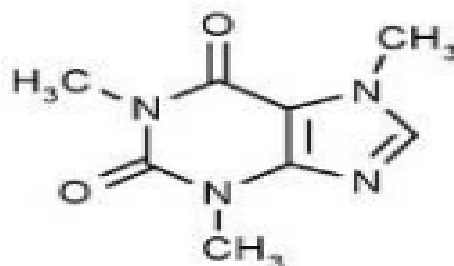


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kafein

2.1.1 Sifat Kimia Kafein



Gambar 2.1 Rumus Bangun Kafein (Reinhardt, 2009)

Kafein merupakan sejenis alkaloid heterosiklik dalam golongan *methylxanthine*, yang menurut definisi berarti senyawa organik yang mengandung nitrogen dengan struktur dua-cincin atau dual-siklik. Molekul ini secara alami terjadi dalam banyak jenis tanaman sebagai metabolik sekunder. Zat ini dihasilkan secara eksklusif dalam daun, kacang-kacangan dan buah-buahan lebih dari 60 tanaman, termasuk daun teh biasa (*Camellia sinensis*), kopi (*Coffea arabica*), kacang koko (*Theobroma cacao*), kacang kola (*Cola acuminata*) dan berbagai macam berry (Reinhardt, 2009).

Kafein dalam bentuk murni muncul sebagai bedak kristal putih yang pahit dan tidak berbau. Nama IUPAC untuk kafein selain *1,3,7 trimetil 2,6 dioksimipurin* yaitu *3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione* (Erowid, 2011).

Beberapa sifat fisik kafein:

Berat molekul : 194.19 g/mol

Densitas	: 1.23 g/cm ³ ,
Solid Titik Leleh	: 227–228 °C (anhydrous) 234–235 °C (monohydrate)
Titik didih	: 178 °C <i>subl.</i>
Kelarutan dalam air	: 2.17 g/100 ml (25 °C) 18.0 g/100 ml (80 °C) 67.0 g/100 ml (100 °C)
Keasaman	: -0,13 – 1,22 pKa
Momen dipole	: 3.64 D
(Mumin <i>et al.</i> , 2006).	

2.1.2 Sumber Kafein

Kafein merupakan senyawa kimia alkaloid terkandung secara alami pada lebih dari 60 jenis tanaman terutama teh (1- 4,8 %), kopi (1-1,5 %), dan biji kola (2,7-3,6 %). Kafein diproduksi secara komersial dengan cara ekstraksi dari tanaman tertentu serta diproduksi secara sintetis. Kafein juga digunakan sebagai penguat rasa atau bumbu pada berbagai industri makanan (Misra *et al.*, 2008).

Tabel 2.1 Kandungan Kafein Pada Produk Minuman (Sianturi, 2001)

Produk Minuman	Kandungan Kafein	Rata-rata
Coca cola	45,6 mg/12 oz	
Pepsi-cola	38,4 mg/12 oz	
RC Cola	36,0 mg/12 oz	
Minuman Kopi	60-180 mg	115 mg/5 oz
Minuman teh	20-90 mg	40 mg/5 oz
Minuman coklat susu	2-7 mg	5 mg/8 oz

2.1.3 Farmakokinetik Kafein

Absorpsi kafein dari saluran pencernaan ke aliran darah adalah sangat cepat dan mencapai 99% pada manusia, yaitu sekitar 45 menit setelah diingesti. Penyerapannya tidak sempurna apabila diambil sebagai kopi, dengan 90% kafein dalam secangkir kopi, akan diabsorpsi dalam waktu 20 menit setelah diminum serta efeknya bermula dalam satu jam dan bertahan selama 3 hingga 4 jam. Kafein yang diabsorpsi akan didistribusi ke seluruh tubuh. Zat ini dapat melewati sawar otak, plasenta ke cairan amnion dan fetal, dan ke susu ibu. Kafein juga pernah dideteksi di dalam semen (Nawrot *et al.*, 2003).

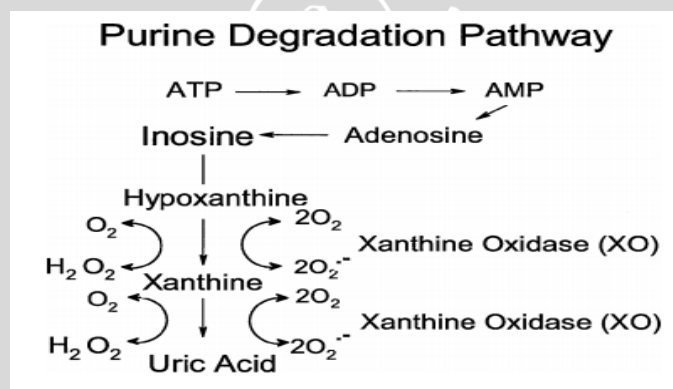
2.1.4 Metabolisme Kafein

Konsumsi kafein saat hamil dapat menimbulkan efek terhadap kehidupan janin intrauterin. Penelitian pada hewan coba membuktikan adanya efek teratogenik ketika diberikan kafein dengan konsentrasi tinggi (lebih dari 8 cangkir per hari), menyebabkan anomali kongenital, seperti celah palatum dan malformasi kardiovaskular (Jahanfar *et al.*, 2013).

Kafein diuraikan dalam hati oleh sistem enzim sitokrom P 450 oksidasi menjadi 3 dimethylxantin metabolit, yaitu :

a. *Paraxanthine* (84%), mempunyai efek meningkatkan lipolisis, mendorong pengeluaran gliserol dan asam lemak bebas didalam plasma darah. *Paraxanthine* merupakan metabolit primer dalam kafein yang dapat melewati sawar pasenta dan meraih janin (*Drug Facts Comparison*, 2001). *Paraxanthine* merupakan antagonis reseptor adenosin (A1) pada jantung dan otak maternal-fetal dengan menghambat pengeluaran glutamat pada jaringan perifer, yang dapat memberikan efek merugikan bagi aktivitas

metabolik maternal maupun fetal. Pada hewan coba menunjukkan paparan kafein selama kehamilan dapat menurunkan reseptor adenosine A1 pada maternal maupun fetal, dimana hal tersebut akan menurunkan peningkatan stimulasi aktivitas tubuh, membuat otak dan jaringan lain mudah terserang oleh efek berbahaya kafein, karena tidak ada lagi penghalang darah menuju otak atau penghalang plasenta terhadap kafein (Jahanfar *et al.*, 2013). *Paraxanthine* merupakan derivat dari *xanthine*, dimana terdapat XO (*xanthine oksidase*) yang merupakan sumber penting OFR (*Oxygene Free Radical*) (Valko *et al.*, 2004).



Gambar 2.2 Superoksida dalam Oksidasi Enzimatik (Valko *et al.*, 2014)

- a. *Theobromine* (12%) melebarkan pembuluh darah dan meningkatkan volume urin. *Theobromine* merupakan alkaloid utama didalam kokoa (cokelat).
- b. *Theophylline* (4%), melonggarkan otot saluran pernafasan, digunakan pada pengobatan asma. Masing-masing dari hasil metabolisme ini akan dimetabolisme lebih lanjut dan akan dikeluarkan melalui urin (*Drug Facts Comparison*, 2001).

2.1.5 Efek Jangka Pendek Kafein

Mencapai jaringan dalam waktu 5 menit dan tahap puncak mencapai darah dalam waktu 50 menit, frekuensi pernafasan, urin, asam lemak dalam darah, asam lambung bertambah disertai peningkatan tekanan darah. Kafein juga dapat merangsang otak (7,5-150 mg) dapat meningkatkan aktifitas neural dalam otak serta mengurangi keletihan, dan dapat memperlambat waktu tidur (*Drug Facts Comparison*, 2001).

2.1.6 Efek jangka panjang kafein

Pemakaian kafein yang lebih dari kadar yang telah ditetapkan dapat menyebabkan insomnia kronik, gelisah, dan ulkus. Efek lain dapat meningkatkan denyut jantung dan beresiko terhadap penumpukan kolesterol, menyebabkan kecacatan pada anak yang dilahirkan (Hoerger *et al.*, 2002).

2.1.7 Kafein dalam Tubuh Janin

Kafein sangat cepat untuk diabsorpsi oleh sistem pencernaan dan melewati sawar plasenta dengan bebas. Kita ketahui bahwa janin belum dapat melakukan metabolisme dengan baik. Kafein mengakibatkan peningkatan sirkulasi katekolamin dan menginduksi terjadinya vasokonstriksi uteroplasental serta hipoksia janin, semuanya dapat memicu gangguan pada pertumbuhan janin (Jahanfar *et al.*, 2013).

Janin mendapatkan segala yang dibutuhkan melalui aliran darah termasuk gizi dan oksigenasi. Jika terhambat, janin akan kurang mendapatkan semua yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan. Akibatnya, dari penyempitan pembuluh darah ini mungkin dapat mengakibatkan pertumbuhan terganggu dan dapat terjadi gangguan

perkembangan (Michelle, 2011). Kafein dalam kopi selama kehamilan melintasi plasenta dan mencapai janin, sehingga dapat menurunkan aliran darah ke plasenta dan membahayakan janin (Weng *et al.*, 2008).

Food and Drug administration pada tahun 1980, menemukan bahwa kafein melintasi barrier otak dan darah serta diperkirakan bahwa janin mungkin tidak memiliki enzim yang diperlukan untuk mendetoksifikasi diri dari kafein melalui proses yang dikenal sebagai demetilasi. Kafein bisa melintasi plasenta sehingga meningkatkan laju jantung dan juga pernafasan janin (Khoury *et al.*, 2004). Dalam sebuah penelitian lain, dilaporkan bahwa kafein (pada dosis 80 mg/kgBB) menghasilkan kasus celah palatum (33,3% pada janin). Kafein memiliki satu potensi untuk mengacaukan proses yang terlibat dalam proliferasi sel. Kafein mudah melintasi plasenta dan mencapai janin, menginduksi vasokonstriksi maternofetal, terjadi iskemia sehingga menyebabkan malformasi janin (Rashidi *et al.*, 2014). Konsumsi kafein saat hamil (lebih dari 8 cangkir per hari) dapat meningkatkan sirkulasi katekolamin pada maternal maupun fetal dimana hal tersebut dapat meningkatkan vasokonstriksi uteroplasental, meningkatkan denyut jantung fetal dan aritmia (denyut jantung yang ireguler) dan akhirnya hipoksia fetal (Jahanfar *et al.*, 2013).

2.1.8 Kafein Mendukung Radikal Bebas

Salah satu efek kafein yaitu dapat mendukung produksi radikal bebas dan selanjutnya dapat memicu stres oksidatif seperti inaktivasi metabolik katekolamin dan peningkatan metabolisme oksidatif termasuk metabolisme hati. Ada juga laporan yang menunjukkan bahwa kafein memicu kerusakan oksidatif oleh karena meningkatkan peroksidasi lipid (Rashidi *et al.*, 2014).

Pada sebuah penelitian, kafein dalam konsentrasi yang tinggi terbukti dapat meningkatkan stres oksidatif, mempengaruhi kelangsungan hidup sel pada sel epitelial paru-paru (Tiwari *et al.*, 2014).

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu molekul, atom, atau beberapa atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga bersifat sangat reaktif. Suatu molekul bersifat stabil bila elektronnya berpasangan, tetapi bila tidak berpasangan (*single*) molekul tersebut menjadi tidak stabil dan memiliki potensi untuk merusak. Radikal bebas terdiri dari *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Reactive Nitrogen Species* (RNS), dan radikal lainnya. ROS mencakup *Oxygen Free Radical* (OFRs) atau radikal oksigen seperti anion superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, hidrogen peroksida, dan oksigen singlet (Puspitasari, 2016).

Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Kikuzaki *et al.*, 2002 dan Gutteridge, 2000).

Radikal bebas yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel. Namun ia tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga ia juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, sehingga dapat menyebabkan

kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi, 2007). Untuk mengimbangi hal tersebut, tubuh diperlengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan untuk menangkal serangan radikal bebas atau oksidan sehingga dapat membatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas (Jackson, 2005). Namun dalam keadaan tertentu, produksi radikal bebas yang melebihi sistem pertahanan tubuh, disebut sebagai stres oksidatif (Agarwal *et al.*, 2005).

Bila radikal bebas diproduksi *in vivo* atau *in vitro* di dalam sel melebihi mekanisme pertahanan normal, maka akan terjadi berbagai gangguan metabolik dan seluler. Jika posisi radikal bebas yang terbentuk dekat dengan DNA, maka dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga dapat terjadi mutasi atau sitotoksisitas. Radikal bebas juga dapat bereaksi dengan nukleotida sehingga menyebabkan perubahan signifikan pada komponen biologi sel. Bila radikal bebas merusak grup thiol maka akan terjadi perubahan aktivitas enzim. Radikal bebas dapat merusak sel dengan cara merusak membran sel tersebut (Sikka *et al.*, 1995). Disebutkan pula oleh Lee *et al.*, bahwa radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan oksidasi lipid, oksidasi protein, DNA *strand break*, modifikasi basa DNA, dan modulasi ekspresi genetik (Astuti, 2008).

Kerusakan membran sel ini dapat terjadi dengan cara radikal bebas berikatan secara kovalen dengan enzim dan/atau reseptor yang berada dalam membran sel, sehingga merubah aktivitas komponen-komponen yang terdapat pada membran sel tersebut, radikal bebas berikatan secara kovalen dengan komponen membran sel, sehingga merubah struktur membran dan mengakibatkan perubahan fungsi membran dan/atau mengubah karakter membran menjadi seperti antigen, radikal bebas mengganggu sistem

transport membran sel melalui ikatan kovalen, mengoksidasi kelompok thiol, atau dengan merubah asam lemak *polyunsaturated*, radikal bebas menginisiasi peroksidasi secara langsung terhadap asam lemak *polyunsaturated* dinding sel sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksidasi lipid akan terbentuk dalam rantai yang makin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel (Sikka *et al.*, 1995). Peroksidasi ini akan mempengaruhi fluiditas membran, *cross-linking* membran, serta struktur dan fungsi membran. (Powers *and* Jackson, 2008).

2.2.1 Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara radikal bebas (pro oksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Pada kondisi stres oksidatif ini, imbalanced normal antara produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan antioksidan alami tubuh untuk mengeliminasi mengalami gangguan sehingga menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal, sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan jaringan ini juga tergantung pada beberapa faktor, antara lain: target molekuler, tingkat stres yang terjadi, mekanisme yang terlibat, serta waktu dan sifat alami dari sistem yang diserang. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu substansi penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Kikuzaki *et al.*, 2002 dan Gutteridge, 2000).

Istilah stres oksidatif juga didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan level ROS. Dalam jumlah normal, ROS berperan dalam proses fisiologis seperti sistem pertahanan tubuh, biosintesis hormon,

fertilisasi, dan sinyal seluler. Akan tetapi, peningkatan produksi ROS yang dikenal dengan kondisi stres oksidatif memiliki implikasi pada berbagai macam penyakit seperti hipertensi, aterosklerosis, diabetes, gagal jantung, stroke, dan penyakit kronis lainnya. Peningkatan ROS tersebut dapat terjadi sebagai akibat dari metabolisme oksigen, reperfusi oksigen saat kondisi hipoksia, oksidasi hemoglobin dan mioglobin, dan lain-lain (Puspitasari, 2016).

ROS dapat memicu peroksidasi terhadap lipid. Peroksidasi lipid tidak saja bertanggung jawab atas kerusakan makanan, tetapi lebih penting adalah kerusakan jaringan tubuh *in vivo*. Peroksidasi terhadap lipid dalam membran sel akan sangat mengganggu fungsi membran, menimbulkan kerusakan yang *irreversible* terhadap fluiditas dan elastisitas membran yang dapat menyebabkan ruptur membran sel. Salah satu produk akhir dari peroksidasi lipid adalah *malondyaldehyde* (MDA) (Puspitasari, 2016).

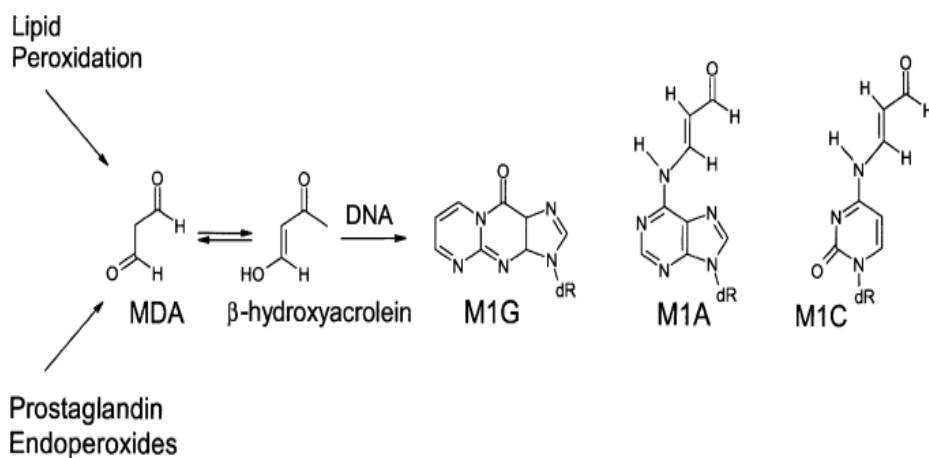
MDA terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksil) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, akibat dari akhir reaksi tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Lipid hidroperoksida dapat terurai dan dikatalis oleh logam transisi menghasilkan senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bersifat sitotoksik. Pemecahan ikatan karbon selama peroksidasi lipid menyebabkan pembentukan alkanal seperti MDA (Puspitasari, 2016).

2.2.2 Kerusakan DNA

Kerusakan langsung DNA oleh radikal bebas merupakan fokus utama terjadinya malformasi kongenital. Spesies radikal reaktif juga dapat

menyebabkan kerusakan komponen seluler lainnya. Fosfolipid pada membran sel sangat sensitif terhadap oksidasi dan telah ditemukan sering terjadi kerusakan oleh adanya radikal bebas yang memungkinkan fosfolipid membran sel tersebut berpartisipasi dalam reaksi berantai radikal bebas. Banyak asam lemak tak jenuh ganda yang berisi kelompok metilen yang membuat asam lemak lebih sensitif terhadap oksidasi. Konsentrasi tinggi asam lemak tak jenuh ganda dalam fosfolipid memungkinkan asam lemak tersebut ikut berpartisipasi dalam reaksi berantai radikal bebas. Asam lemak yang paling umum dalam sel adalah asam linoleat. Produk awal oksidasi asam lemak tak jenuh yaitu lipid hidoperoksida. Ketika bereaksi dengan logam maka akan menghasilkan sejumlah produk (misal aldehida dan epoksida) yang reaktif (Valko *et al.*, 2004).

MDA adalah salah satu dari aldehida utama produk peroksidasi lipid, dan bersifat mutagenik pada sel mamalia. MDA dapat bereaksi dengan basa DNA dG, dA dan dC. ROS sangat potensial dalam berinteraksi dengan komponen seluler yang mengandung basa DNA atau tulang punggung *deoxyribose* DNA untuk menghasilkan kerusakan pada basa atau rantai DNA (Valko *et al.*, 2004).



Gambar 2.3 Sintesis MDA dan reaksi terhadap basa DNA (Valko *et al.*, 2004)

Radikal bebas mendorong adanya perubahan genetik, seperti terjadinya mutasi, penyusunan ulang kromosom, hambatan replikasi DNA dan sitotoksitas. Mutasi DNA juga dapat terjadi akibat proses replikasi yang salah (Valko *et al.*, 2004).

2.3 Antioksidan

Secara kimia, antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan salah satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Terjadinya stres oksidatif dapat dihambat oleh kerja enzim antioksidan dalam tubuh dan antioksidan non enzimatik. Antioksidan enzimatik disebut juga antioksidan eksogenus, antioksidan ini bekerja secara preventif, dimana terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal, atau dirusak pembentukannya (Winarsi, 2007). Dikenal ada tiga kelompok antioksidan, yaitu antioksidan enzimatik, antioksidan pemutus rantai dan antioksidan logam transisi terikat protein.

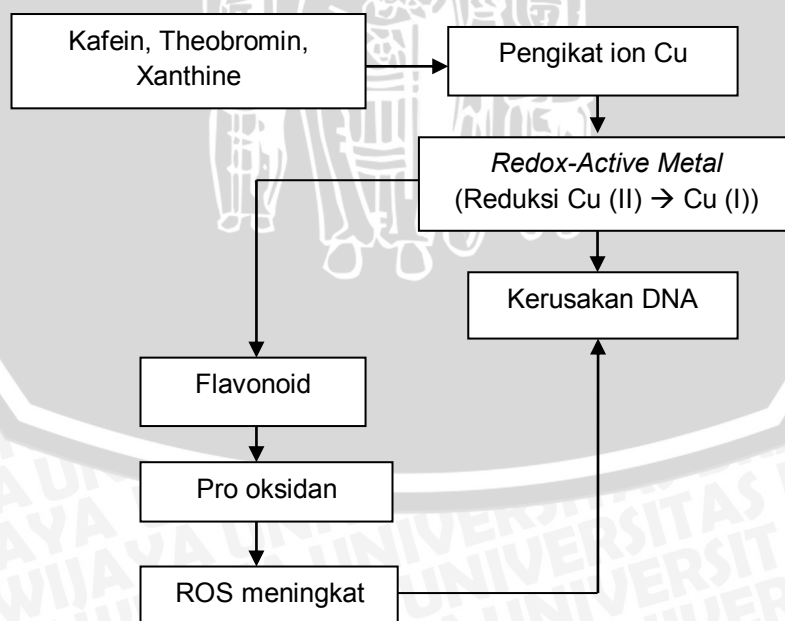
Contoh dari antioksidan enzimatis adalah *superoksida dismutase* (SOD), katalase (CAT), *gluthation peroksidase* (GPx), *gluthation reduktase* (GR), seruplasmin. Mekanisme kerja antioksidan enzimatis adalah mengkatalisir pemusnahan radikal bebas dalam sel (Puspitasari, 2016).

Antioksidan pemutus rantai adalah molekul kecil yang dapat menerima dan memberi elektron dari atau ke radikal bebas, sehingga membentuk senyawa baru yang stabil. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu : 1). Pelepasan hidrogen dari antioksidan, 2). Pelepasan elektron dari antioksidan, 3). Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, 4). Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Puspitasari, 2016).

Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, misalnya rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji serelia, sayur-sayuran, enzim dan protein. Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik. Senyawa fenolik atau polifenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid (Sarastani, dkk. 2002).

Namun, antioksidan yang penggunaannya melebihi batas yang ditentukan maka dapat menyebabkan racun di dalam tubuh dan bersifat karsinogenik (Jin *et al.*, 2012). Salah satu antioksidan yang dapat berubah menjadi pro oksidan jika berada dalam situasi tertentu yaitu flavonoid. Flavonoid dapat bertindak sebagai pro oksidan jika dalam tubuh terdapat sistem yang mengalami proses *redox-active metals*. *Redox-active metals*

merupakan suatu proses reaksi oksidasi yang terjadi jika dalam tubuh memiliki ion Fe atau Cu. Kehadiran O₂, logam transisi seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu) dalam tubuh, dapat menyebabkan peningkatan formasi ROS yang merusak DNA, lipid dan molekul biologis lainnya, berarti *redox-active metals* dapat meningkatkan ROS dan dapat merusak DNA (Carocho *et al.*, 2012). Proses *redox-active metals* yaitu Cu(I) akan teroksidasi menjadi Cu(II) dan akan menghasilkan radikal hidroksi (OH) pada superoksida yang didukung oleh reaksi fenton, dan proses ini menyebabkan kerusakan DNA (Chattopadhyay *et al.*, 2014). Salah satu bahan yang jika di dalam tubuh dapat menyebabkan reaksi *redox-active metals* yaitu xanthine, theobromin dan kafein. Jika di dalam tubuh terdapat salah satu dari tiga bahan tersebut, maka reaksi *redox-active metals* akan terjadi (Anesini *et al.*, 2011). Adapun kerangka konsep perubahan antioksidan menjadi pro oksidan oleh reaksi *redox-active metals* yang dipengaruhi oleh kafein, xanthin dan theobromin :



Gambar 2.4 Hubungan Kafein dan Flavonoid Sebabkan Kerusakan DNA

Dalam hal ini kafein, theobromin, dan xanthine dalam tubuh dapat bertindak sebagai pengikat Cu yang menyebabkan terjadinya proses *redox-active metals* (Anesini *et al.*, 2011), yaitu Cu(I) akan teroksidasi menjadi Cu(II) dan akan menghasilkan radikal hidroksi (OH) pada superoksida yang didukung oleh reaksi fenton, dan proses ini menyebabkan kerusakan DNA (Chattopadhyay *et al.*, 2014).

2.4 Brokoli (*Brassica oleracea L.*)

2.4.1 Klasifikasi Brokoli



Gambar 2.5 Brokoli (www.perthorganic.com, 2016)

Menurut *Herbarium Medanense* 2012, klasifikasi brokoli adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermathophyta</i>
Class	: <i>Dicotyledone</i>
Ordo	: <i>Capparales</i>
Famili	: <i>Brassicaceae</i>
Genus	: <i>Brassica</i>
Species	: <i>Brassica oleraceae L.</i>

Untuk ekologi dan penyebarannya, brokoli (*Brassica oleracea L.*) merupakan tanaman sayuran sub tropik yang banyak dibudidayakan di

Eropa dan Asia. Tanaman brokoli termasuk *cool season crop*, sehingga cocok ditanam pada daerah pegunungan (dataran tinggi), yang beriklim sejuk. Di Indonesia, tanaman brokoli sebagai sayuran dibudidayakan secara luas pada daerah tinggi seperti Bukit Tinggi (Sumatera Barat), Karo (Sumatera Utara), Pengalengan (Jawa Barat), dan Sumber Brantas (Jawa Timur) (Muslim, 2009). Sejumlah kultivar brokoli yang ditanam di Indonesia meliputi *Brassica oleracea* var. *Italica* cv. Royal Green, *Brassica oleracea* var. *Italica* cv. Delicate Green, *Brassica oleracea* var. *italica* cv. Green King, *Brassica oleracea* var. *Italica* cv. Tender Green dan *Brassica oleracea* var. *italica* cv. Green Jewel (Susila, 2006).

2.4.2 Pertelaan

Brokoli (*Brassica oleracea* L.) termasuk sayuran yang tidak tahan terhadap udara panas, akibatnya brokoli cocok ditanam di dataran tinggi yang lembap dengan suhu rendah, yaitu di atas 700 m dpl. Bunga brokoli berwarna hijau dan tersusun dari bunga-bunga kecil yang berwarna hijau, tetapi tidak sekompak bunga kubis. Demikian pula dengan tangkai bunganya yang lebih panjang. Brokoli merupakan tanaman dua tahunan atau tahunan, memiliki panjang 50-80 cm pada tahap vegetatif dewasa, 90-150 cm saat berbunga. Sistem akar bercabang. Batang tidak bercabang, dengan panjang 20-30 cm. Daun melingkari kepala bunga, berbentuk panjang, daun tak bertangkai, dilapisi dengan lapisan lilin, daun hijau dengan urat daun utama dan lateral berwarna keputihan (Dalimartha, 2000).

2.4.3 Kandungan Kimia

Brokoli mengandung air, protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, zat besi, vitamin (A,C,E, tiamin, riboflavin, nikotinamid), beta karoten, dan

glutation (Dalimartha, 2000). Selain itu, brokoli juga mengandung senyawa antioksidan berupa flavonoid, kelompok flavonoid yang dimiliki brokoli adalah flavonol, serta senyawanya adalah kaemferol, myricetin, quercetin, rutin (Ren dkk., 2003).

Tabel 2.2 Kandungan Gizi dalam 100 g Brokoli Segar (Siemonsma *et al.*, 1994)

No	Gizi yang Terkandung	Jumlah
1	Air	88 g
2	Protein	4 g
3	Lemak	0,3 g
4	Karbohidrat	6 g
5	Serat	1,5 g
6	Kalsium	150 mg
7	Kalium	325 mg
8	Karoten	800 mg
9	Vitamin	100 mg

2.4.4 Kandungan Vitamin A pada Brokoli

Karoten yang dikenal sebagai prekursor vitamin A (beta karoten), saat ini telah dikembangkan sebagai efek protektif melawan sel kanker, penyakit jantung, mengurangi penyakit mata, antioksidan, dan regulator dalam sistem imun tubuh manusia. (Jones *et al.*, 2007). Dalam 100 gram brokoli terdapat vitamin A sekitar 1542 IU sehingga dengan mengkonsumsi brokoli akan dapat membantu terhindar dari penyakit yang disebabkan oleh kekurangan vitamin A (Nugraha, 2010). Untuk aktivitas antioksidan dari karotenoid timbul sebagai akibat dari kemampuan terkonjugasinya struktur ikatan ganda untuk delokalisasi elektron yang tidak berpasangan (Valko *et al.*, 2004). Namun, apabila konsumsi vitamin A ini terlalu berlebihan akan

berbahaya bagi kesehatan manusia, menurut sebuah penelitian menyatakan bahwa hipervitaminosis A dapat sebagai neurotoksik (Schnorr *et al.*, 2014).

2.4.5 Kandungan Vitamin C pada Brokoli

Vitamin C (asam askorbat) adalah salah satu jenis vitamin yang larut dalam air dan sangat diperlukan oleh tubuh serta mempunyai fungsi untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Vitamin C berperan sebagai senyawa pembentuk kolagen yang merupakan protein penting penyusun jaringan kulit, sendi, tulang dan jaringan penyokong lainnya. Vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang dapat menangkal berbagai radikal bebas dari polusi di sekitar lingkungan kita. Terkait dengan sifatnya yang mampu menangkal radikal bebas, vitamin C dapat membantu menurunkan laju mutasi dalam tubuh sehingga risiko timbulnya berbagai penyakit degeneratif. Kandungan vitamin C yang terdapat pada 100 gram brokoli sebesar 93,2 mg (Nugraha, 2010).

2.4.6 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang terbesar yang ditemukan di alam, terutama dapat ditemukan di buah dan sayur. Flavonoid ini merupakan bagian dari golongan polifenol dan merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Diantara sifat-sifat utama yang dapat menjelaskan potensi manfaat kesehatan dari flavonoid adalah aktivitas antioksidannya (Puspitasari, 2016).

Golongan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon dan kalkon. Senyawa flavonoid secara *in vitro* telah terbukti merupakan inhibitor yang kuat pada lipid peroksidasi, menangkap senyawa oksigen atau nitrogen (ROS atau RNS), menghambat kerusakan hem protein dan pengikatan ion logam. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak substitusi gugus hidroksi pada flavonoid, maka aktivitas antiradikalnya semakin besar (Puspitasari, 2016).

Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan pada tumbuh-tumbuhan. Senyawa flavonoid banyak ditemukan dalam sayur-sayuran dan buah-buahan, dan dilaporkan sebagai antioksidan berpotensi lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C dan E (Winarsi, 2007). Flavonoid mempunyai bioaktivitas sebagai obat serta dapat ditemukan pada batang, daun dan buah (Wajib dan Sugrani, 2009). Berikut ini adalah kandungan flavonoid total dalam brokoli:

Tabel 2.3 Kandungan Flavonoid Total 10 Macam Ekstrak Sayuran (Nurhaen dkk., 2014)

No	Jenis Ekstrak	Kandungan Flavonoid Total (% b/b ER)
1	Bayam	21,50
2	Selada	33,64
3	Sawi	24,50
4	Katuk	30,55
5	Kemangi	48,62
6	Brokoli	23,71
7	Bunga kubis	12,00

Dari tabel diatas, disebutkan bahwa brokoli memiliki kandungan total flavonoid sebesar 23,71 % b/b ER, dan menjadi sayuran tertinggi ke enam yang mengandung antioksidan flavonoid (Nurhaen dkk., 2014).

2.4.7 Kegunaan

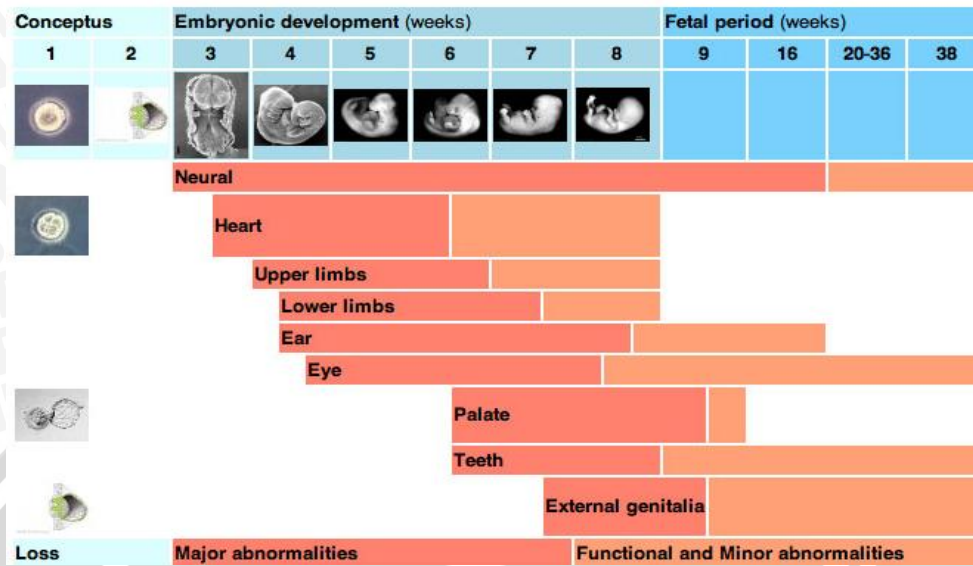
Bunga brokoli akan mempercepat penyembuhan setelah sakit berat serta menghambat perkembangan sel kanker, yang disebabkan oleh adanya kandungan karotenoid (beta karoten), indol dan sulfofaran (Hembing, 2008). Selain sebagai antioksidan, brokoli yang kaya serat juga bermanfaat untuk mencegah konstipasi (sembelit) dan berbagai gangguan pencernaan lainnya (Dalimartha, 2000). Mengenai kegunaan brokoli yang lain, dikemukakan dalam sebuah penelitian bahwa suplementasi bagian batang brokoli pada trimester akhir dan 2 minggu pertama kehidupan, mengurangi efek patologis yang disebabkan oleh insufisiensi plasenta. Insufisiensi plasenta disebabkan oleh keadaan hipoksia atau kelainan vaskular yang mempengaruhi aliran darah ke janin sehingga dapat menyebabkan *brain injury*. Ini berhubungan dengan brokoli banyak mengandung isotiosianat sulfofaran, sebagai pelindung saraf pada tikus model IUGR dan insufisiensi plasenta kronis (Black *et al.*, 2015). Dalam penelitian lain, dikemukakan bahwa asam folat sebagai diet dan suplementasi terbukti menurunkan atau meminimalkan kelainan bawaan termasuk *neural tube defect*, penyakit jantung kongenital, anomali traktus urinarius, celah bibir dan palatum, anomali tungkai, dan stenosis pilorik (Wilson *et al.*, 2003).

2.5 Periode Embrionik

Periode embrionik dimulai pada permulaan minggu ketiga setelah ovulasi dan fertilisasi, yang terjadi bersamaan dengan perkiraan permulaan

periode menstruasi berikutnya. Periode embrionik berlangsung selama 8 minggu dan merupakan saat terjadinya organogenesis. Pada periode ini, *body stalk* telah berdiferensiasi, dan sakus korionik berdiameter sekitar 1 cm. Terdapat ruang intervilus sejati yang mengandung darah maternal, dan inti vilus yang mengandung mesoderm korionik angioblastik. Selama minggu ketiga, terbentuk pembuluh darah janin dalam vili korionik. Pada minggu keempat, sistem kardiovaskular telah terbentuk sehingga terbentuklah sirkulasi sejati dalam embrio, serta antara embrio dan vilus korionik. Pada akhir minggu keempat, sakus korionik berdiameter 2 hingga 3 mm, dan embrio memiliki panjang 4-5 mm. Pembentukan sekat dalam jantung primitif dimulai pada pertengahan minggu keempat. Bakal lengan dan tungkai telah terbentuk, dan selubung amnion mulai terlepas dari *body stalk*, yang selanjutnya menjadi tali pusat (Cunningham *et al.*, 2014).

Pada akhir minggu keenam, embrio memiliki panjang 22 hingga 24 mm, serta kepala berukuran relatif besar dibandingkan badan. Jantung telah terbentuk sempurna, jari-jari tangan dan kaki telah ditemukan, dan lengan menekuk pada siku. Bibir atas telah sempurna, dan telinga luar membentuk peninggian definitif pada masing-masing sisi kepala (Cunningham *et al.*, 2014).



Gambar 2.6 *Human Critical Periods of Development* (Hill, M.A, 2016)

2.6 Malformasi

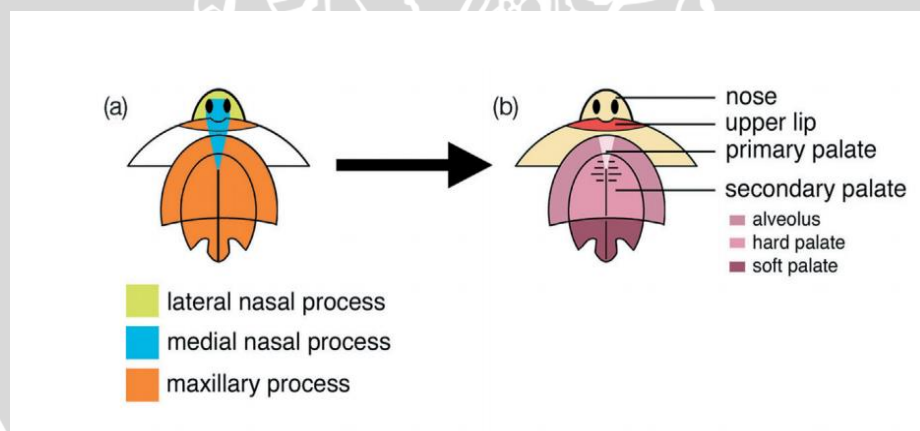
Kelainan kongenital atau bawaan adalah kelainan yang sudah ada sejak lahir yang dapat disebabkan oleh faktor genetik maupun non genetik. Namun, berdasarkan patogenesisnya kelainan kongenital dibedakan menjadi empat yaitu malformasi, deformitas, disrupsi dan displasia. Malformasi adalah suatu proses kelainan yang disebabkan oleh kegagalan atau ketidaksempurnaan dari satu atau lebih proses embriogenesis. Perkembangan awal dari suatu jaringan atau organ tersebut berhenti, melambat atau menyimpang sehingga menyebabkan terjadinya suatu kelainan struktur yang menetap. Kelainan ini mungkin terbatas hanya pada satu daerah anatomi, mengenai seluruh organ, atau mengenai berbagai sistem tubuh yang berbeda (Indrasanto, 2006 dalam Neonatologi IDAI 2008).

Zat kimia yang secara nyata mempengaruhi perkembangan janin menimbulkan efek yang berubah-ubah mulai dari kematian sampai kelainan bentuk (malformasi) dan hambatan pertumbuhan (Young, 2001). Terjadinya suatu cacat lahir pada neonatus yang semasa janin pernah terpajan obat-

obatan, bahan kimia, atau agen lingkungan tertentu, menimbulkan kekhawatiran bahwa agen tersebut bersifat teratogen (Cunningham *et al.*, 2014).

2.6.1 Malformasi Kraniofasial

Malformasi kraniofasial adalah malformasi kongenital yang kompleks. Malformasi ini banyak ditemukan pada masyarakat global dan menunjukkan variabilitas yang tinggi di seluruh kelompok etnis dan wilayah geografis. Dampak yang signifikan terjadi pada pendengaran, bicara, penampilan dan kognitif memiliki pengaruh negatif jangka panjang pada kesehatan dan integritas sosial. Biaya, morbiditas yang cukup besar, gangguan emosi dan mungkin pengucilan sosial juga dapat dikaitkan dengan malformasi kraniofasial ini (Vachon, 2013).



Gambar 2.7 Embriologi Struktur Wajah Garis Tengah (Vachon, 2013)

2.7 Celah Palatum

Celah palatum murni terjadi pada linea mediana dan dapat melibatkan hanya uvula saja, atau dapat meluas ke dalam atau melalui palatum molle dan palatum durum sampai ke foramen insisivus. Apabila celah palatum ini terjadi bersamaan dengan celah bibir (sumbing), cacat ini dapat melibatkan linea mediana palatum molle dan meluas sampai ke

palatum molle dan meluas sampai ke palatum durum pada satu atau kedua sisi, memaparkan satu atau kedua rongga hidung sebagai celah palatum unilateral atau bilateral (Behrman *et al.*, 2000).



Gambar 2.8 Celah Palatum (Stoll *et al.*, 2004. *BMC Medical gene*)

2.7.1 Prevalensi dan Distribusi

Celah palatum merupakan hasil dari kegagalan palatum untuk fusi. Oleh karena itu, dikatakan celah palatum merupakan kelainan terpisah dengan celah bibir dan celah bibir palatum. Angka kejadian celah palatum yaitu 25% dari 5 populasi kelainan celah atau sumbing. Berbeda dengan jenis kelainan lainnya, celah palatum banyak terjadi pada wanita dibandingkan pria, dengan rasio 2 : 1 sampai 3 : 1 untuk celah palatum keras dan lunak. *The International Perinatal Database of Typical Intrauterine Clefts* (IPDTC) melakukan studi untuk mengevaluasi prevalensi kelahiran dengan celah bibir dengan atau tanpa celah palatum. Prevalensi untuk celah bibir adalah 0,33 per 1000, celah bibir dan celah palatum adalah 0,66 per 1000 (Vachon, 2013).

2.7.2 Embriologi Palatum

Pembentukan celah merupakan proses yang dimulai pada awal masa pertumbuhan embrio. Setelah terjadinya fertilisasi, proliferasi dan migrasi sel yang cepat terjadi untuk membentuk morula, yang segera berubah menjadi

blastokista. Blastokista ini berubah menjadi *bilaminar germ disk* dan akhirnya menjadi embrio dengan 3 lapisan, yaitu *trilaminar disk* (ektoderm, mesoderm, endoderm). Semua ini terjadi selama 3 minggu pertama perkembangan. Selama 3 sampai 4 minggu berikutnya, kepala, wajah dan jaringan yang mulai membentuk gigi (Vachon, 2013).

Penebalan ektoderm mengarah pada pembentukan tabung saraf, yang segera mengalami ekspansi untuk membentuk otak depan anterior, otak tengah dan otak belakang. Otak belakang akan terbagi menjadi 8 rhombomeres, yang sangat penting dalam perkembangan kepala. 2 rhombomeres pertama serta otak tengah berkontribusi pada pembentukan neural crest, yang memainkan peran penting dalam perkembangan kraniofasial. Sel neural crest kemudian bermigrasi untuk membentuk lengkungan branchial (Vachon, 2013).

Pada hari ke 24, embrio mulai melipat dalam arah caudocephalic. Pada tahap ini, stomatodeum (mulut primitif) dibatasi oleh plat saraf posterior, yang mengembangkan jantung inferior dan frontal. Membran buccopharygeal memisahkan stomatodeum dari foregut. Akhirnya mengalami apoptosis sel selektif dan pecah. Stomatodeum lateral dilapisi dengan lengkungan branchial, yang masing-masing terbentuk dari mesoderm, tulang rawan, arteri dan saraf. Sebagai embrio yang berkembang, lengkungan branchial memisahkan stomatodeum dari jantung. Setiap lengkungan menimbulkan berbagai struktur, misalnya otot, tulang dan saraf kranial (Vachon, 2013).

Secara keseluruhan, pembentukan wajah pada embrio dengan melakukan penggabungan dan fusi dari berbagai variasi wajah selama 5

sampai 10 minggu setelah konsepsi. Wajah dibentuk oleh turunan dari lengkungan branchial pertama dan kedua. Proliferasi sel dan apoptosis selektif mengarah pada pembentukan lubang penciuman dan hidung. Prosesus hidung medial berfusi dengan prosesus maksila pada setiap sisi untuk membentuk bibir atas dan palatum primer sekitar 7 minggu setelah konsepsi. Segmen terbentuk yang disebut segmen intermaksilari. Segmen ini dibagi menjadi 2 bagian, satu komponen labial, yang membentuk philtrum dari bibir atas, dan satu segitiga komponen palatum, yang membentuk premaksila dan termasuk 4 gigi seri anterior. Palatum primer meluas ke posterior melalui saraf nasopalatinus (Vachon, 2013).

Palatum sekunder membentuk sisa palatum menjadi keras dan lunak, yang mendominasi sekitar 90% daerah palatal. Ini mulai terbentuk sekitar 7 sampai 8 minggu setelah konsepsi dan berlanjut hingga akhir trimester 1, yaitu 3 bulan setelah konsepsi. Sebelum tahap perkembangan, rongga mulut dan hidung belum dipisahkan satu sama lain. Pada minggu ke 6 pasca konsepsi, prominensia kecil memperpanjang dari medial ke prosesus maksilaridi setiap sisi. Dalam proses perkembangan ini, palatum tumbuh ke bawah dan menjadi horisontal, lidah dan mandibula melebar dan tumbuh ke arah depan. Epitel yang melapisi palatum mengalami degenerasi. Fusi lengkap berlangsung pada minggu ke 10. Kegagalan pada proses ini yang akan menyebabkan kelainan seperti palatoschisis, labioschisis atau keduanya (Vachon, 2013).

2.7.3 Mekanisme Terjadinya Celah

Etiologi multifaktorial telah diajukan untuk kelainan palatoschisis. Mekanisme terjadinya celah sangat kompleks. Fusi jaringan pada kepala

berkembang sebagai akibat dari proliferasi sel, perluasan pembuluh darah, produksi matriks ekstraseluler, dan akumulasi cairan yang semuanya mungkin dapat mempengaruhi kelainan celah.waktu dan posisi yang tepat dari setiap struktur wajah memainkan peran penting dalam perkembangan wajah. Kelainan celah ini dipengaruhi bukan hanya oleh faktor genetik, tetapi juga oleh faktor lingkungan seperti zat teratogenik (Vachon, 2013).

Mekanisme terbentuknya celah palatum sekunder masih belum jelas. Adanya lidah yang besar yang dapat mencegah palatum untuk fusi telah diusulkan namun penjelasan ini terlalu sederhana. Pertumbuhan mandibula terhambat juga telah diusulkan sebagai mekanisme, dimana hal ini akan menghambat pertumbuhan rahang atas dan menimpa lintasan bawah lidah. Kelainan celah palatum lebih mungkin terjadi sebagai akibat dari hipoplasia struktur palatum, atau keterlambatan dalam waktu elevasi palatum (Vachon, 2013).

2.7.4 Etiologi Celah Palatum

Etiologi dari celah palatum tidak diketahui dan multifaktor. Faktor keturunan merupakan salah satu dari multifaktor penyebab celah palatum, keturunan keluarga baik celah bibir atau palatum terjadi dengan frekuensi yang bervariasi tergantung apakah orangtua atau saudara berpengaruh. Faktor lingkungan juga ditemukan sebagai penyebab terjadinya celah seperti ethanol, rubella virus, thalidomide dan aminopterin. Diabetes melitus maternal dan *amniotic syndrome* juga sebagai salah satu penyebab terjadinya celah (Donald *et al.*, 2000). Penelitian pada hewan menunjukkan bahwa celah palatum dapat disebabkan oleh konsumsi kafein dalam jumlah yang banyak (lebih dari 8 cangkir per hari) (Jahanfar *et al.*, 2013). Penelitian

lain juga mengatakan bahwa kafein dalam dosis yang tinggi diketahui memiliki efek teratogen pada tikus dan menginduksi malformasi tungkai bersamaan dengan celah palatum (Rashidi *et al.*, 2014).

Pada penelitian oleh Zhang *et al.*, 2015 menyebutkan bahwa, pada mamalia, perkembangan embrionik merupakan proses morfologi yang dikontrol oleh elemen genetik. Kegagalan pada salah satu proses dapat menyebabkan malformasi embrio. *Lysyl oxidase* (LOX) merupakan gen yang berhubungan dengan kelainan pada manusia. *Lysyl oxidase-Like 3* (LOXL3) merupakan salah satu jenis dari LOX, dan defisiensi gen LOXL3 dapat menyebabkan malformasi kraniofasial seperti celah palatum, mandibula pendek dan kerusakan spina. LOXL3 berfungsi dalam perkembangan palatum dan spina. Defisiensi gen LOXL3 ini dapat berhubungan dengan berbagai faktor, salah satunya yaitu zat teratogen yang dapat menyebabkan mutasi genetik.

2.8 Teratologi

Teratogen adalah semua agen-bahan kimia, virus, bahan di lingkungan, faktor fisik, dan obat yang bekerja selama perkembangan mudigah atau janin untuk menimbulkan perubahan fungsi atau bentuk yang permanen. Kata teratogen berasal dari kata Yunani *teratos*, yang berarti monster. *Trofogen* adalah agen yang mengubah pertumbuhan, umumnya mempengaruhi proses-proses yang terjadi setelah organogenesis atau bahkan setelah lahir (Cunningham *et al.*, 2014).

2.8.1 Prinsip Zat Teratogen

1. Karakteristik cacat harus diketahui dengan pasti. Banyak faktor genetik dan lingkungan yang menimbulkan anomali serupa. Sebagai contoh,

meskipun bibir sumbing dan sumbing langit-langit berkaitan dengan pajanan hidantoin antenatal, juga terdapat lebih dari 200 penyebab genetik yang diketahui. Cacat identik yang berlainan disebut *fenokopi*. Paling mudah untuk membuktikan agen penyebab jika pajanan jarang terjadi dan menghasilkan suatu cacat yang jarang, jika paling tidak tiga kasus dengan pajanan yang sama pernah dilaporkan, dan jika cacatnya berat.

2. Agen harus melewati plasenta. Meskipun dengan sedikit pengecualian, tetapi semua obat yang melewati plasenta, harus obat yang dosisnya tinggi atau jumlah yang memadai untuk secara langsung mempengaruhi perkembangan janin atau mengubah metabolisme ibu atau plasenta untuk menimbulkan efek tidak langsung pada janin. Penyaluran obat melalui plasenta bergantung pada metabolisme ibu.
3. Pajanan harus terjadi pada masa perkembangan kritis.
4. Harus terdapat kemungkinan berkaitan secara biologis. Karena cacat lahir dan pajanan obat atau lingkungan sering terjadi, maka pajanan suatu bahan/agen dan cacat lahir selalu mungkin berhubungan secara waktu tetapi tidak secara kausalitas.
 - a. Periode praimplantasi adalah 2 minggu setelah pembuahan sampai implantasi dan disebut periode "*all or none*". Zigot mengalami pembelahan, dan suatu gangguan yang merusak sejumlah besar sel biasanya menyebabkan kematian mudigah.
 - b. Periode mudigah adalah dari minggu kedua sampai ke delapan. Periode ini mencakup organogenesis dan merupakan masa paling krusial dengan malformasi struktur.

- c. Pematangan dan perkembangan fungsional berlanjut setelah minggu ke delapan, dan selama periode ini, organ-organ tertentu tetap rentan. Sebagai contoh, otak tetap rentan terhadap pengaruh lingkungan, misalnya pajanan alkohol.
5. Temuan epidemiologis harus konsisten. Evaluasi awal pajanan teratogen biasanya retrospektif dan mungkin terhambat oleh bias ingatan, pelaporan yang kurang memadai, dan penilaian populasi terpajan yang kurang lengkap.
6. Teratogen yang dicurigai menyebabkan kecacatan pada hewan. Jika pajanan suatu obat atau agen lingkungan menyebabkan cacat lahir pada hewan percobaan, maka obat atau bahan tersebut mungkin berbahaya bagi janin manusia. Teratogenisitas pada manusia lebih besar kemungkinannya terjadi jika bahan yang bersangkutan menimbulkan efek samping pada bermacam-macam spesies, khususnya primata-manusia (Cunningham *et al.*, 2014).

2.8.2 Klasifikasi *Food and Drug Administration*

Untuk memberi tuntunan terapi, *Food and Drug Administration* (FDA) membuat suatu sistem untuk menentukan peringkat keamanan obat pada kehamilan. Sistem ini dirancang untuk membantu dalam menyederhanakan informasi manfaat-resiko dengan kategori-kategori yang dinyatakan dengan huruf-huruf seperti tercantum dalam klasifikasi. Banyak peringkat obat didasarkan pada data hewan, laporan kasus, dan data manusia yang terbatas atau tidak ada, dengan informasi yang jarang diperbarui (Cunningham *et al.*, 2014).

Tabel 2.4 Klasifikasi *Food and Drug Administration* (Cunningham et al., 2014)

Kategori	Penjelasan
Kategori A	Studi-studi pada wanita hamil belum memperlihatkan adanya bahaya bagi peningkatan risiko kelainan janin jika diberikan selama trimester pertama (kedua, ketiga atau semuanya).
Kategori B	Studi pada hewan memperlihatkan efek samping, tetapi studi-studi yang adekuat dan terkontrol baik pada wanita hamil gagal memperlihatkan risiko bagi janin selama trimester pertama kehamilan, dan belum ada bukti risiko pada trimester-trimester selanjutnya.
Kategori C	Studi-studi reproduksi hewan telah memperlihatkan bahwa obat ini bersifat teratogenik dan belum ada studi yang adekuat dan terkontrol baik pada wanita hamil.
Kategori D	Obat ini dapat membahayakan janin jika diberikan kepada wanita hamil. Jika obat ini digunakan selama kehamilan atau jika wanita hamil menggunakan obat ini maka perlu diberi tahu kemungkinan efek samping pada janinnya.
Kategori X	Obat ini dikontraindikasikan bagi wanita yang sedang atau akan hamil, karena dapat merugikan janin.

2.8.3 Mekanisme Genetik dan Fisiologis Teratogenisitas

Teratogen cenderung bekerja dengan mengganggu proses-proses fisiologis, spesifik, yang menyebabkan kematian sel, perubahan pertumbuhan jaringan, atau kelainan diferensiasi sel. Karena kelainan proses fisiologis dapat terjadi di berbagai sel atau jaringan, maka pajanan teratogenik sering menimbulkan efek multipel. Pajanan dapat menyebabkan berbagai kombinasi gangguan pertumbuhan, perkembangan, kelainan kraniofasial, dan hipoplasia falang distal. Pada komposisi genetik janin, zat-zat oksidatif normalnya didetoksifikasi oleh *epoksida hidrolase* di sitoplasma, tetapi karena aktivitas *epoksida hidrolase* pada janin cukup rendah, maka terjadi penumpukan zat-zat oksidatif di jaringan janin. Radikal-radikal oksida bebas ini memiliki efek karsinogenik, mutagenik, dan toksik dengan dependen dosis dan meningkat pada terapi dengan banyak jenis obat (Cunningham *et al.*, 2014).

2.9 Tikus

Tikus (*Rattus sp*) termasuk hewan pengerat yang merugikan dan termasuk hama terhadap tanaman petani. Perkembangbiakan tikus sangat luar biasa. Sekali beranak tikus dapat menghasilkan sampai 15 ekor, namun rata-rata 9 ekor. Tikus putih yang digunakan untuk percobaan laboratorium yang dikenal ada tiga macam galur yaitu Sprague Dawley, Long Evans dan Wistar. Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya

cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tirosid.

Adapun klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mammalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Odontoceti</i>
Familia	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina adalah mamalia yang tergolong ovulator spontan. Pada golongan ini ovulasi terjadi pada pertengahan siklus estrus yang dipengaruhi oleh adanya lonjakan LH (*Luteinizing hormone*). Tikus termasuk hewan yang bersifat poliestrus, memiliki siklus reproduksi yang sangat pendek. Setiap siklus lamanya berkisar antara 4-5 hari. Ovulasi sendiri berlangsung 8-11 jam sesudah dimulainya tahap estrus. Folikel yang sudah kehilangan telur akibat ovulasi akan berubah menjadi korpus luteum (KL), yang akan menghasilkan progesteron atas rangsangan LH. Progesteron bertanggung jawab dalam menyiapkan endometrium uterus agar reseptif terhadap implantasi embrio (Akbar, 2010).

2.9.1 Reproduksi Hewan Betina

Tikus dan mencit memiliki banyak kemiripan dalam sistem maupun siklus reproduksi. Secara umum sistem reproduksi betina terdiri atas ovarium

dan sistem duktus. Sistem tersebut tidak hanya menerima telur yang diovolasikan dan membawa ke tempat implantasi di uterus, tetapi juga menerima sperma dan membawanya ke tempat implantasi di uterus, tetapi juga menerima sperma dan membawanya ke tempat fertilisasi yaitu oviduk. Pertumbuhan, fungsi otot dan epitel saluran betina ada di bawah pengaruh hormon dan ditentukan oleh pergeseran progresif dalam sekresi estrogen dan progesteron oleh ovarium selama siklus ovarium (Akbar, 2010).

2.9.2 Siklus Reproduksi

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga sebagai siklus estrus. estrus atau birahi adalah suatu periode secara psikologis maupun fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Periode atau masa dari permulaan periode birahi ke periode birahi berikutnya disebut dengan siklus estrus (Akbar, 2010).

a. Fase Proestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung 1 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus sistem reproduksi memulai persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak (Akbar, 2010).

b. Fase Estrus

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam.

Folikel de graaf membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. pada preparat apusan vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar (Akbar, 2010).

c. Fase Metestrus

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus dimana korpus luteum bertumbuh cepat dari sel granulose folikel yang telah pecah di bawah pengaruh LH dan adenohipophysa. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit (Akbar, 2010).

d. Fase Diestrus

Diestrus adalah periode akhir dan terlama siklus birahi pada ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen (Akbar, 2010)