Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 9, No. 2, 2004, 82 - 87
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410-0177

Uji Aktivitas Teratogenitas Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta graveolens* Linn) pada Mencit Putih

Almahdy A, Suhatri dan Maizul
Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas

Diterima tanggal : 22 Juli 2004; Disetujui tanggal : 24 Agustus 2004

Abstract

Teratogenic effect of *Ruta graveolens* L. extract on white mice has been investigated. The extract was given orally at doses of 125, 250 and 500 mg/ Kg BW commencing on day 6 until 15 of pregnancy. Laparactomy was performed on day 18th of pregnancy and followed by eviscerating two third of the fetuses with red alizarin solution and the others were hardened in Bouin's fixation solution. The experiment showed that the extract at the doses of 125, 250 and 500 mg/Kg BW influenced body weight of mouse and fetus significantly, but not the number of fetuses. The doses of 500 mg/Kg BW caused abortion. Malformation such as absorption site observed on the doses of 500 mg/Kg BW, and the loss of eyelid, pinnae, syndactyl and tail curling at the dose of 250 mg/Kg BB.

Keywords : Teratogenic effect, *Ruta graveolens* L, Mice

Pendahuluan

Pemakaian obat tradisional untuk pengobatan telah lama dipraktekkan oleh masyarakat Indonesia dalam menyembuhkan berbagai penyakit. Agar peranan obat tradisional tersebut lebih dipercayai diperlukan kajian praklinis terutama mengenai khasiat dan keamanannya.

Inggu (*Ruta graveolens* Linn; Rutaceae) merupakan salah satu tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat tradisional. Pada mulanya tumbuhan ini berasal dari Mediterranean, kemudian tersebar ke berbagai daerah seperti India, Cina termasuk Indonesia. Daun inggu secara tradisional digunakan untuk menghilangkan rasa sakit (analgesik) dan menurunkan panas dengan meminum air rebusannya serta penyakit lainnya seperti batuk, gigitan ular serta berkhasiat sebagai abortivum (Burkill, 1996). Dari hasil penelitian terdahulu telah diketahui bahwa daun inggu mengandung senyawa alkaloid serta minyak menguap metilnonilketon dan metilheptilketon. Pada dosis yang tinggi minyak ini menyebabkan iritasi gastro-enteritis, muntah dan konvulsi, sedang pada dosis rendah minyak ini bersifat karminatif (Afshar 1994; Yaacob *et al*., 1989).

Toksisitas reproduksi merupakan salah satu uji toksisitas yang harus dilakukan untuk sediaan dan bahan kimia yang akan dikonsumsi oleh manusia. Salah satu uji toksisitas reproduksi yang sering digunakan untuk mengamati keamanan bahan kimia dari alam adalah uji teratogenitas (Lu 1995). Penelitian ini melaporkan pengaruh ekstrak etanol daun inggu terhadap pertumbuhan janin dari mencit putih yang diberi ekstrak etanol daun inggu selama kehamilannya.

Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, yang berlangsung dari bulan Juni sampai September 2003.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah kaca objek, cover glass, kaca pembesar, pipet tetes, batang pengaduk, gelas ukur, spatel, jarum oral, kertas tisu, kandang mencit, timbangan hewan (Ohaus, triple beam balance), timbangan analitik (Denver instrument), mikroskop (Griffin Carton), wadah perendaman fetus, seperangkat alat destilasi vakum, rotari evaporator dan alat-alat bedah.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar inggu yang diperoleh dari Kelurahan Kampung Manggis Kecamatan Padang Panjang Barat Kotamadya Padang Panjang, Sumatra Barat dan diidentifikasi di herbarium Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas, air suling, etanol 96%, etanol 70%, NaCl fisiologis, larutan Bouin's (formaldehid 14%, asam asetat glasial, asam pikrat jenuh)

Penulis untuk korespondensi: Telp.62-751-71682,Fax.62-751-7311
E-mail : almahdy@telkom.net

larutan alizarin merah (KOH 1%, alizarin merah 6 mg/l), pewarna metilenbiru 0,1%, tween 80 0,2%, dan gliserin.

Pembuatan Sediaan Uji

Daun inggu dipisahkan dari ranting dan batangnya, kemudian dibersihkan dari kotoran, selanjutnya ditimbang sebanyak 1 kg dan dimaserasi dengan pelarut etanol 96% di dalam botol berwarna coklat, simpan di tempat gelap sambil sekali-kali diaduk. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali masing-masing selama lima hari, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dikisatkan dengan bantuan rotari evaporator, sehingga diperoleh ekstrak yang kental, yang selanjutnya disebut ekstrak.

Sediaan uji dibuat dengan cara mendispersikan ekstrak etanol daun inggu dengan penambahan Tween-80 dalam air suling. Ekstrak ditimbang berdasarkan konsentrasi masing-masing dosis. Dosis yang digunakan adalah 125 mg/kg BB, 250 mg/kg BB dan 250 mg/kg BB. Sediaan uji diberikan selama 10 hari berturut-turut mulai hari kenam sampai lima belas kehamilan peroral. Kelompok kontrol hanya diberi Tween saja.

Perlakuan Terhadap Hewan

Persiapan Hewan Percobaan

Pada percobaan ini digunakan 4 kelompok hewan yang tiap kelompoknya terdiri dari 10 ekor. Hewan yang digunakan adalah mencit putih betina dan beberapa ekor mencit putih jantan. Sebelum diperlakukan hewan diaklimatisasi selama 10 hari. Selama aklimatisasi dilakukan penentuan siklus estrus dengan metoda pipet, dengan menyemprotkan NaCl fisiologis menggunakan pipet berujung tumpul sebanyak satu atau dua tetes pada vagina mencit, kemudian dihisap kembali. Hasil hisapan diratakan pada kaca objek dan dikeringkan, setelah kering diberi pewarna metilenbiru 0,1%, biarkan beberapa saat lalu amati bentuk sel-sel epitel dan leukositnya di bawah mikroskop (Yatim,1996). Mencit yang digunakan dianggap sehat bila bobot badan tetap (deviasi maksimum 10%), secara visual menunjukkan perilaku yang normal dan mempunyai daur estrus yang teratur yaitu empat sampai lima hari (FI, 1979; Almahdy, 1990).

Pengawinan Hewan Percobaan

Pengawinan hewan dilakukan pada masa estrus dan bila ditemukan sumbat vagina sehari setelah pengawinan maka, mencit dianggap berada pada hari kehamilan ke nol. Pengawainan dilakukan dengan komposisi 1 jantan dan 4 betina. Mencit yang telah hamil dipisahkan dan yang belum kawin dicampur kembali dengan mencit jantan (Almahdy, 1990, 1993; Alen 2003). Selama kehamilan berat badan ditimbang setiap harinya.

Laparaktomi

Pada hari ke-delapan belas kehamilan mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan laparaktomi untuk mengeluarkan fetus. Parameter yang diamati pada fetus adalah ada tidaknya resorpsi, jumlah fetus pada masing-masing bagian uterus, fetus yang hidup dan yang mati, berat masing-masing fetus dan kelainan secara visual pada ekor, daun telinga, kelopak mata, jumlah jari kaki depan serta belakang (Wilson, 1975; 1978).

Fiksasi dan Pengamatan

Setelah diamati secara visual, sepertiga dari jumlah fetus dari satu induk difiksasi dengan larutan Bouin's selama empat belas hari. Pengamatan bagian visceral dilakukan terhadap langit-langit (*palate*).Sisanya dua pertiga bagian lagi, direndam dengan larutan alizarin untuk mengamati kelainan pada skeletal seperti tulang dada, tulang kaki dan jari-jari kaki, semua hasil pengamatan dibandingkan dengan kontrol (Manson, 1982).

Hasil dan Pembahasan

Ekstrak diberikan secara oral pada mencit selama masa kritis kehamilan, yakni pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan tanpa mempuasakannya. Hasil menunjukkan bahwa peningkatan berat badan induk mencit selama pemberian ekstrak daun inggu pada dosis 125, 250 dan 500 mg/Kg BB sangat bermakna menurut analisa varian ($p < 0.05$) seperti terlihat pada Tabel1.

Tabel 1. Berat badan rata-rata induk mencit selama kehamilan

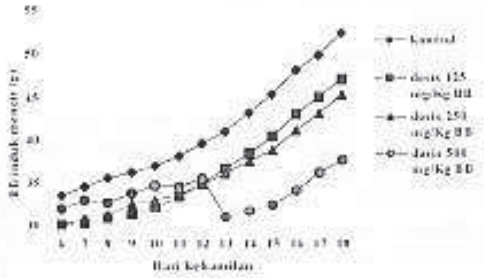
Hari Ke	Berat Badan (gram)			
	D1	D2	D3	D4
6	33,66	30,12	30,14	31,98
7	34,64	30,34	30,92	32,99
8	35,65	30,84	31,36	32,78
9	36,36	31,30	32,54	33,91
10	37,00	32,18	32,98	34,70
11	38,23	33,38	33,79	35,81
12	39,61	35,02	34,90	36,64
13	41,02	36,80	36,16	38,06
14	43,24	38,48	37,66	39,69
15	45,31	40,50	38,96	32,14
16	48,05	43,02	41,26	34,22
17	49,84	45,02	43,26	36,38
18	52,42	47,14	45,33	37,70

Keterangan :
D1 = kelompok kontrol
D2 = kelompok dosis 125 mg/kg BB
D3 = kelompok dosis 250 mg/kg BB
D4 = kelompok dosis 500 mg/kg BB

Pemberian ekstrak pada dosis 125 dan 250 mg/Kg BB tidak menimbulkan kelainan pada kesehatan induk mencit, sedangkan pada 500 mg/Kg BB terjadi keguguran dan kematian pada 20% induk mencit. Sementara dosis 125, 250 dan 500 mg/Kg BB tersebut menurunkan jumlah fetus berturut-turut sebesar 23,33; 18,33 dan 38,33% namun tidak berbeda nyata menurut analisis anova, seperti terlihat pada Gambar 1.

Pengaruh ekstrak secara makroskopis, memperlihatkan adanya kelainan pada kelopak mata, daun telinga, jari-jari kaki, ekor pada dosis 250 pada satu induk mencit, sedang pada dosis 500 ditemui adanya tapak resorpsi, namun pada dosis 125 mg/Kg BB tidak terdapat kelainan.

Pada dosis 125 peningkatan berat badan rata-rata induk mencit sebesar 53,18%, dosis 250 sebesar 51,04% dan dosis 500 mg/Kg BB hanya 37,97% sedangkan kontrol sebesar 56,18%.



Gambar 1. Grafik kenaikan berat badan induk mencit pada masa kritis kehamilan selama pemberian ekstrak etanol daun inggu untuk tiap kelompok dosis. (Ket : pada dosis 500 mg/Kg BB terjadi keguguran pada satu induk mencit pada hari ke-12)

Dari perhitungan statistika terlihat bahwa ekstrak etanol daun inggu menyebabkan penurunan berat badan induk mencit secara bermakna pada semua tingkatan dosis bila dibandingkan terhadap kontrol. Hal ini disebabkan karena sifat toksik inggu terhadap fetus dan sistem metabolisme induk mencit yang sedang hamil. Pada dosis 500 mg/Kg BB terjadi keguguran pada satu induk mencit pada hari ke-12 kehamilan, yang ditandai dengan penurunan berat badan yang drastis dan pendarahan pada vagina sehingga menyebabkan kematian. Berdasar-kan penelitian terdahulu, inggu mengandung senyawa furoquinoline alkaloid skimmianine dapat menyebabkan keguguran pada sejumlah hewan percobaan. Hal ini akibat efek stimulasi langsung pada otot polos kandungan (uterus). Keguguran terjadi hanya pada satu induk mencit, yang mungkin karena adanya sifat kerentanan genetik pada individu mencit walaupun berasal dari satu anakan yang sama.

Pemeriksaan pada fetus dilakukan dengan mengeluarkan fetus pada hari ke-18 kehamilan dengan cara laparak-tomi, karena mencit yang melahirkan secara spontan cenderung untuk memakan keturunannya yang cacat, yang mati atau yang hampir mati, sehingga dapat mempengaruhi hasil perhitungan data. Disamping itu, dengan dilakukan laparaktomi jumlah resorpsi yang terjadi dapat diamati (Wilson 1978).

Pemberian ekstrak etanol daun inggu pada dosis 125, 250 dan 500 mg/Kg BB menurunkan jumlah fetus berturut-turut sebesar 23,33%, 18,33% dan 38,33% bila dibandingkan terhadap kontrol, seperti pada Tabel 2. Penurunan jumlah fetus yang paling besar adalah pada dosis 500 mg/Kg BB, hal ini disebabkan efek toksik daun inggu yang semakin besar dengan bertambahnya dosis yang menyebabkan kematian pada sebagian fetus atau menimbulkan resorpsi, sehingga jumlah fetus yang berkembang berkurang, akibatnya berat badan fetus pada dosis 500 mg/Kg BB lebih besar dibanding 250 mg/Kg BB, namun masih tetap dibawah berat badan fetus kontrol dan dosis 125 mg/Kg BB. Sebaliknya untuk dosis 250 mg/kg BB karena jumlah fetusnya yang banyak maka persentase penurunan jumlah fetus dibanding kontrol adalah paling kecil, tergambar pada berat badan fetusnya yang relatif kecil dibanding dosis 500 mg/Kg BB, tetapi sifat toksik daun inggu cukup besar pada dosis ini, maka berat badan fetus jauh dibawah kontrol dan dosis 125 mg/Kg BB. Menurut literatur jumlah fetus akan mempengaruhi berat badan fetus, semakin banyak jumlah fetus, maka berat badan fetus akan semakin kecil (Manson 1982). Dengan analisa varian terlihat bahwa ekstrak daun inggu tidak mem-pengaruhi jumlah fetus secara bermakna ($p<0,05$).

Tabel 2. Jumlah fetus pada masing-masing dosis

Mencit Nomor	Jumlah Fetus			
	D_0	D_1	D_2	D_3
1	12	7	8	12
2	8	11	13	7
3	15	6	11	10
4	11	13	6	6
5	14	9	11	8
Jumlah	60	46	49	37
$\bar{X} \pm SD$	12 ± 2,4495	9,2 ± 2,5612	9,8 ± 2,4819	7,4 ± 1,9303

Pada dosis 500 mg/Kg BB terlihat berat badan rata-rata fetus lebih besar dibanding dosis 250 mg/Kg BB, namun masih kecil dari dosis 125 mg/Kg BB dan kontrol, karena pada dosis 500 mg/Kg BB jumlah fetus lebih sedikit dibanding dosis 250 mg/Kg BB dan dijumpainya tapak

resorpsi pada saat laparaktomi, sedang pada dosis 250 mg/Kg BB tidak. Resorpsi berupa gumpalan merah yang tertanam pada uterus. Pembentukan resorpsi disebabkan karena pengaruh pemberian ekstrak daun inggu pada masa organogenesis, dimana pada masa tersebut tidak terdapat lagi sifat totipoteasi sehingga tidak bisa memperbaiki kerusakan pada jaringan dan tidak bisa lagi berkembang sehingga fetus akan mati. Tapak resorpsi hanya dijumpai pada dosis 500 mg/Kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa sifat toksik ekstrak pada dosis ini bekerja pada masa awal organogenesis dan langsung mematikan embrio, sehingga embrio mati tanpa sempat berkembang, sedangkan pada dosis 250 mg/Kg BB sifat toksik dari ekstrak daun inggu tidak sampai mematikan embrio pada masa awal organogenesis, tapi menimbulkan kelainan pada mata, telinga, ekor dan jari-jari kaki. Perbandingan sifat toksik dari daun inggu terhadap fetus juga terlihat dari jumlah fetus yang dijumpai mati setelah induk mencit dilaparaktomi. Pada dosis 250 mg/Kg BB hanya 2 ekor, sedang pada dosis 500 mg/Kg BB dijumpai 4 ekor, hal ini menggambarkan bahwa toksisitas ekstrak daun inggu terhadap fetus meningkat dengan bertambahnya dosis.

Tabel 3. Berat rata-rata fetus mencit setelah dilaparaktomi pada hari ke-18 kehamilan

Induk mencit Nomor	Berat rata-rata fetus (g) pada kelompok			
	D_0	D_1	D_2	D_3
1	1,340	0,860	0,750	0,952
2	1,373	1,341	0,705	0,848
3	1,339	1,468	0,615	0,859
4	1,261	0,923	0,819	0,000
5	1,317	0,927	0,868	0,865

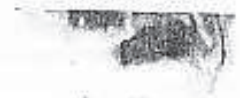
Keterangan:
D_0 = kelompok kontrol (dosis 0 mg/Kg BB)
D_1 = kelompok dosis 125 mg/Kg BB
D_2 = kelompok dosis 250 mg/Kg BB
D_3 = kelompok dosis 500 mg/Kg BB

Fetus yang telah difiksasi dalam larutan alizarin merah diamati bentuk dan jumlah tulang yang membentuk rangka secara umum. Pada hewan normal ada tujuh tulang servic, tiga belas tulang thorac, enam tulang lumbal, empat tulang sacral dan dua atau tiga tulang caudal. Semua diamati setelah fetus direndam dengan larutan alizarin merah-KOH 1% yang menyebabkan fetus menjadi transparan dan tulang berwarna merah tua, sehingga dapat diamati dengan bantuan kaca pembesar. Setelah dilakukan pengamatan tidak terdapat kelainan tulang pada semua tingkatan dosis dibandingkan terhadap kontrol.

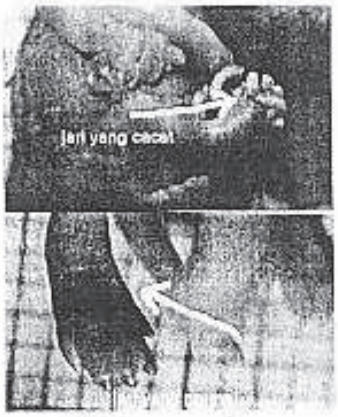
Fetus yang direndam dalam larutan Bouin's akan keras dan berwarna kuning., dapat digunakan untuk mengamati bagian luar dan celah langit-langit. formaldehid dan asam asetat yang terdapat di dalam larutan Bouin's akan mengawetkan jaringan embrio. Proses kimiawi yang terjadi dalam hal ini bersifat komplek dan belum dimengerti sepenuhnya (Wand 1969), sedangkan asam pikrat akan mewarnai fetus sehingga berwarna kuning dan lebih mudah mengamatinya.

Parameter yang diamati antara lain kelopak mata, daun telinga, kaki dan jari-jari kaki serta celah pada langit-langit. Dari ke tiga kelompok dosis yang digunakan kelainan morfologi hanya dijumpai pada dosis 250 mg/Kg BB dan hanya pada satu ekor induk mencit saja setelah dibandingkan terhadap kontrol. Hal ini disebabkan oleh adanya kerentanan genetik. Reaksi fetus terhadap senyawa kimia bervariasi, bukan hanya antar spesies hewan akan tetapi juga antar ras dan bahkan antara individu dari induk yang sama (Harbison 2001). Kelainan yang dijumpai berupa tidak adanya kelopak mata, tidak adanya daun telinga, jari tak sempurna (Syndactyl), dan ekor bergelung (tail curling), sedang cacat celah langit-langit (cleft plate) tidak ditemui pada ketiga tingkatan dosis.

Jenis cacat yang terjadi tergantung pada periode pertumbuhan, karena tidak semua organ rentan pada saat yang sama dari suatu kehamilan. Umumnya embrio mencit rentan pada hari ke-8 sampai hari ke-12 kehamilan. Cacat pada mata paling rentan pada hari ke-9 kehamilan yaitu 40% dari cacat seluruh organ, pada hari ke-10 hanya 33%. Cacat pada telinga hari ke-10 kehamilan (35%), jari-jari dan ekor juga pada hari ke-9 (25%) sedang pada hari ke-



Gambar 2. Foto ekor fetus mencit yang cacat karena induknya diberi ekstrak inggu dan ekor yang normal sebagai pembanding



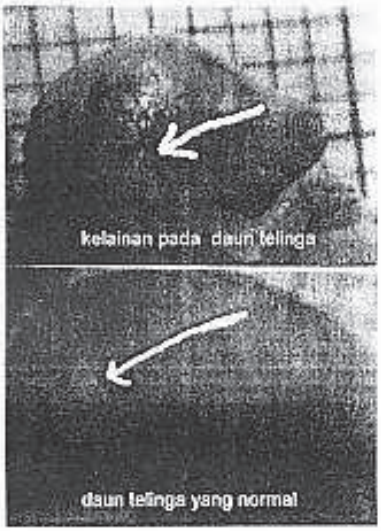
Gambar 3. Foto jari fetus mencit yang cacat karena induknya diberi ekstrak inggu dan jari yang normal sebagai pembanding

10 kehamilan kemungkinan cacat jari-jari dan ekor hanya 18%. Dari periode-periode kerentanan tersebut dapat diduga senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun inggu pada dosis 250 mg/Kg BB menyebabkan cacat karena pemberian ekstrak pada hari-hari rentan tersebut. Pada dosis 500 mg/Kg BB tidak ditemui cacat fetus karena embrio sudah mati sebelum hari-hari rentan tersebut dan mencair sehingga hanya dijumpai berupa tapak resorpsi saja, pada dosis 125 mg/Kg BB tidak dijumpai adanya kelainan morfologis pada fetusnya.

Keadaan gizi dan kesehatan induk mencit selama kehamilan perlu diperhatikan, karena cacat bawaan selain disebabkan faktor genetik juga disebabkan oleh faktor lain seperti lingkungan, infeksi tertentu dan defisiensi vitamin pada induk (Wilson, 1978; Manson, 1982). Dari hasil pengujian teratogenitas ini dapat dipahami bahwa daun inggu dapat menimbulkan keguguran, mematikan embrio dan menimbulkan kalainan pada fetus. Pada keadaan ini belum dapat disimpulkan potensi teratogen dari tumbuhan ini mengingat adanya sifat kerentanan antara spesies hewan. Sifat kerentanan ini juga dapat terjadi pada individu walaupun berasal dari induk yang sama, karena itu perlu disarankan agar penelitian potensi teratogen tersebut dilanjutkan terhadap spesies lainnya.

Kesimpulan

Dari uji aktivitas teratogenitas ekstrak etanol daun inggu dengan menggunakan hewan percobaan mencit putih dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol daun inggu pada dosis 500 mg/Kg BB dapat menyebabkan keguguran dan efek teratogen berupa tapak resorpsi, sedang pada dosis 250 mg/Kg BB berupa tidak terbentuknya kelopak mata, daun telinga, jari-jari yang tak sempurna (*syndactyl*) dan ekor yang bergelung (*tail curling*) sedang pada dosis 125 mg/Kg BB tidak menimbulkan kelainan apa-apa.



Gambar 4. Foto daun telinga fetus mencit yang cacat karena induknya diberi ekstrak inggu dan daun telinga yang normal sebagai pembanding

Daftar Pustaka

Afshar, J.D.A., Delazar, 1994, Rutin from *Ruta graveolens*, *J. Sc. Pharm. Med. Sci*, 4 (1,2), 1-12.

Alen, Y., E. Fauzana dan Ahmahdy A. 2003. "Teratogenitas Ekstrak Ethanol dan Fraksi Etil Asetat Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) Pada Mencit Putih (*Mus. musculus*) Secara In Vivo", *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 8 (1), 26-30.

Ahmahdy, A., 1990, "Studi Teratogenitas Ekstrak Air Kayu Kasai (*Pristania sumatrana* Miq) Terhadap Mencit Secara Makroskopis", *Tesis Pascasarjana* Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Ahmahdy, A., 1993, "Potensi Anti Makan dan Teratogenitas Tumbuhan Sabang-Sabang (*Hyptis capitata* Jacq) (Antifeedant and Teratogenic Potential of *Hyptis capitata* Jacq)", *Jurnal Penelitian Andalas*, No.12, 21.

Burkill, I. H. A., 1966, *Dictionary of the Economic Product of Malay Peninsula*, Vol.II, Government of Malaya and Singapore, Kualalumpur.

Farmakope Indonesia, 1979, Edisi III, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.

Hathinson, R.D., 2001, *The Basic Science of Poisons in Casarett and Doull's Toxicology*, Macmillan Publishing Co.Inc., New York.

Lu, F. C., 1995, *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*, ed. 2, alih bahasa oleh Edi Nugroho, Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Marzoni, I. M., H. Zenick and R.D. Cosflow, 1982, *Teratology Test Methods for Laboratory Animals*, Ravent Press, New York.

Ward, O.C., 1969, "Teratological Evaluation Drugs A Student Project", *Am. J. Pharm.*, 3 (2), May.

Wilson, J.G. and I. Warkany, 1975, *Teratology Principles and Techniques*, University of Chicago Press, Chicago IL.

Wilson, J.G. and Fraser F.G., 1978, *Handbook of Teratology*, Plenum Press, New York.

Yaacob, K.B., C.M. Abdullah, D. Joulain, 1989, Essesial Oil of *Ruta graveolens*, *Jessent Oil Res.*, 1 (5), 203-207.

Yatim, W., 1996, *Reproduksi dan Embriologi*, Edisi II, Tarsito, Bandung.