adalah tumbuhan yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dan aktivitas biologis tertentu (Anonim 2007).

Seiring dengan banyaknya khasiat dari obat tradisional, maka penggunaannya pun semakin meluas dalam masyarakat, termasuk oleh wanita hamil. Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) berkhasiat sebagai antidiabetes (Aulia 2016), mengobati asam urat (Sulistiyowati 2009), antimikroba (Arum *et al.* 2012) dan antikanker (Zakaria *et al.* 2007c).

Suatu tanaman untuk dapat dijadikan sebagai obat tradisional harus memenuhi standar mutu dari WHO, meliputi standar kualitas, keamanan dan khasiat (Depkes RI 1985) sehingga dilakukan suatu uji yang bertujuan untuk mengetahui keamanannya bagi wanita hamil terutama akan perkembangan janin yang dikandung. Pengujian dapat dilakukan dengan memberikan faktor atau zat tertentu untuk melihat ada tidaknya kelainan pada fetus hewan uji akibat pemberian zat tersebut.

Ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mempunyai kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Setyowati & Cahyanto 2016; Sulistiyowati 2009). Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun kersen mempunyai efek farmakologi dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan, sehingga penelitian dilanjutkan dengan uji aktivitas sitotoksik menggunakan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Berdasarkan uji BSLT, diketahui hasil uji pada ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mempunyai aktivitas sitotoksik dengan nilai LC50

sebesar 295,76 ppm. Berdasarkan nilai tersebut, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun kersen memiliki aktivitas toksik (Setyowati & Cahyanto 2016).

Aktivitas toksik yang ada pada ekstrak daun kersen timbul karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki tanaman tersebut, antara lain saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid. Efek negatif dari saponin pada reproduksi hewan diketahui sebagai abortivum, menghambat pembentukan zigot (Stolzenberg & Parkhurst 1976, diacu dalam Francisi *et al.* 2002). Saponin bersifat sitotoksik terhadap sel terutama yang sedang mengalami perkembangan, seperti pada saat oogenesis (Nurhuda *et al.* 1995, diacu dalam Nurliani 2007) serta bersifat antimitotik dengan cara mengganggu siklus sel (Zakaria 2007c). Senyawa alkaloid, selain memperlihatkan sifat antiproliferasi juga memiliki sifat embriotoksik dan teratogenik, seperti yang dilaporkan Sabri (2007) alkaloid dapat menyebabkan meningkatnya kehilangan praimpantasi secara nyata, jumlah fetus hidup menurun secara nyata serta bersifat antifertilitas (Sabri 2007, diacu dalam Widiana & Sumarmin 2016). 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 (Chang *et al.* 1994, diacu dalam Yuyun 2009).

Flavonoid diketahui bersifat antimitotik dengan cara mengganggu siklus sel (Zakaria 2007c). Anso *et al.* (2010) menganalisis pengaruh kelompok yang terdiri dari 20 flavonoid terkait struktur, termasuk flavon, flavonol dan isoflavon pada produksi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan hasil penelitian menemukan bahwa apigenin, luteolin, fisetin dan kuersetin menghambat ekspresi VEGF (*Vascular Endothelium Growth Factor*). Kuersetin merupakan salah satu zat aktif kelas flavonoid golongan flavonol. Analisis kuantitatif kuersetin daun kersen menunjukkan bahwa dalam 1,0002 g daun kersen terkandung kuersetin sebanyak 33,68 ppm atau setara dengan 33,68 µg kuersetin dalam tiap gram daun kersen (Sulistyowati 2009).

Angiogenesis merupakan proses pertumbuhan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada pada jaringan tubuh. Peristiwa angiogenesis umum terjadi dalam proses fisiologis jaringan tubuh salah satunya ialah pertumbuhan janin dan kanker. Kanker merupakan suatu kondisi dimana sel-sel mengalami proliferasi yang tidak terkendali. Suatu senyawa yang mampu menghambat terjadinya angiogenesis memiliki potensi besar dalam terapi pengobatan kanker (Ribatti *et al.* 1997). Senyawa flavonoid golongan flavonol yaitu kuersetin mampu menghambat VEGF (*Vascular Endothelium Growth Factor*) sehingga dapat mencegah pertumbuhan lanjut sel kanker ke jaringan yang lain dengan cara menghambat penyebaran sel kanker melalui pembuluh darah serta membunuh sel target dengan menghambat suplai darah ke sel kanker. Penghambatan VEGF pada saat kehamilan dapat mengakibatkan pembentukan sel atau organ pada janin akan terganggu bahkan bisa menyebabkan kematian sel sehingga mengakibatkan kecacatan pada janin sebab VEGF terlibat dalam banyak tahap respon angiogenik, antara lain untuk membuat plasenta yang merupakan tempat terjadinya sirkulasi nutrisi antara ibu dan bayi menjelang kehamilan (Frisca *et al.* 2009).

Uji teratogenik merupakan uji toksisitas untuk menentukan efek suatu zat terhadap fetus hewan uji. Uji teratogenik dilakukan selama rentang waktu penggunaan suatu zat yang diujikan selama masa kebuntingan. Aulia (2016) melakukan penelitian uji antidiabetes pada seduhan daun kersen terhadap tikus, diperoleh hasil bahwa dosis paling efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah yaitu 750 mg/200gbb. Meninjau dari hasil penelitian terdahulu tentang khasiat yang diperoleh dari daun kersen untuk pengobatan penyakit diabetes yang dikonsumsi dalam jangka yang terbilang cukup lama, maka keamanan dalam penggunaan tanaman kersen haruslah dapat diketahui. Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional dalam jangka waktu yang lama terutama saat kehamilan bisa saja menyebabkan gejala toksisitas yang tidak diinginkan. Maka perlu dilakukannya uji teratogenik terhadap daun kersen dengan dosis 750 mg/200gbb yang efektif menurunkan kadar glukosa darah.

Pengaruh langsung maupun tak langsung oleh masuknya bahan kimia terhadap perkembangan fetus dapat mengakibatkan kelainan pada fetus, diantaranya ialah pembentukan tulang (osifikasi). Adanya senyawa teratogen yang masuk melalui plasenta akan menghambat transfer nutrisi dari induk ke fetus dan menghambat metabolisme nutrisi yang penting bagi pertumbuhan dan perkembangan fetus termasuk mineral untuk proses osifikasi (pembentukan tulang). Pembentukan dan perkembangan tulang (osifikasi) pada fetus menciit terjadi pada kebuntingan hari ke 11-17 sehingga pada masa itu sangat rentan terhadap faktor non genetik penyebab kecacatan (teratogen) (Rugh 1968). Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun kersen yang dioralkan kepada menciit bunting selama periode organogenesis yaitu pada kebuntingan hari ke 6-15.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini, yaitu:

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mempengaruhi berat badan induk menciit?

Kedua, apakah pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mempengaruhi jumlah fetus perkelahiran?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mengakibatkan kelainan pada tulang fetus menciit?

Keempat, Apakah pemberian ekstrak etanol daun kersen pada dosis 100, 200 dan 400 mg/kgbb selama masa organogenesis dapat mengakibatkan kelainan pada tulang fetus menciit?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, mengetahui pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mempengaruhi berat badan induk mencit.

Kedua, mengetahui pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mempengaruhi jumlah fetus mencit perkelahiran.

Ketiga, mengetahui pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mengakibatkan kelainan pada tulang fetus mencit.

Keempat, mengetahui pemberian ekstrak etanol daun kersen pada dosis 100, 200 dan 400 mg/kgbb selama masa organogenesis yang dapat mengakibatkan kelainan pada tulang fetus mencit.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah mengenai efek teratogenik ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap kelainan pada tulang fetus serta memberikan ilmu pengetahuan untuk pengembangan dan penelitian obat yang berkaitan dengan penggunaan daun kersen.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Kersen

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman kersen menurut Cronquist A. (1981) adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (tumbuhan)
- Sub kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
- Super divisi : Spermatophyta (berbiji)
- Divisi : Magnoliophyta (berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub kelas : Dilleniidae
- Bangsa : Malvales (*Culumniferae*)
- Suku : Elaeocarpaceae
- Marga : *Muntingia*
- Jenis : *Muntingia calabura* L.

2. Nama daerah

Nama lain dari tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) yaitu: Ceri (Jakarta), Talok (Jawa), Kersen (Sunda), Baleci (Lumajang), Krukup siam (Malaysia) (Kosasih *et al.* 2013).

3. Deskripsi tanaman

Muntingia calabura L. merupakan tanaman yang dapat bertumbuh dengan cepat mencapai 7,5 – 12 meter dengan batang yang memanjang secara horizontal. Daunnya berwarna hijau, berbentuk seperti kepala tombak panjang 5 – 12,5 cm, tepi daun bergerigi, pada permukaan daun bagian atas terdapat bulu halus berwarna hijau gelap, sementara permukaan bawahnya memiliki bulu halus berwarna coklat atau abu-abu. Bunganya tunggal, tumbuh di ketiak daun, terdiri dari 5 kelopak bunga berwarna hijau, 5 mahkota bunga berwarna putih, dan benang sari berwarna kuning yang menonjol. Bunga tanaman ini hanya dapat bertahan satu hari saja, kemudian gugur pada sore hari. Buahnya berbentuk bulat

dengan diameter 1–1,25 cm, berwarna merah atau kuning, berbau wangi, kulit buah lembut, daging buah berair dengan rasa yang manis, dan bijinya berwarna kuning (Morton 2004).

4. Kandungan kimia

Daun *Muntingia calabura* L. mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpen (Zakaria *et al.* 2007).

4.1. Flavonoid. Flavonoid dapat menghambat proliferasi pada beberapa jenis kultur sel kanker manusia, dengan sedikit toksik atau tidak toksik sama sekali pada sel normal manusia (Lin & Weng 2006). Anso *et al.* (2010) menganalisis pengaruh kelompok yang terdiri dari 20 flavonoid terkait struktur, termasuk flavon, flavonol dan isoflavon pada produksi faktor pertumbuhan endotel vascular (VEGF) dan hasil penelitian menemukan bahwa apigenin, luteolin, fisetin dan kuersetin menghambat ekspresi VEGF.

4.2. Tanin. Tanin merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat dan kemampuan menyamak kulit. Fungsi tanin sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk mengusir hewan pemangsa tumbuhan. Tanin mempunyai aktifitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan dapat mendenaturasi protein. Kelarutan tanin adalah larut dalam air, tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Robinson 1995).

4.3. Saponin. Adalah senyawa aktif permukaan kuat yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin tidak larut dalam pelarut non polar, paling cocok diekstraksi memakai etanol atau metanol panas dan kemudian lipid dan pigmen disingkirkan dari ekstrak dengan memakai benzene (Harborne 1987). Hasil dari beberapa penelitian yang dilakukan menyatakan saponin memiliki aktifitas sitotoksik terhadap beberapa jenis sel kanker (Podolak *et al.* 2010).

4.4. Alkaloid. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang diasamkan yang melarutkan alkaloid sebagai garam, atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium karbonat dan

sebagainya dan basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter, dan sebagainya (Robinson 1995).

5. Manfaat tanaman

Bagian-bagian tanaman ini telah digunakan sebagai obat-obatan di daerah Asia Tenggara dan di bagian tropis benua Amerika. Akar kersen telah digunakan sebagai aborsi di Malaysia. Bunga kersen telah biasa digunakan untuk mengobati sakit kepala, antiseptik dan antikejang. Cairan pada bunga tanaman kersen di minum sebagai obat penenang. Daun kersen berwarna hijau dan berbulu, berkhasiat sebagai obat batuk, peluruh dahak, antitumor dan rebusan daun kersen dapat menghambat pertumbuhan mikroba seperti *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* serta dapat digunakan sebagai antiseptik, dan dapat mengatasi penyakit gula darah. Buah kersen dapat dimanfaatkan untuk mengobati sakit kuning, serta jus buah kersen sangat baik dijadikan sebagai minuman bagi seorang atlet untuk mencegah cedera otot saat beraktivitas (Zakaria 2006).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia terdiri atas tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan/mineral (Depkes RI 1985). Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan tidak berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan konsentrasi air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zak aktif, dan memudahkan dalam hal proses pengelolaan selanjutnya (Gunawan & Mulyani 2004). Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari dan pengeringan teduh (Depkes RI 2008).

Kandungan air pada simplisia yang dikeringkan dapat mencapai 10% atau lebih, namun disyaratkan kandungan lembab harus kurang dari 3%. Kandungan air yang tinggi atau kondisi penyimpanan yang basah dapat menyebabkan kerusakan material tumbuhan akibat mikroba (Voigt 1994).

C. Ekstraksi dan Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses perpindahan massa zat aktif yang awalnya berada di dalam sel kemudian ditarik keluar oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Cara pengestraksian yang tepat bergantung pada jenis senyawa yang diisolasi dan pelarut yang digunakan. Untuk mengekstraksi senyawa yang terdapat dalam tumbuhan terlebih dahulu enzimnya diinaktifkan dengan mengeringkan bagian tumbuhan yang akan diambil sebelum diekstraksi. Ekstraksi bisa menggunakan cara maserasi, soxhlet, dan perkolasi. Sebagai cairan penyari dapat digunakan eter, *n*-heksana, dan alkohol (Harborne 1987).

2. Penyarian

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan akan larut (Ansel 1989). Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Pada umumnya semakin luas permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari maka penyarian akan bertambah lebih baik. Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi, dan destilasi uap. Pemilihan cairan penyari yang baik harus mempunyai kriteria: murah, stabil secara fisika dan kimia, netral, tidak mudah

menguap dan tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986).

3. Cairan penyari

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, eter, etanol atau campuran etanol dengan air (Ansel 1989).

Etanol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi. Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena mempunyai beberapa sifat antara lain lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol lebih dari 20 %, tidak beracun, bersifat netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes 1986). Selain itu, etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Keuntungan etanol adalah tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, etanol juga mempunyai sifat yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Voigt 1994).

Air memiliki gaya ekstraksi yang menonjol untuk banyak bahan kandungan simplisia yang aktif secara terapeutik, tetapi sekaligus juga mampu mengekstraksi sejumlah besar bahan simplisia (Voigt 1994). Air merupakan penyari polar yang mudah didapat, harganya murah, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan kerja melarutkannya baik untuk banyak zat aktif dalam tanaman, dalam beberapa hal air digunakan untuk ekstraksi obat terutama dalam kombinasi dengan pelarut lain (Depkes 1986; Ansel 1989).

4. Metode penyarian

Metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar dari metode penyarian adalah adanya perbedaan kelarutan (Gunawan & Mulyani 2004). Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infudasi, maserasi, soxhletasi, dan perkolasi.

4.1. Infundasi. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90 °C selama 15 menit. Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Depkes 1986).

4.2. Soxhletasi. Soxhletasi merupakan penyarian dimana bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton dan sebagainya) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan diantara labu suling dan suatu pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan melalui pipa pipet. Labu tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, lalu berkondensasi didalamnya menetes ke atas bahan yang diekstraksi dan membawa keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi tertimbulk melalui penguapan kontinyu dari bahan pelarut murni. Kekurangan metode soxhletasi adalah dibutuhkan suatu ekstraksi beberapa jam pada umumnya dan dengan demikian kebutuhan energinya tinggi, serta dapat merusak bahan aktif yang tidak tahan terhadap panas (Voigt 1994).

4.3. Metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman pada wadah (bejana) gelas atau stainless steel, ditutup dan diberi larutan penyari agar terjadi penetrasi ke dalam sel tanaman yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan terjadi pemisahan (difusi) yang disebabkan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dengan zat aktif di dalam sel dan di luar sel. Peristiwa difusi akan berkelanjutan sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Penggunaan metode ini akan lebih efektif dalam proses penyarian jika dilakukan pengadukan. Hasil penyarian tersebut perlu dibiarkan dalam waktu tertentu untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut. Ekstrak yang diperoleh perlu dihilangkan sisa

pelarutnya untuk mendapatkan ekstrak kental. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan, sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes 1986).

4.4. Metode perkolasi. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah berbentuk silinder atau kerucut yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Depkes 1986).

D. Hewan Uji

1. Taksonomi dan morfologi

Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) taksonomi mencit adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i> L.

2. Morfologi dan fisiologi mencit

Mencit (*Mus musculus* L.) merupakan hewan pengerat yang memiliki rambut berwarna keabu-abuan atau putih, mata berwarna merah atau hitam, kulit berpigmen dan perut sedikit pucat. Mencit dewasa pada umur 35 hari dan memiliki waktu kebuntingan 18 hari. Mencit dapat melahirkan 6-15 ekor. Mencit jantan dan betina siap melakukan kopulasi pada umur 8 minggu. Siklus estrus atau masa birahi 4-5 hari dengan lama estrus 12-14 jam. Fase estrus dimulai antara pukul 16.00-22.00 WIB. Proses perkawinan mencit jantan dan betina untuk tujuan

fertilisasi atau disebut dengan kopulasi terjadi pada saat estrus, dengan fertilisasi 2 jam setelah kopulasi. Ciri-ciri terjadinya kopulasi adalah ditemukannya sumbat vagina, yaitu cairan mani jantan yang menggumpal (Smith & Mangkoewidjoko 1988).

Mencit merupakan hewan percobaan yang efisien karena mudah dipelihara, tidak memerlukan tempat yang luas, waktu kebuntingan yang singkat, dan banyak memiliki anak perkelahiran. Mencit dan tikus putih memiliki banyak data toksikologi, sehingga mempermudah membandingkan toksisitas zat-zat kimia (Lu 1995).

3. Perkembangan fetus mencit

Menurut Roberts (1971) dan Lu (1995) masa kebuntingan mencit terdiri dari 3 tahap, yaitu:

3.1. Tahap blastula. Tahap ini dimulai setelah ovulasi dan dilanjutkan dengan perkembangan membran zigot primitif di uterus. Pada tahap ini, fetus tidak rentan terhadap senyawa teratogen, tetapi senyawa teratogen akan menyebabkan kematian fetus akibat matinya sebagian sel fetus.

3.2. Tahap organogenesis. Tahap organogenesis merupakan tahap pembentukan organ-organ dan sistem tubuh serta perubahan bentuk tubuh yang terjadi pada masa kebuntingan hari ke 6 sampai hari ke 15. Pada periode ini sel secara intensif mengalami diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi sehingga fetus sangat rentan terhadap senyawa teratogen.

3.3. Tahap pertumbuhan fetus. Tahap ini merupakan tahap terjadinya perkembangan dan pematangan fungsi jaringan, organ dan sistem yang tumbuh. Sehingga selama tahap ini, senyawa teratogen tidak akan menyebabkan cacat morfologi, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi seperti gangguan sistem saraf pusat (SSP) yang mungkin tidak dapat dideteksi segera setelah kelahiran.

4. Teknik memegang dan penanganan hewan uji

Mencit dapat diangkat melalui ekornya (tepatnya setengah bagian dari pangkal ekor) dengan tangan kanan, sementara kaki depannya dibiarkan menjangkau kawat kandang, kemudian dengan tangan kiri tengkuk dijepit diantara

jari telunjuk dengan ibu jari sedangkan ekornya dijepitkan diantara jari manis dan kelingking. Pada posisi demikian dapat dengan leluasa memberikan obat secara oral atau menyuntik secara intra muscular atau intra peritoneal (Smith & Mangkoewidjojo 1998).

5. Cara mengorbankan hewan uji

Ada beberapa cara mengorbankan hewan uji pada uji toksisitas. Pada prinsipnya hewan uji dikorbankan sesuai dengan kaidah-kaidah cara dan teknik pengorbanan hewan sesuai dengan *ethical clearance* deklarasi Helsinki serta tidak mempengaruhi hasil uji toksisitas.

Sebelum hewan uji dikorbankan, dilakukan anestesi terlebih dahulu. Hewan dipegang secara hati-hati tanpa menimbulkan rasa takut, lalu hewan di korbakan dengan salah satu teknik mengorbankan hewan di suatu tempat terpisah dan dijaga agar tidak ada hewan hidup di sekitarnya. Teknik mengorbankan hewan uji ada beberapa cara antara lain: cara dislokasi leher untuk hewan kecil seperti mencit dan tikus, cara anestesi secara inhalasi atau penyuntikan dan cara pengeluaran darah melalui vena jugularis atau arteri karotis (BPOMRI 2014).

6. Cara pemusnahan hewan uji

Hewan uji yang dibunuh atau dikorbankan pada akhir percobaan dibungkus dengan plastik, tutup rapat dan disimpan dalam pendingin sebelum dimusnahkan dengan pembakaran.

E. Angiogenesis

Embrio membutuhkan asupan nutrisi dan oksigen dalam pembentukannya yang dimediasi dengan pembentukan pembuluh darah baru, atau disebut pula vaskulogenesis. Setelah terjadi vaskularisasi pada embrio, selanjutnya terjadi diferensiasi dan penyusunan sel endotel membentuk percabangan pembuluh darah baru dari pembuluh darah lama, hasil pembentukan pada saat vaskulogenesis disebut angiogenesis (Frisca *et al.* 2009).

Angiogenesis merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru terjadi secara alami di dalam tubuh, baik dalam kondisi sehat maupun patologi (sakit). Pembuluh darah terdiri dari dua macam yaitu pembuluh darah arteri yang

membawa darah yang kaya oksigen dan nutrisi ke seluruh tubuh, dan pembuluh darah vena yang membawa darah miskin oksigen dan nutrisi dari seluruh tubuh ke jantung. Pembuluh darah yang terdiri dari lapisan *tunica intima*, *tunica media*, dan *tunica adventitia* dapat mengalami regenerasi pada saat mengalami kerusakan dan mengalami pertumbuhan pada keadaan penyembuhan luka dan pembentukan berbagai jaringan/organ. Hal ini dikenal dengan sebutan angiogenesis yang berasal dari kata *angio* yang berarti pembuluh darah dan *genesis* yang berarti pembentukan (Frisca *et al.* 2009).

Kata angiogenesis pada awalnya pada tahun 1935 untuk menjelaskan proses pembentukan pembuluh darah pada plasenta. Pada keadaan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Hal ini terjadi melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak. Selain perannya dalam memperbaiki dan mempertahankan fungsi jaringan/organ, proses angiogenesis juga berperan penting dalam memediasi perkembangan dan pertumbuhan embrio, serta pembentukan *corpus luteum* dan endometrium. Angiogenesis dapat berperan dalam proses fisiologis dan patologis. Proses fisiologis karena angiogenesis dapat terjadi secara alami dan diatur secara ketat pada tubuh yang sehat untuk proses penyembuhan luka, membangun kembali sel-sel yang melapisi uterus menjelang siklus reproduktif bulanan (menstruasi) dan untuk membuat plasenta yang merupakan tempat terjadinya sirkulasi nutrisi antara ibu dan bayi menjelang kehamilan.

Berdasarkan aksi dan targetnya, faktor-faktor angiogenesis dapat dikategorikan menjadi 3 kelompok, yaitu sebagai berikut:

1. VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

Kelompok faktor angiogenik yang memiliki target sel endotel, untuk menstimulasi proses mitosis. Salah satu fungsi VEGF yang pertama kali diketahui adalah memediasi peningkatan permeabilitas pembuluh darah pada mikrovaskular tumor. Oleh karena itu, VEGF disebut pula *Vascular Permeability Factor* (VPF). VEGF akan berinteraksi dengan reseptor VEGFR-1 dan VEGFR-2 sehingga menstimulasi proliferasi, migrasi, ketahanan, dan permeabilisasi sel endotel.

Dalam keadaan normal, VEGF diekspresikan dalam kadar yang bervariasi oleh berbagai jaringan, termasuk di antaranya otak, ginjal, hati, dan limpa.

VEGF terlibat dalam banyak tahap respon angiogenik, antara lain menstimulasi degradasi matriks ekstraseluler di sekitar sel endotel, meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel serta membantu pembentukan struktur pembuluh darah. VEGF diketahui memainkan peranan dalam pembentukan jaringan vaskular dalam siklus reproduktif wanita, yaitu dalam perkembangan *corpus luteum* dan dalam regenerasi endometrium. Selain itu, tingkat ekspresi molekul VEGF juga dilaporkan meningkat pada masa penyembuhan luka terutama dalam fase granulasi (Frisca *et al.* 2009).

2. FGF (*Fibroblast Growth Factor*)

FGF (*Fibroblast Growth Factor*) merupakan molekul yang mengaktivasi sel target secara luas selain sel endotel. FGF ditemukan pada kelenjar pituitari, otak, hipotalamus, mata, kartilago, tulang, *corpus luteum* dan ginjal.

Dua struktur primer asam amino dari FGF ditemukan pada tahun 1985, antara lain *acid* FGF atau a-FGF (tersusun dari 140 asam amino) dan *basic* FGF atau b-FGF (tersusun dari 146 asam amino). a-FGF banyak terdapat pada otak dan retina dan diketahui berperan dalam menjaga kondisi fisiologi tubuh, termasuk di antaranya menjaga homeostasis tubuh seperti pertumbuhan pembuluh darah menjelang regenerasi jaringan dan penyembuhan luka. Sedangkan b-FGF terdapat pada membran basal, matriks ekstraseluler sub endotel pembuluh darah. b-FGF berperan dalam pembentukan tumor, memediasi proses angiogenesis, dan juga penyembuhan luka (Frisca *et al.* 2009).

3. TGF (*Transforming Growth Factor*)

Merupakan faktor yang bekerja tidak langsung. TGF merupakan polipeptida, 50-asam amino, yang disintesis oleh sel rodensial yang sudah ditransformasi oleh virus. TGF- α diketahui dapat menstimulasi proliferasi sel endotel mikrovaskular pada konsentrasi 1 sampai 5 ng/ml. TGF- β merupakan polipeptida homodimer, 112 asam amino per rantai, dengan ukuran 25,000

Dalton. Faktor ini ditemukan pada tumor dan sel normal, termasuk ginjal, plasenta, dan trombosit.

F. Toksikologi

Ilmu yang mempelajari tentang racun dan pengaruhnya terhadap makhluk hidup disebut toksikologi. Toksikologi menitikberatkan pada pengaruh agensia toksik baik berupa efek senyawa kimiawi, bunyi, cahaya, gelombang elektromagnetik, dan mikroorganisme terhadap perkembangan terutama perkembangan embrio (Hutahean 2002).

Zat kimia dapat dikatakan beracun (toksik) apabila zat tersebut berpotensi memberikan efek berbahaya terhadap organisme. Sifat toksik dari suatu zat ditentukan oleh konsentrasi atau dosis, sifat zat, kondisi bioorganisme, paparan terhadap organisme, dan efek yang ditimbulkan. Apabila menggunakan istilah toksik atau toksisitas, maka perlu dilakukan identifikasi dimana timbulnya efek berbahaya tersebut (Wirasuta & Suadarmana 2007). Menurut Loomis (1978), uji toksisitas dibagi menjadi uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis, dan uji toksisitas kronis. Saat ini sudah banyak berkembang bahan-bahan berbahaya yang harus diketahui keamanannya.

Terdapat 6 jenis uji toksisitas spesifik yaitu:

1. Uji potensi

Uji potensi merupakan uji toksisitas yang menentukan efek suatu zat dengan adanya zat-zat tambahan yang mungkin secara bersamaan dijumpai.

2. Uji teratogenik

Uji teratogenik merupakan uji toksisitas untuk menentukan efek suatu zat terhadap fetus hewan uji.

3. Uji reproduksi

Uji reproduksi merupakan uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduktif hewan eksperimental.

4. Uji mutagenik

Uji mutagenik merupakan uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetika.

5. Uji kemampuan tumorigenisitas dan karsinogenisitas

Uji kemampuan tumorigenisitas dan karsinogenisitas merupakan uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat sehingga menimbulkan tumor.

6. Uji perilaku

Uji perilaku merupakan uji toksisitas untuk menentukan efek zat terhadap berbagai macam perilaku hewan uji.

G. Uji Teratogenik

Teratogenesis merupakan pembentukan cacat bawaan. Kelainan ini merupakan penyebab utama mortalitas pada fetus yang lahir. Faktor-faktor yang menyebabkan teratogenesis adalah senyawa kimia, kekurangan gizi, infeksi virus, ketidakseimbangan hormonal, dan berbagai kondisi stress.

Lu (1995) mengemukakan mekanisme kerja zat kimia yang bersifat teratogen di dalam tubuh hewan coba adalah:

1. Gangguan terhadap asam nukleat

Terdapat banyak zat kimia yang dapat mempengaruhi replikasi dan transkripsi asam nukleat atau translasi RNA. Contohnya: zat pengalkil dan antimetabolit.

2. Kekurangan pasokan energi dan osmolaritas

Senyawa teratogen tertentu dapat mempengaruhi pasokan energi yang digunakan untuk metabolisme dengan cara mengurangi persediaan substrat secara langsung atau bertindak sebagai analog vitamin, asam amino esensial, dan sebagainya. Ketidakseimbangan osmolaritas dapat disebabkan oleh hipoksia dan zat penyebab hipoksia (CO, CO₂) yang bersifat teratogen. Hal ini dapat menyebabkan kelainan bentuk dan iskemia jaringan.

3. Penghambat enzim

Penghambat enzim seperti *5-flourourasil* dapat menyebabkan cacat karena mengganggu diferensiasi dan pertumbuhan sel melalui penghambatan timidilatditetase.

Wujud dari efek teratogen dapat berupa cacat struktural, penghambatan pertumbuhan, dan kematian. Ada tidaknya pemejanaan teratogen yang menghasilkan kelahiran abnormal tergantung dari berbagai faktor. Dua dari

banyak faktor yang penting adalah dosis (tingkat pemejanan) dan waktu pemejanan. Efek waktu pemejanan pada teratogenesis dapat terjadi karena variasi kejadian selama masa yang berbeda pada periode kehamilan. Hal tersebut mendukung alasan bahwa waktu pemejanan zat teratogenik merupakan hal yang kritis dalam menentukan efek yang potensial. Pemejanan selama masa awal (awal implantasi) berpengaruh pada kematian embrio. Pemejanan pada masa akhir (pada manusia trimester ketiga) sangat mungkin berpengaruh pada penghambatan pertumbuhan. Pemejanan pada masa tengah, masa organogenesis akan sangat mungkin berpengaruh pada kerusakan struktur. Pemejanan teratogen selama periode kritis perkembangan janin kemungkinan besar akan menyebabkan malformasi pada sistem organ.

H. Kerangka Fetus Mencit

Pada saat fetus, tulang mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang disebut dengan istilah osifikasi. Awal dari proses osifikasi ini adalah terjadinya perubahan jaringan mesenkim pada fetus menjadi jaringan tulang atau menjadi jaringan kartilago yang selanjutnya akan menjadi jaringan tulang (Junqueira *et al.* 1998). Menurut Rugh (1968), osifikasi pada mencit dimulai pada hari ke 11 sampai 17 kebuntingan. Pada fetus normal (kontrol) terdapat 7 tulang servik, 13 tulang thorak, 6 tulang lumbalis, 6 tulang sakral, dan 2 atau 3 tulang kaudal (Sukandar *et al.* 2008).

Menurut Setyawati (2011), pemberian senyawa teratogen pada masa organogenesis dapat menyebabkan penghambatan pada pertumbuhan tulang. Adanya senyawa teratogen yang masuk melalui plasenta akan menghambat transfer nutrisi dari induk ke fetus dan menghambat metabolisme nutrisi yang penting bagi pertumbuhan dan perkembangan organ fetus termasuk mineral untuk proses osifikasi (pembentukan tulang). Kelainan pada kerangka fetus dapat dilihat dari jumlah tulang dan terdapat pemanjangan atau pemendekan dari tulang belakang tersebut.

I. Landasan Teori

Banyak wanita hamil memiliki kekhawatiran tersendiri terhadap efek samping dari obat-obatan kimia sehingga memilih untuk mengonsumsi obat tradisional. Seiring dengan banyaknya khasiat dari obat tradisional, maka penggunaannya pun semakin meluas dalam masyarakat terutama oleh wanita hamil.

Suatu tanaman untuk dapat dijadikan sebagai obat tradisional harus memenuhi standar mutu dari WHO, meliputi standar kualitas, keamanan dan khasiat (Depkes RI 1985). Sehingga perlu dilakukan suatu uji yang bertujuan untuk mengetahui keamanannya bagi wanita hamil yang memiliki kekhawatiran tersendiri terutama akan perkembangan janin yang dikandungnya. Pengujian dapat dilakukan dengan memberikan faktor atau zat tertentu untuk melihat ada tidaknya kelainan pada fetus hewan uji akibat pemberian zat tersebut.

Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mempunyai kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Setyowati & Cahyanto 2016; Sulistyowati 2009). Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun kersen mempunyai efek farmakologi dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan, sehingga penelitian dilanjutkan dengan uji aktivitas sitotoksik menggunakan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Berdasarkan uji BSLT, diketahui hasil uji pada ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mempunyai aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 295,76 ppm. Berdasarkan nilai tersebut, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun kersen memiliki aktivitas toksik (Setyowati & Cahyanto 2016).

Aktivitas toksik yang ada pada ekstrak daun kersen timbul karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki tanaman tersebut, antara lain saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid. Efek negatif dari saponin pada reproduksi hewan diketahui sebagai abortivum, menghambat pembentukan zigot (Stolzenberg & Parkhurst 1976, diacu dalam Francisi *et al.* 2002). Saponin bersifat sitotoksik terhadap sel terutama yang sedang mengalami perkembangan, seperti pada saat oogenesis (Nurhuda *et al.* 1995, diacu dalam Nurliani 2007) serta bersifat antimitotik dengan cara mengganggu siklus sel (Zakaria 2007c). Senyawa alkaloid, selain memperlihatkan sifat antiproliferasi juga memiliki sifat embriotoksik dan teratogenik, seperti yang dilaporkan Sabri (2007) alkaloid dapat

menyebabkan meningkatnya kehilangan praimpantasi secara nyata, jumlah fetus hidup menurun secara nyata serta bersifat antifertilitas (Sabri 2007, diacu dalam Widiana & Sumarmin 2016). 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 (Chang *et al.* 1994, diacu dalam Yuyun 2009).

Flavonoid diketahui bersifat antimitotik dengan cara mengganggu siklus sel (Zakaria 2007c). Anso *et al.* (2010) menganalisis pengaruh kelompok yang terdiri dari 20 flavonoid terkait struktur, termasuk flavon, flavonol dan isoflavon pada produksi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan hasil penelitian menemukan bahwa apigenin, luteolin, fisetin dan kuersetin menghambat ekspresi VEGF (*Vascular Endothelium Growth Factor*). Kuersetin merupakan salah satu zat aktif kelas flavonoid golongan flavonol. Analisis kuantitatif kuersetin daun kersen menunjukkan bahwa dalam 1,0002 g daun kersen terkandung kuersetin sebanyak 33,68 ppm atau setara dengan 33,68 µg kuersetin dalam tiap gram daun kersen (Sulistiyowati 2009). Penghambatan VEGF pada saat kehamilan dapat mengakibatkan pembentukan sel atau organ pada janin akan terganggu bahkan bisa menyebabkan kematian sel sehingga mengakibatkan kecacatan pada janin sebab VEGF terlibat dalam banyak tahap respon angiogenik, antara lain untuk membuat plasenta yang merupakan tempat terjadinya sirkulasi nutrisi antara ibu dan bayi menjelang kehamilan (Frisca *et al.* 2009).

Salah satu uji toksisitas yang dapat digunakan untuk mengetahui sifat sitotoksik pada jaringan normal yang sedang berkembang adalah uji teratogenik. Uji teratogenik merupakan uji toksisitas untuk menentukan efek suatu zat terhadap fetus hewan uji. Uji teratogenik dilakukan pada rentang waktu penggunaan suatu zat yang diujikan selama tahap organogenesis fetus.

Aulia (2016) melakukan penelitian uji anti diabetes pada seduhan daun kersen terhadap tikus, diperoleh hasil bahwa dosis paling efektif untuk

menurunkan kadar glukosa darah yaitu 750 mg/kgbb tikus. Meninjau dari hasil penelitian terdahulu tentang khasiat yang diperoleh dari tanaman kersen untuk pengobatan penyakit diabetes yang dikonsumsi dalam jangka yang terbilang cukup lama, maka keamanan dalam penggunaan tanaman kersen haruslah dapat diketahui. Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional dalam jangka waktu yang lama terutama saat kehamilan bisa saja menyebabkan gejala toksisitas yang tidak diinginkan. Sehingga dilakukannya uji teratogenik terhadap tanaman kersen dengan dosis 750 mg/kgbb tikus yang efektif menurunkan kadar glukosa darah.

Setyawati (2011) mengemukakan bahwa pemberian senyawa teratogen pada masa organogenesis dapat menyebabkan penghambatan pada pertumbuhan tulang. Adanya senyawa teratogen yang masuk melalui plasenta akan menghambat transfer nutrisi dari induk ke fetus dan menghambat metabolisme nutrisi yang penting bagi pertumbuhan dan perkembangan organ fetus termasuk mineral untuk proses osifikasi (pembentukan tulang). Pembentukan dan perkembangan tulang (osifikasi) pada fetus mencit terjadi pada hari ke 11 sampai ke 17 kebuntingan sehingga pada masa itu sangat rentan terhadap faktor non genetik penyebab kecacatan (teratogen) (Rugh 1968). Kelainan pada kerangka fetus dapat dilihat dari jumlah tulang dan terdapat pemanjangan atau pemendekan dari tulang belakang tersebut.

J. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah:

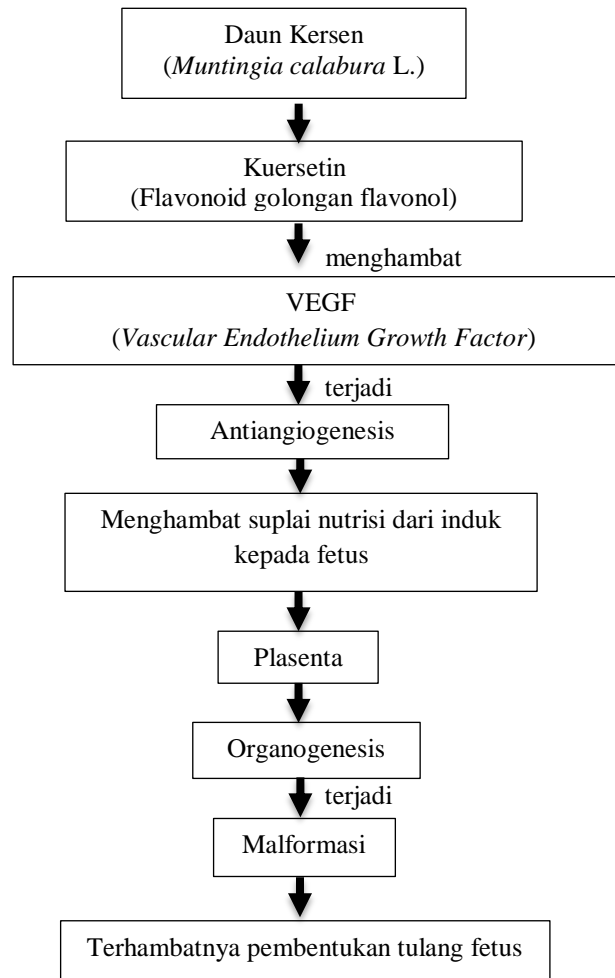
Pertama, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis tidak mempengaruhi berat badan induk mencit.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mempengaruhi jumlah fetus perkelahiran.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dapat mengakibatkan kelainan pada tulang fetus mencit.

Keempat, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kgbb dapat menimbulkan kelainan pada tulang fetus mencit.

K. Skema Kerangka Pemikiran



Gambar 1. Skema kerangka pemikiran uji teratogenik

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental murni yang menggunakan tanaman daun kersen (*Muntingia calabura* L.). Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diperoleh dari daerah Mojosongo, Solo, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang tua dan berwarna hijau.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah tulang fetus mencit galur *Swiss-Webster*. Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi laboratorium, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan dan usia.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yakni, variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas adalah kontrol negatif, ekstrak etanol daun kersen dosis 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb, dan 400 mg/kgbb.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek teratogenik daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap tulang fetus mencit.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah galur *Swiss-Webster*, berat badan, usia, lingkungan (suhu, penyinaran), jenis pakan, jenis minuman,

jalur pemejanaan secara oral, perlakuan oleh peneliti, alat-alat yang digunakan, pelarut sediaan uji yang digunakan (Na CMC 0,5 %), waktu pemejanaan pada saat organogenesis (hari ke 6-15 masa kebuntingan).

C. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun kersen adalah daun tanaman kersen yang diambil secara acak di daerah Solo, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun kersen adalah serbuk yang berasal dari daun kersen yang telah dikeringkan, digiling dan diayak dengan ayakan nomor 40 mesh.

Ketiga, ekstrak etanol daun kersen adalah filtrat hasil ekstrak dengan pelarut etanol 70 % yang dipekatkan hingga diperoleh residu sisa penguapan.

Keempat, dosis kersen adalah dosis ekstrak etanol daun kersen yang disuspensikan dengan Na CMC 0,5 %.

Kelima, hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit galur *Swiss-Webster*. Mencit diperoleh dari LPPT-LP3HP UGM Yogyakarta.

Keenam, parameter yang diuji yaitu tulang pada fetus dilihat dari gambaran tulang dengan pewarnaan *Alcian blue-Alizarin Red S*.

Ketujuh, efek teratogenik yang diamati yaitu bentuk tulang pada fetus setelah pemberian ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) selama masa kebuntingan hari ke 6 sampai hari ke 15.

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Status pemberian perlakuan	Ekstrak etanol daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) dengan variasi dosis yang diberikan per oral selama 10 hari, yakni pada hari ke 6–15 kebuntingan (masa organogenesis). Pada kelompok kontrol diberi Na CMC 0,5 %, sedangkan kelompok perlakuan diberi ekstrak etanol daun kersen dengan dosis, sebagai berikut: dosis 1 = 100 mg/kgbb, dosis 2 = 200 mg/kgbb, dosis 3 = 400 mg/kgbb	a. Sonde b. Tabel konversi dosis antar jenis hewan	mg	Nominal
Kelainan tulang fetus	Pengamatan tulang fetus mencit dilihat dari gambaran tulang setelah dilakukan pewarnaan <i>Alcian blue-Alizarin Red S</i> .	Lup	Gambaran tulang secara visual	Nominal

D. Waktu, Bahan, Alat dan Hewan Percobaan

1. Waktu penelitian

Rencana penelitian selama 4 bulan yang dilakukan selama bulan Januari sampai April 2018.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kersen yang dimaserasi dengan etanol 70 %. Perbandingan daun kersen dan etanol 70 % yaitu 1:10 (Farmakope Herbal 2013). Untuk perawatan mencit antara lain pakan yang digunakan yaitu pellet dan air minum. Untuk pemeriksaan estrus dan kebuntingan menggunakan bahan larutan NaCl 0,9 %, larutan giemsa, dan metilen blue. Pemeriksaan kelainan tulang digunakan bahan larutan Alcian blue, Alizarin Red S 0,1 %, KOH 1 %, aseton, asam asetat, alkohol 70 %, alkohol 96 %, gliserin dan aquades.

3. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah untuk perawatan mencit antara lain bak (kandang), kawat kasa, tempat makan mencit dan tempat minum mencit. Pada penetapan kadar air menggunakan alat tabung *Moiusture Balance*, gelas ukur, labu destilasi dan timbangan. Peralatan untuk pemeriksaan dan pembedahan yaitu kaca pembesar, jarum kanul, botol kaca bermulut lebar, *dissecting set*, papan bedah, gunting, pipet dan jarum pentul. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol 70 % daun kersen antara lain mesin penggiling, timbangan analitik, ayakan nomor 40 mesh, labu ukur, pipet ukur, beaker glass, *hotplate stirrer* dan *magnetic stirrer*.

4. Hewan percobaan

Hewan percobaan dalam penelitian ini adalah mencit galur *Swiss-Webster* dengan jumlah 20 mencit betina, dan 12 mencit jantan, dengan berat badan sekitar 23 gram. Pengelompokkan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 3 kelompok yang diberi perlakuan serta satu kelompok yang tidak diberi perlakuan. Masing-masing kelompok diberi 5 mencit betina dan 3 mencit jantan.

E. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman kersen

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.). Determinasi ini dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini, selain determinasi harus diperhatikan pula ciri-ciri morfologi tanaman terhadap kepastiaan dan dibuktikan dibagian Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan tanaman

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diperoleh secara acak dari daerah Mojosongo, Solo, Jawa Tengah. Daun kersen yang dipilih yaitu daun yang tua serta memiliki kualitas paling baik yang dipilih secara acak.

3. Pengeringan dan pembuatan serbuk daun kersen

Daun kersen yang diperoleh disortasi basah kemudian dicuci dengan air bersih menggunakan air mengalir dan ditiriskan dengan tujuan untuk menghilangkan debu atau kotoran yang melekat pada daun kersen kemudian daun tersebut dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan dihaluskan dengan cara digiling menggunakan mesin penggiling kemudian diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 mesh.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Serbuk daun kersen ditimbang sebanyak 10 bagian (400 gram) setelah itu dimasukkan dalam wadah berwarna gelap, ditambahkan etanol 70 % sebanyak 75 bagian (3 L). Kemudian wadah ditutup dan disimpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari, diamkan selama 5 hari sambil diaduk berulang tiap harinya. Maserat disertai ampas diperas lalu dialiri kembali dengan etanol 70 % q.s dan disaring dengan kain flanel dan corong *Buchner* sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* pada suhu maksimal 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

5. Identifikasi kualitatif ekstrak etanol daun kersen

5.1. Pemeriksaan organoleptik. Pemeriksaan ini meliputi bentuk dan warna menggunakan mata, bau menggunakan hidung, dan rasa menggunakan indera pengecap.

5.2. Identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi. Sebanyak 1 ml bahan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, alkohol dan asam klorida (1:1) serta tambahkan amil alkohol lalu dikocok kuat biarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977).

5.3. Identifikasi alkaloid menggunakan tabung reaksi. Sebanyak 1 ml bahan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,5 ml HCl 2 % larutan dibagi 3 sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung pertama sebagai pembanding, tabung kedua ditambah 2-4 tetes reagen Dragendrof. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung ketiga ditambahkan 2-4 tetes reagen Mayer adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk endapan putih kekuningan (Depkes 1977).

5.4. Identifikasi saponin menggunakan tabung reaksi. Sebanyak 1 ml bahan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas dinginkan kemudian dikocok selama 10 detik akan terbentuk buih stabil selama kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Depkes 1977).

5.5. Identifikasi tannin menggunakan tabung reaksi. Sebanyak 1 ml bahan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah dengan 3 tetes pereaksi FeCl_3 1 %. Tanin positif apabila terbentuk warna hijau violet atau hijau kehitaman (Depkes 1977).

5.6. Identifikasi flavonoid menggunakan KLT. Menggunakan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak heksan : etil asetat : asam formiat (6: 4: 0,2), diberi pereaksi sitroborat menghasilkan warna kuning cepat pudar, sedangkan pada UV 254 nm terjadi fluoresensi biru gelap dan UV 366 nm terjadi fluoresensi biru, kuning dan ungu gelap (Wagner 1996).

6. Uji bebas alkohol

Masing-masing ekstrak daun kersen diuji alkoholnya dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Masing-masing ekstrak alkohol tersebut ditambahkan asam sulfat pekat dan asam asetat kemudian dipanaskan. Adanya sisa alkohol ditandai dengan aroma eter yang khas.

7. Uji teratogenik

7.1. Pemilihan hewan uji. Hewan percobaan dalam penelitian ini adalah mencit galur *Swiss-Webster* dengan jumlah 20 mencit betina, dan 12 mencit jantan, dengan berat badan sekitar 23 gram. Pengelompokan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 3 kelompok yang diberi perlakuan serta 1 kelompok yang tidak diberi perlakuan. Masing-masing kelompok diberi 5 mencit betina dan 3 mencit jantan. Kemudian dipilih mencit betina yang positif hamil.

7.2. Pengawinan dan penetapan masa bunting. Mencit yang akan digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu kurang lebih selama 7 hari. Kemudian mencit betina diamati siklus estrusnya menggunakan cairan NaCl 0,9 % dengan cara ambil sedikit larutan NaCl 0,9 % dengan pipet, kemudian dimasukkan ke dalam liang vagina dan pipet tetap ditekan saat memasukkan kemudian ditunggu beberapa detik dan pipet dilepas, maka cairan NaCl 0,9 % akan kembali masuk ke pipet dan cairan tersebut diteteskan pada objek glass kemudian ditambahkan pewarna giemsa beberapa tetes dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan pengamatan tipe-tipe sel epitel dibawah mikroskop. Setelah sel epitel terlihat ada sel epitel yang menanduk berarti menandakan mencit betina sudah siap untuk dikawinkan. Mencit betina dan mencit jantan dijadikan satu kandang yang terdiri dari 5 ekor mencit betina dan 3 ekor mencit jantan pada sore hari, setelah pagi hari untuk mengecek kebuntingan mencit, mencit diperiksa apusan vaginanya dengan cairan metilen blue (BPOMRI 2014).

7.3. Perhitungan dosis dan penetapan dosis uji. Penetapan dosis dalam penelitian ini mengacu pada dosis yang digunakan pada penelitian uji anti diabetes pada seduhan daun kersen terhadap tikus, diperoleh hasil bahwa dosis paling efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah yaitu 750 mg/kggb (Aulia 2016). Hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih galur *Swiss-Webster* 2-3 bulan,

berat badan sekitar 23 gram. Mencit tersebut diberikan 3 tingkatan perlakuan dosis yaitu 100, 200 dan 400 mg/kgbb, sedangkan kelompok kontrol diberi Na CMC 0,5 %.

7.4. Pembuatan sediaan uji. Dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol daun kersen dalam Na CMC 0,5 % pada dosis 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb, 400 mg/kgbb.

7.5 Pembuatan larutan *alcian blue-alizarin red s*. *Alcian blue* 0,3% dilarutkan dalam alkohol 70% dan *Alizarin red s* 0,1% dilarutkan dalam alkohol 96% lalu ditambahkan asam asetat dan alkohol 70% (Inouye 1976).

8. Pengamatan fetus

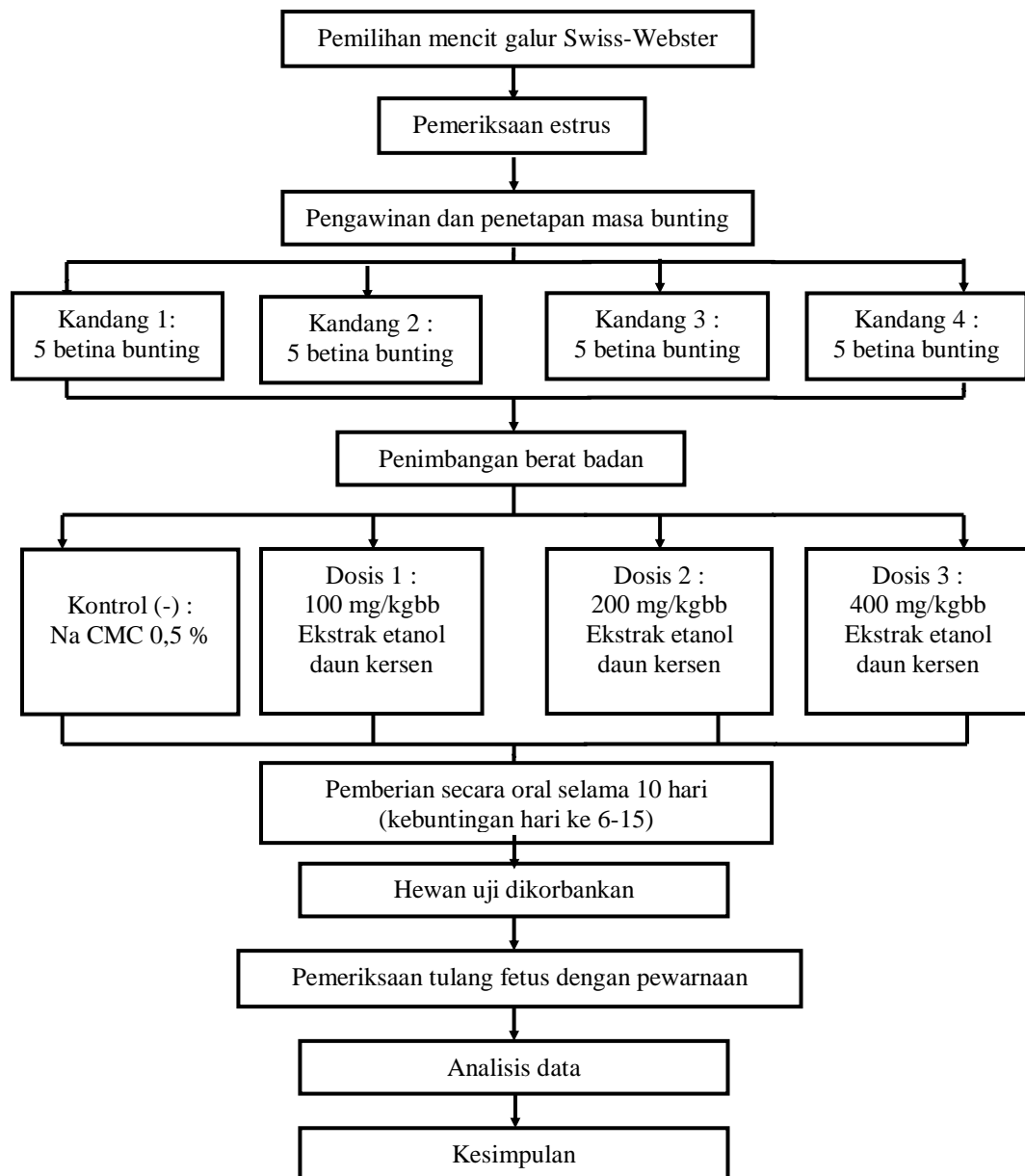
Pemeriksaan pada tulang fetus dilakukan dengan pewarna ganda *Alcian blue-Alizarin red s*. Fetus masing-masing induk dipersiapkan untuk diberi pewarna ganda *Alcian blue-Alizarin Red S* yaitu fetus difiksasi dalam alkohol 96% selama 3 hari, dilanjutkan dengan membuang isi rongga perut dan dada. Setelah itu fetus dimasukkan ke dalam aseton selama 1 hari. Kemudian fetus direndam dalam larutan pewarna ganda *Alizarin red s* dan *Alcian blue* selama 3 hari. Setelah pewarnaan, kemudian dicuci dengan air beberapa kali sampai bersih. Selanjutnya fetus dijernihkan dengan larutan KOH 1% selama 2 hari hingga jaringan yang membungkus skeleton menjadi transparan, dan yang berwarna hanya pada jaringan tulang. Lalu fetus dipindahkan ke dalam larutan gliserin 20% dalam KOH 1% selama 1 hari, kemudian direndam secara berturut-turut ke dalam gliserin 50% dan 80%, masing-masing selama 1 jam. Lalu disimpan dalam gliserin murni, kemudian dilakukan pengamatan (Inouye 1976). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar.

9. Analisis data

Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*One Sample Kolmogorov-Smirnov*). Jika data terdistribusi normal ($P > 0,05$) maka analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*ANOVA*). Jika hasil uji *ANOVA* ($P < 0,05$) maka dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan yang nyata. Sedangkan jika data tidak terdistribusi normal

($P < 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji non parametrik (*Kruskal Wallis*). Jika hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi ($P < 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan yang nyata terhadap tulang fetus.

F. Skema Penelitian



Gambar 2. Skema uji teratogenik

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Kersen

1. Determinasi tanaman kersen

Sebelum tanaman diambil sebagai sampel terlebih dahulu dilakukan determinasi. Khususnya pada tanaman yang dipakai pada penelitian ini. Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi Surakarta. Berdasarkan surat keterangan determinasi nomor 222/DET/UPT-LAB/20/XI/2017 diketahui bahwa tanaman yang dipakai dalam penelitian ini adalah tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan hasil kode determinasi 1b – 2b – 3b – 4b- 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. Golongan 8 – 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177b – 179b – 180b – 182b – 183b – 184b – 185b – 186b. Familia 74. Tiliaceace. 1a. **Muntingia**. *Muntingia calabura* L. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengeringan dan pembuatan serbuk daun kersen

Daun kersen diperoleh dari daerah desa Mojosongo kota Solo provinsi Jawa Tengah sebanyak 3 kg. Daun kersen yang diambil dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel kemudian dikeringkan pada suhu 50-60°C. Hal ini bertujuan supaya mengurangi kadar air sehingga dapat mencegah tumbuhnya bakteri atau jamur yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan kualitas serbuk daun kersen yang telah dikeringkan. Sebelum dihaluskan menjadi serbuk, terlebih dahulu daun kersen dibersihkan supaya bersih dan bebas dari kotoran. Daun kersen yang sudah bersih kemudian digiling sampai halus dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Penyerbukan ini dimaksudkan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian berlangsung efektif.

Tabel 2. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun kersen

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Persentase % (b/b)
3000	650	21,67

Persentase hasil pengeringan daun kersen adalah 21,67 %. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 12.

3. Penetapan kadar susut pengeringan serbuk daun kersen

Penetapan susut pengeringan serbuk simplisia dilakukan untuk mengetahui kelembaban suatu bahan. Kelembaban yang terlalu tinggi akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri yang dapat merusak simplisia. Batas maksimal susut pengeringan serbuk adalah 10 % (Depkes 1985). Penetapan susut pengeringan serbuk simplisia menggunakan alat *moisture balance*. Prinsip kerja alat *moisture balance* adalah terjadinya pemanasan serbuk kemudian terjadi penguapan sampai bobot konstan.

Dari hasil penetapan dapat dilihat bahwa serbuk daun kersen memiliki susut pengeringan 6,35 % (perhitungan dapat dilihat pada lampiran 13). Data hasil penetapan susut pengeringan serbuk dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Penetapan kadar air serbuk daun kersen

Penimbangan (g)	Kadar air (%) \pm SD
2,00	6,40
2,00	6,45
2,00	6,20
Rata-rata	6,35 \pm 0,13

4. Pembuatan ekstrak etanol daun kersen

Pembuatan ekstrak etanol daun kersen dilakukan dengan cara maserasi. Metode ini dipilih karena mudah dalam proses pengerjaannya dan peralatan yang digunakan sederhana. Maserasi merupakan salah satu teknik penyarian yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam cairan penyari. Cairan penyari dalam proses maserasi akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel. Semua serbuk harus terendam supaya kontak antar pelarut dengan permukaan serbuk menjadi lebih maksimal.

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun kersen adalah etanol 70% karena dapat melarutkan zat aktif yang dibutuhkan dalam penelitian ini seperti senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Etanol 70% digunakan

sebagai cairan penyari karena sifat etanol yang tidak beracun dan mudah menarik keluar senyawa aktif dari dalam sel.

Proses maserasi dilakukan dalam wadah kaca tertutup dan gelap agar terhindar dari sinar matahari langsung. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada tabel 4. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada lampiran 14.

Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol daun kersen

No	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak kental (g)	Persentase % (b/b)
1	400	50,33	12,58

5. Identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak etanol daun kersen

5.1 Identifikasi menggunakan tabung reaksi. Sebelum digunakan dalam penelitian dilakukan identifikasi kualitatif kandungan kimia pada ekstrak dan serbuk etanol daun kersen untuk memastikan adanya senyawa golongan flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa daun kersen dengan tabung reaksi

Identifikasi	Pustaka	Hasil	Kesimpulan	
			Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1977)	Berwarna jingga dan memisah	+	+
Alkaloid	Reaksi positif jika terbentuk endapan jingga dengan penambahan reagen dragendorf dan adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk endapan putih kekuningan dengan penambahan reagen Mayer (Depkes 1977)	Berbentuk kekeruhan atau endapan jingga	+	+
Saponin	Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya buih stabil selama < 10 menit tidak hilang dengan penambahan HCl (Depkes 1977)	Terbentuk buih stabil	+	+
Tanin	Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna hijau violet atau hijau kehitaman (Depkes 1977)	Terbentuk endapan hijau kehitaman	+	+

Hasil identifikasi kualitatif kandungan senyawa terhadap serbuk maupun ekstrak etanol daun kersen adalah positif sehingga menunjukkan bahwa daun

kersen mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Hal ini dapat diketahui dengan membandingkan hasil uji kualitatif yang dilakukan dengan pustaka. Foto hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun kersen secara kualitatif dapat dilihat pada lampiran 5 dan 6.

5.2 Identifikasi menggunakan KLT. Identifikasi KLT senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun kersen menggunakan fase gerak heksan : etil asetat : asam formiat (6: 4: 0,2) dengan pereaksi semprot sitroborat. Hasil identifikasi flavonoid dengan KLT dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa flavonoid daun kersen dengan KLT

Identifikasi	Warna Bercak					
	Serbuk		Ekstrak		Pembanding	
	UV 254	UV 366	UV 254	UV 366	UV 254	UV 366
Flavonoid	-	Ungu gelap	-	Biru	-	Kuning

Identifikasi senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol daun kersen dengan menggunakan KLT dengan pembanding kuersetin setelah disemprot sitroborat pada UV 254 tidak menimbulkan warna pada serbuk dan ekstrak sedangkan pada UV 366 menimbulkan warna ungu gelap pada serbuk dan warna biru pada ekstrak tetapi tidak berfluoresensi sama dengan warna pembanding kuersetin yang berwarna kuning. Sehingga senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kersen diperkirakan bukan kuersetin.

6. Uji bebas etanol daun kersen

Uji bebas etanol daun kersen dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 7. Uji bebas etanol daun kersen

Senyawa	Esterifikasi	Pustaka	Hasil Uji
Alkohol	Ekstrak + CH ₃ COOH (As. Asetat) + H ₂ SO ₄ pekat kemudian dipanaskan	Tidak berbau ester yang khas dari etanol (Depkes 1986)	Tidak berbau ester yang khas pada etanol

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen sudah bebas dari pelarutnya, yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol dilakukan pada ekstrak hasil maserasi dengan tujuan mengetahui ekstrak yang sudah diperoleh benar-benar

terbebas dari etanol, sehingga saat digunakan sebagai uji teratogenik bukan etanol yang menyebabkan kelainan pada fetus.

B. Hasil Uji Teratogenik

1. Pengamatan berat badan hewan uji (induk) atau mencit

Pengamatan berat badan hewan uji induk dilakukan untuk mengetahui pemberian dosis ekstrak etanol daun kersen memiliki pengaruh terhadap induk mencit. Sebelumnya dipastikan bahwa induk mencit sudah kawin dan terdapat apusan vagina. Hasil pengamatan berat badan induk hewan uji sebagai berikut:

Tabel 8. Rata-rata berat badan induk mencit

Jumlah induk	Kelompok	Rata-rata berat badan (g) \pm SD				
		Hari ke-0 kebuntingan	Hari ke-6 kebuntingan	Hari ke-11 kebuntingan	Hari ke-15 kebuntingan	Hari ke-17 kebuntingan
5	Kontrol negatif	25,0 \pm 1,6	28,0 \pm 1,4	33,6 \pm 2,1	39,8 \pm 2,4	46,8 \pm 2,2
5	Dosis 1	25,4 \pm 1,1	28,8 \pm 1,3	35,0 \pm 1,6	41,0 \pm 1,6	47,4 \pm 1,5
5	Dosis 2	24,8 \pm 0,8	28,0 \pm 0,7	33,6 \pm 1,1	39,8 \pm 1,5	46,4 \pm 1,1
5	Dosis 3	26,2 \pm 1,9	28,8 \pm 1,6	34,0 \pm 1,9	38,2 \pm 1,9	42,6 \pm 2,2*

Keterangan :

* : Berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

Kontrol negatif : Na CMC 0,5 %

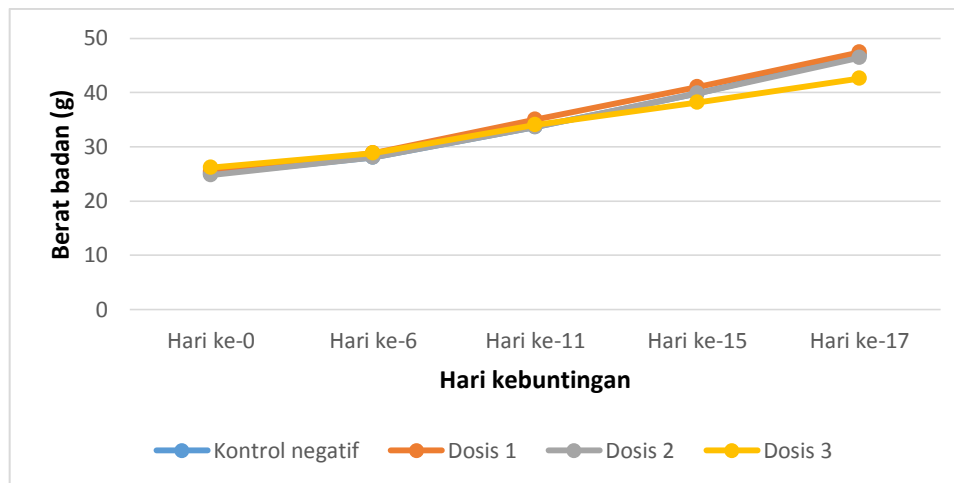
Dosis 1 : 100 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 2 : 200 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 3 : 400 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dari tabel di atas menunjukkan hasil dari berat badan induk mencit kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan mengalami peningkatan dari hari ke-0 kebuntingan (sediaan uji belum di oralkan pada induk) dan hari ke-6 kebuntingan (hari pertama sediaan uji di oralkan pada induk) hingga hari ke-15 kebuntingan (hari terakhir sediaan uji di oralkan pada induk) serta berat badan induk hari ke-17 (induk mencit sebelum dibedah). Pada uji *One way Anova* menunjukkan nilai signifikansi ($P > 0,05$) pada berat badan induk hari ke-0 sampai hari ke-15 berarti tidak terdapat perbedaan berat badan induk pada kebuntingan hari ke-0 sampai hari ke-15 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, sedangkan pada kebuntingan hari ke-17 menunjukkan nilai signifikansi ($P < 0,05$) berarti terdapat perbedaan berat badan induk antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan pada kebuntingan hari ke-17. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey*, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok

kontrol negatif dengan dosis 3. Berat badan induk mencit ditunjukkan pada grafik berikut ini :



Gambar 3. Berat badan induk mencit

Keterangan :

Kontrol negatif : Na CMC 0,5 %

Dosis 1 : 100 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 2 : 200 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 3 : 400 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

2. Pengamatan jumlah fetus hewan uji.

Pengamatan jumlah fetus dilakukan untuk mengetahui apakah dalam pemberian dosis ekstrak etanol daun kersen berpengaruh pada jumlah perkawanan fetus. Hasil yang diperoleh yaitu:

Tabel 9. Rata-rata jumlah fetus mencit

Kelompok	Total jumlah fetus	Rata-rata jumlah fetus \pm SD
Kontrol negatif	54	10,8 \pm 0,8
Dosis 1	50	10 \pm 0,7
Dosis 2	44	8,8 \pm 0,4*
Dosis 3	46	9,2 \pm 0,8*

Keterangan :

* : Berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

Kontrol negatif : Na CMC 0,5 %

Dosis 1 : 100 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 2 : 200 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 3 : 400 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Pada uji *One way Anova* menunjukkan nilai signifikansi ($P < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan pada jumlah fetus antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dosis 200 dan 400 mg/kgbb. Kemudian dilanjutkan uji *Student Newman Keuls (SNK)*, menunjukkan perbedaan bermakna pada jumlah

fetus mencit kelompok kontrol negatif dengan dosis 2 dan 3, sedangkan kontrol negatif dan dosis 1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah fetus (Lampiran 18). Kemungkinan terjadi penurunan jumlah fetus karena adanya senyawa alkaloid, seperti yang dilaporkan Sabri (2007) alkaloid dapat menyebabkan meningkatnya kehilangan praimplantasi secara nyata, jumlah fetus hidup menurun secara nyata serta bersifat antifertilitas.

3. Pengamatan tulang fetus.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan skeleton aksial yang meliputi tulang tengkorak (*cranium*), tulang belakang (*vertebrae*), tulang rusuk (*costae*) dan tulang dada (*sternebrae*), sedangkan skeleton apendikular meliputi tulang ekstremitas. Dari semua pemeriksaan tersebut jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang seluruhnya pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang

Kelompok	Total jumlah fetus	Jumlah fetus dengan kelainan tulang	Persentase fetus dengan kelainan tulang (%)
Kontrol negatif	54	0	0
Dosis 1	50	0	0
Dosis 2	44	35	79,54*
Dosis 3	46	41	89,13*

Keterangan :

* : Berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

Kontrol negatif : Na CMC 0,5 %

Dosis 1 : 100 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 2 : 200 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

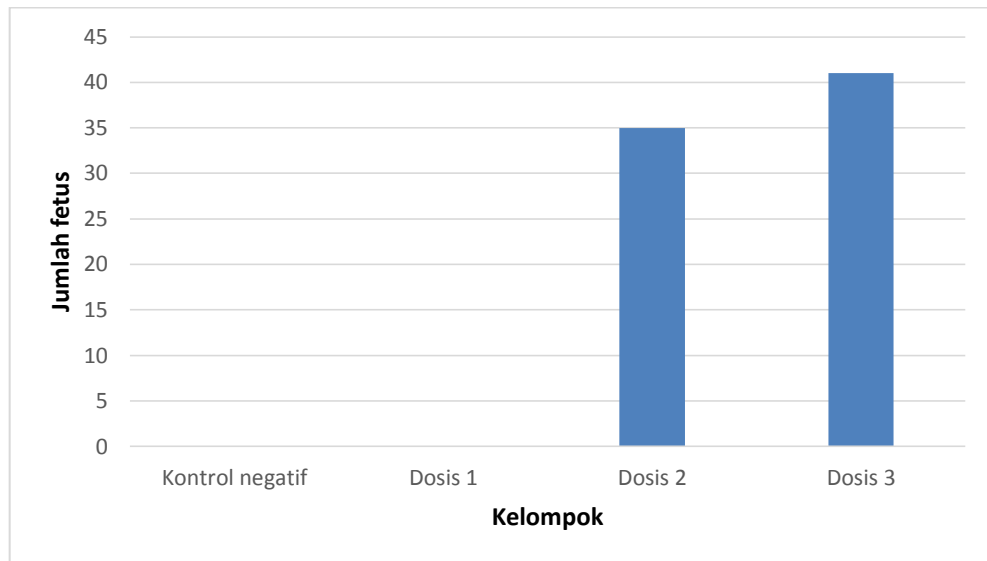
Dosis 3 : 400 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang pada masing-masing kelompok perlakuan di tabel 10 menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis menimbulkan kelainan pada tulang fetus mencit yang disebabkan oleh kelompok dosis 200 dan dosis 400 mg/kgbb sedangkan dosis 100 mg/kgbb tidak menyebabkan kelainan tulang terhadap kelompok kontrol negatif dengan kenaikan jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang dalam dosis 100, 200 dan 400 mg/kgbb sebesar 0 ekor fetus atau 0% dari 50 ekor fetus yang diamati, 35 ekor fetus atau 79,54% dari 44 ekor fetus yang

diamati dan 41 ekor fetus atau 89,13% dari 46 ekor fetus yang diamati. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang paling banyak terjadi pada dosis 400 mg/kgbb (dosis tertinggi pada perlakuan).

Dilakukan uji statistik yang diawali dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* yang menunjukkan hasil signifikansi ($P < 0,05$) yang berarti data tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* dan menunjukkan hasil signifikansi ($P < 0,05$), berarti terdapat perbedaan kelainan tulang pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney*, diperoleh nilai signifikansi ($P > 0,05$) pada kontrol negatif dengan dosis 100 mg/kgbb yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap kelainan tulang fetus, sedangkan antara kontrol negatif dengan dosis 200 dan 400 mg/kgbb menunjukkan hasil signifikansi ($P < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kelainan tulang fetus (lampiran 18). Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa dosis ekstrak etanol daun kersen yang tidak aman terhadap pertumbuhan tulang fetus mencit adalah 200 dan 400 mg/kgbb karena menimbulkan kelainan pada tulang fetus.

Pemberian ekstrak etanol daun kersen pada masa organogenesis dapat menyebabkan kelainan pada pertumbuhan dan perkembangan fetus seperti terhambatnya pembentukan tulang (terhambatnya proses osifikasi). Hal ini didukung dengan hasil analisis yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Analisis jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang ditunjukkan pada diagram berikut ini:



Gambar 4. Jumlah fetus yang mengalami kelainan pada tulang

Keterangan :

Kontrol negatif : Na CMC 0,5 %

Dosis 1 : 100 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 2 : 200 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 3 : 400 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Gambar 4 menunjukkan bahwa adanya peningkatan jumlah kelainan tulang pada kelompok dosis 200 dan 400 mg/kgbb terhadap kelompok kontrol negatif. Kemungkinan terjadinya hambatan pembentukan tulang pada fetus, yaitu faktor dari induknya yang tidak bisa mencukupi asupan nutrisi untuk kebutuhan pertumbuhan dan perkembangan fetus dikarenakan senyawa kuersetin yang dapat menghambat VEGF (*vascular endothelium growth factor*) sehingga menyebabkan suplai nutrisi dari induk ke fetus menjadi terhambat (Anso *et al.* 2010). Ekstrak etanol daun kersen juga mengandung senyawa tanin yang menyebabkan penurunan penyerapan kalsium. Apabila penyerapan kalsium oleh induk berkurang, maka bisa berakibat suplai kalsium dari induk ke fetus akan berkurang sehingga mengakibatkan gangguan osifikasi (pembentukan tulang) (Yuyun 2009). Senyawa saponin dan alkaloid juga terkandung dalam ekstrak etanol daun kersen dan diketahui memiliki aktivitas antimitotik sehingga mengganggu pembelahan sel (Nurliani 2007; Sabri 2007). Adanya senyawa-senyawa tersebut diduga dapat mengganggu pembelahan sel osteoprogenitor, sehingga menyebabkan terhambatnya proses osifikasi.

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 *et al.* 1995).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan skeleton aksial yang meliputi tulang tengkorak (*cranium*), tulang rusuk (*costae*), tulang belakang (*vertebrae*), dan tulang dada (*sternebrae*), sedangkan skeleton apendikular meliputi ekstremitas seperti pada tabel 11.

Tabel 1. Kelainan tulang yang terjadi pada fetus

Kelompok	Kelainan tulang pada fetus (rata-rata \pm SD)				
	Tulang tengkorak	Tulang rusuk	Tulang belakang	Tulang dada	Tulang ekstremitas
Kontrol negatif	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Dosis 1	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Dosis 2	1,8 \pm 0,8*	1,8 \pm 0,8*	1,6 \pm 0,5*	0,8 \pm 0,4*	1,0 \pm 1,0*
Dosis 3	1,6 \pm 0,9*	2,0 \pm 1,0*	2,0 \pm 1,0*	1,2 \pm 0,4*	1,4 \pm 0,5*

Keterangan :

* : Berbeda nyata terhadap kontrol negatif

Kontrol negatif : Na CMC 0,5 %

Dosis 1 : 100 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Dosis 2 : 200 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

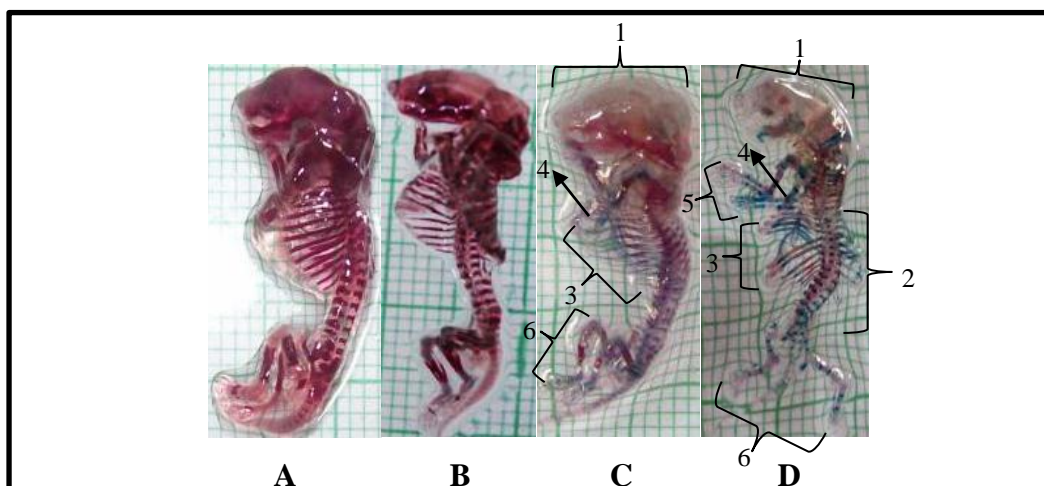
Dosis 3 : 400 mg/kgbb ekstrak etanol daun kersen

Terdapat lima macam kelainan tulang fetus yang dapat dianalisa kuantitatif masing-masing dengan perbandingan kelompok kontrol negatif. Analisis statistik dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh hasil signifikansinya ($P < 0,05$) berarti data tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* pada masing-masing tulang yaitu tulang tengkorak, tulang rusuk, tulang belakang, tulang dada dan tulang ekstremitas diperoleh hasil dari kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan nilai signifikansi yaitu ($P < 0,05$) berarti terdapat perbedaan kelainan tulang tengkorak, tulang rusuk, tulang belakang, tulang dada dan tulang ekstremitas dari semua kelompok perlakuan sehingga dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Hasil uji *Mann Whitney* dari kelompok kontrol negatif dengan dosis 100 mg/kgbb terhadap kelainan tulang tengkorak, tulang rusuk, tulang belakang,

tulang dada dan tulang ekstremitas yaitu ($P > 0,05$) berarti tidak mempunyai perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol negatif dengan dosis 100 mg/kgbb sedangkan pada kelompok kontrol negatif dengan dosis 200 dan 400 mg/kgbb terhadap kelainan tulang tengkorak, tulang rusuk, tulang belakang, tulang dada dan tulang ekstremitas diperoleh ($P < 0,05$) berarti mempunyai perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol negatif dengan dosis 200 dan 400 mg/kgbb.

Secara kualitatif terdapat nyata perbedaan kelainan tulang yang terjadi antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan seperti pada gambar 5.



Gambar 5. Perbandingan tulang kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan

Keterangan:

(A). Tulang fetus dari kelompok kontrol negatif

(B). Tulang fetus kelompok dosis 100 mg/kgbb

(C). Tulang fetus kelompok dosis 200 mg/kgbb

(D). Tulang fetus kelompok dosis 400 mg/kgbb

Hambatan penulangan pada: (1). *cranium*; (2). *vertebrae*; (3). *costae*; (4). *sternbrae*; (5). Ekstremitas anterior; (6). Ekstremitas posterior.

Secara umum, osifikasi skeleton diamati setelah dilakukan pewarnaan menggunakan *Alcian Blue-Alizarin Red S*. Zat warna *Alizarin red's* akan mewarnai ruas tulang yang telah mengalami osifikasi secara sempurna (berwarna merah), sedangkan tulang yang belum mengalami osifikasi secara sempurna akan terwarnai oleh zat warna *Alcian Blue* sehingga berwarna biru atau bening. Pengamatan kerangka yang telah diwarnai dengan larutan pewarna *Alcian Blue-*

Alizarin Red S kemudian dibandingkan terhadap fetus yang berasal dari induk kontrol negatif tanpa perlakuan dan dipelihara dengan kondisi yang sama dengan kelompok perlakuan. Penilaian kerangka dilakukan dengan menggunakan lup (kaca pembesar).

Kelainan terjadi pada tulang *cranium, vertebrae, costae, sternbrae* dan *ekstremitas* yang disebabkan oleh kelompok perlakuan dosis 200 dan 400 mg/kgbb. Tampak bahwa tulang-tulang tersebut tidak terwarnai oleh zat warna *Alizarin Red S* yang menandakan pembentukan tulang telah sempurna. Ekstrak etanol daun kersen pada dosis 200 dan 400 mg/kgbb yang diberikan pada induk mencit selama kebuntingan pada masa organogenesis dapat menyebabkan terjadi hambatan proses osifikasi pada tulang fetus.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil penelitian efek teratogenik ekstrak etanol daun kersen terhadap pertumbuhan tulang fetus mencit dapat disimpulkan sebagai berikut:

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis mempengaruhi berat badan induk mencit.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis mempengaruhi jumlah fetus perkelahiran.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis mengakibatkan kelainan pada tulang fetus mencit.

Keempat, pemberian ekstrak etanol daun kersen selama masa organogenesis pada dosis 200 dan 400 mg/kgbb dapat mengakibatkan kelainan pada tulang fetus mencit.

B. Saran

Pertama, masyarakat hendaknya berhati-hati dalam penggunaan daun kersen sebagai obat tradisional jika digunakan pada masa kehamilan, supaya janin yang dikandung terhindar dari kelainan tulang.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi teratogen daun kersen secara histopatologi sehingga dapat diketahui efek teratogen pada organ fetus.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel CH. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Intoduction to Pharmaceutical Dossage Form*.
- Anso *et al.* 2010. Flavonoid inhibit hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression by a HIF-1 independent mechanism. *Biochemical Pharmacology* 79:1600-1609.
- [Anonim]. 2007. Kebijakan Obat Tradisional Nasional (Kotranas). Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 381/Menkes/SK/III/2007.
- Aulia ANF. 2016. Efektivitas Seduhan Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Kadar Enzim Endogen Glutation Peroksidase (GPx) Pada Tikus Diabetes Melitus Yang Diinduksi Streptozotocin-Nicotinamide (STZ-Na) [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Arum YP, Supartono, Sudarmin. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal MIPA* 35:165-174.
- Blagosklonny MV. 2005. Teratogens as Anti-cancer Drugs. *Cell cycle* 4:1518-1521.
- Bradford PG, Awad AB. 2007. Phytosterols as anticancer compounds. *Mol Nutr Food Res* 51:161-70.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. Tentang Pedoman Uji Toksisitas Non klinik Secara In Vivo. *Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia* 7:45-50.
- Burkitt HG, Young B, Heath JW. 1995. *Histologi Fungsional Edisi 3*. Diterjemahkan oleh: Jan Tambajong. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Chaube S, Murphy ML. 1966. The Effects of Hydroxyurea and Related Compounds on the Rat Fetus. *Cancer Research* 26:1448-1457.
- Chang MCJ, Bailey JW, Collins JL. 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.
- Cronquist A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.

- [Depkes RI]. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1985. *Analisis obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Jakarta: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Obat Tradisional.
- De Padua. 1978. Durio-a bibliographic review, Medical and Toxicological Properties. <http://www.ipgri.cgiar.org/regions/apo/publications/durio/durio3.pdf>.
- Ekawati R, Sutarno, Widiyani T. 2002. Struktur dan Perkembangan Embrio Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar setelah Pemberian Radiasi Sinar-X. *Enviro* 2:19-25.
- Francis G, Zohar K, Harinder PSM, Klaus B. 2002. The biological action of saponins in animal systems. *British Journal of Nutrition*. (88):587–605
- Frisca, Sardjono CT, Sandra F. 2009. Angiogenesis: Patofisiologi dan Aplikasi Klinis. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 8:174-187.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 9-13.
- Harborne JB, Turner BL. 1984. *Plant Chemosystematics*. Orlando: Academic Press. hlm 12.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi II. Padmawinata K, Sudiro I, Sofia N, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*.
- Haslam E. 1989. *Plant Polyphenols: Vegetable Tannins Revisited*. Cambridge: Cambridge University press. hlm 6.
- Heftman E. 1974. *Function of steroids in plant*. *Phyocemistry* 14:891-90.
- Hutahean S. 2002. Prinsip-prinsip Uji Toksikologi Perkembangan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universtas Sumatera Utara.

- Hsu YL, Kuo PL, Tzeng WS, Lin CC. 2006. Chalcone inhibits the proliferation of human breast cancer cell by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis. *Food and Chemical Toxicology* 44:704-713.
- Hyder SM, Stancel GM. 1999. Regulation of angiogenic growth factors in the female reproductive tract by estrogens and progestins. *Molecular Endocrinology* 13:806-811.
- Inouye M. 1976. Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Cong Anomali* 16: 171-173.
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. 1998. Histologi Dasar. Tembayong J. (Penerjemah). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Khanbabaee K, Ree TV. 2001. Tannins: Classification and Definition. *Nat Prod Rep* 18:641-649.
- Kim J, Woo HD. 2013. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer. *World Journal of Gastroenterology*. 19:1011-1019.
- Kosasih E, Supriatna H, Ana E, Encun. 2013. *Informasi Singkat Benih: Talok/Kersen (Muntingia calabura L)*. Sumedang: BPTH Jawa dan Madura.
- Lin JK, Weng MS. 2006. *Flavonoids as Nutraceuticals*. Taiwan: National Taiwan University. hlm 213-238.
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar (Edisi kedua)*. Penerjemah; Nugroho E. Chicago: University of Chicago Press.
- Loomis TA. 1978. Toksikologi Dasar Edisi ke-2. Terjemahan Imono A. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Morton JF. 2004. *Fruits of warm climates: Jamaica Cherry*. Winterville: Creative Resource Systems Inc. hlm 65–69.
- Nagegowda DA. 2010. Plant volatile terpenoid metabolism: biosynthetic genes, transcriptional regulation, and subcellular compartmentation. *FEBS Letter* 584:2965-2973.
- Nurhuda, Oentoeng S, Nana S, dan M. Sadikin. 1995. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare Dosis 750 mg/kgBB sampai Dosis 2000 mg/kg BB terhadap Jumlah dan Mortalitas Spermatozoa Tikus Jantan Strain LMR. *Jurnal Kedokteran YARSI*. 3(2):2

- Nurliani A. 2007. Penelusuran Potensi Antifertilitas Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr) Melalui Skrining Fitokimia. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia* 1 (2):53-58.
- Podolak I, Galanty A, Sobolewska D. 2010. Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochem Rev* 9:425-474.
- Ribatti D *et al.* 1997. A new model for the study of angiogenesis and antiangiogenesis in the chick embryo chorioallantoic membrane (CAM): the gelatin sponge/CAM assay. *J Vasc Res* 34:455–463.
- Roberts SJ. 1971. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases: Theriogenology*. New York: Ithaca.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Edisi V. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents Of Higher Plants*. hlm 71-72, 91, 157-158, 281-286.
- Rusmiati. 2010. Pengaruh Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Duria zibethinus* Murr) pada Struktur Mikroanatomi Ovarium dan Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 4(1):29-37.
- Rugh R. 1968. *The Mouse: Its Reproduction and Development*. New York. Publishing Company.
- Sabri E. 2007. Efek Perlakuan Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) pada Tahap Praimplantasi terhadap Fertilitas dan Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi Sumatera*. Vol 2(2):28-32.
- Setyawati I. 2009. Morfologi Fetus Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Jurnal Biologi*. 13(2):41-44.
- Setyawati I. 2011. Penampilan Reproduksi dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Buah Nanas Muda. *Jurnal Veteriner*. 12(3):192-199.
- Setyawati WAK, Cahyanto MAS. 2016. Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Toksik Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 1:41-47.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus)*. Penerbit Universitas Indonesia. hlm 3757.

- Sulistiyowati VY. 2009. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Talok (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Kadar Asam Urat Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Galur Wistar Hiperurikemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Sutrisno RB. 1998. *Taksonomi Spermatophyta untuk Farmasi*. Edisi 1. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. Jakarta. hlm 122.
- Sukandar EY, Fidrianny I, Garmana AN. 2008. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Umbi Lapis Bawang Putih Dan Ekstrak Rimpang Kunyit Terhadap Janin Mencit Swiss-Webster. JKM. 8(1):36-44.
- Stolzenberg SJ & Parkhurst RM (1976) Blastocidal and contraceptive actions by an extract and compounds from endod (*Phytolacca dodecandra*). *Contraception* (14):39–51.
- Vidyalakshmi KS, Dorni AIC, Vasanthi HR. 2007. Anti-mitotic Cytotoxic Effect of *Mussaenda queensirkit*. *Journal of Pharmacology and Toxicology* 2:660-665.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Soewandhi, penerjemah; Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah; Soendari Noerono. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Widiana R, Sumarmin R. 2016. Efek Toksik dan Teratogenik Ekstrak Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Terhadap Sistem Reproduksi dan Embrio Mencit. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang.
- Wirasuta IMAG, Suadarmana K. 2007. Analisis Toksikologi Klinik: Tantangan Baru Bagi Farmasi Indonesia. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 32(2):59-62.
- Yadegarynia S. 2012. Profiling flavonoid cytotoxicity in human breast cancer cell lines [Tesis]. California: San Jose State University.
- Yao LH *et al.* 2004. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition* 59:113-122.
- Yuyun E. 2009. Efek Teratogenik Ekstrak Air Daun Talok (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Fetus Mencit (*Mus musculus*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Zakaria ZA *et al.* 2006. The in vitro antibacterial activity of *muntingia calabura* extract. *International Journal of Pharmacology* 2:439,442.

Zakaria ZA *et al.* 2007. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Muntingia calabura* aqueous extract in animal models. *International Journal of Pharmacology* 61:443-448.

Zakaria, ZA *et al.* 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 Maret 2018].

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi daun kersen



No : 224/DET/UPT-LAB/20/XI/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Ezra Desipa Sitohang
NIM : 20144336 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kersen (*Muntingia calabura* L.)**

Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. Golongan 8 – 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177b – 179a – 180b – 182b – 183b – 184b – 185b – 186b. Familia 74. Tiliaceae. 1a. 1. Muntingia. *Muntingia calabura* L.

Deskripsi :

Habitus : Pohon kecil, menahun, tinggi 2 – 10 m.
Batang : Berkayu, coklat, bulat, percabangan simpodial, tegak, ranting diselimitirapatoleh rambut biasa yang halus dan oleh rambut kelenjar.
Daun : **Tunggal, berseling, helaian daun tidak sama sisi, jorong, panjang 7 – 9,2 cm, lebar 1,5 – 4 cm, ujung meruncing, pangkal berlekuk, tepi bergerigi, permukaan bawah berambut rapat, tangkai pendek, tulang daun menyirip, hijau, tangkai pendek, berambut wol rapat.**
Bunga : 1-3 menjadi satu di ketiak daun, berbilangan 5, berkelamin 2. Kelopak berbagi dalam, taju meruncing menjadi bentuk benang, berambut halus. Daun mahkota putih, tepi rata, bulat telur terbalik, gundul, panjang 5 – 6 mm. Tonjolan dasarbunga bentuk cawan. Benangsari banyak, terutama pada tonjolan dasar bunga. Bakal buah bertangkai pendek, gundul, beruang 5 – 6. Kepala sari hampir duduk, berlekuk 5 – 6. Tonjolan dasar bunga bentuk cawan.
Buah : Buni, waktu muda hijau, setelah masak merah, panjang 1 cm.
Akar : Tunggang.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978); *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. KebonSirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 20 November 2017
Dit. Determinasi

Dita Kesumah Wiryosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat keterangan ethical clearance

2/2/2018

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 81 / II / HREC / 2018

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

**UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (Muntingia calabura L.) PADA MENCIT PUTIH (Mus musculus)
 TERHADAP KELAINAN KERANGKA FETUS**

Principal investigator : Ezra Desipa Sitohang
 Peneliti Utama : 20144336A

Location of research : Universitas Gadjah Mada
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 02 Feb 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F,MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Foto tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.)



Lampiran 4. Ekstrak etanol daun kersen



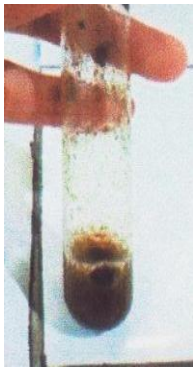
Lampiran 5. Foto hasil identifikasi serbuk daun kersen (*Muntingia calabura* L.)



Alkaloid



Flavonoid



Saponin



Tanin

Lampiran 6. Foto hasil identifikasi ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.)



Alkaloid



Flavonoid



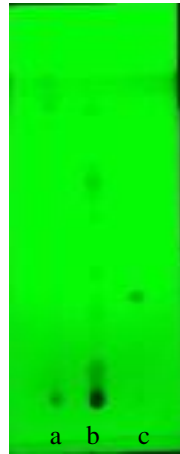
Saponin



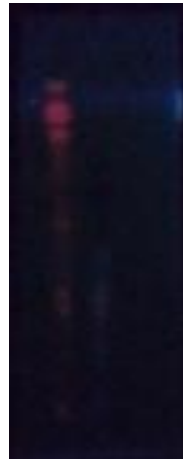
Tanin

Lampiran 7. Hasil uji KLT flavonoid (kuersetin)

Sebelum disemprotkan Sitroborat

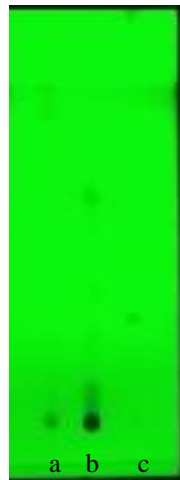


Sinar UV 254



Sinar UV 366

Sesudah disemprotkan Sitroborat



Sinar UV 254



Sinar UV 366

Keterangan:

a : serbuk

b : ekstrak

c : pembanding

Fase diam: Silica Gel 60 F254

Fase gerak: heksan : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2)

Pembanding: Quersetin 10 mg / 1 ml etanol

Deteksi: Sitroborat

Lampiran 8. Sumbat vagina mencit dan mencit bunting



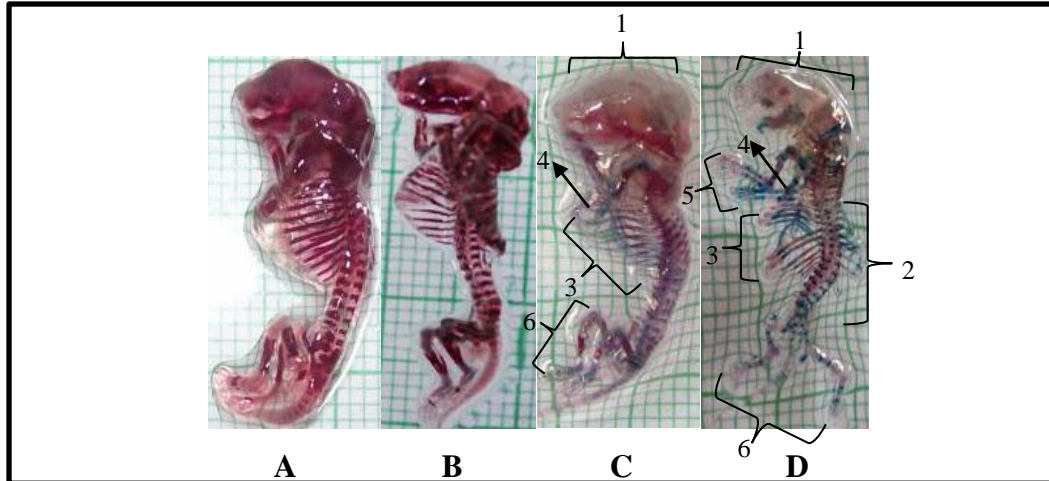
Gambar sumbat vagina mencit setelah dibuahi mencit jantan



Gambar mencit bunting

Lampiran 9. Fetus mencit

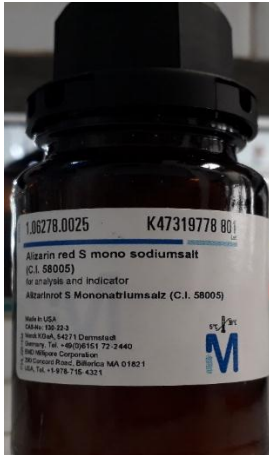
Lampiran 10. Perbandingan tulang fetus mencit setelah pewarnaan *Alcian Blue-Alizarin Red S*



Gambar 6. Perbandingan tulang kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan

- (A). Tulang fetus dari kelompok kontrol negatif
 (B). Tulang fetus kelompok dosis 100 mg/kgbb
 (C). Tulang fetus kelompok dosis 200 mg/kgbb
 (D). Tulang fetus kelompok dosis 400 mg/kgbb
 Hambatan penulangan pada: (1). *cranium*; (2). *vertebrae*; (3). *costae*; (4). *sternebrae*; (5). Ekstremitas anterior; (6). Ekstremitas posterior.

Lampiran 11. Pewarna tulang fetus



Alizarin Red S



Alcian Blue

Lampiran 12. Hasil perhitungan rendemen serbuk terhadap simplisia**Data pengeringan serbuk daun kersen**

No	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)b/b
1.	3000	650	21,67

Perhitungan rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat serbuk kering (gram)}}{\text{Berat kering utuh (gram)}} \times 100 \%$$

- Rendemen daun kersen

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{1500 \text{ gram}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 21,67 \% \end{aligned}$$

Lampiran 13. Penetapan susut pengeringan serbuk**Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kersen**

Berat basah (gram)	Kadar (%)
2,00	6,40
2,00	6,45
2,00	6,20

$$\text{Rata - rata susut pengeringan serbuk} = \frac{\text{total susut pengeringan}}{3}$$

- daun kersen

$$\begin{aligned} \text{kadar} &= \frac{(6,40 + 6,45 + 6,20)}{3} \\ &= 6,35 \% \end{aligned}$$

Lampiran 14. Hasil perhitungan rendemen ekstrak terhadap simplisia

Simplisia	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak etanol (g)	% rendemen
Daun Kersen	400	50,33	12,58

Perhitungan rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak etanolik (gram)}}{\text{Berat simplisia (gram)}} \times 100 \%$$

- Rendemen ekstrak daun kersen

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{50,33 \text{ g}}{400 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 12,58 \% \end{aligned}$$

Lampiran 15. Perhitungan dosis peroral

Na CMC 0,5 %

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada mencit (20 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 1 ml. Pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk mencit secara per oral sebanyak 0,5 ml maka perhitungan pembuatan Na CMC 0,5 % :
- Larutan stok Na CMC 0,5 %

$$= 0,5 \text{ g} / 100 \text{ ml}$$

$$= 500 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$$

$$= 5 \text{ mg/ml}$$
- Cara pembuatan : Ditimbang 500 mg Na CMC, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan aquadest sampai batas tertera.

Ekstrak etanol daun kersen dosis 100 mg/kgbb

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada mencit (20 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 1 ml. Pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk mencit secara per oral sebanyak 0,5 ml.
- Dosis suspensi ekstrak etanol daun kersen yang akan dibuat adalah 100 mg/kgbb mencit.

$$\frac{20 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100 \text{ mg} = 2 \text{ mg}/20\text{gbb mencit}$$

$$\frac{2 \text{ mg}}{0,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 400 \text{ mg}$$
- Cara pembuatan : Ditimbang 400 mg ekstrak etanol daun kersen, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan Na CMC 0,5% sampai batas tertera.

Dosis oral mencit

$$\text{Induk 1 } 28 \text{ g} = \frac{28 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml}$$

$$= 0,70 \text{ ml}$$

$$\text{Induk 2 } 27 \text{ g} = \frac{27 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml}$$

$$= 0,67 \text{ ml}$$

$$\text{Induk 3 } 29 \text{ g} = \frac{29 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml}$$

$$= 0,72 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 4 } 30 \text{ g} &= \frac{30 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,75 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 5 } 30 \text{ g} &= \frac{30 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,75 \text{ ml}\end{aligned}$$

Ekstrak etanol daun kersen dosis 200 mg/kgbb

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada mencit (20 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 1 ml. Pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk mencit secara per oral sebanyak 0,5 ml.
- Dosis suspensi ekstrak etanol daun kersen yang akan dibuat adalah 200 mg/kgbb mencit.

$$\frac{20 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 4 \text{ mg}/20\text{gbb mencit}$$

$$\frac{4 \text{ mg}}{0,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 800 \text{ mg}$$
- Cara pembuatan : Ditimbang 800 mg ekstrak etanol daun kersen, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan Na CMC 0,5% sampai batas tertera.

Dosis oral mencit

$$\begin{aligned}\text{Induk 1 } 28 \text{ g} &= \frac{28 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,70 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 2 } 27 \text{ g} &= \frac{27 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,67 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 3 } 29 \text{ g} &= \frac{29 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,72 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 4 } 28 \text{ g} &= \frac{28 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,70 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 5 } 28 \text{ g} &= \frac{28 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,70 \text{ ml}\end{aligned}$$

Ekstrak etanol daun kersen dosis 400 mg/kgbb

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada mencit (20 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 1 ml. Pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk mencit secara per oral sebanyak 0,5 ml.
- Dosis suspensi ekstrak etanol daun kersen yang akan dibuat adalah 400 mg/kgbb mencit.

$$\frac{20 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 400 \text{ mg} = 8 \text{ mg}/20\text{gbb mencit}$$

$$\frac{8 \text{ mg}}{0,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 1600 \text{ mg}$$
- Cara pembuatan : Ditimbang 1600 mg ekstrak etanol daun kersen, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan Na CMC 0,5% sampai batas tertera.

Dosis oral mencit

$$\begin{aligned}\text{Induk 1 } 30 \text{ g} &= \frac{30 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,75 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 2 } 26 \text{ g} &= \frac{26 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,65 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 3 } 29 \text{ g} &= \frac{29 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,72 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 4 } 29 \text{ g} &= \frac{29 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,72 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Induk 5 } 30 \text{ g} &= \frac{30 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} \\ &= 0,75 \text{ ml}\end{aligned}$$

Lampiran 16. Data berat badan induk mencit

No	Kelompok	Berat Badan Induk Bunting (g)				
		Hari ke 0	Hari ke 6	Hari ke 11	Hari ke 15	Hari ke 17
1	Kontrol (-)	23	26	31	38	45
2	Kontrol (-)	26	29	34	40	48
3	Kontrol (-)	24	27	32	37	44
4	Kontrol (-)	25	29	35	41	48
5	Kontrol (-)	27	29	36	43	49
6	Dosis 1	25	28	33	39	45
7	Dosis 1	24	27	34	40	47
8	Dosis 1	25	29	35	41	49
9	Dosis 1	26	30	37	43	48
10	Dosis 1	27	30	36	42	48
11	Dosis 2	24	28	34	40	46
12	Dosis 2	24	27	32	38	45
13	Dosis 2	25	29	35	42	48
14	Dosis 2	26	28	33	39	47
15	Dosis 2	25	28	34	40	46
16	Dosis 3	28	30	34	39	44
17	Dosis 3	23	26	31	35	39
18	Dosis 3	27	29	35	40	44
19	Dosis 3	26	29	34	38	42
20	Dosis 3	27	30	36	39	44

Keterangan :

Kontrol (-) : Na CMC 0,5 %

Dosis 1 : Ekstrak etanol daun kersen 100 mg/kgbb

Dosis 2 : Ekstrak etanol daun kersen 200 mg/kgBB

Dosis 3 : Ekstrak etanol daun kersen 400 mg/kgBB

Hari ke 0 : Tanpa pemberian sediaan uji

Hari ke 6 : Hari pertama pemberian sediaan uji

Hari ke 11 : Hari keenam pemberian sediaan uji

Hari ke 15 : Hari kesepuluh pemberian sediaan uji

Hari ke 17 : Sebelum dibedah

Lampiran 17. Data pengamatan kelainan tulang fetus mencit

1. Jumlah fetus yang mengalami kelainan tulang

No	Kelompok	Jumlah fetus (ekor)	Jumlah fetus kelainan tulang (ekor)
1	Kontrol (-). 1	12	0
2	Kontrol (-). 2	11	0
3	Kontrol (-). 3	11	0
4	Kontrol (-). 4	10	0
5	Kontrol (-). 5	10	0
Total		54	0
6	Dosis (1).1	11	0
7	Dosis (1).2	10	0
8	Dosis (1).3	9	0
9	Dosis (1).4	10	0
10	Dosis (1).5	10	0
Total		50	0
11	Dosis (2).1	8	6
12	Dosis (2).2	9	8
13	Dosis (2).3	9	6
14	Dosis (2).4	9	9
15	Dosis (2).5	9	6
Total		44	35
16	Dosis (3).1	10	7
17	Dosis (3).2	9	7
18	Dosis (3).3	9	9
19	Dosis (3).4	8	8
20	Dosis (3).5	10	10
Total		46	41

Keterangan :

Kontrol (-) : Na CMC 0,5 %

Dosis (1) : 100 mg/kgbb

Dosis (2) : 200 mg/kgbb

Dosis (3) : 400 mg/kgbb

2. Kelainan tulang pada fetus mencit

Kelompok	Jumlah fetus (ekor)	Tulang tengkorak (ekor)	Tulang rusuk (ekor)	Tulang belakang (ekor)	Tulang dada (ekor)	Tulang ekstremitas (ekor)
Kontrol (-).1	12	0	0	0	0	0
Kontrol (-).2	11	0	0	0	0	0
Kontrol (-).3	11	0	0	0	0	0
Kontrol (-).4	10	0	0	0	0	0
Kontrol (-).5	10	0	0	0	0	0
Total	54	0	0	0	0	0
Dosis (1).1	11	0	0	0	0	0
Dosis (1).2	10	0	0	0	0	0
Dosis (1).3	9	0	0	0	0	0
Dosis (1).4	10	0	0	0	0	0
Dosis (1).5	10	0	0	0	0	0
Total	50	0	0	0	0	0
Dosis (2).1	8	2	1	1	0	1
Dosis (2).2	9	3	2	1	1	1
Dosis (2).3	9	2	1	2	1	3
Dosis (2).4	9	1	3	2	1	2
Dosis (2).5	9	1	2	2	1	3
Total	44	9	9	8	4	5
Dosis (3).1	10	1	2	3	1	1
Dosis (3).2	9	1	3	1	1	2
Dosis (3).3	9	2	1	1	2	2
Dosis (3).4	8	1	3	2	1	1
Dosis (3).5	10	3	1	3	1	1
Total	46	8	10	10	6	7

Keterangan :

Kontrol (-) : Na CMC 0,5 %

Dosis (1) : 100 mg/kgbb

Dosis (2) : 200 mg/kgbb

Dosis (3) : 400 mg/kgbb

Lampiran 18. Hasil analisis data SPSS 17

1. Berat badan induk mencit

Hari ke-0

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke-0	20	25.35	1.424	23	28

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-0
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	25.35
	Std. Deviation	1.424
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.658
Asymp. Sig. (2-tailed)		.780

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi $0,780 > 0,05$ berarti berat badan induk kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 terdistribusi secara normal.

Selanjutnya dilakukan uji *one-way anova*

Test of Homogeneity of Variances

Hari ke-0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.798	3	16	.513

Nilai probabilitas *Lavene Statistic* adalah $0,513 > 0,05$ berarti berat badan induk mempunyai varians yang homogen.

ANOVA

Hari ke-0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.750	3	1.917	.935	.447
Within Groups	32.800	16	2.050		
Total	38.550	19			

Dari data uji ANOVA diperoleh hasil signifikansi yaitu $0,447 > 0,05$ berarti berat badan induk pada kebuntingan hari ke-0 tidak terdapat adanya perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.

Hari ke-6

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke 6	20	28.40	1.273	26	30

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke 6
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	28.40
	Std. Deviation	1.273
Most Extreme Differences	Absolute	.231
	Positive	.119
	Negative	-.231
Kolmogorov-Smirnov Z		1.034
Asymp. Sig. (2-tailed)		.235

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi $0,235 > 0,05$ berarti berat badan induk kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji *one-way anova*

Test of Homogeneity of Variances

Hari ke 6

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.352	3	16	.293

Nilai probabilitas *Lavene Statistic* adalah $0,293 > 0,05$ berarti berat badan induk mempunyai varians yang homogen.

ANOVA

Hari ke 6

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.200	3	1.067	.618	.613
Within Groups	27.600	16	1.725		
Total	30.800	19			

Dari data uji *ANOVA* diperoleh hasil signifikansi yaitu $0,613 > 0,05$ berarti berat badan induk pada kebuntingan hari ke-6 tidak terdapat adanya perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.

Hari ke-11

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke 11	20	34.05	1.669	31	37

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke 11
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	34.05
	Std. Deviation	1.669
Most Extreme Differences	Absolute	.188
	Positive	.112
	Negative	-.188
Kolmogorov-Smirnov Z		.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.479

a. Test distribution is Normal.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke 11
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	34.05
	Std. Deviation	1.669
Most Extreme Differences	Absolute	.188
	Positive	.112
	Negative	-.188
Kolmogorov-Smirnov Z		.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.479

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi $0,479 > 0,05$ berarti berat badan induk kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji *one-way anova*.

Test of Homogeneity of Variances

Hari ke 11

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.621	3	16	.612

Nilai probabilitas *Lavene Statistic* adalah $0,612 > 0,05$ berarti berat badan induk mempunyai varians yang homogen.

ANOVA

Hari ke 11

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.550	3	2.183	.753	.537
Within Groups	46.400	16	2.900		
Total	52.950	19			

Dari data uji *ANOVA* diperoleh hasil signifikansi yaitu $0,537 > 0,05$ berarti berat badan induk pada kebuntingan hari ke-11 tidak terdapat adanya perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.

Hari ke-15**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke 15	20	39.70	2.003	35	43

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke 15
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	39.70
	Std. Deviation	2.003
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		.628
Asymp. Sig. (2-tailed)		.825

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi $0,825 > 0,05$ berarti berat badan induk kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji *one-way anova*

Test of Homogeneity of Variances

Hari ke 15

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.543	3	16	.660

Nilai probabilitas *Lavene Statistic* adalah $0,660 > 0,05$ berarti berat badan induk mempunyai varians yang homogen.

ANOVA

Hari ke 15

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.800	3	6.600	1.872	.175
Within Groups	56.400	16	3.525		

ANOVA

Hari ke 15

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.800	3	6.600	1.872	.175
Within Groups	56.400	16	3.525		
Total	76.200	19			

Dari data uji ANOVA diperoleh hasil signifikansi yaitu $0,175 > 0,05$ berarti berat badan induk pada kebuntingan hari ke-15 tidak terdapat adanya perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.

Hari ke-17

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke 17	20	45.80	2.546	39	49

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke 17
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	45.80
	Std. Deviation	2.546
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.104
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.699
Asymp. Sig. (2-tailed)		.714

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi $0,714 > 0,05$ berarti berat badan induk kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji *one-way anova*

Test of Homogeneity of Variances

Hari ke 17

Levene Statistic	df1	df2	Sig.

Test of Homogeneity of Variances

Hari ke 17

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.472	3	16	.260

Nilai probabilitas *Lavene Statistic* adalah $0,260 > 0,05$ berarti berat badan induk mempunyai varians yang homogen.

ANOVA

Hari ke 17

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70.800	3	23.600	7.206	.003
Within Groups	52.400	16	3.275		
Total	123.200	19			

Dari data uji *ANOVA* diperoleh hasil signifikansi yaitu $0,003 > 0,05$ berarti berat badan induk pada kebuntingan hari ke-17 terdapat adanya perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan, sehingga dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kebermaknaan perbedaannya dengan uji *Tukey*.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Hari ke 17

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	dosis 1	-.600	1.145	.952	-3.87	2.67
	dosis 2	.400	1.145	.985	-2.87	3.67
	dosis 3	4.200*	1.145	.010	.93	7.47
dosis 1	kontrol negatif	.600	1.145	.952	-2.67	3.87
	dosis 2	1.000	1.145	.818	-2.27	4.27
	dosis 3	4.800*	1.145	.003	1.53	8.07
dosis 2	kontrol negatif	-.400	1.145	.985	-3.67	2.87
	dosis 1	-1.000	1.145	.818	-4.27	2.27
	dosis 3	3.800*	1.145	.020	.53	7.07
dosis 3	kontrol negatif	-4.200*	1.145	.010	-7.47	-.93
	dosis 1	-4.800*	1.145	.003	-8.07	-1.53
	dosis 2	-3.800*	1.145	.020	-7.07	-.53

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Hari ke 17

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
dosis 3	5	42.60	
dosis 2	5		46.40
kontrol negatif	5		46.80
dosis 1	5		47.40
Sig.		1.000	.818

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data uji *Tukey* hasil berat badan induk kelompok kontrol negatif dengan dosis 1 dan 2 tidak terdapat perbedaan yg bermakna sedangkan kontrol negatif dan dosis 3 terdapat perbedaan yang bermakna.

2. Jumlah fetus

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jumlah fetus	20	9.70	1.031	8	12

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah fetus
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.70
	Std. Deviation	1.031
Most Extreme Differences	Absolute	.201
	Positive	.201
	Negative	-.164
Kolmogorov-Smirnov Z		.901
Asymp. Sig. (2-tailed)		.392

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi = 0,392 > 0,05 berarti hasil jumlah fetus kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji *one-way anova*.

Test of Homogeneity of Variances

jumlah fetus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.727	3	16	.551

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah 0,551 > 0,05 berarti jumlah fetus mempunyai varians yang homogen.

ANOVA

jumlah fetus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.800	3	3.933	7.492	.002
Within Groups	8.400	16	.525		
Total	20.200	19			

Dari data uji ANOVA diperoleh hasil signifikansi yaitu 0,002 < 0,05 berarti jumlah fetus mencit terdapat adanya perbedaan sehingga dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kebermaknaan perbedaannya dengan uji *Student Newman Keuls* (SNK).

jumlah fetus

Student-Newman-Keuls^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
dosis 2	5	8.80		
dosis 3	5	9.20	9.20	
dosis 1	5		10.00	10.00
kontrol negatif	5			10.80
Sig.		.396	.100	.100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data uji *Student Newman Keuls* (SNK) hasil jumlah fetus mencit kelompok kontrol negatif dengan dosis 2 dan 3 terdapat perbedaan yang bermakna, sedangkan kontrol negatif dan dosis 1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

3. Tulang fetus

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelainan tulang
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.75
	Std. Deviation	3.998
Most Extreme Differences	Absolute	.326
	Positive	.326
	Negative	-.174
Kolmogorov-Smirnov Z		1.457
Asymp. Sig. (2-tailed)		.029

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Harga signifikansi = $0,029 < 0,05$ berarti hasil kelainan pada tulang fetus kelompok kontrol negatif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 tidak terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji kruskall wallis untuk mengetahui kebermaknaan lebih dari dua kelompok.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
Kelainan tulang	kontrol negatif	5	5.50
	dosis 1	5	5.50
	dosis 2	5	14.20
	dosis 3	5	16.80
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	Kelainan tulang
Chi-Square	16.918
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Dari hasil uji kruskal wallis harga signifikan $0,001 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti distribusi dari semua kelompok terdapat perbedaan. Perlu dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kemaknaan perbedaannya dengan uji Mann-Whitney.

Mann-Whitney Test

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Ranks

kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kelainan tulang	kontrol negatif	5	5.50	27.50
	dosis 1	5	5.50	27.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	Kelainan tulang
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $1,000 > 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang fetus pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan dengan dosis 1.

Mann-Whitney Test

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kelainan tulang	kontrol negative	5	3.00	15.00
	dosis 2	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kelainan Tulang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kelainan tulang	kontrol negative	5	3.00	15.00
	dosis 3	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Kelainan Tulang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kelainan tulang dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	Kelainan Tulang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang fetus pada dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kelainan tulang dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	Kelainan Tulang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang fetus pada dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelainan tulang	20	3.75	3.998	0	10
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kelainan tulang dosis 2	5	4.20	21.00
dosis 3	5	6.80	34.00
Total	10		

	Kelainan Tulang
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.375
Asymp. Sig. (2-tailed)	.169
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,169 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang fetus pada dosis 2 tidak terdapat perbedaan dengan dosis 3.

4. Tulang tengkorak

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Kruskal-Wallis Test

kelompok	N	Mean Rank
kelainan tulang tengkorak kontrol negatif	5	5.50
dosis 1	5	5.50
dosis 2	5	14.80
dosis 3	5	16.20
Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	kelainan tulang tengkorak
Chi-Square	16.684
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- c. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- d. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Dari hasil uji kruskal wallis harga signifikan $0,001 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti distribusi dari semua kelompok terdapat perbedaan. Perlu dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kemaknaan perbedaannya dengan uji Mann-Whitney.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang tengkorak kontrol negatif	5	5.50	27.50
dosis 1	5	5.50	27.50
Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang tengkorak
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- c. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- d. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $1,000 > 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang tengkorak fetus pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan dengan dosis 1.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang tengkorak kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang tengkorak
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

c. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima

d. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang tengkorak fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang tengkorak kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang tengkorak
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- c. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- d. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang tengkorak fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang tengkorak dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang tengkorak
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang tengkorak fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang tengkorak dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang tengkorak
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang tengkorak fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang tengkorak	20	1.05	1.317	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang tengkorak dosis 2	5	4.80	24.00
dosis 3	5	6.20	31.00
Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang tengkorak
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.767
Asymp. Sig. (2-tailed)	.443
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,443 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang tengkorak fetus pada kelompok dosis 2 tidak terdapat perbedaan dengan dosis 3.

5. Tulang rusuk

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Kruskal-Wallis Test

Kelompok	N	Mean Rank
kelainan tulang rusuk kontrol negatif	5	5.50
dosis 1	5	5.50
dosis 2	5	13.70
dosis 3	5	17.30
Total	20	

	kelainan tulang rusuk
Chi-Square	17.456
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Dari hasil uji kruskal wallis harga signifikan $0,001 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti distribusi dari semua kelompok terdapat perbedaan. Perlu dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kemaknaan perbedaannya dengan uji Mann-Whitney.

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang rusuk kontrol negatif	5	5.50	27.50
dosis 1	5	5.50	27.50
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang rusuk
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $1,000 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang rusuk fetus pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan dengan dosis 1.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang rusuk kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang rusuk
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang rusuk fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang rusuk kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang rusuk
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang rusuk fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang rusuk dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang rusuk
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang rusuk fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang rusuk dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang rusuk
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang rusuk fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang rusuk	20	1.90	2.269	0	7
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang rusuk dosis 2	5	3.70	18.50
dosis 3	5	7.30	36.50
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang rusuk
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	18.500
Z	-1.915
Asymp. Sig. (2-tailed)	.055
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,055 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang rusuk fetus pada kelompok dosis 2 tidak terdapat perbedaan dengan dosis 3.

6. Tulang belakang

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
kelainan tulang belakang kontrol negatif	5	5.50
dosis 1	5	5.50
dosis 2	5	13.70
dosis 3	5	17.30
Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	kelainan tulang belakang
Chi-Square	17.685
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Dari hasil uji kruskal wallis harga signifikan $0,001 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti distribusi dari semua kelompok terdapat perbedaan. Perlu dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kemaknaan perbedaannya dengan uji Mann-Whitney.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang belakang kontrol negatif	5	5.50	27.50
dosis 1	5	5.50	27.50
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang belakang
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $1,000 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang belakang fetus pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan dengan dosis 1.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang belakang kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang belakang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.887
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,004 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang belakang fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang belakang kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang belakang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang belakang fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang belakang dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang belakang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.887
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,004 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang belakang fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang belakang dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang belakang
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang belakang fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang belakang	20	1.20	1.963	0	8
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang belakang	dosis 2	5	3.70	18.50
	dosis 3	5	7.30	36.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang belakang
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	18.500
Z	-2.012
Asymp. Sig. (2-tailed)	.044
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,044 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang belakang fetus pada kelompok dosis 2 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

7. Tulang dada

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
kelainan tulang dada kontrol negatif	5	5.50
dosis 1	5	5.50
dosis 2	5	14.70
dosis 3	5	16.30
Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	kelainan tulang dada
Chi-Square	16.733
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Dari hasil uji kruskal wallis harga signifikan $0,001 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti distribusi dari semua kelompok terdapat perbedaan. Perlu dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kemaknaan perbedaannya dengan uji Mann-Whitney.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang dada kontrol negatif	5	5.50	27.50
dosis 1	5	5.50	27.50
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang dada
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $1,000 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang dada fetus pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan dengan dosis 1.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang dada kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang dada
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang dada fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang dada kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang dada
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang dada fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang dada dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang dada
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang dada fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang dada dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang dada
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima

b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang dada fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang dada	20	1.10	1.410	0	5
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang dada dosis 2	5	4.70	23.50
dosis 3	5	6.30	31.50
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang dada
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.876
Asymp. Sig. (2-tailed)	.381
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima

b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,381 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang dada fetus pada kelompok dosis 2 tidak terdapat perbedaan dengan dosis 3.

8. Tulang ekstremitas

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
kelainan tulang ekstremitas	kontrol negatif	5	5.50
	dosis 1	5	5.50
	dosis 2	5	13.60
	dosis 3	5	17.40
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	kelainan tulang ekstremitas
Chi-Square	17.823
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Dari hasil uji kruskal wallis harga signifikan $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti distribusi dari semua kelompok terdapat perbedaan. Perlu dilakukan pengujian lanjutan yaitu untuk mengetahui kemaknaan perbedaannya dengan uji Mann-Whitney.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang ekstremitas kontrol negatif	5	5.50	27.50
dosis 1	5	5.50	27.50
Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang ekstremitas
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $1,000 < 0,05$ maka H_0 diterima, berarti kelainan tulang ekstremitas fetus pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan dengan dosis 1.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang ekstremitas kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang ekstremitas
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.835
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang ekstremitas fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang ekstremitas kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis 3	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang ekstremitas
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang ekstremitas fetus pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang ekstremitas dosis 1	5	3.00	15.00
dosis 2	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang ekstremitas
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.835
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang ekstremitas fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 2.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang ekstremitas	dosis 1	5	3.00	15.00
	dosis 3	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	kelainan tulang ekstremitas
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang ekstremitas fetus pada kelompok dosis 1 terdapat perbedaan dengan dosis 3.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelainan tulang ekstremitas	20	1.10	1.294	0	4
kelompok	20	2.50	1.147	1	4

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kelainan tulang ekstremitas	dosis 2	5	3.60	18.00
	dosis 3	5	7.40	37.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	kelainan tulang ekstremitas
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-2.132
Asymp. Sig. (2-tailed)	.033
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Dasar pengambilan keputusan :

- a. Jika probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- b. Jika probabilitas $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Signifikansi yang diperoleh $0,033 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelainan tulang ekstremitas fetus pada kelompok dosis 2 terdapat perbedaan dengan dosis

3.