

Teratogenitas Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak Metanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) pada *Mus musculus*

Agus Sundaryono
Program Studi Pendidikan Kimia, JPMIPA FKIP UNIB
sundaryono_2005@yahoo.com

ABSTRAK

Daun benalu selama ini oleh masyarakat Bengkulu dimanfaatkan sebagai obat anti kanker. Pada penelitian ini daun benalu diisolasi dengan metanol, ekstrak metanol dengan *sinoda test* mengandung senyawa flavonoid, senyawa ini diuji aktivitas teratogennya. Uji teratogenisitas dilakukan dengan memberikan suatu dosis tertentu senyawa flavonoid daun benalu pada *Mus musculus* bunting untuk melihat ada tidaknya kelainan pada embrio akibat pemberian. *Mus musculus* betina dewasa dengan umur 8 minggu yang berjumlah 15 ekor dibagi dalam 3 kelompok. Kelompok kontrol (P₀) diberi sediaan akuades yang seimbang dengan berat badan (bb) secara *gavage*, dengan cara yang sama kelompok perlakuan 1 (P₁) diberi sediaan senyawa flavonoid daun benalu dengan dosis setara 300 mg/kgbb, dan kelompok perlakuan 2 (P₂) dengan dosis setara 400 mg/kgbb, pemberian sediaan dilakukan pada hari kebuntingan ke 9. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian senyawa flavonoid daun benalu pada dosis 300 mg/ kgbb dan 400 mg/ kgbb, berat badan induk mencit cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol, meskipun berdasarkan analisis varian tidak berbeda nyata. Berat badan fetus pada hari kebuntingan (hb) ke 17 setelah diberi senyawa flavonoid 300 mg/ kgbb dan 400 mg/ kgbb cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol, tapi berdasarkan analisis varian tidak berbeda nyata. Pemberian fraksi flavonoid daun benalu pada dosis setara 300 mg/ kgbb dan 400 mg/ kgbb pada (hb) 17 tidak ditemukan cacat kaki maupun ekor, akan tetapi ada satu ekor fetus mencit kerdil pada pemberian fraksi flavonoid dosis setara 400 mg/ kgbb, fetus kerdil kemungkinan diakibatkan senyawa flavonoid daun benalu.

Key words: Teratogen, flavonoid, *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq,

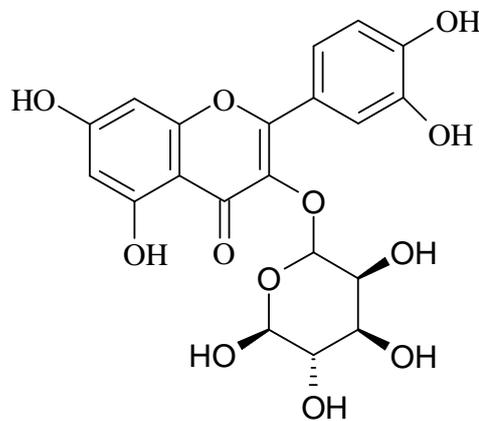
PENDAHULUAN

Indonesia, sebagai negara tropis, mempunyai keanekaragaman tumbuhan yang dapat digunakan sebanyak-banyaknya untuk kepentingan masyarakat. Tumbuhan tersebut telah dimanfaatkan dalam berbagai aspek kehidupan, antara lain sebagai bahan sandang, pangan, papan, kosmetika, pewarna dan obat (Praptiwi et.al, 2002).

Menurut *World Healthy Organization* (WHO), hampir 80 % umat manusia, menggantungkan dirinya pada tumbuh-tumbuhan sebagai bahan obat dalam memelihara kesehatannya (Choirul, 2003). *Food and drink suplement* merupakan contoh berbagai produk

bio-perspektif yang telah beredar di masyarakat, mulai dari pedagang kaki lima sampai di supermarket.

Keanekaragaman tumbuhan menghasilkan satu atau lebih senyawa kimia yang berguna untuk menunjang kelangsungan hidup tumbuhan tersebut, salah satu contoh untuk melindungi diri. Senyawa kimia yang berfungsi untuk melindungi diri tersebut pada umumnya terdapat dalam bentuk metabolik sekunder. Senyawa-senyawa metabolik sekunder banyak yang memiliki efek pengobatan, salah satu contoh adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang pada umumnya banyak terdapat pada tumbuhan berpembuluh. Contoh flavonoid adalah kuersetin -3-rhamnoside (lihat gambar 1) merupakan flavanol glukosida (Artanti, N., et.al 2006).



Gambar 1. Kuersitrin (kuersetin-3-rhamnoside)

Tanaman benalu yang selama ini sering dikenal sebagai parasit ternyata memiliki khasiat, yaitu ampuh menghambat laju pertumbuhan penyakit kanker, karena di dalamnya terkandung kuersitrin (gambar 1) yang merupakan glikosida flavanol dimana aglikonnya adalah kuersetin (Astika, 2000). Kanker terjadi pada pertumbuhan sel-sel normal melalui proses kesalahan genetika yang berubah menjadi sel-sel ganas yang berproliferasi dengan cepat. Benalu mempunyai kemampuan sebagai antiproliferasi khususnya terhadap sel meiloma (Rossaria, 2007), benalu juga mampu menghambat pertumbuhan kanker (Sukardiman, et. al, 1999). Dalam usaha penemuan obat baru yang berasal dari tanaman maka uji keamanan merupakan tahap yang harus dilalui, uji awal ini adalah uji teratogenitas merupakan suatu uji dengan memberikan suatu faktor atau zat tertentu untuk melihat ada tidaknya kelainan pada embrio hewan uji akibat pemberian zat tersebut. Pertumbuhan sel-sel embrio (baik hewan ataupun manusia) juga

merupakan pertumbuhan sel-sel normal dan pertumbuhan ini sangat rentan oleh banyak pengaruh khususnya pengaruh dari luar yang terikut dalam makanan, minuman ataupun obat-obatan. Suatu senyawa yang mempunyai efek teratogen dapat dikembangkan sebagai obat dengan peringatan yang keras (Almandy, 1999). Benalu khususnya daunnya selama ini oleh masyarakat Bengkulu dimanfaatkan sebagai obat anti kanker, apakah daun benalu yang digunakan sebagai obat ini mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan embrio, untuk mengetahui dilakukan uji teratogenesis.

Dengan demikian dalam rangka menyelamatkan masyarakat dari kemungkinan mendapatkan efek samping dalam memanfaatkan daun benalu tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengisolasi fraksi flavonoid dari daun benalu menggunakan metanol serta menguji ada tidaknya efek teratogen pada mencit (*Mus musculus*)

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan : seperangkat alat sokhlet dan peralatan gelas lainnya, blender, neraca analitik, hotplate, cawan petri, kandang mencit dan peralatan makan minumannya, nampan bedah, pisau, lup, 1 set alat "gavage", mikroskop, 1 set alat bedah, kamera. Bahan-bahan yang digunakan : benalu (*Dendrophthoe pentandra*) meliputi : daun benalu, metanol teknis 2 L, HCl pekat, pita Mg, n -heksana, NaCl 0,9 %, daun jambu biji (*Psidium guajava*), alkohol 70 %, aquades, *Mus musculus* 15 pasang.

Identifikasi flavonoid pada daun benalu dilakukan dengan HCl pekat dan serbuk Mg, adanya flavonoid ditunjukkan dengan warna merah. Selanjutnya 300 g daun benalu yang sudah bersih dan kering diekstraksi dengan metanol menggunakan alat sokhlet. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan diekstrak dengan normal heksana. Fraksi polar dipekatkan kemudian dikeringkan dengan pompa vacum.

Sebanyak 15 ekor *Mus musculus* betina dewasa berumur rata-rata 8 minggu dibagi dalam 3 kelompok yaitu : kelompok kontrol (P_0), kelompok perlakuan (P_1) dan kelompok perlakuan (P_2). Masing-masing *Mus musculus* betina dalam setiap kelompok dimasukkan dalam 15 kandang yang berbeda, satu ekor *Mus musculus* jantan dimasukkan ke dalam setiap kandang yang telah berisi 1 ekor *Mus musculus* betina. Keberhasilan kopulasi ditandai dengan adanya sumbat vagina, adanya sumbat vagina dinyatakan sebagai hari kebuntingan ke nol. Setelah ditemukan sumbat vagina *Mus musculus* betina dipisahkan dalam kandang tersendiri.

Pada hari kebuntingan ke 9 setelah ditemukannya sumbat vagina, *Mus musculus* betina bunting pada kelompok (P₀) digavage dengan akuades dengan volume yang dikonversikan dengan berat badannya, *Mus musculus* betina bunting pada kelompok (P₁) digavage dengan flavonoid dengan dosis setara 300 mg/kg bb dan *Mus musculus* betina bunting pada kelompok (P₂) digavage dengan flavonoid dengan dosis 400 mg/ kg bb. Berat badan *Mus musculus* betina sebelum digavage ditimbang, untuk mengetahui adanya sifat toksik secara umum terhadap *Mus musculus* betina oleh adanya suatu zat yang diberikan.

Pada hari kebuntingan ke 17 induk *Mus musculus* ditimbang kemudian dibunuh dengan cara dislokasi leher. Uterusnya diangkat, dibersihkan dengan larutan salin (NaCl 0,9 %), fetus yang ada ditimbang untuk melihat pengaruh flavonoid terhadap berat badan fetus. Setiap fetus diamati dan dihitung cacat eksternal yang muncul. Persentase fetus yang mengalami malformasi eksternal dihitung melalui prosentase sebagai berikut (Rumanta, 1994):

$$\frac{\text{Jumlah fetus dengan cacat eksternal}}{\text{Jumlah fetus hidup}} \times 100 \%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan survei fitokimia di daerah Talang Kering dan Kandang Limun Bengkulu, diperoleh informasi bahwa benalu sering digunakan oleh masyarakat daerah tersebut sebagai obat, benalu ini dibawa ke laboratorium. Uji Sinoda terhadap daun benalu menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid yang lebih besar dibanding akar dan batang. Daun benalu setelah dikeringkan disohkletasi menggunakan pelarut metanol teknis, kemudian diekstraksi menggunakan petroleum eter untuk memisahkan fraksi non polarnya, fraksi metanol di uapkan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian dikeringkan menggunakan pompa vakum, rendemen total flavonoid yang diperoleh adalah 4,4 %

Masa rentan kehamilan induk *Mus musculus* terhadap pengaruh dari luar dalam hal ini obat atau bahan kimia dimulai dari hari ke 7 s/d ke 11. Kerawanan bagian saraf terletak pada pada hari kebuntingan ke 7-8, bagian mata pada hari kebuntingan ke 8-9 dan daerah anggota gerak pada hari kebuntingan ke 9 s/d 11. Pada penelitian pemberian sediaan dilakukan pada hari kebuntingan ke 9 setelah ditemukannya sumbat vagina, pemberian sediaan hanya diberikan satu kali untuk melihat kemungkinan adanya cacat pada anggota gerak. Induk *Mus musculus* sebelum digavage dengan sediaan (P₀, P₁ dan P₂) ditimbang untuk mengetahui adanya sifat toksik secara

umum dari fraksi flavonoid daun benalu. Berat badan induk *Mus musculus* sebelum dan setelah diberikan sediaan dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Berat badan induk mencit sebelum dan setelah diberikan sediaan.

Mencit ke	Berat badan pada Pemberian aquades P ₀			Berat badan pada pemberian flavonoid dosis 300 mg/kg bb P ₁			Berat badan pada pemberian flavonoid dosis 400 mg/kg bb P ₂		
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₁	A ₂	A ₃	A ₁	A ₂	A ₃
1	25,82	38,28	12,46	28,72	40,80	12,08	24,86	37,79	12,93
2	26,25	44,79	18,54	30,15	38,15	8,00	29,00	34,22	05,22
3	28,17	39,33	11,16	24,85	37,49	12,64	29,21	46,38	17,17
Rata-rata	26,75	40,8	14,05	27,91	38,81	10,91	27,69	39,46	11,77

Keterangan :

1. A₁ = berat badan sebelum di gavage
2. A₂ = berat badan setelah di gavage
3. A₃ = Perubahan badan sebelum dan setelah di gavage

Berdasarkan **tabel 1**, rata-rata perubahan berat badan induk mencit setelah diberi perlakuan (P₁ dan P₂) cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol (P₀), akan tetapi secara statistik menurut analisis varian tidak berbeda nyata antara kontrol dan perlakuan. Hal ini berarti bahwa pemberian secara *gavage* dengan akuades, flavonoid daun benalu dengan dosis 300 mg/ kgbb dan dosis 400 mg/ kgbb pada induk *Mus musculus* tidak mempengaruhi berat badan secara signifikan selama usia kebuntingan 8 s.d 17 hari, jika flavonoid daun benalu yang diberikan hanya satu kali pemberian selama masa kehamilan.

Induk *Mus musculus* dalam setiap kelompok pemberian sediaan dipelihara sampai hari kebuntingan ke-17 untuk mendapatkan fetus yang diharapkan. Berat badan fetus pada umur kebuntingan 17 hari setelah pemberian sediaan secara *gavage* dapat dilihat pada **tabel 2**

Tabel 2. Rata-rata berat badan fetus setelah diberi perlakuan

Perlakuan	Jumlah fetus	Rata-rata berat badan fetus (g)
P ₀ (akuades)	23	1,2633
P ₁ (flavonoid daun benalu dosis 300 mg/kg bb)	27	1,0507
P ₂ (flavonoid daun benalu dosis 400 mg/kg bb)	18	1,1799

Berdasarkan **tabel 2**, rata-rata berat badan fetus setelah diberi perlakuan (P_1 dan P_2) cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol (P_0), akan tetapi secara statistik menurut analisis varian tidak berbeda nyata antara kontrol dan perlakuan. Hal ini berarti bahwa pemberian akuades, flavonoid daun benalu dengan dosis 300 mg/ kgbb dan dosis 400 mg/ kgbb secara *gavage* pada induk *Mus musculus* tidak mempengaruhi berat badan fetus secara signifikan pada umur hari kebuntingan ke 17. Berat badan fetus pada perlakuan P_1 dan P_2 cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol hal ini diduga berkaitan erat dengan pengaruh pemberian flavonoid daun benalu. Molekul kecil yang diberikan kepada induk mencit bunting ternyata dapat ditemukan di dalam rongga oviduk, uterus, dan cairan blastosista. Bahkan molekul besar seperti protein juga dapat ditemukan di dalam rongga oviduk dan di blastosista kelinci (Sumarmin, 1999). Sebelum terbentuknya plasenta, nutrisi embrio tergantung pada sekret kelenjar oviduk dan uterus, maka dimungkinkan perkembangan embrio dapat pula terganggu oleh adanya flavonoid daun benalu di dalam bahan nutrisi embrio itu yang berakibat ditemukannya berat badan fetus yang lebih rendah dibanding kontrol.

Keadaan morfologi fetus pada hari kebuntingan ke 17 setelah pemberian sediaan baik berupa akuades maupun flavonoid dapat dilihat pada **tabel 3**.

Tabel 3. Keadaan morfologi fetus setelah diberi perlakuan

Perlakuan	Jumlah induk	Morfologi fetus		Jumlah Fetus
		cacat kaki	cacat ekor	
P_0 (akuades)	3	0	0	23
P_1 (flavonoid daun benalu dosis 300 mg/kg bb)	3	0	0	27
P_2 (flavonoid daun benalu dosis 400 mg/kg bb)	3	0	0	18
Jumlah	9	0	0	68

Pemberian flavonoid daun benalu pada hari kebuntingan ke 9 dan dilakukan pembedahan pada hari kebuntingan ke 17, tidak ditemukan cacat pada anggota gerak baik cacat kaki maupun ekor, keadaan muka tidak ditemukan perbedaan yang mencolok antara perlakuan P_0 , P_1 dan P_2 , hal ini menunjukkan pada pemberian fraksi flavonoid daun benalu yang dilakukan hanya sekali selama kehamilan, tidak mempengaruhi proses perkembangan tubuh pada embrio dan tidak ada perbedaan morfologi antar perlakuan. Perbedaan yang dijumpai pada penelitian ditemukan adanya satu fetus kerdil.

Berat badan **fetus normal** pada hari kebuntingan ke 10 s.d 17 rata-rata antara 0,0061 s.d 1,087 g dan panjang rata-rata berkisar antara 14,08 s.d 20,31 mm. Pertumbuhan tulang telah sempurna pada tulang lengan atas atau kaki depan, radius dan tulang hasta. Jari telah dibungkus kulit, indera pendengar sudah hampir sempurna. Selaput pelangi tumbuh hampir sempurna, di bawah kelopak mata yang tertutup ada pembedaan lapisan ke dalam endothelium anterior kamar, kornea mata dan corneal.



Gambar 2. Perbedaan morfologi fetus kerdil pada pemberian flavonoid dosis setara 400 mg/ kgbb dan fetus normal dengan pemberian akuades badan.

Berat badan **fetus kerdil** 0,4180 gr dengan panjang 12 mm. Pertumbuhan anggota tubuh belum sempurna tapi tidak ditemukan cacat kaki maupun cacat ekor. Fetus kerdil ditemukan pada pemberian flavonoid daun benalu pada dosis 400 mg/ kgbb (P₂). Dengan ditemukan adanya fetus kerdil ini, maka diduga flavonoid bersifat antiproliferasi. Hal ini didukung oleh Scambia dan kawan-kawan yang menyatakan bahwa kuersetin yang merupakan aglikon dari glikosida flavonol (kuersitrin) mempunyai sifat antiproliferasi (Astika, 2000)

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Rendemen flavonoid total yang dapat diisolasi dari daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq) dengan menggunakan metanol sebesar 4,4 %
2. Perubahan berat badan induk *Mus musculus* setelah diberi perlakuan dosis tunggal flavonoid daun benalu 300 mg/ kgbb dan 400 mg/ kgbb cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol, tapi berdasarkan analisis varian tidak berbeda nyata antar perlakuan.

3. Berat badan fetus pada hari kebuntingan ke 17 setelah diberi perlakuan dosis tunggal flavonoid daun benalu 300 mg/ kgbb dan 400 mg/ kgbb cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol, tapi berdasarkan analisis varian tidak berbeda nyata antar perlakuan.
4. Pemberian flavonoid daun benalu pada dosis 300 mg/ kgbb dan 400 mg/ kgbb pada hari kebuntingan ke 17 tidak ditemukan cacat kaki maupun ekor, hal ini berarti flavonoid daun benalu tidak mempunyai efek teratogen jika pemberian hanya dilakukan satu kali semasa kehamilan. Dengan ditemukannya satu ekor fetus mencit kerdil pada pemberian flavonoid dosis setara 400 mg/ kgbb, diduga fetus kerdil diakibatkan karena flavonoid daun benalu, kemungkinan jika pemberian dilakukan berulang flavonoid daun benalu mempunyai efek teratogen

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis sampaikan terimakasih Kepada Dr. Aceng Ruyani, M.S dan Eni Puspita, SP.d yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Almandy, 1999, **Efek Teratogen Fraksi Sisa Ekstrak Daun *Emilia sonchifolia* (L)DC in ovo**, Cermin Dunia Kedokteran No. 122, ISSN 0125 – 913X, Jakarta
- Artanti, N., Ma'arifa, Y., Hanafi, M., 2006, **Isolation and identification of active antioxidant compound from star fruit mistletoe *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq, Ethanol extract**, *Journal of applied sciences* 6(8) 1659-1663
- Astika, 2000, **Penelitian Hayati Vol. 5 No. 2**, PBI Komisariat Surabaya, Surabaya
- Choirul, 2003, **Berita Biologi : Jurnal Ilmiah Nasional Vol. 6 No. 4**, Pusat Penelitian Biologi
- Praptiwi, dkk., 2002, **Berita Biologi : Jurnal Ilmiah Nasional Vol. 6 No. 3**, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor
- Rossaria, N., 2007 **Kajian antiproliferatif ekstrak daun benalu duku (*loranthaceae Dendrophthoe species*) terhadap sel Mieloma secara *in vitro***, Universitas Airlangga, Surabaya
- Rumanta, M., 1994, **Pengaruh Asam Metoksi Asetat terhadap Organ Reproduksi dan Fertilitas Mencit Albino (*Mus musculus*) Swiss Webster Jantan**. ITB. Bandung
- Sukardiman, IGP Santa, Rahmadany, 1999, **Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra***, Cermin Dunia Kedokteran No. 122, ISSN 0125 – 913X, Jakarta
- Sumarmin, R., Tien, W., Sudarwati, S., 1999, **Efek Perlakuan Rubratoksin B Pada Tahap Praimplantasi terhadap Perkembangan Embrio Praimplantasi dan Fetus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster**, ITB, Bandung