



PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR TERHADAP KADAR MDA HATI MENCIT YANG DIINDUKSI ISONIAZID

SKRIPSI

Oleh

**Emma Enggar Safitri
NIM 132010101047**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR TERHADAP KADAR MDA HATI MENCIT YANG DIINDUKSI ISONIAZID

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

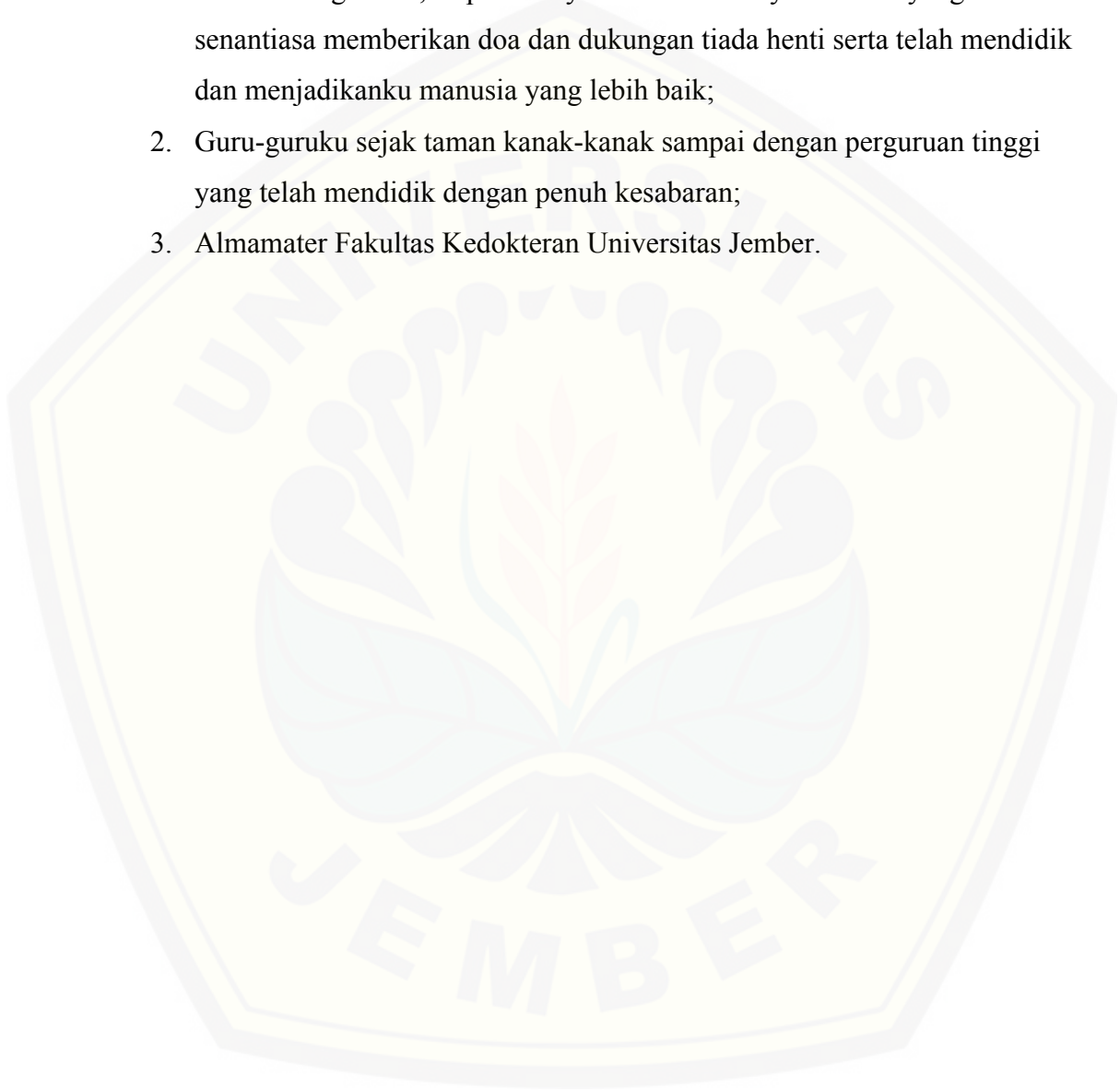
Emma Enggar Safitri
NIM 132010101047

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku, Bapak Maryono dan Ibu Emy Sukartini yang senantiasa memberikan doa dan dukungan tiada henti serta telah mendidik dan menjadikanku manusia yang lebih baik;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

Sesungguhnya beserta kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.
(terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 6-8)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia*. Bogor: Sygma.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Emma Enggar Safitri

NIM : 132010101047

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar MDA Hati Mencit yang Diinduksi Isoniazid” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 6 Desember 2016

Yang menyatakan,

Emma Enggar Safitri
NIM 132010101047

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum*)
SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR TERHADAP KADAR MDA HATI
MENCIT YANG DIINDUKSI ISONIAZID**

Oleh
Emma Enggar Safitri
NIM 132010101047

Pembimbing:

Dosen Pembimbing I : Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes
Dosen Pembimbing II : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar MDA Hati Mencit yang Diinduksi Isoniazid” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari , Tanggal : Selasa, 6 Desember 2016

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Penguji I,

dr. Hairrudin, M.Kes.

NIP 197510112003121008

Penguji II,

dr. Bagus Hermansyah, M. Biomed

NIP 19830405 2008121001

Penguji III,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes

NIP.196902031999031001

Penguji IV,

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si

NIP 19840916 2008012003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes

NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar MDA Hati Mencit yang Diinduksi Isoniazid; Emma Enggar Safitri, 132010101047; 2016; 75 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Drug induced liver injury (DILI) merupakan salah satu penyakit peradangan hati karena penggunaan obat tertentu. Kejadian DILI sekitar 1:10.000 atau 1:100.000 dan 10% pasien dengan gejala ikterus bisa meninggal. Obat antituberkulosis di India menempati urutan pertama obat yang dapat menyebabkan DILI. Sedangkan isoniazid menduduki urutan kedua di Spanyol dan US. Isoniazid dimetabolisme di hati dengan menggunakan beberapa jalur metabolisme. Salah satunya menggunakan enzim n-asetyltransferase dan amylohidrolase untuk menguraikan isoniazid menjadi asetilhidrazin dan hidrazin. Hidrazin merupakan metabolit reaktif yang merupakan radikal bebas bagi tubuh. Hidrazin akan menyebabkan stress oksidatif berupa penurunan glutation sulfhydril (GSH) intraseluler dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid akan merusak sel karena strukturnya belum stabil dan mencari pasangan elektron lainnya dari membran sel dengan cara memecahkan asam lemak jenuh yang dapat menghasilkan MDA. MDA merupakan biomarker adanya radikal bebas yang tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan dalam tubuh. MDA merupakan senyawa yang mutagenik bagi tubuh dan bisa berikatan lagi dengan PUFA melalui omega-6 dari PUFA sehingga menyebabkan fragmentasi membran sel dan membran sel yang terkena menjadi rapuh. MDA dapat ditemukan di berbagai jaringan sesuai dengan kerusakan yang ada. MDA dapat menginduksi deleksi berat pada DNA sehingga perbaikannya tidak mudah. Sel yang sudah terdelesi karena MDA dapat berubah menjadi lesi premutagenik.

Berkurangnya antioksidan alami yang ada dalam tubuh dapat menyebabkan ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan. Oleh karena itu diperlukan antioksidan dari luar tubuh. Antioksidan dapat diperoleh dari tumbuhan hijau terutama daunnya. Kemangi merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki antioksidan yang tinggi. Daun kemangi memiliki senyawa antioksidan yang beragam. Senyawa yang paling banyak terdapat pada daun kemangi (*Ocimum sanctum*) adalah minyak atsiri yang mengandung 70% eugenol dan 20% metyl eugenol. Eugenol merupakan senyawa fenolik. Senyawa fenolik lain yang dipercaya bisa menurunkan radikal bebas adalah flavonoid. Senyawa fenolik ini dapat mendonorkan elektron dan hidrogen pada proses peroksidasi lipid sehingga mencegah terbentuknya MDA.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *posttest only with control group design*, bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap kadar MDA hati pada mencit yang diinduksi isoniazid. Penelitian dilakukan di

laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 28 ekor mencit jantan berat 20-30 gram yang diambil secara *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok normal (Kn), kelompok kontrol negatif (K₍₋₎), kelompok perlakuan 1 (K₁), kelompok perlakuan 2 (K₂), kelompok perlakuan 3 (K₃), kelompok perlakuan 4 (K₄) dan kelompok perlakuan 5 (K₅). Kelompok normal diberikan normal saline dan setelah 2 jam diberikan tween 80 0,5% peroral sesuai berat badan. Kelompok kontrol negatif K₍₋₎ diberikan isoniazid yang dilarutkan dalam normal saline peroral dengan dosis 100mg/kgBB dan setelah 2 jam akan disondekan larutan tween 80 0,5% untuk menyamakan perlakuan terhadap kelompok yang diberi ekstrak kemangi. Kelompok perlakuan K₁, K₂, K₃, K₄ dan K₅ disondekan INH yang dilarutkan dalam normal saline dengan dosis 200mg/kgBB dan setelah 2 jam diberikan ekstrak etanol daun kemangi yang dilarutkan dalam tween 80 0,5% peroral dengan dosis 2,8 mg/20gBB, 5,6 mg/20gBB, 8,4 mg/20gBB, 11,2 mg/20gBB dan 14 mg/20gBB. Setelah semua kelompok diberi perlakuan selama 10 hari dilakukan pengukuran kadar MDA dari jaringan hati dengan metode MDA-TBA. Pembuatan ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 90%.

Data yang didapat berupa kadar MDA dengan satuan µg/mL. Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA dan standar deviasi tiap kelompok perlakuan adalah Kn 3,97±1,41; K₍₋₎ 8,38±0,79; K₁ 5,89±0,73; K₂ 5,41±1,58; K₃ 4,77±2,12; K₄ 4,54±1,51 dan K₅ 4,06±1,48. Hasil pengukuran kadar MDA Hati dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan tes LSD (*Least Significant Difference*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar mda hati mencit yang diinduksi isoniazid ($p < 0,05$). Hasil pengukuran kadar MDA hati juga diuji dengan analisis statistik regresi untuk mencari dosis efektif ekstrak etanol daun kemangi yaitu 14,568mg/20gBB.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar MDA Hati Mencit yang Diinduksi Isoniazid”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
2. dr. Hairrudin, M.Kes. dan dr. Bagus Hermansyah, M. Biomed. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Bapak Maryono dan Ibu Emy Sukartini, orang tua tercinta terimakasih atas semua bantuan moril dan materil yang telah diberikan serta doa dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis.
4. Nafisa Dwi Arisanti, saudariku yang selalu memberikan semangat kepada penulis.
5. Mbak Nuris selaku Analis Laboratorium Biokimia, Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Farmakologi dan Mas Agus yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

6. Rekan kerjaku, M. Buyung Muslimin, Shinta Madyaning Wuri, dan Latifatu Choirunnisa yang telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat selama penelitian;
7. Sahabat-sahabatku, Cahya Kusumawardani, Khrisnayu Indraswari, Andyn Robioleny S, Intan Wahyu P, Cicik Tri Juliani, Asis Fitriana, Haqiqi Amira Syatir dan Revin Fiona C yang telah memberikan semangat untuk cepat menyelesaikan penelitian ini;
8. Sahabat-sahabatku Eka Rangga Ramadhan, Balqis Istiqomah, Riztya Justitia, Prima Frismaharani, Anisa Rizki Sabrina, Yustus Vidheka, Ratih Putri A, Adella Acqha, Anindita Hapsari dan Qonita Nur Fitriani yang telah memberikan semangat selama penelitian;
9. Teman-teman angkatan 2013 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengaharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

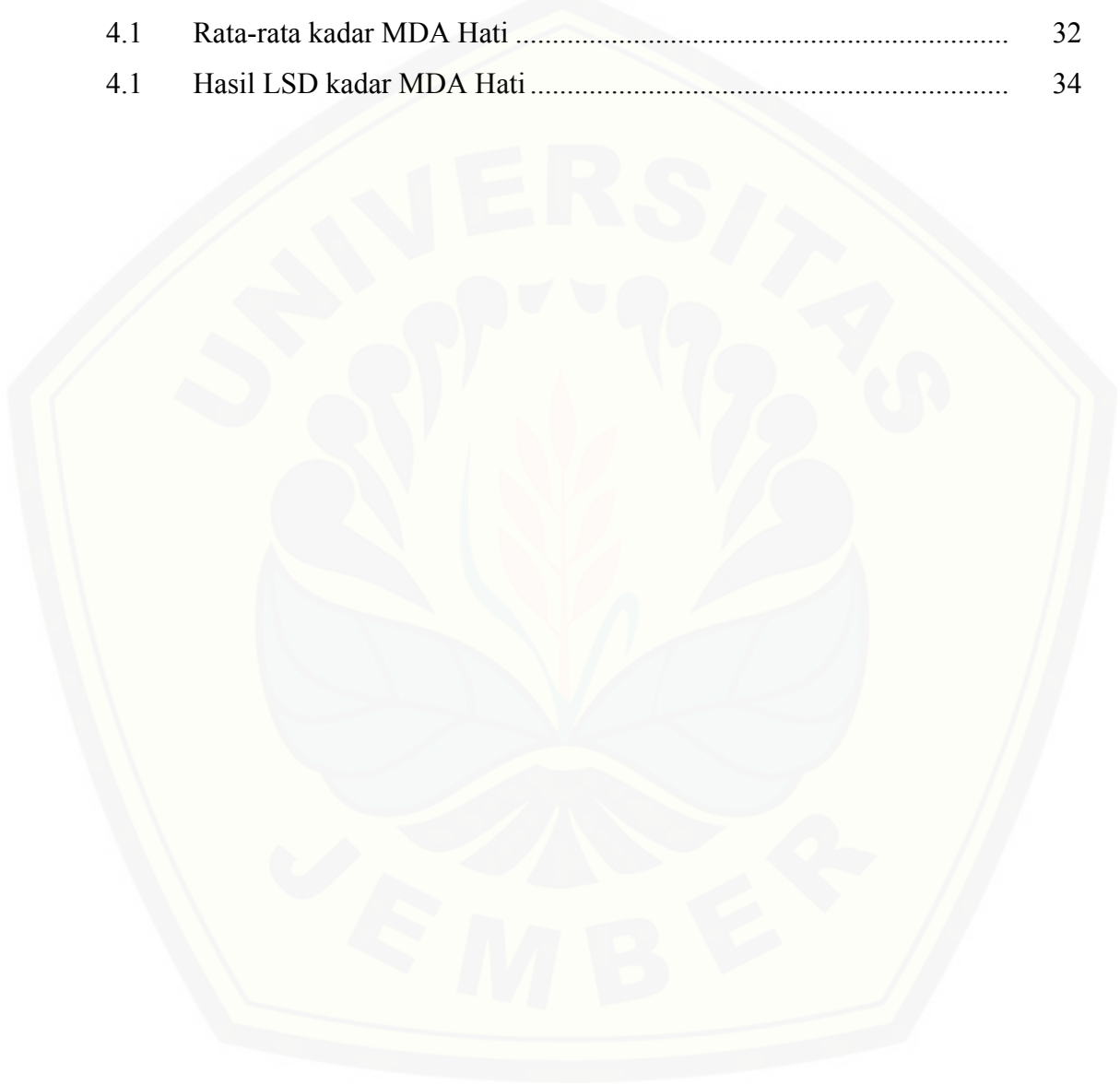
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINAJUAN PUSTAKA	5
2.1 Drug Induced Liver Injury (DILI)	5
2.1.1 Definisi DILI.....	5
2.1.2 Etiologi DILI.....	5
2.1.3 Patofisiologi DILI	6
2.2 Isoniazid	6
2.2.1 Definisi.....	6
2.2.2 Farmakokinetik	7
2.2.3 Toksisitas	7
2.2.4 Efek Samping.....	8

2.3	Anatomi dan Fisiologi Hati	8
2.4	Malondyaldehyde (MDA)	10
2.5	Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i>)	11
	2.5.1 Definisi.....	11
	2.5.2 Taksonomi	12
	2.5.3 Manfaat	13
	2.5.4 Kandungan	14
	2.5.5 Antioksidan pada Daun Kemangi	15
2.6	Kerangka Teori	17
2.7	Kerangka Konseptual	18
2.7	Hipotesis	19
BAB 3.	METODE PENELITIAN	20
3.1	Jenis Penelitian	20
3.2	Rancangan Penelitian	20
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.4	Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.5	Variabel Penelitian	22
	3.5.1 Variabel Bebas	22
	3.5.2 Variabel Terikat	22
	3.5.3 Variabel Terkendali	23
3.6	Definisi Operasional	23
	3.6.1 Ekstrak Etanol Daun Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i>)	23
	3.6.2 Kadar MDA Hati	23
	3.6.8 Dosis dan Frekuensi Pemberian Isoniazid	24
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	24
	3.7.1 Alat Penelitian.....	24
	3.7.2 Bahan Penelitian	24
3.8	Prosedur Penelitian	25
	3.8.1 Pemilihan Hewan Coba	25
	3.8.2 Adaptasi Hewan Coba	25
	3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	25

3.8.4	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi.....	26
3.8.5	Penginduksian Isoniazid	26
3.8.6	Penginduksian Ekstrak Etanol Daun Kemangi..	27
3.8.7	Pemeriksaan Kadar MDA Hati	27
3.9	Analisis Data	28
3.10	Etika Penelitian	29
3.11	Alur Penelitian	30
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1	Hasil Penelitian	31
4.2	Analisis Data	32
4.3	Pembahasan	34
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1	Kesimpulan	37
5.2	Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Tahap peroksidasi lipid dan antioksidan	16
3.1 Pembagian kelompok perlakuan.....	25
4.1 Rata-rata kadar MDA Hati	32
4.1 Hasil LSD kadar MDA Hati	34



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia isoniazid.....	6
2.2 Histologi hati	9
2.3 Struktur kimia MDA.....	10
2.4 Tanaman kemangi.....	12
2.5 Kerangka teori	17
2.6 Kerangka konsep penelitian.	18
3.1 Skema rancangan penelitian	21
3.2 Skema pembuatan ekstrak	30
3.3 Skema perlakuan hewan coba.....	31
4.1 Histogram rata-rata kadar MDA hati.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan.	43
Lampiran 3.2 Tabel konversi dosis pada berbagai hewan coba.....	44
Lampiran 3.3 Perhitungan dosis INH	45
Lampiran 3.4 Perhitungan dosis ekstrak etanol daun kemangi.....	46
Lampiran 3.5. Keterangan determinasi tanaman	47
Lampiran 3.6 Keterangan persetujuan etik	48
Lampiran 4.1 Kurva standar MDA	50
Lampiran 4.2 Data kadar MDA hati	51
Lampiran 4.3 Hasil analisis statistik	52
Lampiran 4.4 Dokumentasi penelitian.....	56

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang masalah

Drug induced liver injury (DILI) merupakan salah satu penyakit peradangan hati karena penggunaan obat tertentu. Tahun 1990-2002 pada US didapatkan 270 kasus DILI, 133 kasus (49%) terjadi karena konsumsi parasetamol dan 137 kasus lainnya karena obat-obatan lain seperti isoniazid sebanyak 24 kasus (17.5%), *propylthiouracil* sebanyak 13 (9.5%) *phenytoin* dan *valproate* sebanyak 10 kasus (7.3%) (Russo *et al.*, 2004). Obat antituberkulosis di India menempati urutan pertama obat yang dapat menyebabkan DILI, sedangkan isoniazid menduduki urutan kedua di Spanyol dan US dengan perbandingan 100 penderita pada 100.000 pasien yang menggunakan isoniazid (Einar, 2016). Pasien yang mengkonsumsi obat antituberkulosis sebanyak 5-28% akan mengalami efek samping berupa hepatitis toksik (Ramappa dan Aithal, 2012). Kejadian DILI sekitar 1:10.000 sampai 1:100.000 dan 10% pasien dengan gejala ikterus bisa meninggal (Bell *et al.*, 2009).

Isoniazid di metabolisme di hati dengan menggunakan beberapa jalur metabolisme. Salah satunya menggunakan enzim n-asetyltransferase dan amylohidrolase untuk menguraikan isoniazid menjadi asetilhidrazin dan hidrazin. Hidrazin merupakan metabolit reaktif yang merupakan radikal bebas bagi tubuh. Hidrazin akan menyebabkan stress oksidatif berupa penurunan glutathion sulfhydryl (GSH) intraseluler dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid (Heidari, 2013). GSH merupakan antioksidan endogen pada manusia. GSH paling banyak terdapat di sel hati. Penurunan kadar GSH menyebabkan sel tidak mampu menangkal radikal bebas (Ayala *et al.*, 2014).

Radikal bebas akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan merusak sel karena strukturnya belum stabil dan mencari pasangan elektron lainnya dari membran sel dengan cara memecah asam lemak tidak jenuh atau *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang dapat menghasilkan malondialdehid (MDA). Biomarker adanya radikal bebas yang tidak dapat di netralkan oleh antioksidan dalam tubuh adalah MDA (Ayala *et al.*, 2014). MDA merupakan

senyawa yang mutagenik bagi tubuh dan bisa berikatan lagi dengan PUFA melalui omega-6 dari PUFA sehingga menyebabkan fragmentasi dan membran sel yang terkena menjadi rapuh. Malondialdehid dapat ditemukan di berbagai jaringan sesuai dengan kerusakan yang ada. Malondialdehid dapat menginduksi delesi berat pada DNA sehingga perbaikannya tidak mudah. Sel yang sudah terdelesi karena MDA dapat berubah menjadi lesi premutagenik (Nielsen *et al.*, 1997).

Radikal bebas memerlukan antioksidan agar tidak membahayakan bagi tubuh. Salah satu antioksidan yang dapat berikatan dengan radikal bebas adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik seperti flavonoid, eugenol, saponin merupakan antioksidan yang dapat menjadi hepatoprotektor karena mencegah adanya ikatan radikal bebas yang belum stabil pada membran sel hati. Senyawa fenolik memiliki efek penting dalam proses pencegahan stress oksidatif oleh radikal bebas. Senyawa fenolik memiliki efek sebagai *metal ion chelation*, *radical scavenging* dan *membran protective efficiency*. Senyawa fenolik akan menangkap ion bebas dari radikal bebas agar menjadi netral. Senyawa fenolik banyak didapatkan pada tumbuhan, buah-buahan maupun biji-bijian namun paling banyak ditemukan pada tumbuhan hijau (Kumar dan Pandey, 2013).

Kemangi (*Ocimum sanctum*) merupakan salah satu tumbuhan hijau yang dikenal memiliki daya antioksidan yang tinggi. Daun kemangi memiliki kadar 70% eugenol dan 21% methyl eugenol. Daun kemangi mengandung vitamin C, vitamin A dan beberapa mineral seperti kalsium, zink, besi, klorofil dan banyak phytonutrients lainnya. Daun kemangi ini memiliki kandungan yang memiliki aktivitas biologi seperti saponin, flavonoid, triterpenoids dan tannins (Pandey dan Madhuri, 2011). Pengaruh hepatoprotektifnya bisa terbukti dalam penelitian yang dilakukan pada tikus wistar albino dengan dosis 200mg/kgBB yang diinduksi parasetamol (Rahman *et al.*, 2011). Pengaruh hepatoprotektif lainnya juga dapat terlihat pada kelinci yang diinduksi CCl₄ dengan dosis 100mg/kgBB selama 20 hari (Jain, 2015). Kemangi juga dapat menjadi antioksidan pada penelitian mencit yang diinduksi oleh timbal (Pb) dengan dosis 300mg/kgBB (Akalivalli, 2011)

Sejauh ini belum ada penelitian tentang efek pemberian ekstrak kemangi terhadap jumlah MDA pada mencit yang diinduksi isonoazid. Oleh karena itu,

peneliti akan menguji pengaruh ekstrak kemangi sebagai hepatoprotektor terhadap kadar MDA pada mencit yang di induksi isoniazid.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) pada mencit yang diinduksi isoniazid?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor pada mencit yang diinduksi isoniazid?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) pada mencit yang diinduksi isoniazid.

1.3.2 Tujuan khusus

- a. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor dalam mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada mencit yang diinduksi isoniazid.
- b. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) pada mencit yang diinduksi isoniazid.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Sebagai informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) pada mencit yang diinduksi isoniazid.

1.4.2. Manfaat aplikatif

Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan daun kemangi sebagai hepatoprotektor dalam terapi isoniazid.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Drug induced liver injury*

2.1.1 Definisi

Drug induced liver injury (DILI) merupakan diagnosis terakhir untuk penyakit hati. Onset penyakit ini bisa satu bulan setelah penggunaan suatu obat-obatan. Hepatotoksisitas bergantung kepada disfungsi hati yang disebabkan oleh dengan bahan xenobiotik. Bahan kimia yang dapat menyebabkan kerusakan hati disebut hepatotoksin atau hepatotoksikan. DILI bisa terjadi karena suatu obat meskipun dalam dosis terapeutik. DILI tidak hanya terjadi karena bahan aktifnya namun bisa karena metabolit reaktif atau respon imunologinya (Singh, 2011).

2.1.2 Etiologi

Beberapa obat dapat memiliki efek tersendiri dalam patofisiologi DILI. Obat-obat yang berpengaruh adalah:

- a. Hepatoseluler: karbon tetraklorida, parasetamol, rifampin, isoniazid, ketokonazole, statins, NSAIDs
- b. Kolestasis: amoxicillin dan asam klavulanat, steroid, esterogen sintesis, chlorpromazine, flucloxacilin, eritromisin, trisiklik, tamoxifen
- c. Hepatitis dan kolestasis: amitriptilin, azathioprine, captopril, fenitoin, verapamil, trimetoprim
- d. Mikrovesikuler steatosis dengan menghambat beta oksidasi asam lemak dalam mitokondria: sodium valproat, NSAIDs, aspirin, tetrasiklin
- e. Mikrovesikuler steatosis dengan penurunan lipoprotein: amiodarene, kortikosteroid, metotreksat
- f. Fibrosis : metothreksat, vitamin A, retinoid
- g. Adenoma dan hepatoseluler karsinoma: kontrasepsi oral, esterogen, androgen (Mahl *et al.*, 2006).

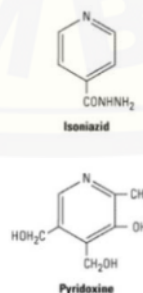
2.1.3 Patofisiologi

Kerusakan pada hepatosit dibagi menjadi 2 zona yaitu zona 1 dan zona 3. Kerusakan hepatosit bisa terjadi karena obat dimetabolisme oleh enzim yaitu sitokrom P450 menjadi bentuk metabolitnya. Bentuk metabolit reaktif ini akan menurunkan kadar GSH dalam sel yang seharusnya menjaga sel tersebut dari radikal bebas. Radikal bebas bisa mudah berikatan dengan asam lemak tidak jenuh pada membran sel dan menyebabkan kerusakan pada hepatosit. Organel sel seperti mitokondria, retikulum endoplasma, sitoskeleton, mikrotubuli dan nukleus dapat mengalami kerusakan akibat metabolit suatu obat (Kaplowitz, 2016). Hepatosit yang mengalami kerusakan menjadi gagal untuk memompa kalsium dari sitosol sehingga terjadi gangguan mitokondria dan berakhir pada nekrosis sel (Sherlock dan Dolley, 2002). Keadaan ini disebut dengan *acute hepatocellular injury* merupakan kerusakan yang ditandai dengan kenaikan lebih dari 2 kali lipat ALT. Histologi dari hati ini akan menimbulkan gambaran nekrosis sel dan inflamasi dengan banyak eosinofil (Andrade, 2007).

2.2 Isoniazid

2.2.1 Definisi

Isoniazid atau *isonicotinic hydrazine* (INH) merupakan antibakteri yang sangat efektif terhadap kuman dalam metabolik aktif yaitu kuman yang sedang berkembang dengan cara merusak dinding sel bakteri. Obat ini memiliki struktur kimia yang mirip dengan piridoksin dan memiliki gugus amonia di dalamnya (Katzung, 2007).



Gambar 2.1 Struktur kimia isoniazid (Katzung, 2007)

2.2.2 Farmakokinetik

Isoniazid merupakan obat yang memiliki molekul rendah yang mudah diserap di saluran cerna. Absorpsi meningkat dalam keadaan lambung sedang kosong. Isoniazid dimetabolisme di hati dengan waktu paruh di darah sekitar 1-3 jam tergantung asetilasi setiap individu. Obat ini tidak terikat pada protein plasma. Isoniazid masuk ke alveoli dengan cara difusi pasif dan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi dalam darah. Isoniazid dapat ditemukan dalam cairan serebrospinal namun konsentrasinya tergantung dengan dosis yang diberikan. Ginjal dapat menyaring isoniazid dari darah sekitar 19% perjam. Setelah 8 jam semua obat sudah di ekskresikan oleh ginjal dan mungkin hanya tersisa 1-2% yang di ekskresikan selama 24 jam (Preziosi, 2007).

2.2.3 Toksisitas

Isoniazid dirubah menjadi 2 metabolit reaktif oleh enzim N-asetyltransferase dan amilohidrolase menjadi asetilhidrazin dan hidrazin. Asetilhidrazin menggunakan sitokrom P450 untuk mengubah asetilhidrazin menjadi monoasetilhidrazin (MAH). Hidrazin merupakan bahan toksik bagi hati dan menyebabkan reaksi stres oksidatif (Palanisamy dan Manian, 2011)

Sebuah penelitian menyebutkan bahwa INH dapat menurunkan kadar GSH dan dapat menyebabkan kematian sel (Swamy *et al.*, 2010). INH dapat mengikat –SH (thiol grup) karena kemampuannya dalam ikatan elektrofiliknya (Attri *et al.*, 2000). GSH merupakan struktur kimia yang berfungsi sebagai antioksidan dan tersebar luas di seluruh tubuh. GSH dapat ditemukan dalam sel mamalia. GSH berfungsi sebagai proteksi melawan radikal bebas dan berguna untuk detoksifikasi endogen maupun eksogen. Fungsi lainnya adalah untuk menyeimbangkan thiol dalam protein maupun molekul lain, penyimpanan sistein di tiap sel untuk transfer antar organ, metabolisme esterogen, leukotriens dan prostaglandin, ikut serta dalam reduksi RNA maupun DNA, maturasi iron sulfur dalam protein, transfer Fe dan Cu serta transduksi sinyal dari lingkungan untuk transkripsi sel (Lushchak, 2012).

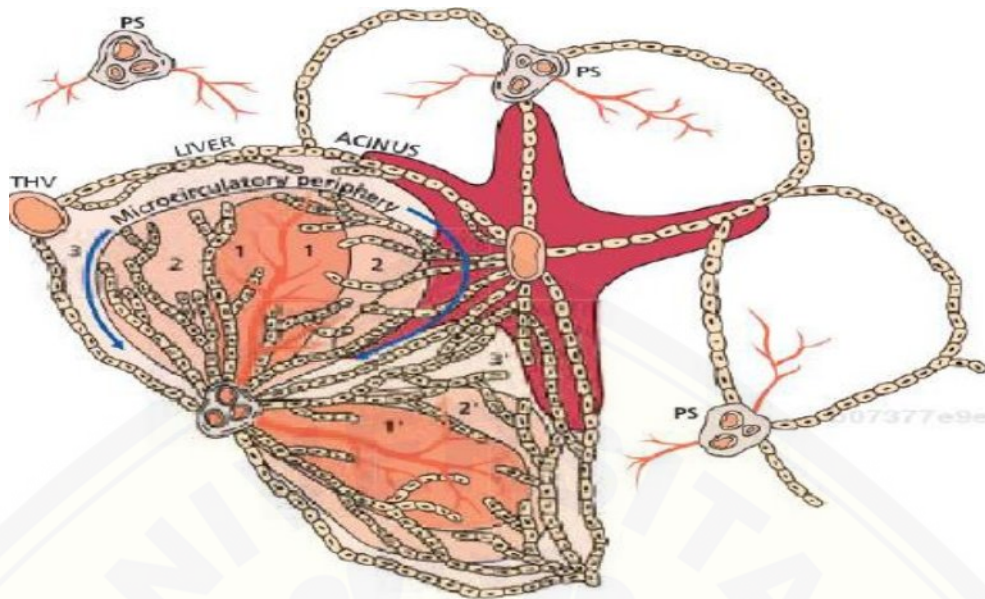
2.2.3 Efek Samping

Isoniazid dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti neuropati. Neuropati disebabkan oleh berkurangnya piridoksin relatif. Isoniazid menyebabkan ekskresi piridoksin. Bila dosis melebihi 400mg maka akan terjadi neuropati karena ada persaingan antara piridoksin dengan INH yang memiliki rumus kimia yang hampir sama. Efek samping lain adalah hepatitis ditandai dengan peningkatan serum enzim transaminase (SGPT dan SGOT), bilirubinemia, bilirubinuria, dan ikterus. Gejala umum hepatitis adalah anoreksia, mual, muntah, fatigue, dan malaise. Gejala ini terjadi dalam 3 bulan pertama pemakaian obat ini. Efek samping lain dapat berupa agranulositosis, hemolisis sideroblastik, anemia aplastik, trombositopenia dan eosinofilia (Tjay *et al.*, 2002).

2.3 Anatomi dan Fisiologi Hati

Hati merupakan organ yang paling besar yang ada di tubuh, dengan berat sekitar 1200-1500 gram. Beratnya seperlima puluh dari berat tubuh manusia dewasa sedangkan pada bayi beratnya sekitar seperdelapan belas. Hati paling banyak berada pada kuadran kiri. Hati dilindungi oleh costae pada bagian atasnya. Hati memiliki dua lobus anatomi yaitu lobus kiri dan kanan. Lobus kanan memiliki berat 6 kali lebih berat daripada lobus kiri. Kedua lobus ini pada bagian anterior dipisahkan oleh lipatan dari peritoneum yang disebut ligamentum falciforme sedangkan celah posterior dipisahkan oleh dari ligamentum venosus dan pada celah inferior oleh dari ligamentum teres (Sherlock dan Dolley, 2002).

Hati memiliki dua suplai aliran darah. Vena portal membawa darah vena dari usus dan limpa sedangkan arteri hepatica berasal arteri coeliaca untuk mensuplai darah yang kaya oksigen untuk hati. Pembuluh darah ini masuk melalui celah yaitu porta hepatis yang berada di belakang permukaan inferior dari lobus dekstra. Vena porta dan arteri hepatica terbagi menjadi dua cabang untuk lobus dekstra dan sinistra. Hati dipersarafi oleh pleksus hepatic yang merupakan ganglia simpatis dari T7-T10 yang bersinaps di pleksus coeliaca (Sherlock dan Dolley, 2002).



Gambar 2.2 Histologi hati (Sherkock dan Dolley, 2008)

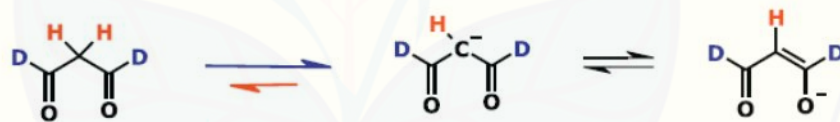
Secara fisiologi zona 1 memiliki kemampuan untuk glukoneogenesis sedangkan zona 3 memiliki fungsi glikolisis. GSH pada zona 1 lebih banyak daripada zona 3 sehingga zona 3 lebih mudah mengalami kerusakan. Sitokrom P450 lebih banyak pada zona 3 karena sebagai tempat untuk detoksifikasi beberapa obat seperti fenobarbital. Oksigenasi pada zona 1 lebih banyak daripada zona 3 (Sherlock dan Dolley, 2002).

Metabolisme obat terjadi di hati terutama di membran retikulum endoplasma (mikrosom) dan di sitosol. Tujuan obat dimetabolisme adalah mengubah obat yang nonpolar menjadi polar sehingga larut air dalam sirkulasi darah dan bisa diekskresikan melalui ginjal atau empedu. Reaksi metabolisme terdiri atas reaksi fase 1 dan reaksi fase 2. Reaksi fase 1 terdiri atas oksidasi, reduksi, dan hidrolisis, yang mengubah obat menjadi lebih polar, dengan akibat menjadi inaktif, lebih aktif atau kurang aktif. Reaksi 2 merupakan reaksi konjugasi dengan substrat endogen asam glukoronat, asam sulfat, asam asetat, atau asam amino, dan hasilnya menjadi sangat polar, dengan demikian hampir selalu tidak aktif. Reaksi metabolisme yang terpenting adalah oksidasi oleh enzim sitokrom P450 (Gunawan, 2011).

Hati memiliki fungsi lain yang lebih kompleks. Hati tidak hanya berperan dalam sistem pencernaan dengan kemampuannya untuk mensekresi garam empedu yang membantu penyerapan lemak namun juga dapat berfungsi lain seperti mendetoksifikasi atau menguraikan zat sisa atau obat yang ada dalam tubuh, membentuk protein plasma, menyimpan glikogen dan zat besi, mengaktifkan vitamin D bersama-sama dengan ginjal, merusak sel darah tua yang sudah tidak berfungsi dan menguraikan menjadi bilirubin (Sherwood, 2011)

2.4 Malondialdehyde (MDA)

MDA (Malondialdehid) adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$ (Tsikas *et al.*, 2015). Lipid hidroperoksida akan dipecah menjadi gugus aldehid. MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas sehingga secara luas banyak digunakan sebagai indikator stres oksidatif yang dapat ditentukan secara spesifik maupun non-spesifik dalam suatu pengukuran menggunakan asam (Repetto *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Struktur kimia MDA (Tsikas *et al.*, 2015)

MDA dihasilkan oleh radikal bebas melalui proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas maupun oksidan yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda terutama pada PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen untuk menjadikan *lipid peroxy radicals* dan lipid hidroperoksida. Radikal hidroksil merupakan radikal bebas paling reaktif yang dengan mudah menempel pada membran sel karena pada membran sel terdapat PUFA yang dapat menginduksi reaksi peroksidasi lipid (Ayala *et al.*, 2014).

Hasil utama dari reaksi tersebut adalah lipid hidroperoksida namun ada hasil lain yang juga membahayakan bagi sel yaitu malondialdehid (MDA), propanal, hexanal dan 4-hydroxynoneal (4HNE). 4HNE merupakan sitotoksik pada mikrosomal lipid. Lipid peroksida akan menempel pada free fatty acid, triasilgliserol, fosfolipid dan sterol pada membran sel (Ayala *et al.*, 2014). MDA merupakan senyawa yang mutagenik bagi tubuh dan bisa berikatan lagi dengan PUFA melalui omega-6 dari PUFA sehingga menyebabkan fragmentasi dan membran sel yang terkena menjadi rapuh (Niedernhofer *et al.*, 2003).

Keunggulan pemeriksaan MDA dibandingkan produk peroksidasi lipid yang lain adalah signifikan, lebih akurat, stabil daripada senyawa lainnya dan sangat cocok sebagai *biomarker* untuk stress oksidatif karena beberapa alasan yaitu pembentukan MDA sesuai dengan peningkatan stress oksidatif, kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode yang telah tersedia, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, pengukurannya tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak dalam diet, merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, dan terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis, sehingga memungkinkan untuk menentukan referensi interval (Swastika, 2013).

2.5 Kemangi

2.5.1 Definisi

Tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis ini merupakan herba tegak atau semak, tajuk membulat, bercabang banyak, sangat harum dengan tinggi 0,3-1,5 m. Tanaman kemangi memiliki batang pokok tidak jelas, berwarna hijau sering keunguan dan berambut atau tidak. Daun kemangi berbentuk tunggal, berhadapan, dan tersusun dari bawah ke atas. Panjang tungkai daun 0,25-3 cm dengan setiap helaian daun berbentuk bulat telur sampai elips, memanjang dan ujung runcing atau tumpul. Pangkal daun pasak sampai membulat, dikedua permukaan berambut halus, tepi daun bergerigi lemah, bergelombang atau rata (Sudarsono *et al.*, 2002).

Bagian bunga dari daun kemangi berjenis hemafrodit, berwarna putih dan berbau sedikit wangi. Bunganya majemuk, berkarang dan diketiak daun ujung terdapat daun pelindung berbentuk elips atau ular telur dengan panjang 0,5-1 cm Kelopak bunga berbentuk bibir, sisi luar berambut kelenjar, berwarna ungu atau hijau, dan ikut menyusun buah, mahkota bunga berwarna putih dengan benang sari tersisip didasar mahkota dan kepala putik bercabang dua namun tidak sama (Sudarsono *et al.*, 2002).

Buah berbentuk kotak, berwarna coklat tua, tegak, dan tertekan dengan ujung membentuk kait melingkar. Panjang kelopak buah 6-9 mm. Biji berukuran kecil, bertipe keras, coklat tua, dan waktu diambil segera membengkak, tipa buah terdiri dari empat biji. Akar tunggang dan berwarna putih kotor (Sudarsono *et al.*, 2002).



Gambar 2.3 Tumbuhan kemangi (dokumentasi pribadi)

2.5.2 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Tubiflorae
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>Ocimum sanctum</i> (Rahman <i>et al.</i> , 2011)

2.5.3 Manfaat

a. Antikanker

Aktivitas anti kanker daun kemangi sudah dibuktikan melalui beberapa penelitian yaitu memodulasi metabolisme karsinogen seperti sitokrom P450, sitokrom BS, aryl hidrokarbon hydrolase dan glutathion S-transferase (GST) yang penting dalam detoksifikasi karsinogen dan mutagen (Pandey dan Madhuri, 2010).

b. Antihipertensi

Daun kemangi dapat mencegah terjadinya iskemi pada otak, hipoperfusi pada otak yang jangka panjang yang menyebabkan edema seluler, gliosis dan inflamasi perivaskuler. Asam lemak esensial seperti *linoleic* akan menghasilkan PGE1 dan PGE3 dan menghambat terbentuknya PGE2 sehingga akan menyebabkan vasodilatasi (Pandey dan Madhuri, 2010).

c. Aktivitas antimikroba

Daun kemangi akan menghambat pertumbuhan dari beberapa bakteri seperti *Klebsiella*, *E. coli*, *Proteus* dan *Staphylococcus aureus* *Vibrio cholera*, multidrug-resistant strains of *S. aureus*, *Neisseria gonorrhoe*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas aeruginosa* (Govind dan Madhuri, 2010).

d. Immunomodulator

Daun kemangi dapat meningkatkan pembentukan antibodi dan melepaskan mediator dari reaksi hipersensitivitas sehingga ada respon dari organ target. Imunitas yang ditingkatkan dapat bersifat humoral maupun seluler (Pandey dan Madhuri, 2010).

e. Antiinflamasi, analgesik, antipiretik

Linolenic acid dapat menjadi anti-inflamasi yang baik karena dapat menghambat aktivitas PGE2, leukotrien, dan asam arakidonat. Daun kemangi terbukti ada hambatan dalam siklooksigenase dan lipooksigenase yang merupakan jalur dalam metabolisme asam arakidonat (Pandey dan Madhuri, 2010).

- f. Peningkatan daya ingat
Daun kemangi juga meningkatkan *step down latency* (SDL) dan menghambat asetilkolinesterase yang signifikan sehingga cocok untuk pengobatan penyakit kognitif seperti dementia maupun alzheimer (Pandey dan Madhuri, 2010).
- g. Antidiabetik
Daun kemangi memiliki aktivitas aldose reduktase yang berefek dalam pencegahan komplikasi diabetes seperti katarak maupun retinopati. (Pandey dan Madhuri, 2010).
- h. Antiulkus
Karena efeknya dalam penghambatan lipooksigenase maka daun kemangi memiliki efek sebagai anti ulkus. Selain itu daun kemangi juga memiliki efek antagonis histamine dan efek anti sekretori pada mukus (Pandey dan Madhuri, 2010).
- i. Antiarthritis
Daun kemangi memiliki kemampuan menghambat carrageenan dan mediator inflamasi seperti serotonin, histamin, bradikinin and PGE2 yang dapat menghambat mediator inflamasi sehingga memiliki aktivitas anti-arthritis (Pandey dan Madhuri, 2010).

2.5.5 Kandungan

Ocimum sanctum mengandung vitamin C, vitamin A dan beberapa mineral seperti kalsium, zink, besi, klorofil dan banyak sekali *phytonutrients*. Tumbuhan ini mengandung protein sebanyak 4.2 gram, lemak sebanyak 0.5 gram, karbohidrat sebanyak 2.3 gram, kalsium sebanyak 25 mg, fosfor sebanyak 287 mg, besi sebanyak 15.1 mg dan 25mg vitamin dalam 100 g daun (Rahman, 2011).

Kemangi memiliki kandungan minyak atsiri dengan komposisi 71% eugenol, 20% methyl eugenol, dan sisanya carvacol serta *sequestrene*. Daunnya mengandung senyawa fenolik seperti cirsilineol, cirsimatin, isothymusin, apigenin dan *rosameric acid*. Gugus flavonoid yang terkandung dalam daun kemangi

adalah orientin dan viscenin (Pandey dan Madhuri, 2011). Daun kemangi juga mengandung carotene, beberapa asam lemak juga sitosterol. Tumbuhan ini juga mengandung karbohidrat dan antosianin. Karbohidrat yang ada terdiri dari xylose dan polisakarida (Rahman, 2011).

2.5.6 Antioksidan pada Daun Kemangi

Polifenol merupakan senyawa organik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dalam cincin aromatiknya. Senyawa fenolik diklasifikasikan menjadi asam fenolik, flavonoid dan tannin. Asam fenolik terdiri dari dua grup *hydroxybenzoic acid* dan *hydroxycinnamic acids*. Sedangkan flavonoid merupakan fenolik yang paling banyak diteliti. Strukturnya memiliki beberapa gugus hidroksil dengan dua cincin karbon. Secara umum flavonoid memiliki struktur karbon yang memiliki dua cincin benzene yang dihubungkan dengan oksigen heterosiklik (Aytul, 2010).

Flavonoid dibagi menjadi dua yaitu antosianin dan antoxantin. Anthoxantin lebih tidak berwarna sedangkan antosianin lebih memiliki pigmen warna seperti merah, biru maupun ungu. Flavonoid memiliki beberapa subgroup yaitu *flavones* (apigenin, luteolin), *flavonoles* (quercetin, kaempferol dan myrecetin), *flavonoles*, *isoflavones* (genistein, daidzein). Tanin memiliki dua klasifikasi utama yaitu *hydrolizable tannins* yang memiliki pusat *polyhidric alcohol* seperti glukosa dan gugus hidroksil contohnya *gallic acid* (gallotannins) atau *ellagic acid* (ellagitannins). *Condensed tannins* merupakan turunan dari flavonol seperti *catechin* dan *epicatechin* (Aytul, 2010).

Eugenol, carvacol, *sequesterene*, apigenin, *isothymusin*, rosameric acid, cirsilineol, orietin, viscenin, rosamiric acid merupakan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Senyawa ini bekerja melalui beberapa mekanisme, yang pertama sebagai hidrogen atom transfer (HAT) yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen and single elektron transfer (SET) dengan mentransfer elektron untuk mereduksi metal ion, radikal dan carbonyls. Mekanisme melalui transfer hidrogen jika dalam jumlah yang banyak dapat menunda ataupun mencegah step inisiasi dengan bereaksi dengan lipid radical

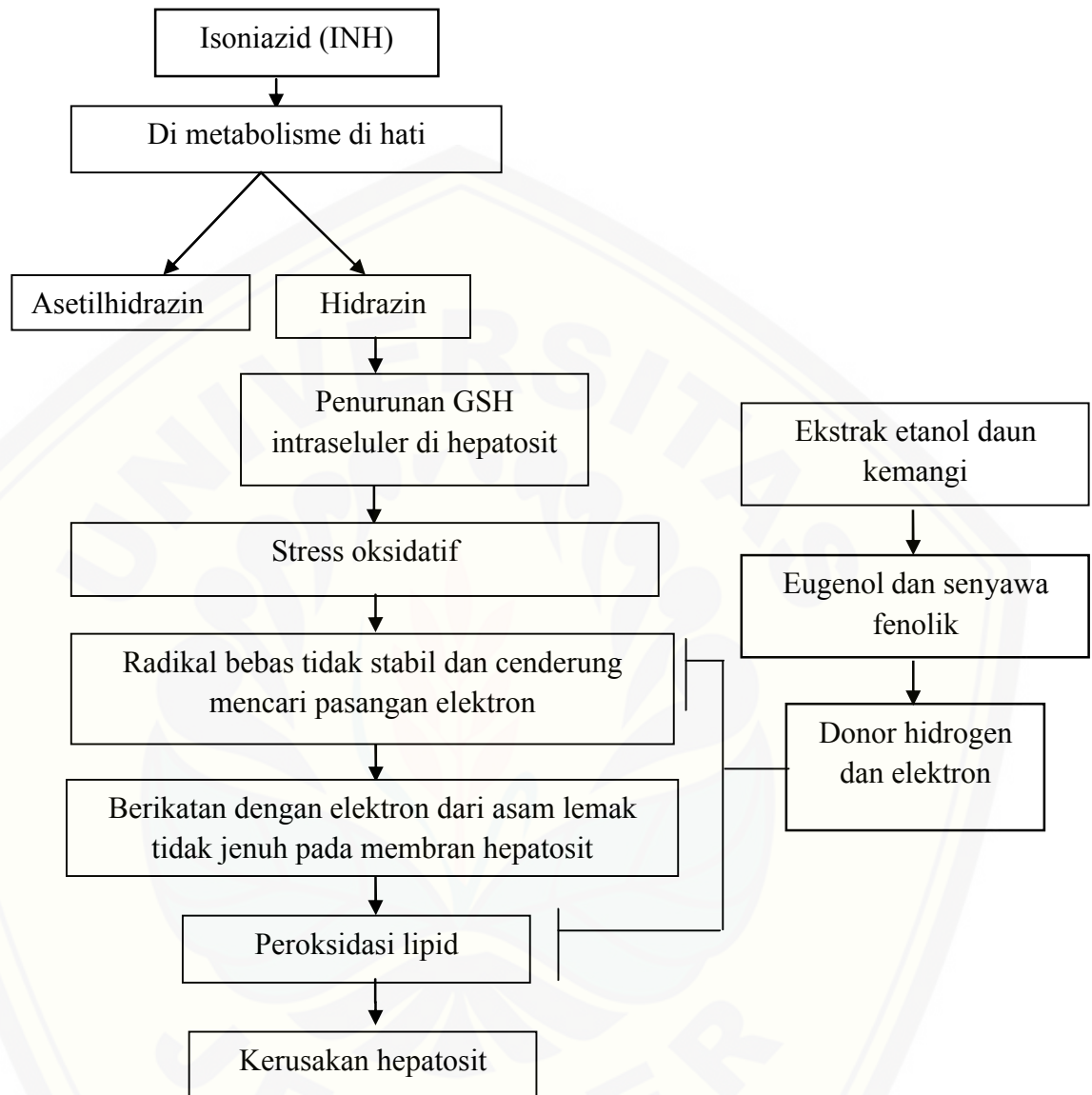
atau secara langsung menghambat step propagasi dengan bereaksi pada peroxy radical atau radikal akoxyl (Aytul, 2010).

Tabel 2.1 Tahapan peroksidasi lipid dan antioksidan (Aytul, 2010)

Tahapan	Reaksi	Reaksi oleh antioksidan
Inisiasi	$LH + R\cdot \rightarrow L\cdot + RH$	$L\cdot + AH \rightarrow LH + A\cdot$ (SET)
Propagasi	$L\cdot + O_2 \rightarrow LOO\cdot$ $LOO\cdot + LH \rightarrow L\cdot + LOOH$	$LOO\cdot + A\cdot \rightarrow LOOA$ (HAT) $LOO\cdot + AH \rightarrow A\cdot + LOOH$ (SET)
Terminasi	$LO\cdot + LO\cdot \rightarrow$ produk non radikal $LOO\cdot + LOO\cdot \rightarrow$ produk non radikal $LO\cdot + LOO\cdot \rightarrow$ produk non radikal	-

Karotenoid dan vitamin C lebih hidrofilik dan mungkin lebih meredam efek radikal pada bahan seluler non-lipid. Thiols dan taurine merupakan senyawa hidrofilik kuat yang bersifat memutus rantai radikal bebas dan menjaga protein dari gugus sulfhydryl. Beberapa berikatan dengan golongan metal dan membuatnya tidak bisa menghasilkan radikal bebas seperti pada reaksi fenton atau berikatan dengan membran sel membentuk peroksidasi lipid (Wright *et al.*, 1994).

2.6 Kerangka Teori

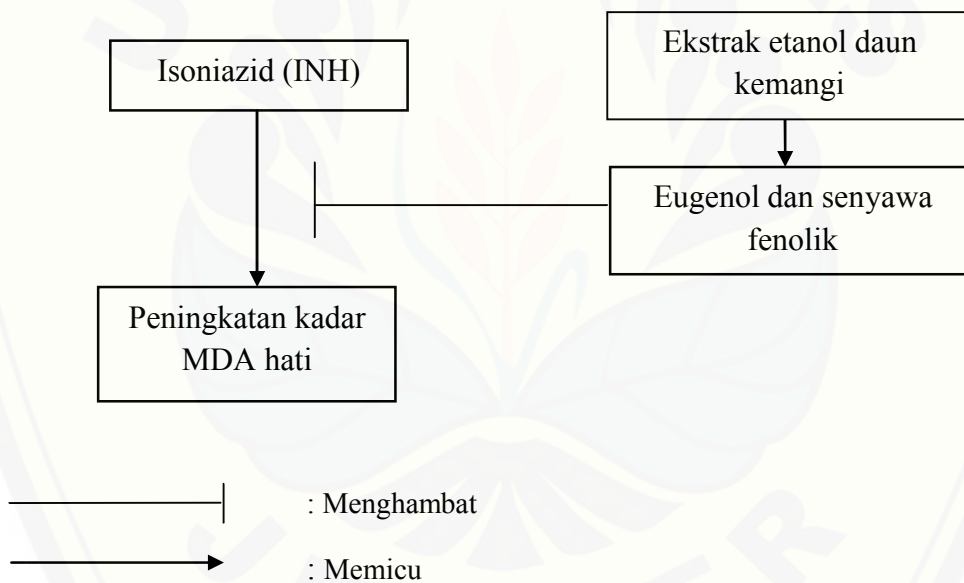


Gambar 2.5 Kerangka teori

Isoniazid merupakan obat antituberkular yang dirubah menjadi 2 metabolit reaktif oleh enzim N-asetyltransferase menjadi asetilhidrazin dan hidrazin. Hidrazin merupakan bahan toksik yang ada di hati dan menyebabkan reaksi stres oksidatif. Hidrazin ini akan berikatan dengan gugus sulfhydryl yang ada di GSH sehingga GSH akan berkurang. Berkurangnya GSH yang merupakan antioksidan alami dalam tubuh menyebabkan stress oksidatif.

Radikal bebas akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Proses radikal bebas yang mencari pasangan dengan PUFA adalah proses peroksidasi lipid. Proses ini akan menghasilkan suatu senyawa yaitu *malondyaldehyde* (MDA) yang berbahaya bagi sel lain jika tidak di metabolisme menjadi zat yang tidak berbahaya bagi tubuh. PUFA akan mengalami fragmentasi sehingga membran sel hati menjadi hancur. Flavonoid yang ada dalam kemangi merupakan antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel hati dengan cara mendonorkan elektron dan hidrogen sehingga mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA dalam hati.

2.7 Kerangka Konsep Penelitian

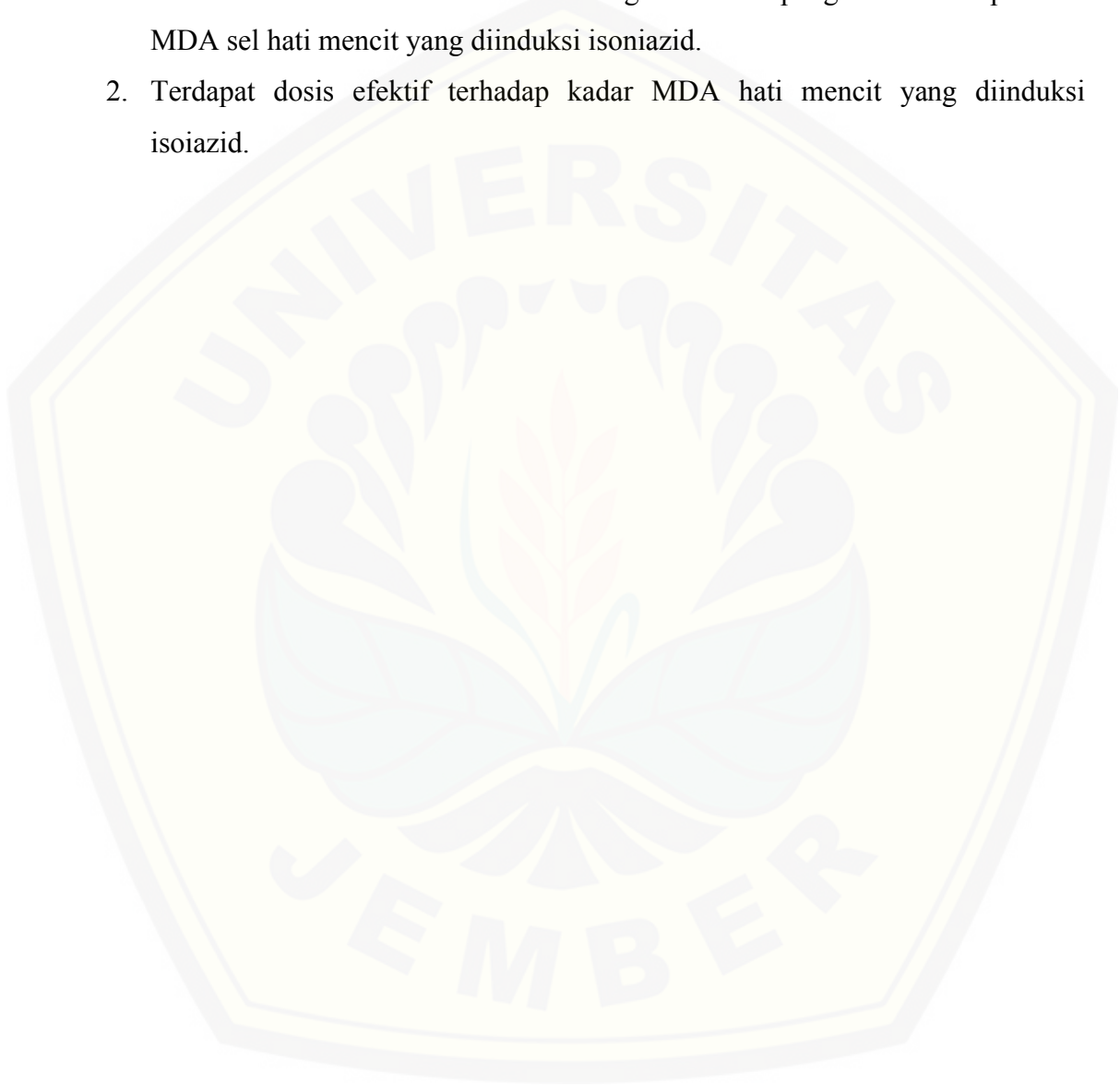


Gambar 2.6 Kerangka konsep penelitian

2.8 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi memiliki pengaruh terhadap kadar MDA sel hati mencit yang diinduksi isoniazid.
2. Terdapat dosis efektif terhadap kadar MDA hati mencit yang diinduksi isoniazid.



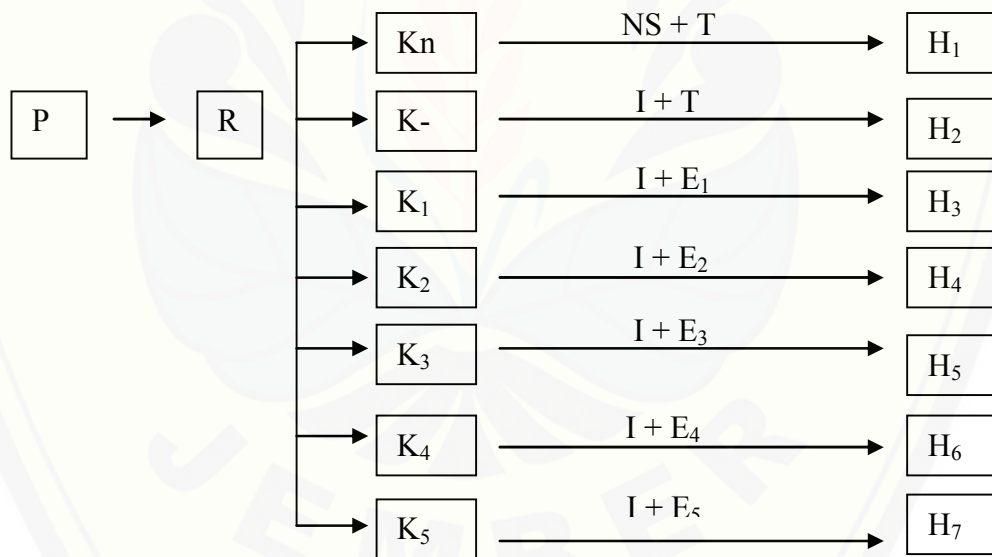
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental murni (*true experimental laboratories*) dengan rancangan penelitian *post test only control group design*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *post test only control group design*. Penilaian hanya dilakukan pada *posttest* yaitu setelah mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol daun kemangi. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1.



- P : Populasi
- R : Randomisasi
- K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif
- K₍₊₎ : Kelompok kontrol positif
- K₁ : Kelompok perlakuan 1
- K₂ : Kelompok perlakuan 2
- K₃ : Kelompok perlakuan 3
- K₄ : Kelompok perlakuan 4

- K₅ : Kelompok perlakuan 5
- A : Adaptasi hewan coba selama 7 hari
- NS : Pemberian normal saline pada hewan coba
- T : Pemberian twen 80 0,5% pada hewan coba
- I : Induksi isoniazid (INH) 2mg/20gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari
- E₁ : Pemberian ekstrak etanol daun kemangi 2,8mg/20gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
- E₂ : Pemberian ekstrak etanol daun kemangi 5,6mg/20gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
- E₃ : Pemberian ekstrak etanol daun kemangi 8,4mg/20gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
- E₄ : Pemberian ekstrak etanol daun kemangi 11,2mg/20gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
- E₅ : Pemberian ekstrak etanol daun kemangi 14mg/20gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
- H₁ : Kadar MDA K₍₋₎
- H₂ : Kadar MDA K₍₊₎
- H₃ : Kadar MDA K₁
- H₄ : Kadar MDA K₂
- H₅ : Kadar MDA K₃
- H₆ : Kadar MDA K₄
- H₇ : Kadar MDA K₅

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari peternak mencit yang ada di Malang. Terdapat kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk menentukan dapat tidaknya sampel tersebut digunakan. Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi: *Mus musculus* jantan, mencit sehat (bergerak aktif), usia 2-3 bulan dan berat rata-rata 20-30 g. Kriteria eksklusi meliputi mencit yang sakit dengan ciri-ciri rambut rontok atau bergerak tidak aktif dan mati sebelum proses randomisasi. Sampel yang digunakan pada penelitian ini

diambil dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*) dari populasi mencit yang kemudian akan dibagi menjadi 7 kelompok. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(7-1)(r-1) \geq 15$$

$$6(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } 4$$

Pada rumus tersebut, t adalah jumlah perlakuan dan r adalah banyaknya replikasi setiap kelompok perlakuan. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 ekor mencit untuk 7 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 28 ekor mencit.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan mencit, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak etanol daun kemangi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan MDA mencit. Waktu pelaksanaan adalah bulan Oktober 2016.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) pada mencit.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar *malondialdehyde* (MDA) hati.

3.5.3 Variabel Terkendali:

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

1. Usia hewan coba
2. Jenis kelamin mencit
3. Berat badan mencit
4. Pemeliharaan dan perlakuan mencit
5. Waktu dan lama perlakuan mencit
6. Dosis dan frekuensi pemberian isoniazid (INH)

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*)

Adalah hasil ekstraksi daun kemangi dengan pelarut etanol 90%. Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak etanol daun kemangi adalah melalui metode maserasi. Ekstrak etanol daun kemangi diberikan kepada mencit setiap hari selama 10 hari setelah 2 jam pemberian isoniazid dengan dosis 2,8mg/20gBB, 5,6mg/20gBB, 8,4mg/20gBB, 11,2mg/20gBB dan 14mg/20gBB. Ekstrak etanol akan dilarutkan ke Tween 80 0,5% lalu disondekan secara peroral dengan volume yang sudah berat badan per mencit. Ekstrak etanol diberikan dalam volume maksimal 0,3 ml karena karena 2 jam sebelumnya sudah diinduksi INH. Induksi secara oral maksimal sebanyak $\frac{3}{4}$ volume lambungnya yaitu 0,75ml. Tabel volume maksimal hewan coba dapat dilihat di lampiran 3.1.

3.6.2 Kadar MDA hati

Kadar MDA diukur dengan spektrofotometer dan dinyatakan dengan satuan $\mu\text{g/mL}$. Kadar MDA diukur dengan metode MDA-TBA dengan menggunakan reagen thiobarbiturat dan trikloroasetat. Perubahan warna akan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 533 nm.

3.6.3 Dosis dan Frekuensi Pemberian Isoniazid (INH)

Dosis INH yang digunakan pada penelitian ini adalah 100mg/kgBB pada mencit secara peroral dan diberikan satu kali sehari selama 10 hari yang dilarutkan ke dalam 0,2 ml normal saline. INH yang digunakan dalam bentuk tablet generik produksi kimia farma dengan sediaan 100 mg, yang didapatkan di apotek. INH akan dilarutkan dalam normal saline dengan konsentrasi ekstrak 0,01 lalu disondekan dengan volume yang sudah berat badan per mencit. INH diberikan dalam volume maksimal 0,3 ml karena setelah induksi INH 2 jam kemudian diberikan ekstrak etanol daun kemangi. Induksi secara oral maksimal sebanyak $\frac{3}{4}$ volume lambungnya yaitu 0,75ml. Tabel volume maksimal dapat dilihat di lampiran 3.1.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Alat untuk pemeliharaan mencit adalah bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label.
- b. Alat untuk pembuatan ekstrak daun kemangi adalah *blender*, ayakan, timbangan, oven, toples kaca, erlenmeyer, kertas saring, *rotatory evaporator*, dan pengaduk.
- c. Alat untuk pemberian ekstrak daun kemangi adalah *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan handscoon.
- d. Alat untuk pemberian isoniazid adalah mortar dan stemper, *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan handscoon.
- e. Alat untuk mengambil hati mencit adalah papan fiksasi, scalpel, pisau bedah, dan handscoon.
- f. Alat untuk mengukur kadar MDA hati adalah spektrofotometer, tabung reaksi, vortex, rak, mikropipet, eppendorf, cuvet, sentrifuge, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

- Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah makanan pellet, air, dan sekam.
- Bahan untuk ekstrak daun kemangi adalah daun kemangi dan etanol 90%
- Bahan untuk menyonde adalah isoniazid, ekstrak etanol daun kemangi, Tween 80 0,5%, dan normal saline.
- Bahan untuk mengukur kadar MDA hati adalah larutan PBS, NaCl 0,9% , TCA 100%, HCl 1 N, Na Thio dan hati mencit.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 28 ekor mencit (*Mus musculus*) dibagi menjadi 7 kelompok secara randomisasi dengan kriteria *Mus musculus* jantan, mencit sehat (bergerak aktif) dan usia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g.

3.8.2 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan baru. Makanan Turbo 512 sediaan pelet dan air yang diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang.

3.8.2 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 7 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit. Pembagian kelompok mencit dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok K ₍₋₎	Pemberian normal saline dan tween 80 0,5%
Kelompok K ₍₊₎	Pemberian INH 2mg/20gBB dan tween 80 0,5%
Kelompok K ₁	Pemberian INH 2mg/20gBB dan ekstrak daun kemangi 2.8mg/20gBB
Kelompok K ₂	Pemberian INH 2mg/20gBB dan ekstrak daun kemangi 5.6mg/20gBB
Kelompok K ₃	Pemberian INH 2mg/20gBB dan ekstrak daun kemangi 8.4mg/20gBB

Kelompok K ₄	Pemberian INH 2mg/20gBB dan ekstrak daun kemangi 11.2mg/20gBB
Kelompok K ₅	Pemberian INH 2mg/20gBB dan ekstrak daun kemangi 14/20gBB

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*)

Daun kemangi didapat dari Pasar Tanjung dideterminasi oleh FMIPA Universitas Jember. Surat determinasi tanaman dapat dilihat di Lampiran 3.5. Daun kemangi sebanyak 4 kg yang dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan oven bersuhu 60°. Kemudian dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk, Lalu diayak dengan menggunakan ayakan hingga didapatkan serbuk halus. Selanjutnya serbuk daun kemangi sebanyak 128 g dimasukkan ke dalam toples, setelah itu ditambahkan pelarut etanol 90% sebanyak 1 L (dengan perbandingan 1:7,5), didiamkan 24 jam. Setelah itu dilakukan penampungan filtrat. Ampas yang didapatkan dari hasil penyaringan kemudian dimaserasi ulang (diulangi maksimal 3 kali). Cara maserasi dengan merendamnya menggunakan etanol 90% dan diaduk secara terus menerus. Setelah filtrat didapatkan maka dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga pelarut etanol 90% menguap dan didapatkan hasil ekstrak semi kental etanol kemangi (Lahon dan Das, 2010).

3.8.5 Penginduksian Isoniazid (INH)

Penelitian yang dilakukan oleh Dong et al. (2014), dosis INH yang digunakan pada mencit adalah 100mg/ KgBB/ hari secara oral dan diberikan satu kali sehari selama 10 hari. INH yang digunakan dalam bentuk tablet dengan sediaan 100 mg, yang didapatkan di apotek terdekat. INH dilarutkan dalam normal saline 0,2 ml untuk mendapatkan dosis yang diinginkan. Tabel pemberian INH tiap mencit dapat dilihat di lampiran 3.3.

3.8.6 Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*)

Penelitian yang dilakukan oleh Lahon dan Das (2010), pemberian ekstrak daun kemangi sebanyak 100mg/kgBB/hari mempunyai efek hepatoprotektor pada

tikus yang diinduksi parasetamol. Dosis tersebut perlu di konversi menjadi dosis mencit. Faktor konversi dapat dilihat di tabel pada lampiran 3.2. Faktor konversi tikus putih dengan berat 200g pada mencit 20g adalah 0,14 (Laurence dan Bacharah, 1964)

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk mencit} &= 100\text{mg} : 1000\text{g}/200\text{g} \times 0,14 \\ &= 2,8 \text{ mg}/20\text{g mencit}\end{aligned}$$

Untuk mendapatkan hasil kurva dosis terapi yang baik, sebaiknya digunakan lima dosis terapi. Jadi, penelitian ini diberikan dosis ekstrak daun kemangi sebanyak 2,8mg/20gBB, 5,6mg/20gBB, 8,4mg/20gBB, 11,2mg/20gBB, dan 14mg/20gBB melalui sonde lambung setelah adaptasi selama 10 hari pada masing-masing kelompok. Ekstrak daun kemangi dilarutkan ke dalam 0,2 ml Tween 80 0,5% dan diberikan selang dua jam pemberian INH karena kadar puncak isoniazid 1-2 jam dan untuk mengosongkan lambung mencit setelah induksi isoniazid. Tabel pemberian ekstrak etanol daun kemangi tiap mencit dapat dilihat di lampiran 3.4.

3.8.7 Pemeriksaan Kadar MDA Hati

Pengukuran kadar MDA pada hati mencit dilakukan menggunakan pereaksi TBA yang akan membentuk produk MDA-TBA berwarna merah muda dan diukur menggunakan metode spektrofotometri. Organ hati dipotong kecil kecil lalu dicuci dengan menggunakan PBS. Organ hati yang sudah bersih ditimbang sebanyak 1 gram dan di gerus dalam mortar di atas balok es kemudian ditambahkan NaCl 0,9% dingin. Dari masing-masing kelompok setelah dilakukan pembuatan homogenat, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 20 menit, supernatan diambil, dan dipindahkan dalam eppendorf (Shofia, 2015).

Sebanyak 100 μL supernatan hati ditambahkan 550 μL aquades steril, 100 μL TCA lalu di vortex. Selanjutnya ditambahkan 250 μL HCl 1 M lalu di vortex. Kemudian ditambahkan 100 μL Na-Thiobarbiturat. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit, diangkat, dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam eppendorf baru. Sampel

diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm (Shofia, 2015).

Pembuatan kurva standar dengan menggunakan MDA stok kit dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 $\mu\text{g/ml}$ yang ditambahkan 550 μL aquades steril, 100 μL TCA lalu di vortex. Selanjutnya ditambahkan 250 μL HCl 1 M lalu di vortex. Kemudian ditambahkan 100 μL Na-Thiobarbiturat. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit, diangkat, dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam microtube baru. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm (Shofia, 2015).

3.9 Analisis Data

Seluruh data dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji *One Way Anova* karena jumlah perlakuan lebih dari 2 dan variabel penelitian ini bebas. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50 dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ($p < 0.05$). Apabila data yang didapatkan terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* ($p > 0.05$). Seluruh data selanjutnya dianalisis dengan menentukan kurva yang tepat untuk data penelitian ini dengan uji regresi. Kurva yang tepat dapat menghasilkan persamaan yang digunakan untuk menentukan dosis efektif ekstrak etanol daun kemangi.

3.10 Uji Kelayakan Etik

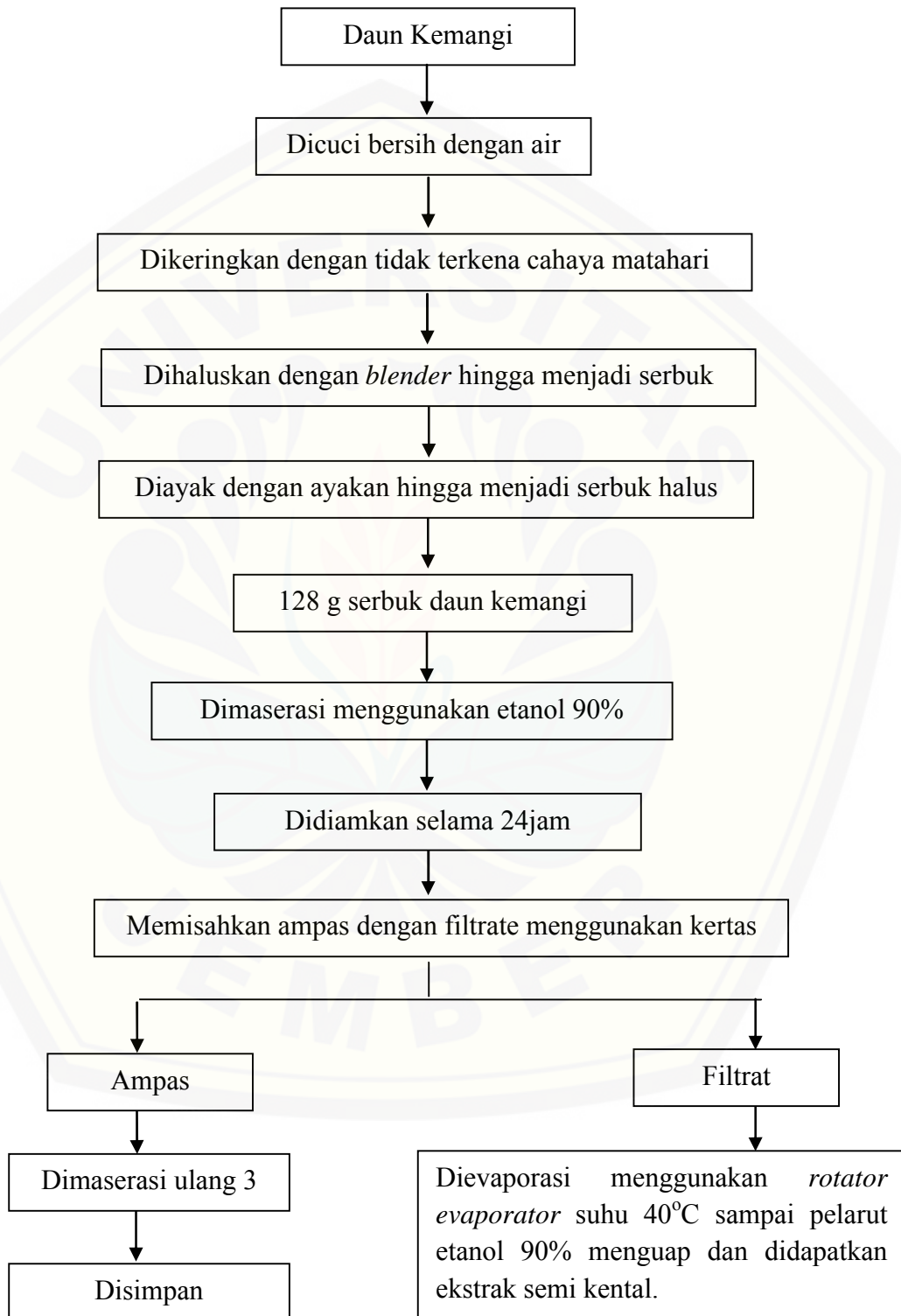
Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik kedokteran, prosedur ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan

dan kewajiban peneliti. Lembar etik yang sudah disetujui dengan nomor 966/H25.1.11/KE/2016 dapat dilihat pada Lampiran 3.6.



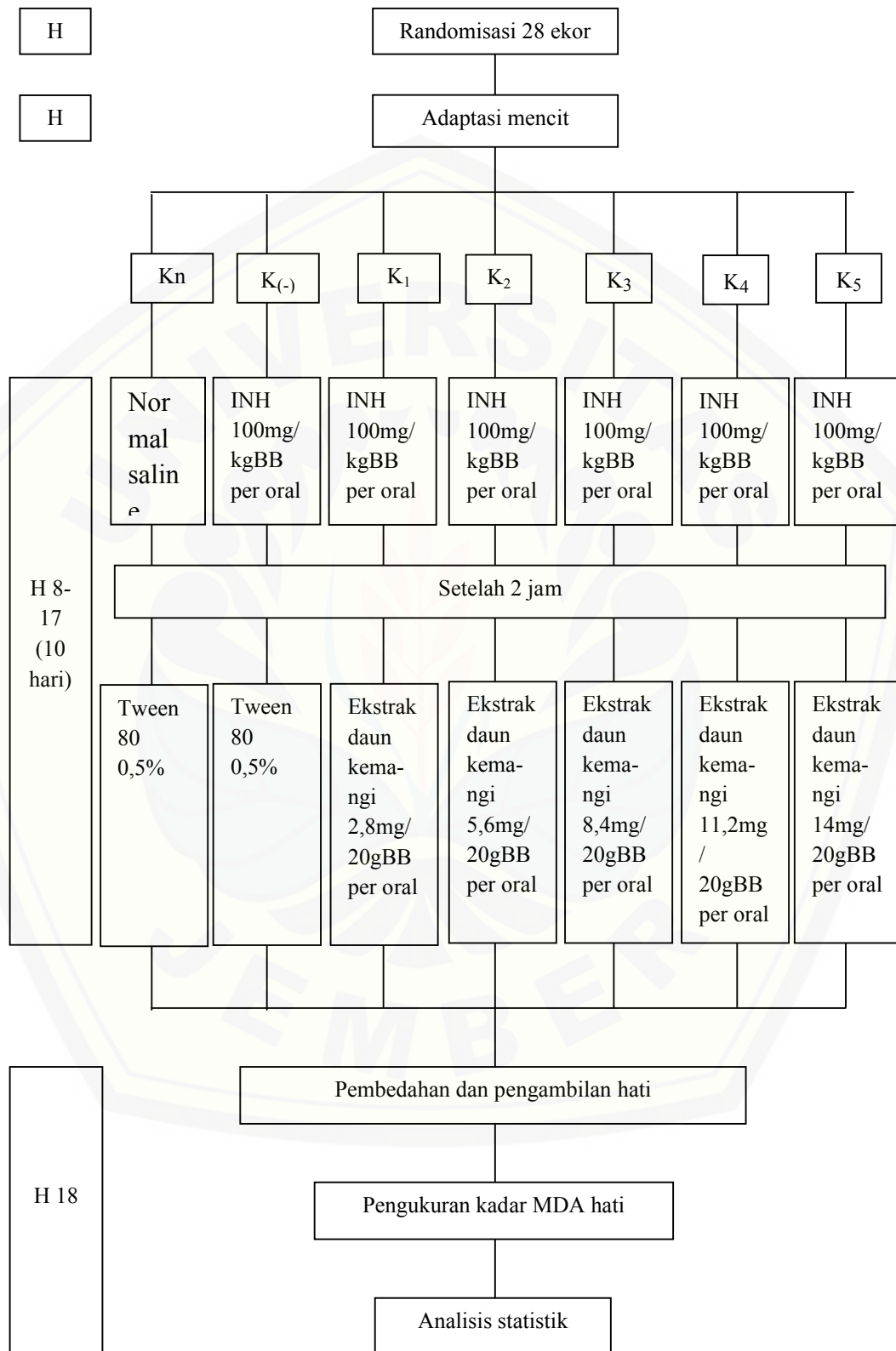
3.11 Alur Penelitian

3.11.1 Skema Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak daun kemangi

3.11.2 Skema Perlakuan terhadap Hewan Coba



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap kadar MDA hati mencit yang diinduksi INH.
2. Dosis 14,568 mg/20gBB merupakan dosis efektif untuk mencegah peningkatan kadar MDA hati mencit yang diinduksi INH.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan potensi proteksi ekstrak etanol daun kemangi terhadap organ hati dengan induksi kombinasi obat INH dan rifampisin
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan potensi proteksi ekstrak etanol daun kemangi terhadap organ ginjal dengan induksi INH dan rifampisin.
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan potensi proteksi ekstrak etanol daun kemangi pada hati dengan menggunakan isolasi zat aktif maupun fraksinasi ekstrak.
4. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek isoniazid terhadap kadar GSH dan katalase yang merupakan antioksidan alami pada tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Akillavali, Radhika dan Brindhha. 2011. Hepatoprotective activity of *Ocimum sanctum* linn. against lead induced toxicity in albino rats. *Academic Sciences*. 4: 3.
- Andrade, R. J., M. C. L. Vega dan M. I. Lucena. 2007. Drug-induced hepatotoxicity. *Hepatology rev*. 4: 16.
- Attri, S., S.V. Rana, K. Vaiphe, C. P. Sodhi, R. Katyal, R.C Goel, C. K. Nain dan K. Singh. 2000. Isoniazid and rifampicin induced oxidative hepatic injury – protection by N-acetylcystein. *Human & Experimental Toxicology*. 19: 521.
- Ayala, A., M. F. Muñoz, dan S. Argüelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014: 2.
- Aytul, K. K. 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Olive Leaf Extract And its Food Applications. *Tesis*. Turki: graduate school of engineering and sciences of Izmir institute of technology.
- Bell, L. N dan Chalasani, N. N. 2009. Epidemiology of idiosyncratic drug-induced liver injury. *NIH Public Access*. 29(4): 2.
- Björnsson, E. S. 2016. Hepatotoxicity by drugs: the most common implicated agents. *International Journal of Molecule Science*. 17(224): 5.
- Dong, Y., J. Huang , X. Lin, S. Zhang, Y. Jiao, T. Liang, Z. Chen, dan R. Huang. 2014. Hepatoprotective effects of *Yulangsan polysaccharide* against isoniazid and rifampicin-induced liver injury in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 152: 203.
- Gunawan, S. G. 2011. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.
- Gupta, S., M. N. S. Kumar, B. Duraswamy, M. Chhajed dan A. Chhajed. 2012. In-vitro antioxidant and free radical scavenging activities of *Ocimum sanctum*. *World journal of pharmaceutical research*. 1(1): 89.
- Hassan, A. S., J. H. Ahmed, S. S. Al-Haroon. 2012. A study of the effect of *Nigella sativa* (Black seeds) in isoniazid (INH)-induced hepatotoxicity in rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*. 44(6): 681.

- Heidari, R., H. Babaei, dan M. A. Eghbal. 2013. Cytoprotective effects of taurine against toxicity induced by isoniazid and hydrazine in isolated rat hepatocytes. *Arh Hig Rada Toksikol.* 64(2): 201.
- Jain, A. 2015. To evaluate hepatoprotective activity of leaves of *Ocimum sanctum* using animal model. *Asian Journal Of Pharmaeutical And Clinical Research.* 84(4): 258.
- Katzung, B. G. 2007. *Basic & Clinical Pharmacology, Tenth Edition.* United States: Lange Medical Publications.
- Kumar, S. dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The ScientificWorld Journal.* 2014: 5-6.
- Kumar, S., R. Kumar, A. Dwivedi dan A. K. Pandey. 2014. In vitro antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activity and in vivo effect of *Syngonium podophyllum* and *Eichhornia crassipes* leaf extracts on isoniazid induced oxidative stress and hepatic markers. *BioMed Research International.* 2014: 2.
- Laurence dan Bacharach, 1964, Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lahon, K. dan S. Das. 2011. Hepatoprotective activity of *Ocimum sanctum* alcoholic leaf extract against paracetamol-induced liver damage in albino rats. *Pharmacognosy Research.* 3(1): 15.
- Lushchak, V. I. 2012. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids.* 2012: 6.
- Mahl, Thomas, O'Grady, John. 2006. *Fast Facts: Liver Disorders (1).* UK: Health Press.
- Nagababu, E. dan N. Lakshmaiah. 1992. Inhibitory effect of eugenol on non enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. *Biochemical pharmacology.* 43(11): 1.
- Nielsen, F., B. B. Mikkelsen, J. B. Nielsen, H. R. Andersen, dan P. Grandjean. 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry.* 43(7): 1209.
- Niedernhofer, Daniels, Rouzer, Greene dan Marnett. 2003. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *The Journal Of Biological Chemistry.* 278(33): 31426.

- Palanisamy, N. dan, S Manian. 2011. Protective effects of *Asparagus racemosus* on oxidative damage in isoniazid-induced hepatotoxic rats: an in vivo study. *Toxicology and Industrial Health*. 28(3): 1-2.
- Pandey, G. dan S. Madhuri. 2010. Pharmacological Activities of *Ocimum sanctum* (Tulsi): A Review. 5(009): 1.
- Preziosi, P. 2007. Isoniazid: Metabolic Aspects and Toxicological Correlates. *Current Drug Metabolism*.
- Repetto, M., , J. Semprine, dan A. Boveris. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. *Intech Journal*.
- Russo, M. W., J. A. Galanko, R. Shrestha, M. W. Fried, dan P. Watkins. 2004. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the united states. *Liver Transplantation for Drug Induced Liver Injury*. 10(8): 1018.
- Rahman, S., R. Islam, M. Kamruzzaman, K.. Alam dan A. H. M. Jamal. 2011. *Ocimum sanctum* L.: a review of phytochemical and pharmacological profile. *American Journal of Drug Discovery and Development* , 2-6.
- Sherlock, S. dan J. D., Dooley. 2002 *Diseases of the Liver and Biliary System Eleventh edition*: Blackwell Science.
- Sherwood, L. 2011. Fisiologi Manusia. Jakarta: EGC.
- Singh, A., T. K. Bhat dan O. B. Sharma. 2011. Clinical biochemistry of hepatotoxicity. *Clinical Pharmacology: Research & Trials*. 4(001): 1.
- Shofia, V. 2015. Studi *In Silioo*, *In Vitro* dan *In Vivo* Potensi Ekstrak Metanol Kerang Mas Ngur (*Ataotodea strilata*) Terhadap Profil Malondialdehida, Aktivitas protease, Ekspresi Ooccludin dan Histopatologi Jejunum Tikus *Rattus norvegicus* yang Dipapar Indometasin. Tesis Magister pada FMIPA Universitas Brawijaya: tidak diterbitkan.
- Sudarsono, D. Gunawan, S. Wahyuono, I. A. Donatus dan Purnomo. 2002. Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaannya). Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada. 136-140.
- Swamy, A.H.M., R. V. Kulkarni, A.H.M. Thippeswamy, B.C. Koti dan A. Gore. 2010. Evaluation of hepatoprotective activity of *Cissus quadrangularis*. *Indian Journal of Pharmacology*. 42(6): 1.

- Swastika, A. P. A. 2013. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pada Abortus Inkomplit Lebih Tinggi Dibandingkan Dengan Kehamilan Normal. Tesis. Denpasar: Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Tsikas, D., S. Rothmanna, J. Y. Schneidera, M. T. Suchya, A. Trettina, D. Modunb, N. Stukec, N. Maassenc, dan J. C. Frölich. 2015. Development, validation and biomedical applications of stable-isotope dilution GC–MS and GC–MS/MS techniques for circulating malondialdehyde (MDA) after pentafluorobenzyl bromide derivatization: MDA as a biomarker of oxidative stress and its relation to 15(S)-8-iso-prostaglandin F₂ and nitric oxide (•NO). *Journal of Chromatography*. 1019: 95.
- Tjay, T. H. dan R. Kiraa. 2002. *Obat-Obat Penting; Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Wright, D. T., L. A. Cohn, H. Li, B. Fischer, C. M. Li, dan K. B. Adler. 1994. Interactions of Oxygen Radicals with Airway. *Environmental Health Perspectives*. 2.

Lampiran 3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan

Jenis Hewan Uji	Volume Maksimal (ml) sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
Mencit (20-30 gr)	0,5	0,5	1,0	0,5-10	1,0
Tikus (100 gr)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmot (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Keterangan:

- i.v. : intravena
- i.m. : intramuscular
- i.p. : intraperitoneal
- s.c. : subcutan
- p.o. : peroral

(Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207)

Lampiran 3.2 Tabel Konversi Perhitungan Dosis Untuk Berbagai Jenis (Spesies) Hewan Uji

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	397,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,12	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Laurence and Bacharach, 1964, Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta)

Lampiran 3.3 Tabel Dosis INH

Kelompok	Nomor perlakuan	Berat badan (g)	Dosis INH 100g/kgBB	Volume yang disondekan dalam normal saline (mL)
N	1	24 g	-	0,24 mL
	2	25 g	-	0,25 mL
	3	24 g	-	0,24 mL
	4	23 g	-	0,25 mL
K(-)	1	26 g	2,6 mg	0,26 mL
	2	25 g	2,5 mg	0,25 mL
	3	26 g	2,6 mg	0,26 mL
	4	22 g	2,2 mg	0,22 mL
K1	1	25 g	2,5 mg	0,25 mL
	2	23 g	2,3 mg	0,22 mL
	3	25 g	2,5 mg	0,25 mL
	4	22 g	2,2 mg	0,22 mL
K2	1	26 g	2,6 mg	0,26 mL
	2	23 g	2,3 mg	0,23 mL
	3	23 g	2,3 mg	0,23 mL
	4	26 g	2,6 mg	0,26 mL
K3	1	24 g	2,4 mg	0,24 mL
	2	26 g	2,6 mg	0,26 mL
	3	23 g	2,3 mg	0,23 mL
	4	23 g	2,3 mg	0,23 mL
K4	1	23 g	2,3 mg	0,23 mL
	2	28 g	2,8 mg	0,28 mL
	3	24 g	2,4 mg	0,24 mL
	4	27 g	2,7 mg	0,27 mL
K5	1	22 g	2,2 mg	0,22 mL
	2	26 g	2,6 mg	0,26 mL
	3	22 g	2,2 mg	0,22 mL
	4	24 g	2,4 mg	0,24 mL

Lampiran 3.4 Tabel Dosis Ekstrak Daun Kemangi

Kelompok	Nomor perlakuan	Berat badan (g)	Dosis ekstrak etanol daun kemangi	Volume yang disondekan dalam tween 80 0,5% (mL)
N	1	24 g	-	0,24 mL
	2	25 g	-	0,25 mL
	3	24 g	-	0,24 mL
	4	23 g	-	0,25 mL
K(-)	1	26 g	-	0,26 mL
	2	25 g	-	0,25 mL
	3	26 g	-	0,26 mL
	4	22 g	-	0,22 mL
K1	1	25 g	3,5 mg	0,25 mL
	2	23 g	3,22 mg	0,22 mL
	3	25 g	3,5 mg	0,25 mL
	4	22 g	3,08 mg	0,22 mL
K2	1	26 g	7,28 mg	0,26 mL
	2	23 g	6,44 mg	0,23 mL
	3	23 g	6,44 mg	0,23 mL
	4	26 g	7,28 mg	0,26 mL
K3	1	24 g	10,08 mg	0,24 mL
	2	26 g	10,92 mg	0,26 mL
	3	23 g	9,66 mg	0,23 mL
	4	23 g	9,66 mg	0,23 mL
K4	1	23 g	12,88 mg	0,23 mL
	2	28 g	15,68 mg	0,28 mL
	3	24 g	13,44 mg	0,24 mL
	4	27 g	15,12 mg	0,27 mL
K5	1	22 g	15,4 mg	0,22 mL
	2	26 g	18,2 mg	0,26 mL
	3	22 g	15,4 mg	0,22 mL
	4	24 g	16,8 mg	0,24 mL

Lampiran 3.5. Determinasi Tanaman Kemangi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
No. ~~2614~~2614/UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense,
Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Emma Enggar Safitri
NIM : 132010101047
Jur./Fak./PT : F. Kedokteran / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :
Ocimum tenuiflorum L. {Syn. *Ocimum sanctum* L.; *Moschosma tenuiflorum* (L.) Heynh.; *Lumnitzera tenuiflora* (L.) Spreng.; *Geniosporum tenuiflorum* (L.) Merr.; Family – Lamiaceae; Vernacular name – Kemangi (Ind.) Surawung (Sund)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 4 Oktober 2016

Mengetahui,
Pembantu Dekan I,



Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001

Ketua Laboratorium



Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.

Lampiran 3.6 Etik Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 966 /H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR TERHADAP KADAR MDA HATI MENCIT YANG DIINDUKSI ISONIAZID

Nama Peneliti Utama : Emma Enggar Safitri (NIM. 132010101047)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 2016

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lain.

Saran Komisi Etik :

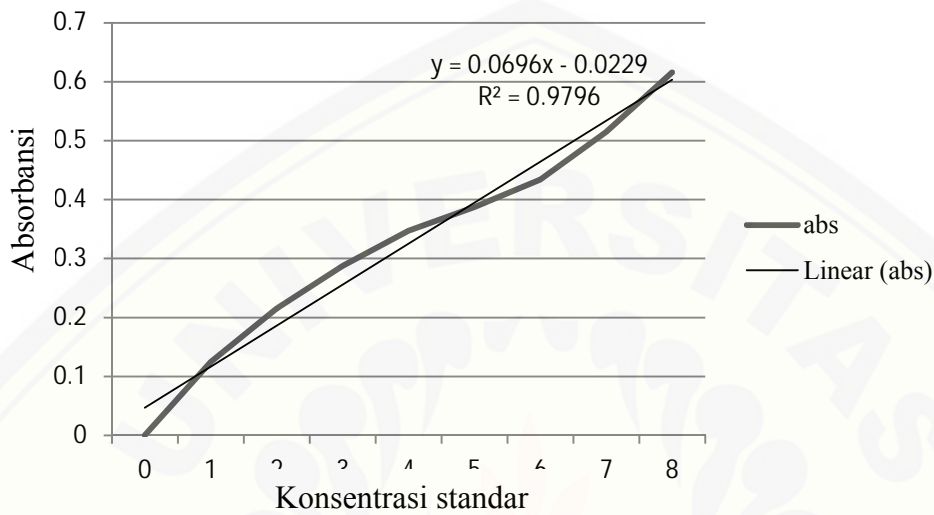
- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada Pedoman Etik Penelitian Kesehatan.
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak etanol daun kemangi agar didapatkan kadar yang diinginkan.
- Perlakuan penyodean dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba)
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan MDA.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Jember, 12 Oktober 2016

(dr. Rini Riyanti, Sp.PK)

Lampiran 4.1 Kurva Standar Malondialdehid

Kurva Standar MDA



Persamaan kurva:

$$y = 0,069x - 0,022$$

Keterangan: y = nilai absorbansi sample

x = konsentrasi malondialdehid sampel ($\mu\text{g/mL}$)

Lampiran 4.2 Data Kadar MDA Hati

Kelompok	Nomor	Absorbansi	Kadar MDA	Rata-rata
N	1	0,22	3,507	3,974
	2	0,156	2,579	
	3	0,246	3,884	
	4	0,387	5,927	
K(-)	1	0,552	8,318	8,38
	2	0,509	7,695	
	3	0,53	8	
	4	0,643	9,507	
K1	1	0,454	6,898	5,890
	2	0,368	5,652	
	3	0,333	5,144	
	4	0,383	5,869	
K2	1	0,448	6,811	5,416
	2	0,197	3,173	
	3	0,404	6,173	
	4	0,358	5,507	
K3	1	0,158	2,608	4,77475
	2	0,253	3,985	
	3	0,505	7,637	
	4	0,314	4,869	
K4	1	0,437	6,652	4,543
	2	0,253	3,072	
	3	0,505	4,043	
	4	0,314	4,405	
K5	1	0,388	5,942	4,06125
	2	0,141	2,362	
	3	0,274	4,289	
	4	0,23	3,652	

Lampiran 4.3 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas

Kelompok	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Normal	.276	4	.	.933	4	.613
Kontrol negatif	.281	4	.	.893	4	.397
Kemangi 1	.262	4	.	.946	4	.690
Kemangi 2	.273	4	.	.902	4	.441
Kemangi 3	.232	4	.	.960	4	.781
Kemangi 4	.286	4	.	.923	4	.556
Kemangi 5	.189	4	.	.991	4	.964

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Varians Data

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.619	6	21	.713

Uji One Way Anova

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.959	6	9.326	4.441	.005
Within Groups	44.103	21	2.100		
Total	100.062	27			

Uji Post Hoc LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol negatif	-4.40580*	1.02473	.000	-6.5368	-2.2748
	Kemangi 1	-1.91667	1.02473	.075	-4.0477	.2144
	Kemangi 2	-1.44203	1.02473	.174	-3.5731	.6890
	Kemangi 3	-.80072	1.02473	.443	-2.9318	1.3303
	Kemangi 4	-.56884	1.02473	.585	-2.6999	1.5622
Kontrol negatif	Kemangi 5	-.08696	1.02473	.933	-2.2180	2.0441
	Normal	4.40580*	1.02473	.000	2.2748	6.5368
	Kemangi 1	2.48913*	1.02473	.024	.3581	4.6202
	Kemangi 2	2.96377*	1.02473	.009	.8327	5.0948
	Kemangi 3	3.60507*	1.02473	.002	1.4740	5.7361
Kemangi 1	Kemangi 4	3.83696*	1.02473	.001	1.7059	5.9680
	Kemangi 5	4.31884*	1.02473	.000	2.1878	6.4499
	Normal	1.91667	1.02473	.075	-.2144	4.0477
	Kontrol negatif	-2.48913*	1.02473	.024	-4.6202	-.3581
	Kemangi 2	.47464	1.02473	.648	-1.6564	2.6057
Kemangi 2	Kemangi 3	1.11594	1.02473	.288	-1.0151	3.2470
	Kemangi 4	1.34783	1.02473	.203	-.7832	3.4789
	Kemangi 5	1.82971	1.02473	.089	-.3013	3.9608
	Normal	1.44203	1.02473	.174	-.6890	3.5731
	Kontrol negatif	-2.96377*	1.02473	.009	-5.0948	-.8327
Kemangi 3	Kemangi 1	-.47464	1.02473	.648	-2.6057	1.6564
	Kemangi 3	.64130	1.02473	.538	-1.4897	2.7723
	Kemangi 4	.87319	1.02473	.404	-1.2579	3.0042
	Kemangi 5	1.35507	1.02473	.200	-.7760	3.4861
	Normal	.80072	1.02473	.443	-1.3303	2.9318
	Kontrol negatif	-3.60507*	1.02473	.002	-5.7361	-1.4740

	Kemangi 1	-1.11594	1.02473	.288	-3.2470	1.0151
	Kemangi 2	-.64130	1.02473	.538	-2.7723	1.4897
	Kemangi 4	.23188	1.02473	.823	-1.8992	2.3629
	Kemangi 5	.71377	1.02473	.494	-1.4173	2.8448
	Normal	.56884	1.02473	.585	-1.5622	2.6999
	Kontrol negatif	-3.83696*	1.02473	.001	-5.9680	-1.7059
Kemangi 4	Kemangi 1	-1.34783	1.02473	.203	-3.4789	.7832
	Kemangi 2	-.87319	1.02473	.404	-3.0042	1.2579
	Kemangi 3	-.23188	1.02473	.823	-2.3629	1.8992
	Kemangi 5	.48188	1.02473	.643	-1.6492	2.6129
	Normal	.08696	1.02473	.933	-2.0441	2.2180
	Kontrol negatif	-4.31884*	1.02473	.000	-6.4499	-2.1878
Kemangi 5	Kemangi 1	-1.82971	1.02473	.089	-3.9608	.3013
	Kemangi 2	-1.35507	1.02473	.200	-3.4861	.7760
	Kemangi 3	-.71377	1.02473	.494	-2.8448	1.4173
	Kemangi 4	-.48188	1.02473	.643	-2.6129	1.6492

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

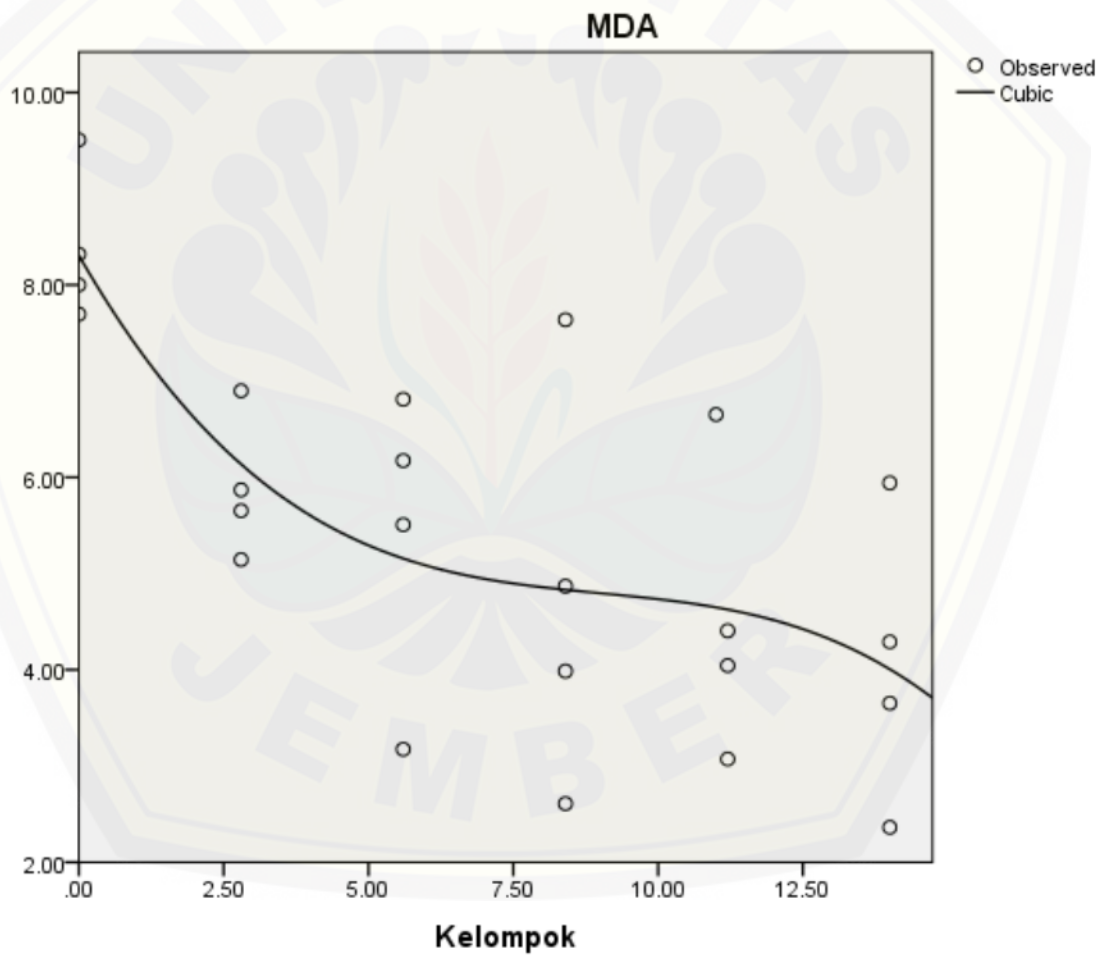
Uji Analisis Regresi

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: MDA

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Cubic	.551	8.178	3	20	.001	8.308	-1.052	.110	-.004

The independent variable is Kelompok.



Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian



Bentuk ekstrak semi solid



Melarutkan ekstrak semisolid dalam tween 80 0,5%



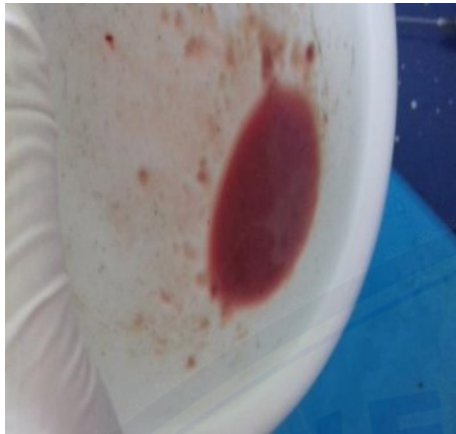
Adaptasi Hewan Coba



Penyondean pada Hewan Coba



Pembedahan dan Pengambilan Organ Hati Hewan Coba



Penggerusan hati dan NaCl 0,9% dingin



Homogenat setelah di sentrifuge



Supernatan Homogenat
Ditambahkan Aquades, TCA
100%, Na Thio Dan HCl 1 N



Sampel setelah di inkubasi dan
siap di baca absorbansinya