

## Uji Teratogen Ekstrak Akar Jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl.) terhadap Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus* L.) Betina

AGUSTINUS RENYOET\*<sup>1</sup> DAN RAYNARD CHRISTIANSON SANITO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua

<sup>2</sup>Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima: tanggal 27 Desember 2010 - Disetujui: tanggal 15 Maret 2011

© 2011 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

### ABSTRACT

This study aim to determine the teratogens effect of jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) roots extract on the reproductive system of mice (*Mus musculus* L.) female Swiss Webster organogenesis during pregnancy. The method used in this study is the method of extraction and examination of vaginal smears.. The experiment was conducted in August-December 2010, at the Laboratory of Zoology, Department of Biology Cenderawasih University, Jayapura. The Experiment was carried out by dividing the 20 female mice into 4 groups. One group is a control group and with no treatment and the other 3 groups were treated with oral treatments.. The results obtained in the qualitative descriptive analysis. It could be concluded that ethanol extract of jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) roots cause of accidental poisoning in mice, embryotoxic and causes the effects of teratogens.

**Key words:** Jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl), teratogens effect, mice (*Mus musculus* L.).

### PENDAHULUAN

Pemanfaatan bahan alam berupa penggunaan tumbuhan sebagai obat herbal telah lama diketahui dan dilakukan oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu cara untuk mengatasi gangguan kesehatan. Mengingat biaya pengobatan yang semakin mahal, banyak masyarakat Indonesia yang kembali memanfaatkan bahan alam berupa tumbuhan berkhasiat obat untuk pengobatan berbagai macam penyakit (Wijayakusuma, 2008).

Salah satu jenis tumbuhan yang biasa dimanfaatkan secara tradisional adalah jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) (Heyne, 1987).

Menurut Dalimartha (2000) tumbuhan dari Famili Verbenaceae ini mengandung berbagai senyawa aktif seperti glikosida, flavonoid dan alkaloid. Kandungan spesifik senyawa *alkaloid* biasanya dalam bentuk betain, achyranthoside E & F, *flavonoid* dalam bentuk polifenol, alfaspinasterol, betasitosterol, crysophanol, dibutyl phthalate, asam palmitat, alfa-spinasterol-3-beta-D glikosida (Anonim, 2009).

Pengobatan dengan menggunakan tumbuhan jarong telah diketahui baik secara tradisional maupun ilmiah. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sada (2009), secara tradisional masyarakat yang tinggal di Kampung Nansofri Distrik Supiori Utara, Kabupaten Supiori, Papua memanfaatkan air hasil rebusan akar jarong (*S. jamaicensis*) untuk mengobati keputihan dan membersihkan kandungan. Secara ilmiah, senyawa aktif dari tumbuhan ini mempunyai efek antimitosis sehingga memiliki peranan penting dalam pengobatan kanker. Efek herbal dari tumbuhan ini antara lain sebagai peluruh air seni

\*Alamat Korespondensi:

PS. Pendidikan Biologi Lt.1., Kampus MIPA Uncen,  
Jln. Kamp Wolker, Kampus Baru UNCEN-WAENA,  
Jayapura Papua. 99358, Telp. (0967) 572116.  
email: arenyoet@yahoo.com

dan haid, melancarkan darah, antiinflamasi, hemostatik, memperkuat organ-organ pengolah racun tubuh seperti hati dan ginjal, serta bersifat abortus sehingga ibu hamil dilarang untuk mengkonsumsinya (Anonim, 2009). Dilain pihak, kebanyakan ibu-ibu hamil berusaha menghindari obat-obat kimia dan lebih memanfaatkan tumbuhan obat tradisional yang berkhasiat sebagai obat.

Berdasarkan uraian di atas maka, perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* untuk mempelajari efek dari tumbuhan ini pada sistem reproduksi karena tumbuhan ini bersifat abortus pada ibu hamil. Selain itu, perlu juga diselidiki apakah terjadi cacat morfologik dan kelainan fungsi pada fetus saat masa organogenesis kehamilan mengingat tumbuhan jarong masih banyak dikonsumsi oleh masyarakat secara tradisional. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek teratogen pemberian ekstrak akar jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) terhadap sistem reproduksi mencit (*Mus musculus* L.) betina galur Swiss Webster pada masa organogenesis kehamilan.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama 5 bulan yaitu dari bulan Agustus hingga Desember 2010 bertempat di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura.

### Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*M. musculus*) galur Swiss Webster berbulu putih dengan berat badan  $\pm$  25-31 g, berumur 2-3 bulan yang diperoleh dari hasil ternak pada Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi Universitas Cenderawasih. Mencit jantan dan betina dipelihara terpisah di dalam kandang (panjang  $\pm$  24-26 cm, lebar  $\pm$  14-19 cm, tinggi  $\pm$  9,5 - 10 cm) dengan alas yang terbuat dari serbuk kayu. Pakan yang diberikan berupa pakan babi cp 551/552 (PT Chaeron Pokpahand, Indonesia), sedangkan air

minum yang diberikan adalah air putih biasa atau aquadest secara *ad-libitum*. Mencit betina diberikan penerangan dengan lampu selama  $\pm$  15 jam yakni dari pukul 18.00 sore sampai dengan pukul 08.00 pagi.

### Dosis Perlakuan

Tumbuhan yang digunakan adalah akar jarong (*S. jamaicensis*). Untuk melarutkan zat aktif dalam akar digunakan pelarut etanol 96%, dengan metode ekstraksi yang menggunakan teknik *soxhletasi*.

Sebanyak 267 gram akar jarong diekstraksi dengan menggunakan 2,8 liter pelarut etanol 96% menggunakan alat soxhlet selama 4 jam agar waktu kontak pelarut dengan sampel berlangsung lama. Filtrat yang didapatkan dipekatkan kembali dengan menggunakan soxhlet sehingga etanol dengan ekstraknya dapat terpisah. Selanjutnya ekstrak etanol diuapkan di atas cawan porselin yang diletakkan di atas gelas beker berisi air yang dipanaskan dengan menggunakan *hotplate* sehingga etanol menguap sempurna. Ekstrak yang didapat di simpan dan siap untuk digunakan.

Dosis yang dipakai pada penelitian dihitung berdasarkan pemakaian herba kering akar jarong oleh manusia dengan berat badan 50 kg (Dalimartha, 2000 dalam Wibowo, 2008). Konversi tabel dosis berat badan manusia (70 kg) terhadap mencit (20 gram) adalah  $0,0026$  (Harmita & Radji, 2008). Pemakaian untuk konsumsi manusia dikonversikan pada mencit 20 gram dengan faktor konversi  $0,0026 = 70 \times 0,0026 = 0,182 \text{ gram} / 20 \text{ g} = 0,0091 \text{ g/kgBB} = 9,1 \text{ mg/kgBB}$ . Selanjutnya dibuat variasi dosis dengan ukuran rendah yaitu 4,6 mg/kgBB dan dosis tinggi yaitu 91 mg/kgBB.

Pada penelitian ini pembagian kelompok perlakuan dosis adalah sebagai berikut:

1. Kelompok I (J0) yaitu kontrol tanpa perlakuan.
2. Kelompok II (J1) diberi ekstrak etanol akar jarong dosis 4,6 mg/kgBB.
3. Kelompok III (J2) diberi ekstrak etanol akar jarong 9,1 mg/kgBB.
4. Kelompok IV (J3) diberi ekstrak etanol akar jarong dosis 91 mg/kgBB.

Pemberian dosis dilakukan terhadap 5 ekor mencit betina yang hamil pada tiap kelompok. Semua pemberian dilakukan pada masa kritis kehamilan yaitu pada hari keenam sampai pada hari kelima belas kehamilan secara oral dengan menggunakan gavage sebanyak 0,2 ml. Induk mencit dipuaskan selama tiga jam sebelum diberikan sediaan uji tetapi air tetap diberikan. Jika selama pemberian ekstrak terdapat induk mencit yang mengalami aborsi ataupun kematian, maka mencit akan langsung dilakukan pembedahan untuk diperiksa uterus dan embrionya.

### Pengamatan Fetus

Pada hari ke-18 atau hari ke-19 seluruh induk mencit (kelompok pembandingan dan perlakuan) dibunuh dengan cara diskolasi leher. Selanjutnya dilakukan laparotomi untuk mengeluarkan fetusnya. Pada jarak 1,5-2 cm dari lubang vagina, dilakukan pembedahan sepanjang kurang lebih 2 cm, mula-mula bagian kulit saja, kemudian baru otot abdomen.

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah fetus hidup yang terdapat pada uterus kanan dan kiri, kematian intrauterus, jumlah resorpsi, panjang dan berat fetus. Untuk memastikan embrio yang diresorpsi, uterus ditetesi dengan larutan amonium sulfat 10% selama 10 menit lalu dibilas dengan air mengalir, kemudian ditetesi dengan larutan asam hidroklorid 1% dan larutan potasium ferisianid 2% yang ditandai dengan bintik hitam pada uterus (Taylor, 1986 dalam Sabri dkk, 2006). Fetus hidup dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% (Santoso, 2006).

Sebagian fetus yang dikeluarkan kemudian dilakukan pewarnaan rangka menggunakan alizarin red S menurut modifikasi dari Taylor (1986) dan Conn (1960) dalam Machmudin (1992), dengan tujuan untuk mengamati kelainan pada kerangka (skeleton). Selanjutnya sisa fetus lainnya difiksasi dalam larutan bouin selama kurang lebih dua minggu, kemudian dipindahkan ke dalam larutan alkohol 70%. Selanjutnya, dilakukan penyayatan pada bagian kepala dengan menggunakan silet untuk melihat adanya kelainan morfologi berupa langit-langit mulut (*cleft palate*),

telinga, mata, dan bibir (Taylor 1986 dalam Machmudin 1992).

### Analisis Data

Data penampilan reproduksi mencit yang diambil meliputi jumlah fetus hidup yang terdapat pada uterus kanan dan kiri, kematian intrauterus dan jumlah resorpsi. Panjang dan berat fetus dianalisis secara deskriptif kualitatif. Perhitungan persentase embrio yang mengalami resorpsi, fetus mati, atau kematian intrauterus menurut Peniati (1994):

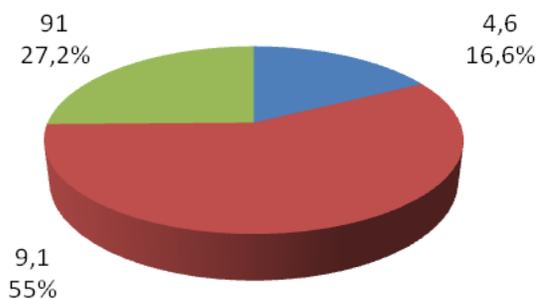
$$\frac{\Sigma [(Jumlah\ A / Jumlah\ Implantasi)\ Tiap\ Induk]}{Jumlah\ Induk} \times 100\%$$

Dimana:

A = Embrio yang diresorpsi, fetus mati, atau kematian intrauterus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak akar jarong dengan kelompok perlakuan dosis 4,6; 9,1; dan 91 mg/kgBB secara *gavage* memberikan dampak keracunan yang cenderung meningkat seiring pertambahan dosis terhadap induk mencit dibandingkan dengan kontrol. Pemberian ekstrak etanol akar jarong dengan tiga tingkatan dosis yang berbeda tersebut menunjukkan gejala-gejala keracunan pada induk mencit seperti pernapasan dengan perut yang cepat, mencit menjadi lebih pasif dalam bergerak, tidak mampu bergerak dengan empat kaki atau tungkai depan, eksoftalmus (mata memerah), ingin memuntahkan ekstrak tersebut setelah di *gavage*, hilang



Gambar 1. Persentase terjadinya resorpsi pada mencit setelah perlakuan pemberian ekstrak akar jarong.



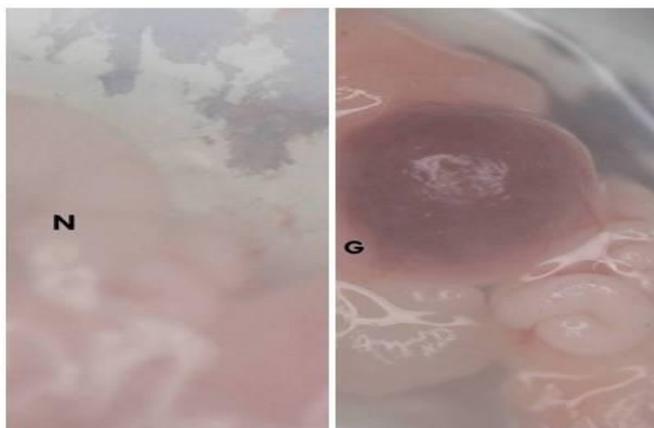
Gambar 2. Kondisi uterus induk mencit. a. Umur kehamilan kesembilan belas tanpa perlakuan (Kontrol). N menunjukkan kondisi normal pada fetus dimana tidak terjadi resorpsi pada fetus mencit. b. Umur kehamilan 9 hari dengan perlakuan dosis 4,6 mg/kgBB. Tampak adanya resorpsi pada uterus (R) dan (N). c. Umur kehamilan 10 hari dengan perlakuan dosis 9,1 mg/kgBB. Tampak kejadian resorpsi (R) yang terdapat diantara embrio yang terimplantasi dan (N) adalah embrio normal (Zoom:  $\times 2,7$ - $\times 4,0$ , Focal Length: 15,8 mm). d. Umur kehamilan 7 hari dengan perlakuan dosis 91 mg/kgBB. Tampak resorpsi pada uterus (R) dengan implantasi berjarak pada uterus kanan (J)(zoom:  $\times 2,7$ - $\times 4,0$ , focal length: 12.33 mm).

keseimbangan, kejang tonik maupun konik dan menimbulkan kematian.

#### **Pengaruh Ekstrak Akar Jarong terhadap Penampilan Reproduksi Induk Mencit**

Hasil laparatomi diketahui bahwa jumlah kejadian resorpsi pada embrio mencit meningkat dengan pemberian dosis menengah yakni 9,1 mg/kgBB pada hari kehamilan kesepuluh dan cenderung menurun pada dosis rendah 4,6 mg/kgBB pada hari kehamilan ke 9 serta dosis 91 mg/kgBB pada hari kehamilan ke 7 dibandingkan dengan kontrol.

Pemberian dosis ekstrak 9,1 mg/kgBB cenderung meningkatkan frekuensi terjadinya resorpsi pada mencit sangat nyata sebesar 55% seiring dengan pemberian dosis secara berulang-ulang (4 kali sampai pada kehamilan hari ke-10), namun cenderung menurun pada dosis tinggi sebesar 27,2% (2 kali sampai pada kehamilan hari ke-7) dan dosis rendah sebesar 16,6% (4 kali sampai pada kehamilan hari ke-9). Semua perlakuan cenderung memperlihatkan pengaruh yang nyata jika dibandingkan dengan kontrol(gambar 1).



Gambar 3. Kondisi ovarium induk mencit yang diberi dosis 4,6 mg/kgbb sebanyak 4 kali sejak diperkirakan hamil dari hari keenam. Tampak N adalah ovarium normal dan G adalah ovarium yang diduga mengalami endometriosis atau kemungkinan tumbuhnya benjolan (jaringan) akibat kelainan metabolisme (magnifikasi 230x).

Jumlah resorpsi yang terjadi pada dosis tinggi (27,2%) dan dosis rendah (16,6%) lebih rendah dari pada mencit dengan dosis menengah (55%) kemungkinan disebabkan karena pada mencit yang diberikan dengan dosis tinggi dan rendah mati terlebih dahulu dari pada mencit dengan dosis pemberian menengah, sehingga metabolisme yang terjadi pada induk dengan pemberian dosis tinggi lebih singkat dari pada dosis menengah, akibatnya jumlah resorpsi yang teramati juga lebih sedikit. Kejadian resorpsi pada uterus kemungkinan disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol akar jarong sehingga menimbulkan efek embriotoksik. Kejadian resorpsi pada embrio mencit kemungkinan disebabkan oleh senyawa kimia yang terdapat pada akar tumbuhan jarong dapat menembus sawar plasenta, namun belum diketahui senyawa apa yang secara spesifik menyebabkan resorpsi.

Pada induk mencit yang diberikan perlakuan dengan dosis 91 mg/kgBB (27,2%), terdapat kejadian implantasi berjarak pada uterusan dimana terdapat 2 embrio yang terimplantasi pada uterus tetapi berjarak dengan embrio lainnya dalam satu uterus. Hal ini berbeda dengan kontrol yang nampak normal, namun mekanisme kejadian ini belum diketahui.

Menurut Lu (1995), pada tahap pra-diferensiasi embrio tidak rentan terhadap senyawa teratogen. Menurut Arifin *et al.*, (2007) bila terjadi efek yang agak berbahaya, sel yang masih hidup memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan jaringan yang terjadi dan membentuk embrio normal. Periode ini umumnya berlangsung pada hari pertama sampai hari kelima kehamilan. Pada penelitian ini, ekstrak etanol akar jarong dengan berbagai dosis yang ditentukan diberikan secara gavage mulai hari kehamilan keenam sampai kelima belas karena hari tersebut merupakan periode kritis kehamilan pada mencit. tetapi banyak induk mencit yang mati pada hari kehamilan ketujuh, kesembilan, kesepuluh dan setelah dibedah terdapat embrio yang diresorpsi dan implantasi berjarak pada uterus. Hal ini menurut Lu (1995) dan Almahdi (1990) kemungkinan disebabkan oleh rentannya embrio terhadap senyawa teratogen yang diberikan karena pada saat fase organogenesis sel mengalami diferensiasi, mobilisasi, organisasi dan tidak mampu memperbaiki kerusakan jaringan.

Wilson & Warkanay (1995), mengemukakan beberapa faktor seperti penggunaan senyawa kimia, pemilihan dosis, sensitivitas terhadap cedera janin selama kehamilan yang disebabkan oleh pemberian suatu senyawa pada tahap perkembangan embrio, mengakibatkan kerentanan diferensial, cedera molekuler, sel, jaringan dan organ sehingga menimbulkan efek teratogen. Faktor-faktor tersebut kemungkinan menyebabkan terjadinya kelainan pada uterus dan embrio seperti implantasi berjarak dan resorpsi. Menurut Machmudin (1992), peranan peracunan induk belum begitu jelas. Namun dijelaskan bahwa hampir semua senyawa kimia yang diberikan pada dosis tinggi dapat mengubah keseimbangan fisiologis induk, sehingga akan memberikan pengaruh yang buruk terhadap perkembangan embrio atau fetus.

Pada mencit yang diberi perlakuan dosis 4,6 mg/kgBB setelah dibedah namun tidak mengalami kebuntingan, terdapat kelainan pada ovarium berupa gumpalan darah yang berwarna merah tua, berukuran cukup besar, dan berada di luar ovarium. Kejadian ini ditemukan pada dua

pasang ovarium dan pada seekor induk mencit yang setelah dibedah juga tidak mengalami kebuntingan, tetapi ukurannya tidak terlalu besar. Gumpalan darah ini kemungkinan adalah endometriosis.

Endometriosis merupakan suatu penyakit dimana bercak-bercak jaringan endometrium tumbuh di luar rahim seperti pada ovarium, ligamen penyokong rahim, usus halus, usus besar, kandung kemih, vagina, jaringan perut dan terkadang pada paru-paru (Nalbandove, 1990; Anonim, 2011) atau kemungkinan lain adalah tumbuhnya benjolan/jaringan yang disebabkan oleh gangguan metabolisme pada pembuluh darah pada ovarium, namun belum bisa dipastikan apakah hal ini disebabkan oleh pengaruh ekstrak akar jarong yang diberikan karena penyebab endometriosis.

### Pengaruh Ekstrak Akar Jarong terhadap Perkembangan Fetus Mencit

Lufri (1990) dalam Machmudin (1992), menyatakan bahwa penulangan supraoksipital pada mencit galur Swiss-Webster dimulai pada hari kehamilan keenam belas, penulangan frontal dan parietal dimulai pada hari kehamilan keempat belas, dan penulangan interparietal dimulai pada hari kehamilan kelima belas.

Menurut Setyawati (2006) dan Widyani & Sagi (2001), beberapa parameter seperti morfologi fetus dan perkembangan skeleton mestinya dilakukan, namun dalam penelitian ini tidak dapat dilakukan karena induk mencit banyak yang mati sebelum hari kebuntingan ke-14. Matinya induk mencit lebih cepat mengakibatkan embrio yang berkembang belum sempurna sehingga sangat sulit jika dilakukan pengamatan terhadap morfologi dan perkembangan skeleton fetus.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak akar jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) pada dosis 4,6; 9,1; dan 91 mg/kgBB menyebabkan keracunan pada induk mencit,

bersifat embriotoksik dan menyebabkan efek teratogen.

2. Ekstrak akar jarong dengan dosis 91 mg/kgBB dapat menyebabkan implantasi berjarak pada uterus mencit, sedangkan dengan dosis 4,6 mg/kgBB kemungkinan dapat menyebabkan munculnya endometriosis dan kemungkinan lain adalah benjolan atau jaringan pada ovarium mencit. Walaupun mekanisme terjadinya endometriosis serta jaringan tersebut belum diketahui secara pasti.

## DAFTAR PUSTAKA

- Almahdi, A., 1990. Studi Teratogenitas Ekstrak Kayu Kasai (*Tristania sumatrana* Miq.) Terhadap Mencit Secara Makroskopis. [Tesis] Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Anonim. 2009. Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah dan Cara Racik Vol 8, Redaksi Trubus, Depok.
- Anonim., 2010. Obat Tradisional (Online) <http://id.wikipedia.org/wiki/Endometriosis> diakses 18 Januari 2011.
- Anonim., 2011. Endometriosis (Online) <http://id.wikipedia.org/wiki/Endometriosis> diakses 18 Januari 2011.
- Arifin, H., V. Delvita., A. Almahdy., 2007. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Fetus pada Mencit Diabetes, Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Universitas Andalas, Padang.
- Bekyurek, T., N. Liman., dan G. Bayram., 2002. Diagnosis of Sexual Cycle by Means of Vaginal Smear Method in the Chinchilla (*Chinchilla lanigera*). Journal of Laboratory Animal, Turki.
- Dalimartha, S. 2000. Atlas Tumbuhan Obat Jilid 2, Trubus Agrimedia, Jakarta.
- Harmita dan M. Radji, 2008. Buku Ajar Analisis Hayati, Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Heyne, K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid 3, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Lu, F.C., 1995. Toksikologi Dasar Asas : Organ, Sasaran, dan Penilaian Risiko. Edisi kedua. Alih bahasa oleh E. Nugroho. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Machmudin, D., 1992. Pengaruh T2 Toksin Terhadap Induk dan Perkembangan Pra Lahir Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster. [Tesis] Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Najamudin., Rusdin., Sriyanto., Amrozi., S. Agung Priyono, dan T.L. Yusuf., 2010. Penentuan Siklus Estrus Pada Kancil (*Tragulus javanicus*) berdasarkan Perubahan Sitologi Vagina. *Jurnal Veteriner*. 11(2): 96-102.

- Nalbandov, A.V., 1990. Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas, Penerbit Universitas Indonesia (UI Press), Jakarta.
- Peniati, E., 1994. Pengaruh Kombinasi Etilenatiourea dan Natrium Nitrit Terhadap Perkembangan Pralahir Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster Albino. [Tesis] Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sabri, E., D. Supriharti., G.E. Utama., 2006. Efek Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) Terhadap Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus L.*) Strain DDW Selama Periode Praimplantasi Hingga Organogenesis. Jurnal Biologi Sumatera, Departemen Biologi FMIPA Univeristas Sumatera Utara, Medan.
- Sada, J.T., 2009. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional Di Kampung Nansofri Distrik Supiori Utara Kabupaten Supiori. [Skripsi] Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih. Jayapura.
- Santoso, H.B., 2006. Pengaruh Kafein Terhadap Penampilan Reproduksi dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus L.*) Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. (Online) [http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/kafein-20reproduksi%20\\_sdh\\_%20rtf.pdf\(online\)](http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/kafein-20reproduksi%20_sdh_%20rtf.pdf(online)).
- Setyawati, I., 2006. Perkembangan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness). Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana (Online). [http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/mencit%20sambiloto%20iriani%20\\_sdh\\_%20](http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/mencit%20sambiloto%20iriani%20_sdh_%20). Diakses 26 Juli 2010.
- Wibowo, B. 2008. Pecut Kuda Sebagai Obat Radang Tenggorokan Batuk KeputihanHepatitis (Online) <http://benyaliwibowo.wordpress.com/2008/03/15/pecut-kuda-sebagai-obat-radang-tenggorokan-batuk-keputihan-hepatitis-a/#more-153> diakses 10 Agustus 2010.
- Widiyani, T dan M. Sagi. 2001. Pengaruh Aflatoksin B<sub>1</sub> Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio dan Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus L.*). *Teknosains* 14(3): 367-378.
- Wijayakusuma, H., 2008. Ramuan Lengkap Herbal Taklukkan Penyakit. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Wilson, J.G., dan J.G. Warkanay., 1965. Teratology Principles and Techniques. University of Chicago Press. Chicago.