

**UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) PADA FETUS MENCIT  
(*Mus musculus*) GALUR SUB SWISS WEBSTER**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



**Oleh:**

**HERNY**

**08061281419046**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2018**

## **HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH HASIL**

Judul Makalah Hasil : UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) PADA FETUS MENCIT (*Mus musculus*) GALUR SUB SWISS WEBSTER

Nama Mahasiswa : HERNY

NIM : 08061281419046

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 5 Maret 2018 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 12 Maret 2018

Pembimbing :

1. Herlina, M.Kes., Apt. (.....)

NIP. 197107031998022001

2. Annisa Amriani S., M.Farm., Apt. (.....)

NIPUS. 198412292014082201

Pembahas :

1. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. (.....)

NIP. 197103101998021002

2. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt. (.....)

NIPUS. 198711272013012201

3. Yosua Maranatha Sihotang, M.Si., Apt. (.....)

NIPUS. 199009152016011201

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi  
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr. rer. nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.  
NIP. 197103101998021002

## HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : UJI TERATOGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) PADA FETUS MENCIT (*Mus musculus*) GALUR SUB SWISS *WEBSTER*

Nama Mahasiswa : HERNY

NIM : 08061281419046

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 19 Maret 2018 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 28 Maret 2018

Ketua :

1. Herlina, M.Kes., Apt. .....  
NIP. 197107031998022001

Anggota :

1. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt .....  
NIP. 195810261987032002

2. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. .....  
NIP. 197103101998021002

3. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt. .....  
NIPUS. 198711272013012201

4. Indah Solihah, M.Sc., Apt. .....  
NIPUS. 198803082014082201

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi  
Fakultas MIPA, UNSRI

Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.  
NIP. 197103101998021002

## **HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Herny  
NIM : 08061281419046  
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 13 April 2018  
Penulis,



Herny  
NIM. 08061281419046

## **HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Herny  
NIM : 08061281419046  
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-ekslusif” (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Teratogenik Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) pada Fetus Mencit (*Mus musculus*) Galur Sub Swiss Webster” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-ekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, 13 April 2018  
Penulis,



Herny  
NIM. 08061281419046

## **HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO**

Skripsi ini saya persembahkan untuk keluarga tercinta serta para sahabat  
seperjuangan di Farmasi Unsri 2014

*“Bahujanahitāya bahujanasukhāya lokānukampāya:  
For the good of the many, for the happiness of the many,  
out of compassion for the world.”*

- Gautama Buddha

*“I don’t think there’s any comparison between the present hard times  
and the coming good times.”*

- Romans 8:18

*“No one saves us but ourselves. No one can and no one may.*

*We ourselves must walk the path.*

*Do not look for a sanctuary in anyone except yourself.*

*Be a lamp for yourself, be your own refuge.*

*You only lose what you cling to.”*

- Gautama Buddha

“여기 계신분들도 꿈을 구신분들게시겠지만,  
정말 자기자신기대해서 조금에 하지마시구.  
‘나보다 남들이 먼저 간다고’, 조금에 하지마세요.  
언제는 자기한테 좋은기회올거에요.”

- 남우현(*Infinite Rally 3*)

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Teratogenik Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) pada Fetus Mencit (*Mus musculus*) Galur Sub Swiss Webster”. Penulisan skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Skripsi ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pembaca untuk mengetahui keamanan dari tanaman sirih merah serta memberikan informasi tentang efek teratogeniknya jika dikonsumsi oleh ibu hamil.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis sampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Mama (Mina) dan Papa (Hidayat Hartanto Tan) yang selalu memberikan motivasi, nasehat, perhatian, dan kasih sayang serta doa kepada penulis dalam menyusunan skripsi ini.
2. Ce Yenny, Ce Fenny, dan Ko Willy yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Rektor Universitas Sriwijaya, Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan Ketua Jurusan Farmasi yang telah menyediakan sarana dan prasarana yang menunjang penulis selama perkuliahan.
4. Ibu Herlina, M.Kes., Apt. selaku Dosen Pembimbing pertama dan Ibu Annisa Amriani S., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dalam memberikan ilmu, bimbingan, nasehat, saran dan semangat kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini hingga selesai.
5. Dosen pembahas dan penguji sidang (Ibu Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt., Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt., Ibu Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt., Ibu Indah Solihah, M.Sc., Apt., dan Bapak Yosua Maranatha Sihotang, M.Si., Apt.) atas segala masukan, saran, dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.

6. Seluruh dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, atas semua ilmu dan bimbingan yang diberikan kepada penulis selama perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini selesai.
7. Seluruh staf (Kak Ria dan Kak Adi) dan analis laboratorium (Kak Tawan, Kak Isti, Kak Putri, Kak Fitri, dan Kak Erwin) Jurusan Farmasi atas segala bantuan dan dukungan, serta doa dan semangat yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan, penelitian, hingga penyusunan skripsi ini selesai.
8. Laboran FKIP Biologi (Kak Budi Eko Wahyudi, S.Pd.) yang telah membantu dan memberikan ilmunya kepada penulis dari awal penyusunan skripsi hingga selesai, serta adik-adik FKIP Biologi 2015 (Evita Dewi Harnis, Ana Astuti Ningrum, dan Lulu Puspasari Sihaloho) yang telah membantu penulis dalam penyelesaikan penelitian.
9. *The best of friends*, Yosephine Andjani, S.I.Kom., Vera Wijaya, dan Devita Kristiana yang selalu setia mendengarkan keluh kesah penulis selama masa penelitian. *I wish you all nothing but happiness in every aspect of your life.*
10. *To the friends I met through fandoms but have made a long lasting friendship with*, Glad, Nadia, Alli, Rene, Jem, Rei, Anna, Roi, Sasa, Annie and everyone else, also Nikki as a fellow pharmacy struggler and Qian, my self-proclaimed baby sister. You guys are the biggest supporters for me, thank you.
11. Gladys Marie Lingad, who already knows how much gratitude I have for her without having me listing it down, thank you for being there for me when no one was, for listening to my endless worries, for the trust. Thank you.
12. Grup F4 tercinta (Megma, Bella dan Lyncia) yang sudah menemani hari-hari penulis dalam suka maupun duka selama masa perkuliahan. Terima kasih sudah menjadi teman terbaik bagi penulis, sukses selalu untuk kita semua.
13. Megma Enucap sebagai *partner* penelitian. *I wish this road will lead us both to success.*
14. Teman-teman Farmasi 2014, khususnya Farmasi kelas A 2014 yang selalu membantu dan telah memberikan dukungan yang besar kepada penulis. Kakak-kakak Farmasi 2012 dan 2013, serta adik-adik Farmasi 2015 dan

2016 yang telah memberikan doa dan bantuanya kepada penulis. Terima kasih yang sebesar-besarnya.

15. Kepada Bapak Mahmud yang telah setia mengantar dan menunggu penulis menuntut ilmu selama masa kuliah. Terima kasih atas kesabaran, doa dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis.
16. Seluruh pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Tuhan memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Inderalaya, 13 April 2018  
Penulis,



Herry  
NIM. 08061281419046

# **Teratogenic Effect of Ethanolic Extract of Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Leaves on Mice's (*Mus musculus*) Fetuses of Sub Swiss Webster Strain**

**Herny  
08061281419046**

## **ABSTRACT**

Ethanolic 96% extract of red betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) is classified as non toxic based on the previous general toxicity test researches including acute and subchronic toxicity test with LD<sub>50</sub> 18 g/kgBW. The purpose of doing teratogenicity test is to know the effect of a sample towards the fetuses if being consumed by a pregnant woman. The ethanolic 96% extract of red betel's dosages that were given are 50, 100, dan 200 mg/kgBW. The extract was given to the pregnant mice during the organogenesis period by the 9<sup>th</sup> until 17<sup>th</sup> day of pregnancy. On the 18<sup>th</sup> day, the pregnant mice was dissected to observe the fetuses' weight, the amount of living fetuses, dead fetuses, implantation, resorption, the external abnormality of the fetuses, and the fetuses' skeletal disorder. The data that has been statistically analyzed by ANOVA showed that the adduction of extract has a significant effect of the ossification delayed of interparietal bones and sacrocaudal vertebra curved bones (F counted > F table 0.05) and a very significant effect of the ossification delayed of sternum bones (asymetrically shaped) (F counted > F table 0.01). The DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) showed that P2 dosage (100 mg/kgBW) was the minimum dosage that could result in the teratogenic effect on mice's fetuses, so it can be concluded that ethanolic 96% extract of red betel has a teratogenic effect on mice's (*Mus musculus*) fetuses.

**Keyword(s):** *Piper crocatum* Ruiz & Pav., teratogenic, *Mus musculus*, ossification, pregnancy

**Uji Teratogenik Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Pada Fetus Mencit (*Mus musculus*) Galur Sub Swiss Webster**

**Herny  
08061281419046**

**ABSTRAK**

Ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) tergolong tidak toksik berdasarkan penelitian uji toksitas umum sebelumnya meliputi uji toksitas akut dan subkronik dengan LD<sub>50</sub> 18 g/kgBB. Salah satu uji toksitas khusus yaitu uji teratogenik yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu sampel terhadap janin bila dikonsumsi oleh ibu hamil. Dosis ekstrak etanol 96% daun sirih merah yang diberikan sebesar 50, 100, dan 200 mg/kgBB. Ekstrak diberikan kepada induk mencit pada masa organogenesis pada hari ke-9 sampai hari ke-17 kehamilan. Induk mencit dibedah pada hari ke-18 untuk diamati berat badan fetus, jumlah fetus hidup, fetus mati, implantasi, resorpsi, kelainan eksternal fetus, dan kelainan rangka fetus. Hasil analisis secara statistika menggunakan ANOVA menunjukkan pemberian ekstrak berpengaruh nyata terhadap keterlambatan osifikasi tulang interparietal dan tulang lengkung vertebra sakroaudalis (F hitung > F tabel 0,05) dan berpengaruh sangat nyata terhadap keterlambatan osifikasi tulang sternum (*asymetrically shaped*) (F hitung > F tabel 0,01). Berdasarkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*), didapat dosis P2 (100 mg/kgBB) merupakan dosis minimum penyebab efek teratogenik pada fetus mencit, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun sirih merah memiliki efek teratogenik pada fetus mencit (*Mus musculus*).

**Kata kunci:** *Piper crocatum* Ruiz & Pav., teratogenik, *Mus musculus*, osifikasi, kehamilan

## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH .....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS .....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	x
ABSTRAK .....	xi
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
DAFTAR SINGKATAN .....	xvii
DAFTAR ISTILAH .....	xviii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Uraian Tanaman Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.) ...	6
2.2 Kandungan Kimia dan Khasiat Sirih Merah .....	7
2.3 Ekstraksi .....	9
2.4 Teratogenik .....	10
2.5 Mencit .....	12
2.6 Sistem Reproduksi Mencit .....	13
2.7 Embriogenesis Mencit .....	15
2.8 Periode Kritis Perkembangan Janin .....	17
2.9 Perkembangan Tulang Mencit .....	18
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
3.2 Alat dan Bahan .....	20
3.2.1 Alat .....	20
3.2.2 Bahan .....	20
3.2.2 Hewan Uji .....	21
3.3 Prosedur Penelitian .....	21
3.3.1 Preparasi Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Merah .....	21
3.3.2 Pengkondisian dan Rancangan Percobaan Hewan Uji ....	22
3.3.3 Perhitungan Dosis .....	23
3.3.4 Pembuatan Sediaan Uji .....	23

3.3.5	Pemberian Sediaan Uji .....	24
3.3.6	Penentuan Fase Estrus Mencit .....	24
3.3.7	Pengawinan dan Penetapan Masa Bunting .....	25
3.3.8	Pemberian Perlakuan dan Pengamatan Kondisi Hewan Uji .....	26
3.3.9	Pembedahan dan Pengamatan Teratologi Mencit .....	26
3.3.9.1	Pembedahan dan Pemeriksaan Fetus .....	26
3.3.9.2	Pembuatan Preparat Rangka Fetus .....	26
3.3.10	Karakterisasi Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Merah ....	27
3.3.10.1	Penetapan Kadar Sari Larut Air .....	27
3.3.10.2	Penetapan Kadar Sari Larut Etanol .....	27
3.3.10.3	Penetapan Kadar Air .....	28
3.3.10.4	Identifikasi Alkaloid Menggunakan KLT .....	28
3.3.10.5	Penentuan Kadar Total Alkaloid .....	28
3.3.10.6	Identifikasi Flavonoid Menggunakan KLT .....	29
3.3.10.7	Penentuan Kadar Total Flavonoid .....	29
3.3.11	Analisis Data .....	30
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	.....	<b>31</b>
4.1	Determinasi Tanaman Sirih Merah .....	31
4.2	Preparasi Ekstral Etanol 96% Daun Sirih Merah .....	33
4.3	Pengkondision Hewan Uji dan Penentuan Siklus Estrus Mencit Betina .....	36
4.4	Pengawinan Mencit dan Pemberian Perlakuan .....	36
4.5	Pembedahan dan Pengamatan Teratologi Mencit .....	37
4.5.1	Pengamatan Teratologi Eksternal Mencit .....	37
4.5.2	Pengamatan Teratologi Rangka Fetus Mencit .....	40
4.5.2.1	Tulang Interparietal dan Supraokspital .....	42
4.5.2.2	Tulang Vertebra .....	45
4.5.2.3	Tulang Sternum .....	48
4.5.2.4	Tulang Anggota Gerak Depan .....	50
4.5.2.4	Tulang Anggota Gerak Belakang .....	52
4.6	Karakterisasi Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Merah .....	53
4.6.1	Penetapan Kadar Sari Larut Air dan Etanol .....	54
4.6.2	Penetapan Kadar Air .....	54
4.6.3	Identifikasi Alkaloid Menggunakan KLT .....	55
4.6.4	Penentuan Kadar Total Alkaloid .....	57
4.6.5	Identifikasi Flavonoid Menggunakan KLT .....	58
4.6.6	Penentuan Kadar Total Flavonoid .....	59
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	.....	<b>63</b>
5.1	KESIMPULAN .....	63
5.2	SARAN .....	64
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>65</b>
<b>LAMPIRAN</b>	.....	<b>72</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b>	.....	<b>112</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.	22
Tabel 2.	25
Tabel 3.	37
Tabel 4.	39
Tabel 5.	41
Tabel 6.	42
Tabel 7.	43
Tabel 8.	46
Tabel 9.	47
Tabel 10.	48
Tabel 11.	49
Tabel 12.	51
Tabel 13.	52
Tabel 14.	53
Tabel 15.	57
Tabel 16.	61
Tabel 17.	62

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Tanaman sirih merah: (A) Daun sirih merah, (B) Tanaman sirih merah utuh .....	6
Gambar 2.	Apusan vagina pada keempat siklus estrus: proestrus (A), estrus (B), metestrus (C), dan diestrus (D). Tiga jenis sel yang teramat: leukosit (lingkaran), epitel terkornifikasi (panah hitam), dan epitel berinti (panah putih) .....	15
Gambar 3.	Tahap perkembangan mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	16
Gambar 4.	Tahap osifikasi endokondral .....	19
Gambar 5.	Posisi penempatan cairan vagina pada kaca objek .....	25
Gambar 6.	Apusan vagina pada siklus proestrus .....	34
Gambar 7.	Apusan vagina pada siklus estrus .....	34
Gambar 8.	Apusan vagina pada siklus metestrus .....	35
Gambar 9.	Apusan vagina pada siklus diestrus .....	36
Gambar 10.	(A) Sumbat vagina mencit, (B) Sel sperma mencit pada apusan vagina mencit .....	37
Gambar 11.	Struktur skeleton normal pada mencit .....	40
Gambar 12.	Tulang interparietal fetus mencit .....	43
Gambar 13.	Tulang supraokipital fetus mencit .....	45
Gambar 14.	Tulang lengkung sakrokaudalis fetus mencit .....	46
Gambar 15.	Tulang sternum fetus mencit .....	49
Gambar 16.	Tulang anggota gerak depan fetus mencit .....	51
Gambar 17.	Tulang anggota gerak belakang fetus mencit .....	52
Gambar 18.	Kromatogram ekstrak etanol 96% daun sirih merah [t butanol: kloroform:dietil amina (2:7:1)] .....	55
Gambar 19.	Reaksi alkaloid dan preaksi dragendorff .....	56
Gambar 20.	Kromatogram ekstrak etanol 96% daun sirih merah [kloroform: metanol:air (9,7:0,2:0,1)] .....	58
Gambar 21.	Reaksi flavonoid dan AlCl <sub>3</sub> .....	59
Gambar 22.	Struktur umum flavonoid .....	60
Gambar 23.	Kurva kalibrasi kuersetin .....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Umum .....	72
Lampiran 2. Preparasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah .....	73
Lampiran 3. Rancangan Hewan Uji .....	74
Lampiran 4. Pengkondisian dan Rancangan Percobaan Hewan Uji .....	75
Lampiran 5. Penentuan Siklus Estrus pada Mencit Betina Dewasa .....	76
Lampiran 6. Pengawinan dan Penetapan Masa Bunting .....	77
Lampiran 7. Pembedahan dan Pengamatan Teratologi Mencit .....	78
Lampiran 8. Penentuan Dosis .....	79
Lampiran 9. Pembuatan dan Perhitungan Dosis Sediaan Uji .....	80
Lampiran 10. Karakterisasi Ekstrak (Penentuan Kadar Sari Larut Air dan Etanol) .....	83
Lampiran 11. Karakterisasi Ekstrak (Penentuan Kadar Air) .....	84
Lampiran 12. Karakterisasi Ekstrak (Identifikasi Golongan Alkaloid dengan KLT) .....	85
Lampiran 13. Karakterisasi Ekstrak (Penentuan Kadar Total Alkaloid) .....	86
Lampiran 14. Karakterisasi Ekstrak (Identifikasi Golongan Flavonoid dengan KLT) .....	87
Lampiran 15. Karakterisasi Ekstrak (Penentuan Kadar Total Flavonoid) .....	88
Lampiran 16. Sertifikat Persetujuan Etik .....	89
Lampiran 17. Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan .....	90
Lampiran 18. Sertifikat Hewan Uji .....	91
Lampiran 19. Hasil Analisis Secara Statistika .....	92
Lampiran 20. Karakterisasi Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Merah .....	102
Lampiran 21. Perhitungan Kadar Total Alkaloid .....	105
Lampiran 22. Perhitungan Kadar Total Flavonoid .....	106
Lampiran 23. Dokumentasi Metode Penelitian .....	108

## DAFTAR SINGKATAN

AlCl <sub>3</sub>	: Aluminium klorida
ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
BB	: Berat badan
BPOM	: Badan pengawas obat dan makanan
CH <sub>3</sub> COOK	: Kalium asetat
DMRT	: <i>Duncan multiple range test</i>
FSH	: <i>Follicle stimulating hormone</i>
GRH	: <i>Gonadotropin releasing hormone</i>
HCl	: <i>Hydrochloride acid</i>
KLT	: Kromatografi lapis tipis
KOH	: Kalium hidroksida
LD <sub>50</sub>	: <i>Lethal dose 50</i>
NaCl	: Natrium klorida
Na CMC	: Natrium karboksimetil selulosa
NaNO <sub>2</sub>	: Natrium nitrit
NaOH	: Natrium hidroksida
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Natrium sulfat
NH <sub>4</sub> OH	: Amonium hidroksida
PA	: <i>Pro analysis</i>
Rf	: <i>Retention factor</i>
SD	: Standar deviasi
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-visible</i>
VAO	: Volume administrasi obat

## DAFTAR ISTILAH

<i>Ad libitum</i>	: Sesuai keinginan
Akut	: Secara cepat timbul dan memburuk
Anterior	: Bagian depan
<i>Asimetris shaped</i>	: Tulang dada tidak simetris
<i>Asimetris dumbbell-shaped</i>	: Tulang dada terpisah dan berbentuk seperti barbel
Blastomer	: Tahap pembelahan embrio awal
<i>Cleaved</i>	: Tulang dada terpisah
Degradasi	: Reaksi pengubahan suatu senyawa menjadi senyawa yang lebih sederhana
Diestrus	: Periode saat korpus luteum matang
Diferensiasi	: Proses pembelahan sel
Distal	: Bagian ujung
Ektodermal	: Lapisan primer luar dari sel pada embrio
Embrio	: Tahap awal dari perkembangan organisme eukaryotik diploid multiseluler
Embrioletalis	: Kemampuan suatu zat untuk menyebabkan kematian embrio
Endokondral	: Proses pembentukan tulang primer
Endometrium	: Lapisan kelenjar terdalam uterus
Estrus	: Fase dimana sejumlah mamalia betina siap untuk berkopulasi
Eviserasi	: Proses pembersihan spesimen dari kulit, jaringan lemak, dan organ dalam
Falang	: Tulang ruas atau segmen dari jari vertebrata
Fertilisasi	: Proses bergabungnya gamet untuk memulai perkembangan organisme baru
Fetus	: Istilah medis yang ditujukan kepada keturunan dari mamalia yang belum terlahir
Fiksasi	: Pengerasan dan pengawetan fetus
Halter	: Barbel
Hipotalamus	: Bagian dari otak yang berperan dalam melepaskan hormon
Implantasi	: Proses saat telur yang telah dibuahi memasuki dinding endometrium
Intramembran	: Terkait dengan pembentukan tulang melalui membran
Intermediet	: Bagian tengah
Interparietal	: Tulang yang berada di antara tulang parietal dan supraokipital
Karsinogenik	: Potensi untuk menyebabkan kanker
Kaudalis	: Bagian yang lebih dekat pada kaki
Kopulasi	: Hubungan seksual
Korpus luteum	: Kelenjar yang melepaskan hormon yang terbentuk di dalam ovarium
Letal	: Cukup untuk menyebabkan kematian

Malformasi	: Bagian dari tubuh yang terbentuk secara tidak sempurna
Mesodermal	: Lapisan primer tengah dari sel pada embrio
Metakarpal	: Lima buah tulang pada telapak tangan
Metatarsal	: Lima buah tulang pada telapak kaki
Metestrus	: Periode saat puncak estrus berhenti dan bekas folikel setelah ovulasi megecil
Mitosis	: Pembelahan sel yang menghasilkan dua sel anak yang masing-masing memiliki jumlah dan jenis kromosom yang sama dengan nukleus induk
Morula	: Gabungan dari sel-sel yang berasal dari pembagian ovum yang dibuahi yang selanjutnya membentuk blastula
Mutagenik	: Kemampuan untuk menyebabkan atau meningkatkan potensi terjadinya mutasi gen
<i>Nocturnal</i>	: Lebih aktif pada malam hari dibanding siang hari
Organogenesis	: Pembentukan atau perkembangan organ dari hewan atau tumbuhan
Osteoblas	: Sel yang mensekresikan matriks untuk pembentukan tulang baru
Osifikasi	: Pembentukan tulang baru dari osteoblas
Ovarium	: Organ reproduksi wanita yang memproduksi sel telur
Ovulasi	: Pelepasan sel telur dari ovarium
Ovum	: Sel reproduktif wanita dewasa
Pelvis	: Tulang panggul
Plasenta	: Organ pada uterus mamalia yang hamil yang mensuplai gizi dan mempertahankan janin melalui tali pusar
Posterior	: Bagian belakang
Proestrus	: Periode saat folikel de graaf tumbuh dan menghasilkan estradiol
Proksimal	: Bagian pangkal
Proliferasi	: Tahap saat sel mengalami pengulangan siklus tanpa hambatan
Replikasi	: Proses saat molekul DNA mengandakan dirinya sendiri
Sakrokaudalis	: Tulang pada ekor vertebrata
Servikalis	: Tulang pada leher vertebrata
Serviks	: Rongga sempit seperti leher pada bagian bawah uterus
Sitoplasma	: Material di dalam sel hidup yang terbungkus membran sel, tidak termasuk nukleus.
Skeleton	: Rangka
Sternum	: Tulang dada
Sub kronis	: Durasi yang berada di tengah akut dan kronis
Supraokspital	: Tulang pada sisi dorsal dari tengkorak
Teratogenik	: Kemampuan suatu zat untuk menyebabkan kecacatan pada janin
Uterus	: Organ pada wanita tempat janin berada selama masa kehamilan
Vertebra	: Tulang belakang
Zigot	: Sel diploid yang terbentuk dari penggabungan dua gamet haploid atau sel telur yang sudah dibuahi

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Uji teratogenik merupakan uji yang dirancang untuk mengevaluasi efek khusus suatu senyawa pada janin selama masa organogenesis dan adanya pengaruh dari luar yang dapat menimbulkan efek teratogenik. Tujuan dilakukannya uji ini adalah untuk melihat kemungkinan penggunaan suatu zat pada ibu hamil dan menentukan efeknya terhadap janin. Hal ini penting untuk mengetahui keamanan suatu senyawa terhadap janin (Lu, 1995; Mutiatikum dkk., 1999).

Uji toksisitas dibagi menjadi dua golongan, yakni uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus. Salah satu uji toksisitas khusus adalah uji teratogenik, sehingga senyawa atau bahan alam yang diujikan sebaiknya sudah tergolong tidak toksik pada pengujian toksisitas umum yang meliputi uji toksisitas akut dan uji toksisitas subkronis atau uji toksisitas kronis (Meles, 2016). Salah satu bahan alam yang telah lulus pengujian toksisitas akut dan subkronis adalah daun sirih merah. Menurut penelitian Rachmawaty (2017), mengenai uji toksisitas akut dan subkronis daun sirih merah, ekstrak etanol daun sirih merah memiliki LD<sub>50</sub> sebesar 18 g/kgBB pada pengujian toksisitas akut, sedangkan pada pengujian toksisitas subkronis juga tidak ditemukan kelainan pada uji histopatologi hati dan ginjal hewan uji.

Sirih merah secara ilmiah dikenal dengan nama *Piper crocatum* Ruiz & Pav. yang termasuk dalam familia Piperaceae (Sudewo, 2010). Berdasarkan penelitian Maslikah *et al.* (2016), kandungan flavonoid di dalam daun sirih merah

terbukti memiliki kemampuan antioksidan pada dosis 6,25 – 200 µg/mL secara *in vitro*. Selain itu, menurut Fitriani dkk. (2011), daun sirih merah memiliki kemampuan antiinflamasi pada dosis 50 mg/kgBB. Senyawa yang diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antiinflamasi tersebut adalah flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Daun sirih merah juga terbukti dapat berperan sebagai imunomodulator dengan dosis 10 – 100 mg/kgBB (Riani, 2014), senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas imunomodulator tersebut merupakan golongan alkaloid dan atau terpenoid (Hartini dkk., 2010). Menurut penelitian Jusup (2016), kandungan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan polifenol pada daun sirih merah diduga mampu berperan sebagai antidiabetik pada dosis efektif 200 mg/kgBB. Daun sirih merah juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri karena kandungan senyawa alkaloid, flavonoid dan minyak atsiri yang terdapat di dalamnya, pada konsentrasi 10 – 100% <sup>b</sup>/v (Hasbi, 2011).

Berdasarkan telaah aktivitas daun sirih merah di atas, dapat dilihat bahwa senyawa yang paling berperan pada aktivitas daun sirih merah adalah flavonoid dan alkaloid. Menurut Sarwono (1984) dan Sumastuti dan Sonlimar (2004), alkaloid diduga dapat memicu kontraksi otot polos uterus yang dapat menyebabkan perubahan arah pertumbuhan. Selain itu, Wurlina dkk. (2006) menyatakan bahwa senyawa alkaloid dapat menghentikan pembelahan mitosis zigot maupun embrio. Flavonoid diketahui dapat menghambat beberapa proses perkembangan sel di dalam tubuh dengan cara menghambat sejumlah reaksi enzimatik (Nurliani dkk., 2008). Menurut penelitian Wahyudi (2012), flavonoid juga diduga dapat memperlambat penulangan fetus mencit. Salah satu golongan

flavonoid yang terbukti mampu menimbulkan efek teratogenik adalah golongan isoflavon, karena senyawa ini memiliki potensi estrogenik (Xing *et al.*, 2010).

Daun sirih merah digunakan secara luas oleh masyarakat dalam menyembuhkan beberapa penyakit seperti, karies gigi, batuk, radang pada mata, radang pada gusi dan telinga, tuberkulosis, asam urat, ambeien, eksim, gatal-gatal, dan sebagainya (Amalia dan Fitriai, 2002). Secara umum, wanita hamil seringkali menggunakan obat tradisional dengan asumsi bahwa obat tradisional adalah produk natural dan tidak dapat menyebabkan efek berbahaya terhadap fetus (Gonçalves *et al.*, 2013). Namun, ada kemungkinan tumbuhan mengandung senyawa yang tidak bermanfaat bagi organisme, dengan memproduksi racun yang mungkin berpengaruh negatif terhadap ibu hamil atau bayi yang dikandung (Simoes, 2001). Pengobatan tradisional menggunakan daun sirih merah seringkali dilakukan dengan cara merebus daun sirih merah dan dikonsumsi secara oral sehingga memungkinkan senyawa yang terkandung di dalam rebusan daun sirih merah yang dikonsumsi oleh wanita hamil ikut diserap oleh janin dan mempengaruhi pertumbuhan janin (Utami dan Puspaningtyas, 2013).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian guna melihat efek teratogenik dari ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) pada fetus mencit (*Mus musculus*) galur Sub Swiss Webster. Penelitian ini dilakukan selama masa gestasi pada mencit betina dengan berbagai dosis. Sejumlah kelainan morfologis dan tulang yang terjadi pada fetus akan diamati sebagai indikator teratogen. Penelitian ini juga mencakup karakterisasi dari ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) menimbulkan efek teratogenik pada fetus mencit (*Mus musculus*) galur *Sub Swiss Webster*?
2. Berapa dosis ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang menimbulkan efek teratogenik pada fetus mencit (*Mus musculus*) galur *Sub Swiss Webster*?
3. Bagaimana karakterisasi ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)?
4. Berapa kadar total senyawa alkaloid dan flavonoid dalam ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Efek teratogenik etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) pada fetus mencit (*Mus musculus*) galur *Sub Swiss Webster*.
2. Dosis ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang menimbulkan efek teratogenik pada fetus mencit (*Mus musculus*) galur *Sub Swiss Webster*.
3. Karakterisasi ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.).

4. Kadar total senyawa alkaloid dan flavonoid dalam ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.).

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi yang bersifat ilmiah tentang efek teratogenik dari ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) sehingga masyarakat dapat mengetahui keamanan penggunaan daun sirih merah terhadap janin selama masa kehamilan. Penelitian ini juga bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai karakteristik ekstrak etanol 96% daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan referensi untuk penelitian selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfarabi, M. 2010, ‘Kajian antidiabetogenik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) *in vitro*’, Skripsi, S.Si., Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Amalia, E. & Fitriai, N.S.P. 2002, *Tata cara praktis budidaya tanaman obat dan pembuatan obat tradisional*, PJ Sekar Kedhaton, Yogyakarta, Indonesia.
- Arbianti, K. & Maharani. 2008, The influence of red sirih (*Piper crocatum*) and green sirih (*Piper betle lynn*) leaf extracts on the neutrophil count of inflamed oral mucosa during healing. *Journal of AOS*, **3(2)**: 56 – 78.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2014, *Pedoman uji toksisitas nonklinik secara in vivo*, Pusat Pengujian Obat dan Makanan BPOM RI, Jakarta, Indonesia.
- Beck, S.L. 1989, Prenatal ossification as an indicator of exposure of toxic agent. *Teratology*, **40**: 365 – 374.
- Byers, S.L., Wiles, M.V., Dunn, S.L. & Taft, R.A. 2012, Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS ONE*, **7(4)**: 35 – 38.
- Cannas, A. 2013, *Tannin: Fascinating but sometimes dangerous molecules*, diakses tanggal 2 Februari 2018, <<http://www.anisci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html>>.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. 2002, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J Food Drug Analysis*, **10**: 178 – 182.
- Conn, H.J., Darrow, M.A. & Emmel, V.M. 1960, *Staining procedures*, 2<sup>nd</sup> edition, The Williams & Wilkin Co, Baltimore, Maryland.
- Cunningham, F.G. 2006, *Obstetri williams*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995, *Materia medika Indonesia*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000, *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, Indonesia.
- De Jong, T.R., Beiderbeck, D.I. & Neumann, I.D. 2014, Measuring virgin female aggression in the female intruder test (FIT): Effects of oxytocin, estrous cycle, and anxiety. *PLoS ONE*, **9(3)**: 71 – 91.

- Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2008, *Pengujian mikrobiologi pangan*, Pusat Pengujian Obat dan Makanan BPOM RI, Jakarta, Indonesia.
- Djamal, R. 1988, *Prinsip-prinsip dasar bekerja dalam kimia bahan alam*. Universitas Andalas, Padang, Indonesia.
- Ebadi, M. 2002, *Pharmacodynamic basic of herbal medicine: Alkaloids: Manuka and fungal diseases: Flavonoids*, CRC Press, New York, USA.
- Fang, H., Yang, Y., Li, C., Fu, S., Yang, Z., Jin, G., et al. 2010, Transcriptome analysis of early organogenesis in human embryos, *Developmental Cell*, **19**: 174 – 184.
- Farnsworth, N.R. 1966, Biological and phytochemical screening of plant, *J Pharm Sci*, **55(3)**: 76 – 225.
- Federer, W. 1991, *Statistics and society: Data collection and interpretation*, 2<sup>nd</sup> edition, Marcel Dekker, New York, USA.
- Firmani, A. 2010, ‘Pengaruh pemberian infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) secara topikal terhadap penyembuhan luka pada tikus putih jantan diabetes’, *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Univeritas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Fitriani, A., Winarti, L., Muslichah, S. & Nuri. 2011, Uji antiinflamasi ekstrak metanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus putih, *Majalah Obat Tradisional*, **16(1)**: 34 – 42.
- Freeman, J. & Young, T. 2009, *Correlation coefficient: Association between two continuous variables*, diakses pada tanggal 23 Maret 2018, <[https://www.sheffield.ac.uk/polopoly\\_fs/1.43991!file/tutorial-14-correlation.pdf](https://www.sheffield.ac.uk/polopoly_fs/1.43991!file/tutorial-14-correlation.pdf)>.
- Geraldes, A., Basset, P., Smith, K.L. & Nachman, M.W. 2001, Higher differentiation among subspecies of the house mouse (*Mus musculus*) in genomic regions with low recombination, *Molecular Ecology*, **20**: 4722 – 4736.
- Gilbert, S.F. 1994, *Developmental biology*, 4<sup>th</sup> edition, Sinaur Associates Inc, Massachusetts, USA.
- Gilbert, S.F. 2010, *Developmental biology*, 9<sup>th</sup> edition, Sinaur Associates Inc, Sunderland, USA.
- Goldstein, A., Aronow, L. & Kalman, S.M. 1974, *Principle of drugs action*, 2<sup>nd</sup> edition, A Willey Biomedical Health Pub, New York, USA.
- Gonçalves, C.A., Siqueira, J.M., Carollo, C.A. & Mauro, M.O. 2013, Gestational exposure to *Byrsonima verbascifolia*: Teratogenicity, mutagenicity and immunomodulation evaluation in female Swiss mice, *J Ethnopharmacol*, **150**: 843 – 850.

- Hanson, J.L. & Hurley, L.M. 2012, Female presence and estrous state influence mouse ultrasonic courtship vocalizations, *PLoS ONE*, **7(7)**: 78 – 82.
- Harbison, R.D. 1980, *Teratogen in toxicology the basic science of poison*, Mac Millan Publishing Co Inc, New York, USA.
- Harborne, J.B. 1987, *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*, ITB, Bandung, Indonesia.
- Hartini, Y.S., Wahyuono, S., Widyarini, S. & Yuswanto, A.G. 2010, Aktivitas fagositosis makrofag fraksi dari ekstrak metanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) secara *in vitro*, *Ind J Pharm Sci*, **11(2)**: 108 – 115.
- Hasbi, M. 2011, ‘Uji daya antibakteri ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229’, Skripsi, S.Ked., Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia.
- Inouye, M. 1976, Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S, *Cong Anomali*, **16(3)**: 171 – 173.
- Jusup, S.A. 2016, Aktifitas antidiabetik dan antioksidan ekstrak etanol 70% daun sirih merah (*Piper crocatum*) pada tikus Wistar model diabetes mellitus, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, **29(1)**: 1 – 4.
- Kispert, A. & Gossler, A. 2004, *Introduction to early mouse development*, The Laboratory Mouse, Elsevier, USA.
- Kristanti & Alfinda, N. 2008, *Buku ajar fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia.
- Kshirsagar, A. & Purnima, A. 2008, Evaluation of *Calotropis gigantea* R.Br. flower extract of alcohol induced hepatotoxicity, *J Cell Tissue Research*, **4**: 1551 – 1556.
- Kumolosasi, E., Soemardji, A.A., Ruslan, K. & Yuliani, H. 2004, Efek teratogenik ekstrak etanol kulit batang pule (*Alstonia scholaris* R.Br) pada tikus wistar, *Jurnal Matematika dan Sains*, **9(2)**: 223 – 227.
- Kuncarli, I. & Djunarko, I. 2014, Uji toksisitas subkronis infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus: Studi terhadap gambaran mikroskopis jantung dan kadar SGOT darah, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, **11(3)**: 86 – 95.
- Kusumawardhani, N., Sulistyarti, H. & Atikah. 2015, Penentuan panjang gelombang maksimum dan pH optimum dalam pembuatan tes kit sianida berdasarkan pembentukan hidrindantin, *Kimia Student Journal*, **1(1)**: 711 – 717.

- Kusumawati, D. 2004, *Bersahabat dengan hewan coba*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, Indonesia.
- Langman, J. 1985, *Embriologi kedokteran*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Lina, F. 2008, ‘Efek teratogenik buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) terhadap pertumbuhan dan perkembangan fetus mencit (*Mus musculus* L.)’, *Skripsi*, S.Si., Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia.
- Lu, F.C. 1995, *Toksikologi dasar: Asas, organ, sasaran, dan penilaian resiko*, UI Press, Jakarta, Indonesia.
- Mardiana, L. 2004, *Kanker pada wanita: Pencegahan dan pengobatan dengan tanaman obat*, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.
- Maslikah, S., Lestari, S.R. & Wulandari, N. 2016, Active compounds of red betel (*Piper crocatum*) extract for safe antioxidant as cytotoxicity test revealed, *International Journal of PharmTech Research*, **9(4)**: 513 – 520.
- Meles, D.K. 2016, *Peran uji praklinik dalam bidang farmakologi*, ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.
- Moore, K.L. 1974, *The developing human: Clinically oriented embryology*, WB Saunders Co, Philadelphia, Pennsylvania.
- Moeljanto, R.D. & Mulyono. 2003, *Khasiat dan manfaat daun sirih: Obat mujarab dari masa ke masa*, AgroMedia Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Musser, G., Amori, G., Hutterer, R., Krytufek, B., Yigit, N. & Mitsain, G. 2008, *Mus musculus*, diakses tanggal 8 September 2017, <[www.iucnredlist.org/details/13972/0](http://www.iucnredlist.org/details/13972/0)>.
- Mustikaningtyas, P. 2011, ‘Efek teratogenik ramuan segar jamu kunyit asam (*Curcuma domestica-Tamarindus indica*) pada tikus (*Rattus norvegicus*)’, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia.
- Mutiatikum, D., Widowati, L. & Isnawati, A. 1999, Uji toksisitas dan uji teratogenik infus biji pinang (*Areca Catechu* L.) fase implantasi pada tikus galur wistar, *Bul Penelitian Kesehatan*. **26**: 2 – 3.
- Norton, S.A. 1997, Betel: Consumption and consequence, *J Am Acad Dermatol*, **37(4)**: 81 – 88.
- Nurliani B., Susi P. & Mardiana. 2008, Keragaan sifat morfologi, hasil dan mutu plasmanutfah pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.). *Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bul Litro*. **19(1)**: 1 – 17.

- Permawati, M. 2008, ‘Karakterisasi ekstrak air daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) dan pengaruhnya terhadap kadar asam urat plasma tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat’, *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Piper crocatum*, 2010, diakses tanggal 8 September 2017, <<http://www.plantsrescue.com/piper-crocatum/>>.
- Prawirohardjo, S. 2010, *Ilmu kebidanan*, Yayasan Bina Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Purnomo, T. 2014, ‘Efek teratogenik ekstrak ciplukan (*Physalis minima* Linn.) terhadap fetus mencit (*Mus musculus*) galur Sub Swiss Webster serta sumbangannya pada pembelajaran biologi di SMA’, *Skripsi*, S.Pd., Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Rachmawaty, F.J. 2017, The effect of ethanolic extract of red betel vine leaves (*Piper crocatum*) to the livers and kidneys of DDY mice in acute and subchronic toxicity study, *Biochemical Pharmacology*, **10(2)**: 34 – 45.
- Ramelan. W. & Syahrin, H.M. 1994, *Kelainan pada proses perkembangan embrio (teratologi), reproduksi dan embriologi dari satu sel menjadi organisme*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta, Indonesia.
- Riani, A. 2014, ‘Uji aktivitas imunomodulator ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap mencit putih jantan dengan metoda carbon clearance’, *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.
- Ritter, E.J. 1977, *Altered biosynthesis in: Hard book of teratology*, vol 2, Plenum Press, New York, USA.
- Rivai, H., Septika, R. & Boestari, A. 2013, Karakterisasi herba meniran (*Phyllanthus niruri* Lynn.) dengan analisa fluoresensi, *Jurnal Farmasi Higea*, **5(2)**: 15 – 20.
- Rugh, R. 1971, *The mouse, its reproduction and development*, Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesot.
- Safithri, M., Fahma, F. & Marlina, P.W.N. 2012, Analisis proksimat dan toksisitas akut daun sirih merah yang berpotensi sebagai antidiabetes. *Jurnal Gizi dan Pangangan*, **7(1)**: 43 – 48.
- Sarwono. 1984, *Ilmu kebidanan*, edisi 2, Yayasan Bina Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Savalli, U.M. 2016, *Lab 7: The vertebrate skeleton*, diakses pada tanggal 23 Maret 2018, <[www.savalli.us/BIO113/Labs/07.Skeletons.html](http://www.savalli.us/BIO113/Labs/07.Skeletons.html)>.

- Sher, R.B., Gregory, A.C. & Cheryl, A. 2012, *Development and disease of mouse muscular and skeletal systems*, The Laboratory Mouse, Elsevier, USA.
- Simoes, C.M.O. 2001, *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.
- Siswosudarmo, R. 1988, *Efek samping obat terhadap perkembangan janin*. Yayasan Melati Nusantara, Yogyakarta, Indonesia.
- Soeminto. 2000, *Embriologi vertebrata*, Universitas Jendral Sudirman Press, Purwokerto, Indonesia.
- Sudewo, B. 2010, *Basmi penyakit dengan sirih merah revisi*, Agro Media Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Suhermanto. 2013, ‘Profil flavonoid, tanin, dan alkaloid dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*)’, *Skripsi*, S.Si., Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Sumastuti, R. & Sonlimar, M. 2004, Efek sitotoksik ekstrak buah dan daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl.*) terhadap sel hela. *Medika*, **28(12)**: 773 – 777.
- Suratmo. 2009, Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan, *BSS*, **205(1)**: 1 – 5.
- Stein, Z., Kline, J. & Kharrazi, M. 1984, What is a teratogen? Epidemiological criteria, *Issues and Reviews in Teratology*, **2(1)**: 24 – 25.
- Taylor, P. 1986, *Practical teratology*, Academic Press Harcourt Brace Jovanonic Publisher, London, UK.
- Tomayahu, R. 2014, ‘Identifikasi senyawa aktif dan uji toksisitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia Ten. Steenis*) dengan metode *brine shrimp lethality test (BSLT)*’, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia.
- Tuchmann, D. 1975, *Drug effect on the fetus*, Adis Press, New York, USA.
- Ulviani, F., Yusriadi & Khaerati, K. 2016, Pengaruh gel ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap penyembuhan luka bakar pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), *Galenika Journal of Pharmacy*, **2(2)**: 103 – 110.
- Utami, P. & Puspaningtyas, E.D. 2013, *The miracle of herbs*, Agromedia Pustaka, Jakarta, Indonesia.

- Voigt, R. 1994, *Buku pelajaran teknologi farmasi*, edisi 5, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, Indonesia.
- Wagner, H., Bladt, S. & Zgainski, E.M. 1984, *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas*, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Wahyudi, B.E. 2013, ‘Efek teratogenik ekstrak daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.) terhadap fetus mencit (*Mus musculus*) galur Sub Swiss Webster serta rancangan pembelajarannya pada Sekolah Menengah Atas’, *Skripsi*, S.Pd., Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Waynfirth, H.B. 1980, *Experimental and surgical technique in the rat*, Academic Press, London, UK.
- Widiyani, T. & Sagi, M. 2001, Pengaruh aflatoksin B1 terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio dan skeleton fetus mencit (*Mus musculus*), *Tecnosains XIV*, **3**(2): 409 – 427.
- Widyastuti, N., Widiyani, T. & Listyawati, S. 2006, Efek teratogenik ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur Wistar, *Biotehnologi*, **3**(2): 56 – 62.
- Wilson, J.G. 1973, *Environment and birth defects*, Academic Press Inc., New York, USA.
- Wurlina, D.K., Meles & Zakaria, S. 2006, Efek anti telomerase alkaloid *Achyranthes aspera* L terhadap pembelahan kromosom dan induksi apoptosis pada kultur sel mieloma, *Veterinaria medika*, **2**(3): 87 – 91.
- Xiao, L., Zhang, C., Li, X., Gong, S. & Hu, R. 2014, Signaling role of prokineticin 2 on the estrous cycle of female mice, *PLoS ONE*, **9**(3): 86 – 90.
- Xing, L., Xu, Y., Xiao, Y., Shang, L. & Liu, R. 2010, Embryotoxic and teratogenic effect of the combination of bisphenol A and genistein on *In Vitro* cultured postimplantation rat embryos. *Toxicological Science*, **155**(2): 577 – 588.
- Yatim, W. 1984, *Embriologi*, Penerbit Tarsito, Bandung, Indonesia.
- Zou, Y., Lu, Y. & Wei, D. 2004, Antioxidant activity of flavonoid rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro, *J Agric Foo Chem*, **52**(3): 5032 – 5039.