

Review

Toksisitas Perkembangan Ekstrak Daun Torbangun: Pengaruhnya terhadap Persentase Kematian dan Keterlambatan Osifikasi Fetus Mencit

Developmental Toxicity of Torbangun Leaves Extract: Effects on Mouse Fetal Death and Late Ossification

Elma Alfiah^{1*}, Rizal Damanik², Katrin Roosita², Mokhammad Fahrudin³

¹Program Studi Gizi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Al Azhar Indonesia, 12110.

²Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor, 16680.

³Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, 16680.

*Penulis untuk korespondensi: elmataukhid@gmail.com

Diterima 10 Maret 2020, Disetujui 16 September 2020

ABSTRAK

Daun torbangun (*Coleus amboinicus* Lour.) memiliki berbagai manfaat dalam meningkatkan kesehatan manusia, namun belum terdapat penelitian yang memberikan informasi mengenai keamanan penggunaan daun torbangun pada masa kehamilan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak daun torbangun pada masa kebuntingan mencit terhadap perkembangan fetus yang digambarkan dengan kematian sebelum dan setelah implantasi, serta keterlambatan osifikasi rangka pada fetus mencit. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit betina bunting yang diberikan ekstrak daun torbangun dari hari pertama hingga hari ke-18 kebuntingan. Dosis yang diberikan adalah sebanyak 0; 0.56; 1.68; dan 3.36 g/kg berat badan. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak dengan dosis 3.36 g/kg BB menunjukkan perbedaan dalam peningkatan jumlah kematian sebelum dan setelah implantasi ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pemberian ekstrak dengan dosis minimum 0.56 g/kg BB dapat menyebabkan keterlambatan osifikasi pada fetus. Persentase fetus dengan keterlambatan osifikasi meningkat seiring dengan penambahan dosis. Konsumsi ekstrak daun torbangun pada masa kehamilan perlu dihindari karena berpotensi menyebabkan efek samping berupa kematian dan keterlambatan osifikasi pada fetus.

Kata kunci: ekstrak etanol, kehamilan, rangka, teratogenik, torbangun

ABSTRACT

The torbangun leaves (*Coleus amboinicus* Lour.) have various benefits for human health, however, the study about its safety on pregnant women has not been done. The purpose of this study was to evaluate the effect of ethanol extract from torbangun leaves administration on mouse development such as before and after implantation death and late ossification of the fetuses. This research used 24 female pregnant mouse that were administered torbangun leaves extract orally at dose level of 0; 0.56; 1.68 dan 3.36 g/kg body weight. The extract was given from the first day until eighteenth day of pregnancy. The oral administration of 3.36 g/kg BW showed the significant differences on number of before and after implantation deaths. A minimum dose of 0.56 g/kg BW caused a delay on fetal ossification. The percentage of fetuses with delayed ossification increased as the elevation of the dosage. The torbangun leaves extract consumption on pregnancy should be avoided because its potency to cause fetal death and fetal late ossification.

Keywords: ethanol extract, pregnancy, skeleton, teratogenic, torbangun

PENDAHULUAN

Konsumsi bagian dari tanaman (daun, batang, akar, dan bunga) untuk mencegah dan mengatasi masalah kesehatan banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia sebagai bagian dari tradisi. Pemetaan yang dilakukan oleh WHO (2005) menunjukkan bahwa hampir seluruh wilayah Indonesia masuk ke dalam kategori tinggi dalam memanfaatkan pengobatan dengan menggunakan tanaman. Tingginya penggunaan produk tanaman untuk kesehatan mengharuskan tenaga kesehatan dan konsumen untuk mengetahui kegunaan, efikasi, dan efek samping yang dapat ditimbulkan dari produk ini.

Standar pelayanan kesehatan konvensional pada dasarnya tidak menganjurkan penggunaan tanaman yang belum jelas keamanannya untuk ibu hamil, namun mengingat pentingnya penggunaan pengobatan berbasis tanaman di masyarakat, informasi mengenai manfaat dan keamanan tanaman secara keseluruhan perlu dikaji dan disosialisasikan dengan baik (Johns & Sibeko, 2003).

Daun torbangun (*Coleus amboinicus* Lour.) adalah salah satu tanaman yang memiliki kemampuan dalam meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui (Damanik et al., 2006). Rout et al. (2012) menyatakan bahwa tanaman torbangun terbukti memiliki kemampuan lainnya seperti antitumor, antimikroba, antifungal, antioksidan, anti epilepsi, menurunkan tekanan darah pada pasien penyakit jantung, anti-influenza, dan lain-lain. Banyaknya publikasi ilmiah yang menggali manfaat daun torbangun dapat meningkatkan peluang pemanfaatan tanaman ini oleh semua kelompok masyarakat, diantaranya adalah ibu hamil. Akan tetapi, belum terdapat penelitian yang memberikan informasi tentang keamanan penggunaan daun torbangun pada masa kehamilan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak daun torbangun pada masa kebuntingan mencit terhadap perkembangan fetus terutama pada kejadian kematian sebelum dan setelah implantasi, serta keterlambatan osifikasi rangka pada fetus mencit.

BAHAN DAN METODE

Bahan intervensi yang digunakan di dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% dari daun *Coleus amboinicus* Lour. (torbangun) yang telah diidentifikasi oleh PKT Kebun Raya LIPI. Pembuatan ekstrak etanol daun torbangun diawali dengan proses pengeringan daun dengan menggunakan *freeze dryer* (ScanVac, Labogene, H 1115 0023) selama 52 jam,

kemudian daun kering dihaluskan. Perendaman daun torbangun di dalam etanol 96% dilakukan dengan perbandingan 1:10. Larutan disaring dengan menggunakan kertas Whatman 41 hingga ampas daun terpisah. Proses perendaman dan penyaringan dilakukan sebanyak 5 kali pada ampas daun yang telah disaring sebelumnya. Pelarut etanol diuapkan dengan menggunakan *vacuum evaporator* dengan suhu 50°C.

Hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor mencit betina sehat (*Mus musculus* DDY) berusia 8-11 minggu, dan 8 mencit jantan berusia ≥ 12 minggu yang digunakan untuk proses perkawinan. Proses perkawinan dilakukan dengan mencampurkan 1-3 betina dalam fase proestrus/estrus dengan 1 jantan dalam 1 kandang yang sama. Hari ditemukannya *vaginal plug* atau sperma pada ulasan vagina di pagi hari ditetapkan sebagai hari ke-1 kebuntingan.

Perlakuan Hewan Coba

Pemberian ekstrak daun torbangun dilakukan dengan metode pencekakan mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-18 kebuntingan dengan dosis sebanyak 0 (Perlakuan 0); 0.56 (Perlakuan 1); 1.68 (Perlakuan 2); dan 3.36 (Perlakuan 3) g/kg berat badan mencit. Ekstrak daun torbangun dilarutkan dalam larutan Polisorbat 80 [1%] sebagai pengemulsi untuk mempermudah proses pencekakan. Kelompok Perlakuan 0 hanya diberikan larutan polisorbat 80 [1%].

Mencit dikorbankan pada hari ke-18 kebuntingan dengan metode eksanguinasi, setelah itu dilakukan proses pembedahan dan pengamatan jumlah fetus mati. Tingkat kematian embrio sebelum implantasi ditentukan dengan rumus sebagai berikut: (Jumlah korporea lutea - implantasi) / jumlah korporea lutea $\times 100\%$. Tingkat kematian setelah implantasi ditentukan dengan rumus sebagai berikut: (Jumlah implantasi - fetus hidup) / jumlah implantasi $\times 100\%$.

Pemeriksaan rangka fetus dilakukan pada setengah dari jumlah fetus yang diperoleh dari kebuntingan (Hood, 2006). Fetus pada awalnya dieviserasi kemudian direndam dalam etanol 96% selama satu malam untuk persiapan pewarnaan. Fetus dalam etanol dicuci dengan menggunakan aquades pada hari berikutnya, kemudian diganti dengan potasium hidroksida (KOH) 1% dan didiamkan selama 24 jam hingga tubuh fetus menjadi bening. Setelah itu, fetus direndam ke dalam larutan Alizarin merah S (Merck, C.I.58005) dalam larutan KOH 1% selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan diganti dengan larutan KOH 1% dan gliserin dengan perbandingan 3:1, kemudian larutan KOH 1% dan gliserin dengan perbandingan 1:1,

dan yang terakhir dalam larutan KOH 1% dan gliserin dengan perbandingan 1:3 dengan lama perendaman pada masing-masing larutan adalah 24 jam. Rangka *fetus* kemudian disimpan dalam larutan gliserin murni.

Analisis Data

Hasil pengamatan rangka dijelaskan dalam uraian deskriptif, sedangkan data kematian *fetus* diolah dengan menggunakan Microsoft Excel 2013 dan dianalisis dengan metode sidik ragam (ANOVA), serta uji lanjutan Duncan Multiple Range Test (DMRT) menggunakan SPSS version 21.0 for Windows.

HASIL

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Torbangun terhadap Kematian *Fetus*

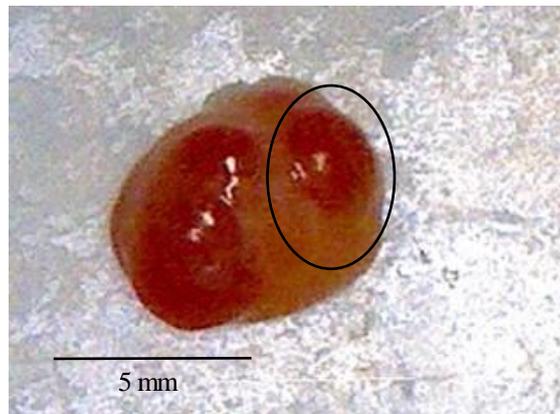
Hasil pengamatan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa korpora lutea memiliki warna kemerah-merahan dengan bentuk membulat (Gambar 1). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($P > 0.05$)

pada seluruh kelompok perlakuan dalam parameter jumlah korpora lutea dalam kebuntingan yang dihasilkan dari perkawinan (Tabel 1).

Seiring dengan peningkatan pemberian dosis ekstrak daun torbangun, terjadi penurunan rerata jumlah implantasi pada kelompok Perlakuan 3 dibandingkan dengan kelompok Perlakuan 0 ($P < 0.05$). Data jumlah implantasi pada seluruh kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Persentase tingkat kematian sebelum implantasi pada kelompok Perlakuan 3 secara signifikan berbeda nyata dengan seluruh kelompok perlakuan lainnya ($P < 0.05$). Kelompok Perlakuan 3 memiliki persentase kematian sebelum implantasi yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya (Tabel 1).

Kematian setelah implantasi dapat dilihat dengan keberadaan *fetus* mati di dalam uterus, baik yang belum ataupun sudah diresorpsi. Kejadian resorpsi atau penyerapan kembali hasil konsepsi pada tahap perkembangan awal ditandai dengan keberadaan sisa *fetus* yang bentuknya sudah tidak dapat diidentifikasi (Gambar 2). Kelompok perlakuan 3 memiliki persentase tingkat kematian setelah implantasi yang tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok



Gambar 1 Korpora lutea dalam ovarium induk, pada hari ke-18 kebuntingan

Tabel 1 Jumlah korpora lutea, implantasi, serta kematian *fetus* sebelum dan sesudah implantasi (%) menurut kelompok perlakuan, pada hari ke-18 kebuntingan

Kelompok	Jumlah korpora lutea	Jumlah implantasi	Kematian sebelum implantasi (%)	Kematian setelah implantasi (%)
Perlakuan 0	11,7±0,5 ^a	11,6±0,6 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
Perlakuan 1	11,3±2,0 ^a	11,2±2,2 ^a	1,8±4,5 ^a	1,3±3,1 ^a
Perlakuan 2	11,8±3,31 ^a	11,0±3,7 ^a	2,7±4,4 ^a	5,6±4,8 ^a
Perlakuan 3	11,0±0,9 ^a	8,0±3,3 ^b	26,4±26,3 ^b	56,2±41,7 ^b

Keterangan: Nilai rerata dengan huruf superscript yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan hasil uji lanjut Anova yang berbeda nyata ($P < 0.05$).

perlakuan lainnya. Sebanyak $56.2 \pm 41.7\%$ fetus dalam kelompok Perlakuan 3 tidak dapat bertahan hidup setelah implantasi (Tabel 1).

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Torbangun terhadap Rangka Fetus

Pengamatan rangka pada fetus tidak dapat dilakukan pada fetus mati yang sudah diresorpsi dan berukuran sangat kecil. Pengamatan perkembangan fetus dengan Alizarin merah S memberikan gambaran bahwa jumlah fetus yang mengalami keterlambatan osifikasi meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak daun torbangun (Tabel 2).

Keterlambatan osifikasi rangka tengkorak pada kelompok Perlakuan 1, 2, dan 3 terjadi pada tulang

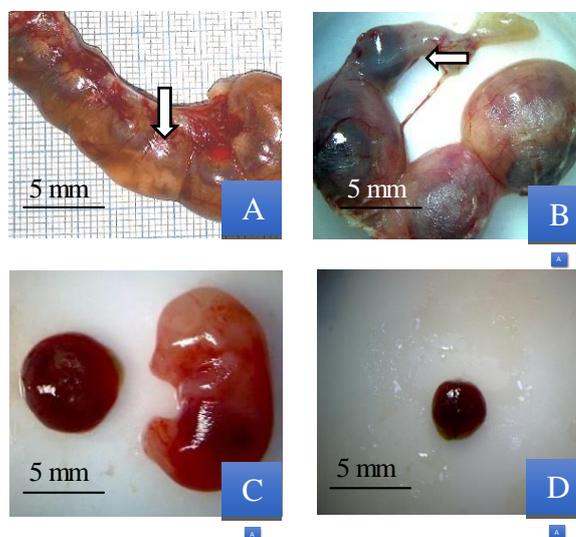
supraoksipital dan sternebra nomor 5. Sebagian fetus kelompok Perlakuan 3 (sebanyak 6 dari 13 fetus yang diamati) juga mengalami keterlambatan osifikasi pada seluruh susunan tengkorak dan sternebra nomor 1-6.

Osifikasi falang anggota gerak belakang pada sebagian kelompok perlakuan 0 belum terjadi secara sempurna, namun pada kelompok Perlakuan 1, 2, dan 3 keterlambatan osifikasi falang juga terjadi pada anggota gerak depan. Sebagian fetus pada kelompok Perlakuan 3 (sebanyak 6 dari 13 fetus yang diamati) juga mengalami keterlambatan osifikasi pada beberapa susunan tulang lainnya, seperti tulang humerus, klavikula, dan metakarpal, serta ilium, ischium, dan metatarsal. Penampakan keterlambatan osifikasi pada kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 3.

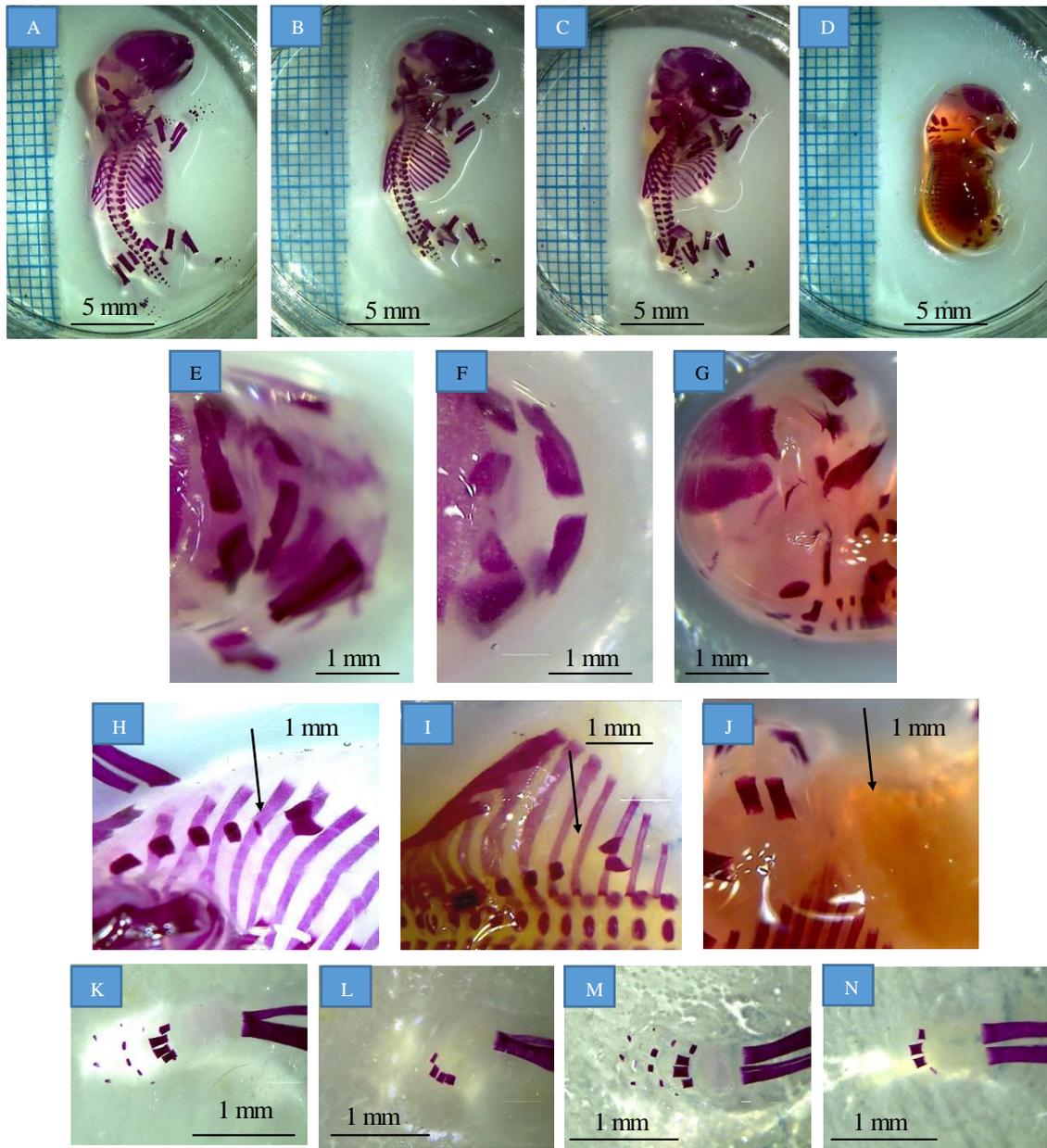
Tabel 2 Jumlah fetus yang mengalami keterlambatan osifikasi berdasarkan kelompok perlakuan, pada hari ke-18 kebuntingan.

Kelompok	Jumlah implantasi	Jumlah fetus yang diamati ^a	Jumlah fetus dengan keterlambatan osifikasi			
			Supra-oksipital	Sternebra	Falang anggota gerak depan	Falang anggota gerak belakang
Perlakuan 0	70	36	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	12 (33%)
Perlakuan 1	67	35	11 (31%)	4 (11%)	13 (37%)	22 (63%)
Perlakuan 2	66	32	11 (34%)	6 (19%)	17 (53%)	25 (78%)
Perlakuan 3	48	13	8 (62%)	7 (54%)	9 (69%)	12 (92%)

^aFetus mati yang sudah diresorpsi dan berukuran sangat kecil tidak dapat diamati



Gambar 2 Penampakan: (A) Uterus dengan fetus mati di dalamnya yang belum diresorpsi; (B) uterus dengan fetus mati di dalamnya yang telah diresorpsi pada tahap perkembangan awal; (C) morfologi fetus yang belum diresorpsi; (D) fetus mati yang telah diresorpsi (seluruh gambar diambil pada hari ke-18 kebuntingan pada kelompok Perlakuan 3)



Gambar 3 Rangka fetus dengan pewarnaan Alizarin: (A-D) Perlakuan 0, 1, 2, dan 3; (E) osifikasi supraoksipital normal pada Perlakuan 0; (F) keterlambatan osifikasi supraoksipital pada Perlakuan 1; (G) keterlambatan osifikasi seluruh rangka tengkorak pada Perlakuan 3; (H) osifikasi sternbra normal Perlakuan 0; (I) keterlambatan osifikasi sternbra nomor 5 pada Perlakuan 1; (J) keterlambatan osifikasi sternbra 1-6 pada Perlakuan 3; (K) osifikasi falang anggota gerak belakang normal pada Perlakuan 0; (L) keterlambatan osifikasi falang anggota gerak belakang; (M) osifikasi falang anggota gerak depan normal pada Perlakuan 0; (N) keterlambatan osifikasi falang anggota gerak depan

PEMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Torbangun terhadap Kematian Fetus

Korpora lutea merupakan organ endokrin transisi yang terbentuk dari folikel setelah mengalami ovulasi. Jumlah korpora lutea digunakan untuk menentukan

jumlah sel telur yang dikeluarkan saat terjadinya ovulasi (Hood, 2006). Rerata jumlah korpora lutea yang cenderung sama pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan bahwa jumlah potensi sel telur terfertilisasi pada seluruh kelompok adalah sama.

Peningkatan dosis ekstrak daun torbangun dapat mempengaruhi keberhasilan implantasi. Kandungan

saponin di dalam ekstrak daun torbangun berpotensi mempengaruhi proses implantasi. Dande & Patil (2012) menyatakan bahwa saponin pada tanaman *fenugreek* dapat menyebabkan kegagalan implantasi dan meningkatkan kematian *fetus* setelah implantasi.

Kegagalan implantasi dapat disebabkan oleh paparan yang diterima induk di awal masa kebuntingan. Beberapa mekanisme yang terlibat diantaranya adalah dengan mempengaruhi morfologi embrio, modifikasi jumlah hormon, dan perubahan kondisi uterus (Almeida & Lemonica, 2000).

Ishikawa et al. (2006) menyatakan bahwa variasi tingkat perkembangan dan kematian *fetus* pada mamalia dapat dipengaruhi oleh adanya toksistas embrio dan/atau plasenta, perubahan kondisi uterus, atau interaksi antara *fetus* dan maternal. Kemampuan sitotoksik daun torbangun berpotensi menyebabkan kematian *fetus* pada penelitian ini. Yakubu & Bukoye (2009) menyatakan bahwa agen sitotoksik dapat menimbulkan efek samping pada kehamilan dengan mengganggu proses pembelahan mitosis, dan dapat menyebabkan kematian pada *fetus* baik sebelum maupun setelah implantasi. Kemampuan yang sama juga ditunjukkan oleh spesies tanaman lainnya yang berasal dari genus yang sama dengan tanaman torbangun, yaitu *Plectranthus barbatus* dan *Plectranthus laxiflorus*, yang biasa digunakan sebagai abortifasien di Somalia dan Kenya (Lukhoba et al., 2006).

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Torbangun terhadap Rangka Fetus

Alizarin Red S mampu berikatan dengan kalsium yang terdapat di dalam tulang yang telah mengalami osifikasi sehingga tulang *fetus* berwarna merah. Purnomo et al. (2016) mengevaluasi keamanan pemberian daun ciplukan pada masa kebuntingan mencit. Hasil pengamatan rangka di dalam penelitian tersebut memberikan respon yang sama dengan hasil penelitian ini, dimana kelainan rangka *fetus* terjadi dalam bentuk keterlambatan osifikasi. Keterlambatan osifikasi tersebut terjadi pada tulang falang anggota gerak depan dan belakang, sternebra, vertebra, dan supraoksipital.

Carney & Kimmel (2007) menyatakan bahwa tulang oksipital, sternebra nomor 5 dan 6, dan falang adalah beberapa tulang yang umum dalam mengalami keterlambatan osifikasi. Proses osifikasi pada tulang-tulang tersebut, khususnya falang dan tulang sternebra terjadi pada bagian akhir masa kebuntingan. Osifikasi falang anggota gerak belakang pada mencit dimulai pada hari ke 17.5 dan sempurna hingga pada bagian proksimal falang pada hari ke

18.5 kebuntingan (Bolon & Ward, 2015). Pada kelompok kontrol osifikasi tulang falang masih dalam kisaran waktu normal osifikasi, namun pada kelompok perlakuan terjadi keterlambatan osifikasi yang semakin beragam sejalan dengan bertambahnya dosis ekstrak daun torbangun yang diberikan.

Pemberian ekstrak daun torbangun di dalam penelitian ini menunjukkan respon keterlambatan osifikasi yang berkaitan dengan dosis pemberian. Hal tersebut sesuai dengan Hood (2006) yang menyatakan bahwa tingkat keterlambatan osifikasi yang disebabkan oleh pengaruh paparan dapat meningkat seiring dengan penambahan dosis.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi perkembangan rangka *fetus* adalah hormon pertumbuhan, paratiroid, dan kalsitonin, sirkulasi oksigen dan zat gizi melalui plasenta, serta toksistas maternal. Zat gizi yang berperan dalam pertumbuhan rangka *fetus* adalah Vitamin D, kalsium, fosfat, dan zink (Carney & Kimmel, 2007).

Kandungan tanin di dalam ekstrak daun torbangun berpotensi mempengaruhi proses osifikasi melalui mekanisme penghambatan penyerapan unsur yang diperlukan dalam perkembangan sel tulang. Tanin dalam jumlah yang tinggi dapat mempengaruhi penyerapan protein, bioavailabilitas zink, dan kalsium (Purnomo et al., 2016; Umeta et al., 2005; Ghavidel & Prakash, 2007). Ketiga unsur tersebut berperan penting dalam proses proliferasi dan diferensiasi sel tulang *fetus*. Carney & Kimmel (2007) menyatakan bahwa masa akhir kebuntingan dikenal sebagai fase katabolik, dimana persediaan zat gizi maternal digunakan untuk mendukung perkembangan *fetus* yang terjadi dengan cepat. Defisiensi zat gizi tertentu pada masa ini dapat menyebabkan keterlambatan osifikasi pada *fetus*.

Keterlambatan osifikasi di dalam penelitian ini juga dapat disebabkan oleh kemampuan antiproliferasi yang dimiliki oleh ekstrak daun torbangun. Purnomo et al. (2016) menyatakan bahwa beberapa kandungan fitokimia di dalam tanaman seperti saponin, tanin, steroid, dan alkaloid berpotensi menghambat proses osifikasi dengan mempengaruhi aktivitas proliferasi dan diferensiasi sel tulang pada *fetus*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun torbangun dengan dosis tertinggi menunjukkan pengaruh terbesar yang berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lainnya terhadap jumlah kematian sebelum dan setelah implantasi. Pemberian ekstrak dengan dosis minimum dapat menyebabkan keterlambatan osifikasi pada *fetus*. Persentase *fetus* dengan keterlambatan osifikasi meningkat seiring dengan penambahan dosis.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida FCG, Lemonica IP. 2000. The toxic effects of *Coleus barbatus* B. on the different periods of pregnancy in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 73: 53–60.
- Bolon B, Ward JM. 2015. Anatomy and Physiology of the Developing Mouse and Placenta. In: Bolon B (eds). *Pathology of the Developing Mouse: A Systematic Approach*. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton. p39-98.
- Carney EW, Kimmel CA. 2007. Interpretation of skeletal variations for human risk assessment: delayed ossification and wavy ribs. *Birth Defects Research Part B Developmental Reproductive Toxicology* 80(6): 473-496.
- Damanik R, Wahlqvist ML, Wattanapenpaiboon N. 2006. Lactagogue effects of torbangun, a batiknese traditional cuisine. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 15 (2): 267-274.
- Dande P, Patil S. 2012. Evaluation of saponins from *Trigonella foenum graecum* Seeds for its anti-fertility activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5(3): 154-157.
- Ghavidel RA, Prakash J. 2007. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT-Food Science and Technology* 40(7): 1292-1299.
- Hood RD. 2006. *Developmental and Reproductive Toxicology: A Practical Approach*. Edited by Ronald D. Hood. 2nd Edition. CRC Press. Boca Raton. p235-251
- Ishikawa H, Seki R, Yokonishi S, Yamauchi T, Yokoyama K. 2006. Relationship between fetal weight, placental growth and litter size in mice from mid- to late-gestation. *Reproductive Toxicology* 21(3): 267-270.
- Johns T, Sibeko L. 2003. Pregnancy outcomes in women using herbal therapies. *Birth Defects Research Part B Developmental Reproductive Toxicology* 68(6): 501–504.
- Lukhoba CW, Simmonds MSJ, Paton A. 2006. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. *Journal of Ethnopharmacology* 103(1): 1-24.
- Purnomo T, Santoso LM, Riyanto. 2016. Efek teratogenik ekstrak ciplukan (*Physalis minima* Linn.) terhadap fetus mencit (*Mus musculus*) galur sub Swiss Webster. *Jurnal Pembelajaran Biologi* 3(1): 8-21.
- Rout OP, Acharya R, Mishra SK, Sahoo R. 2012. *Pathorchur (Coleus aromaticus)*: A review of the medicinal evidence for its phytochemistry and pharmacology properties. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 3(4): 348-355.
- Umeta M, West CE, Fufa H. 2005. Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(8): 803–817.
- [WHO] World Health Organization. 2005. *WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. World Health Organization. Jenewa.
- Yakubu MT, Bukoye BB. 2009. Abortifacient potentials of the aqueous extract of *Bambusa vulgaris* leaves in pregnant Dutch rabbits. *Contraception* 80(3): 308-313.