



**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI  
(*Ocimum sanctum*) DENGAN PARAMETER LD<sub>50</sub> DAN HISTOPATOLOGI  
HATI**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Hafid Aji Prasetyo**  
**NIM 142010101075**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI  
(*Ocimum sanctum*) DENGAN PARAMETER LD<sub>50</sub> DAN HISTOPATOLOGI  
HATI**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Oleh  
**Hafid Aji Prasetyo**  
**NIM 142010101075**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Drs. Sutarmo dan Sri Suhartini, M.Pd. yang selalu memberikan kasih sayang, doa sepenuh hati, serta pengorbanan yang tiada henti;
2. Kakak saya Melina Ramadhani dan Fadhilah Devi Rahmawati yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
3. Nenek saya Sajiyem yang memberikan nasehat, ilmu, dan nilai-nilai kehidupan;
4. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang memberikan ilmu dan mendidik saya selama ini;
5. Keluarga besar Elixir angkatan 2014 Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

**MOTTO**

*In the cave you fear to enter, holds the treasure you seek \*)*



---

\*) Joseph Campbell. 2003. The Hero's Journey. California: New World Library

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hafid Aji Prasetyo

NIM : 142010101075

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dengan Parameter Nilai LD<sub>50</sub> dan Histopatologi Hati” 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Januari 2018

Yang menyatakan,

Hafid Aji Prasetyo  
NIM. 142010101075

**SKRIPSI**

**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI  
(*Ocimum sanctum*) DENGAN PARAMETER LD<sub>50</sub> DAN HISTOPATOLOGI  
HATI**

Oleh

Hafid Aji Prasetyo  
NIM 142010101075

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rini Riyanti, Sp.PK.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dengan Parameter LD<sub>50</sub> dan Histopatologi Hati” karya Hafid Aji Prasetyo telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 22 Januari 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D.  
NIP 19690901 199901 1 003

dr. Edy Junaidi, M.Sc., Sp.M.  
NIP 19750801 200312 1 003

Anggota II,

Anggota III,

dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.  
NIP 19710521 199803 1 003

dr. Rini Riyanti, Sp.PK.  
NIP 19720328 199903 2 001

Mengesahkan,

Dekan

dr. Enny Suswati, M.Kes.  
NIP 19700214 199903 2 001

## RINGKASAN

**Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dengan Parameter Nilai LD<sub>50</sub> dan Histopatologi Hati;** Hafid Aji Prasetyo, 142010101075; 2018: 69 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kemangi termasuk tanaman obat dan memiliki banyak kandungan antioksidan dan fitonutrien. Meskipun ekstrak daun kemangi telah terbukti banyak manfaat, pada dosis tertentu suatu senyawa tetap dapat menyebabkan toksisitas dalam tubuh. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui berapa dosis atau konsentrasi suatu senyawa yang dapat menyebabkan efek toksik dalam tubuh. Efek toksik dapat dilihat dengan nilai LD<sub>50</sub> dan secara mikroskopik pada organ hati yang merupakan tempat pertama metabolisme senyawa asing seperti obat yang masuk dalam tubuh. Sampai saat ini belum terdapat uji toksisitas akut oral pada ekstrak etanol 70% daun kemangi (*Ocimum sanctum*) pada mencit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut oral ekstrak etanol daun kemangi dengan parameter nilai LD<sub>50</sub> dan gambaran histopatologi hati mencit.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *quasi experimental* dengan rancangan penelitian *post test non-equivalent control group design*. Uji toksisitas akut oral dilakukan dengan metode OECD 420 (*fix dose procedure*). Dosis ekstrak etanol daun kemangi merupakan tingkatan *fix dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB yang dapat diturunkan atau dinaikkan sesuai kematian dan tanda toksisitas dari hewan uji. Dosis awal menggunakan dosis 2000 mg/kgBB ekstrak dan kelompok kontrol yang diberikan tween 80 sebanyak 0,01ml/20 gram mencit dengan masing-masing kelompok 5 ekor mencit. Pengamatan dilakukan secara intensif setiap 30 menit selama 4 jam pertama, setiap 4 jam selama 24 jam dan sehari sekali selama 14 hari. Tanda toksisitas yang diamati berupa perubahan aktivitas otonom hewan uji seperti piloereksi, konvulsi (kejang), tremor (gemetar), nyeri, hipersalivasi, lakrimasi dan mati. Pada uji utama dilakukan tidak terdapat  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $\leq 1$  kematian hewan uji maka tidak dapat langsung

ditentukan kisaran nilai LD<sub>50</sub>. Selain itu, tidak terdapat  $\geq 2$  hewan uji dan tidak terbukti adanya bukti toksisitas maka termasuk kategori 5 GHS. Uji pembatasan 5000 mg/kgBB tidak dilakukan untuk melindungi kesejahteraan hewan, serta memiliki relevansi langsung untuk melindungi kesehatan hewan atau manusia. Setelah 14 hari pengamatan, hewan dikorbankan dan diambil organ hati untuk dilakukan pengamatan histopatologi. Kemudian dilakukan analisis data dengan uji nonparametrik *Mann-Whitney*.

Hasil penelitian didapatkan kisaran nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) >2000 mg/kgBB yang termasuk kategori senyawa tidak toksik. Uji *Mann-Whitney* menghasilkan nilai signifikansi sebesar  $p=0,005$  ( $p<0,05$ ) yang menunjukkan hasil rata-rata skoring histopatologi hati antara dua kelompok berbeda bermakna. Perbedaan ini terletak pada kelompok kontrol yang tampak normal pada histopatologi hati, sedangkan pada kelompok perlakuan tampak degenerasi hidrofik pada seluruh lapang pandang. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) termasuk kategori GHS 5/*unclassified* dimana tidak terdapat toksisitas secara akut, namun terdapat perubahan gambaran histopatologi hati mencit berupa degenerasi hidrofik pada pemberian oral akut ekstrak etanol daun kemangi 2000 mg/kgBB.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dengan Parameter Nilai LD<sub>50</sub> dan Histopatologi Hati”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked. selaku dosen pembimbing utama dan dr. Rini Riyanti, Sp.PK. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam proses penyusunan skripsi ini;
3. Orang tua saya tercinta, Drs. Sutarmo dan Sri Suhartini, M.Pd. yang selalu memberikan kasih sayang, doa sepebuh hati, serta pengorbanan yang dilakukan setiap waktu;
4. Kakak saya Melina Ramadhani dan Fadhilah Devi Rahmawati yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
5. Nenek saya Sajiyem yang memberikan nasehat, ilmu, dan nilai-nilai kehidupan;
6. Sahabat-sahabat saya Khana Nurfadhila, Moh. Lutfi Hasbullah, Ekvan Danang S.P., dan teman-teman kos yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini;
7. Analis Laboratorium Farmakologi dan Fisiologi Lilik Maslian, Amd.;
8. Keluarga besar Elixir angkatan 2014 Fakultas Kedokteran Universitas jember;
9. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Januari 2018

Penulis



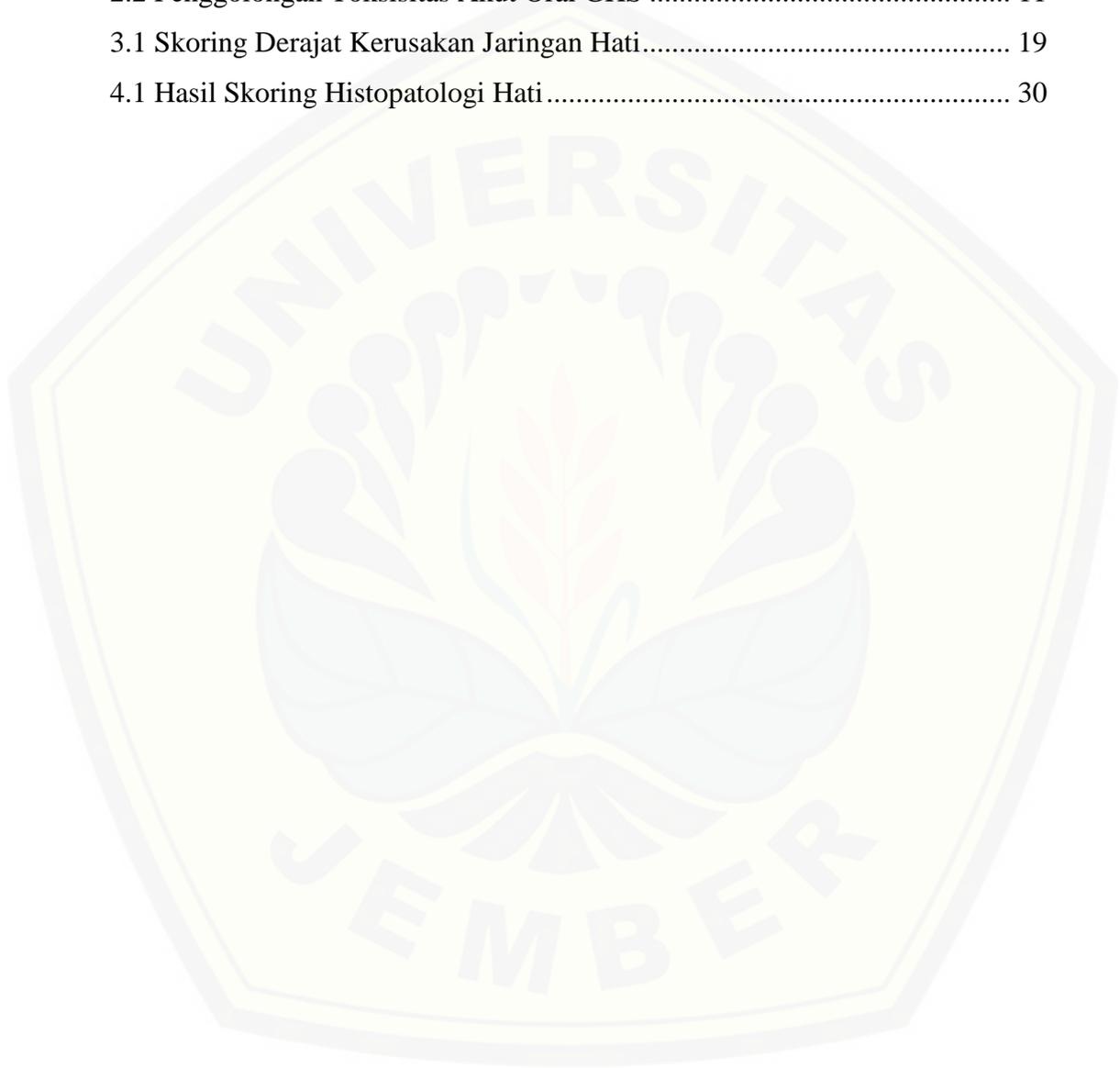
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
1.4.1 Manfaat Teoritis .....	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Tinjauan Kemangi</b> .....	4
2.1.1 Definisi Kemangi.....	4
2.1.2 Taksonomi .....	5
2.1.3 Manfaat Kemangi .....	5
2.1.4 Kandungan Kemangi .....	6
2.1.5 Aktivitas Antioksidan dan Prooksidan .....	6
<b>2.2 Toksisitas</b> .....	8
<b>2.3 Uji Toksisitas Akut Oral OECD 420</b> .....	9
<b>2.4 Toksisitas pada Hati</b> .....	11
<b>2.5 Kerangka Teori</b> .....	14
<b>2.6 Hipotesis Penelitian</b> .....	15
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	16
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	16
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	16
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	17
<b>3.4 Variabel Penelitian</b> .....	17
<b>3.5 Definisi Operasional</b> .....	18
3.5.1 Ekstrak Etanol Daun Kemangi.....	18
3.5.2 Pengamatan Tanda Toksisitas .....	18
3.5.3 LD <sub>50</sub> Ekstrak Etanol Daun Kemangi .....	18

3.5.4 Pengamatan Histopatologi Hati.....	18
<b>3.6 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.6.1 Alat Penelitian .....	19
3.6.2 Bahan Penelitian .....	20
<b>3.7 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>20</b>
3.7.1 Pemilihan Hewan Uji .....	20
3.7.2 Adaptasi Hewan Uji .....	20
3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi ( <i>Ocimum sanctum</i> ) ....	21
3.7.4 Pembuatan Sediaan.....	21
3.7.5 Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi ( <i>Ocimum sanctum</i> ) ....	22
3.7.6 Histopatologi Hati .....	23
<b>3.8 Analisis Data.....</b>	<b>25</b>
<b>3.9 Alur Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.10 Uji Kelayakan Etik .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1 Hasil .....</b>	<b>28</b>
4.1.1 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kemangi ( <i>Ocimum sanctum</i> ).....	28
4.1.2 Penentuan Nilai LD <sub>50</sub> .....	28
4.1.3 Hasil Pengamatan Histopatologi Hati .....	39
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>30</b>
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>34</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>34</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>34</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>39</b>

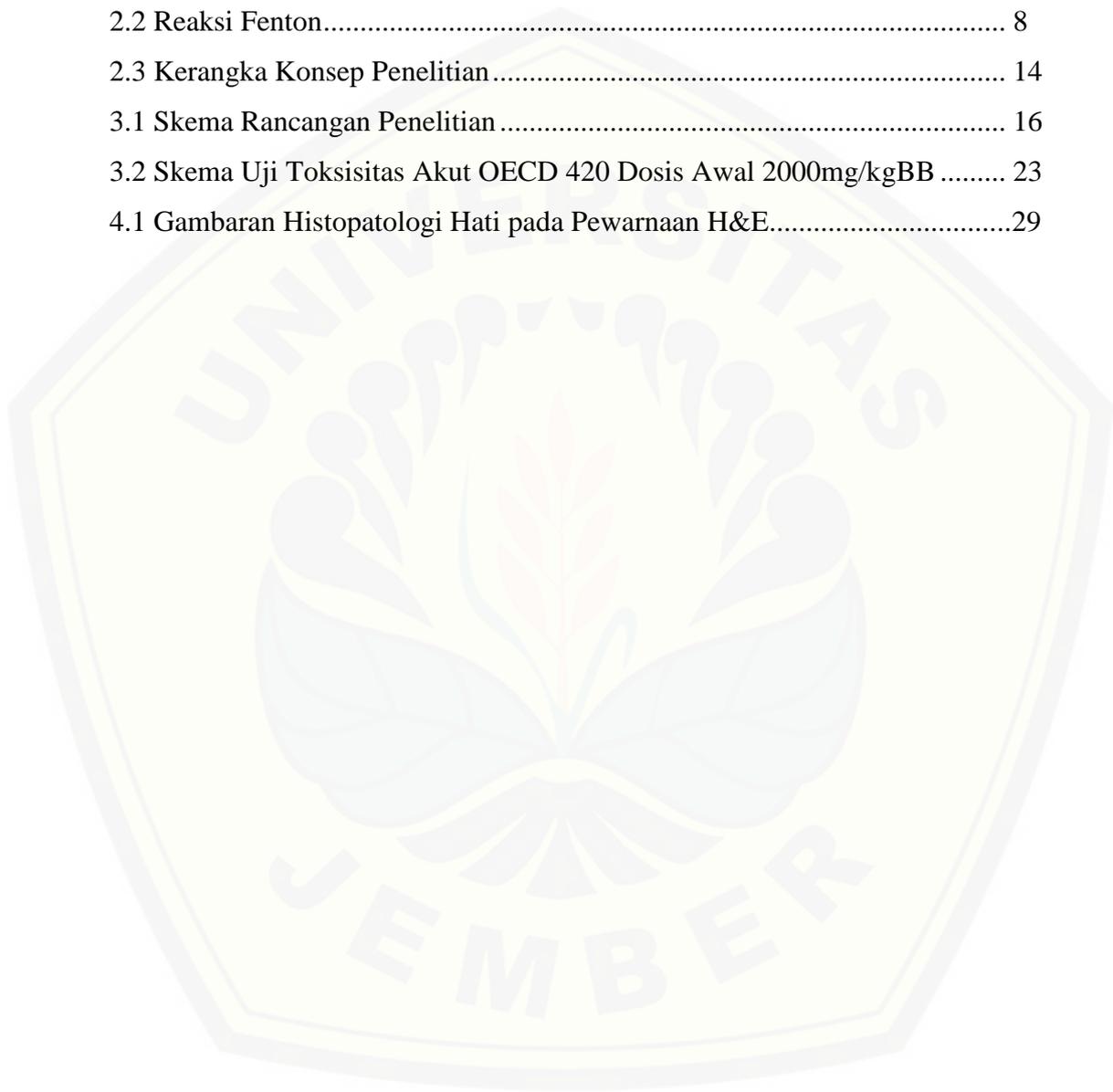
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan Ekstrak Daun Kemangi In Vitro.....	6
2.2 Penggolongan Toksisitas Akut Oral GHS .....	11
3.1 Skoring Derajat Kerusakan Jaringan Hati.....	19
4.1 Hasil Skoring Histopatologi Hati.....	30



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Tumbuhan Kemangi.....	4
2.2 Reaksi Fenton.....	8
2.3 Kerangka Konsep Penelitian.....	14
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	16
3.2 Skema Uji Toksisitas Akut OECD 420 Dosis Awal 2000mg/kgBB.....	23
4.1 Gambaran Histopatologi Hati pada Pewarnaan H&E.....	29



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran A. Lembar persetujuan etik .....	39
Lampiran A.1a Halaman pertama lembar persetujuan etik .....	39
Lampiran A.1b Halaman kedua lembar persetujuan etik .....	40
Lampiran B. Surat identifikasi tanaman kemangi .....	41
Lampiran B.1a halaman pertama surat identifikasi tanaman kemangi	41
Lampiran B.1b halaman kedua surat identifikasi tanaman kemangi.	42
Lampiran B.1c halaman ketiga surat identifikasi tanaman kemanagi	43
Lampiran C. Tabel dosis pemberian ekstrak.....	44
Lampiran D. Pembuatan preparat.....	45
Lampiran E. Data penelitian.....	47
Lampiran E.1 Pengamatan bukti toksisitas.....	47
Lampiran E.2 Skoring histopatologi hati.....	53
Lampiran F. Analisis data .....	56
Lampiran G. Dokumentasi penelitian .....	58

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kemangi (*Ocimum sanctum*) merupakan salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia (Mahajan *et al.*, 2014). Daun kemangi dapat berfungsi sebagai antihipertensi dengan menghambat terbentuknya PGE2 sehingga menyebabkan vasodilatasi. Daun kemangi juga dapat berfungsi sebagai anti-inflamasi karena menghambat PGE2, leukotrien, dan asam arakidonat (Pandey dan Madhuri, 2010).

Selain sebagai tanaman obat, kemangi juga digunakan untuk sumber pangan baik sebagai penyedap makanan atau pendamping makanan. Dari kementerian pertanian Indonesia, belum ada data mengenai jumlah konsumsi daun kemangi perkapita satu tahunnya. Data mengenai produksi daun kemangi di Indonesia juga belum tersedia (Sulaiman, 2017).

Kandungan paling banyak dalam ekstrak etanol daun kemangi adalah total konten fenoliknya (Hakkim *et al.*, 2007). Salah satu senyawa fenolik adalah flavonoid (Aytul, 2010). Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan yang menekan terbentuknya ROS (*reactive oxygen species*) (Kumar dan Pandey, 2013). Akan tetapi, suatu senyawa masih mempunyai kemungkinan untuk menyebabkan toksisitas di dalam tubuh (Lukito, 2014). Pada saat tertentu antioksidan dapat berbalik fungsi menjadi prooksidan (Yordi *et al.*, 2012).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember, diketahui bahwa ekstrak etanol daun kemangi mempunyai efek hepatoprotektor pada mencit yang diinduksi isoniazid. Dari penelitian tersebut didapatkan ED<sub>50</sub> sebesar 14,568 mg/20grBB (Safitri, 2016). Ekstrak etanol daun kemangi juga dapat mencegah peningkatan kadar SGOT dan SGPT pada mencit yang diinduksi isoniazid (Muslimin, 2016). Untuk melanjutkan penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas Jember mengenai ekstrak etanol daun kemangi agar dapat dimanfaatkan sebagai obat, maka diperlukan data mengenai potensi toksisitasnya.

Sampai saat ini belum terdapat data mengenai toksisitas ekstrak etanol daun kemangi. Toksisitas dapat dilihat dengan nilai toksisitas akut LD<sub>50</sub>-nya. Selain itu, toksisitas juga dapat dilihat pada organ hati sebagai tempat metabolisme pertama obat. Di hati, metabolisme suatu senyawa terjadi terutama di retikulum endoplasma dan sitosol (Price dan Lorraine, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketoksikan akut oral ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dilihat dari nilai LD<sub>50</sub> dan histopatologi hati mencit. Diharapkan dengan uji toksisitas dapat diketahui keamanan senyawa tersebut sehingga selanjutnya penelitian dapat diteruskan pada pengujian klinis dan dijadikan sebagai obat.

### 1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa kisaran nilai toksisitas akut oral (LD<sub>50</sub>) pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*)?
2. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) per oral terhadap histopatologi hati mencit?

### 1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui kisaran nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*)
- b. Mengetahui histopatologi hati setelah pemberian per oral ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*)

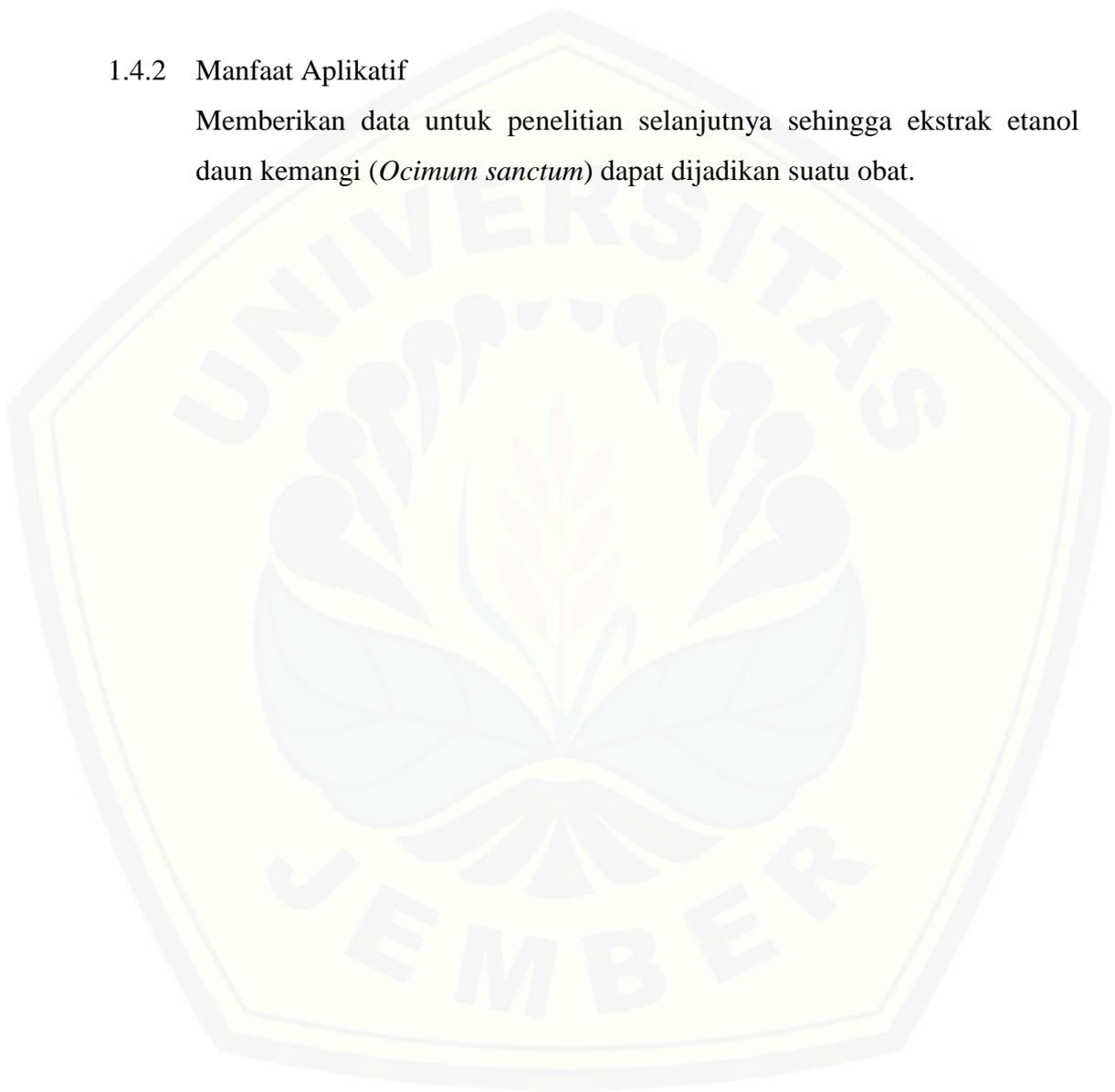
#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah mengenai keamanan dan potensi toksik dari ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*)

##### 1.4.2 Manfaat Aplikatif

Memberikan data untuk penelitian selanjutnya sehingga ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dapat dijadikan suatu obat.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Kemangi

#### 2.1.1 Definisi Kemangi

Kemangi (*Ocimum sanctum*) banyak tumbuh di daerah tropis dan merupakan tanaman semak dengan tajuk membulat, berbau harum, mempunyai banyak cabang dengan tinggi 0,3-1,5 m. Kemangi tidak mempunyai batang pokok yang jelas, berwarna hijau atau ungu serta berambut atau tidak berambut. Daunnya tersusun dari bawah ke atas, tunggal, dan berhadapan, berbentuk bulat sampai elips, memanjang dengan ujung runcing atau tumpul. Panjang tangkai daunnya antara 0,25-3 cm. Bentuk pangkal daun pasak sampai membulat, berambut halus di kedua permukaan, tepi daun bergerigi, bergelombang, atau rata (Sudarsono *et al.*, 2002).

Kemangi memiliki bunga hermafrodit berwarna putih, majemuk, berkarang dan terdapat daun pelindung pada ketiak daun ujung berbentuk elips dengan panjang 0,5-1 cm. Kelopak bunga berbentuk bibir, berwarna hijau atau ungu, dan sisi luarnya berambut kelenjar. Mahkota bunga berwarna putih, mempunyai benang sari yang tersisip didasar mahkota dan kepala putiknya bercabang dua tidak sama. Buah kemangi berbentuk kotak, tegak, berwarna coklat tua. Biji kecil, keras dan berwarna coklat tua. Akar tunggang berwarna putih kotor (Sudarsono *et al.*, 2002).



Gambar 2.1 Tumbuhan kemangi (sumber: Lukito, 2008)

### 2.1.2 Taksonomi

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

### 2.1.3 Manfaat Kemangi

Daun kemangi telah diteliti mempunyai banyak manfaat untuk kesehatan. Salah satunya, ekstrak alkohol kemangi mempunyai aktivitas antikanker dengan memodulasi metabolisme karsinogen seperti sitokrom p450, aryl hidrocarbon hydrolase, sitokrom BS, dan glutation S-transferase. Aktivitas tersebut menyebabkan penyusutan ukuran sitoplasma dan nukleus sel. Terdapat kandungan asam lemak esensial pada kemangi seperti asam linolat akan menghasikan PGE1 dan PGE3 serta menghambat terbentuknya PGE2 sehingga akan menyebabkan vasodilatasi yang digunakan sebagai antihipertensi. Daun kemangi mempunyai kemampuan menghambat siklooksigenase dan lipooksigenase yang merupakan jalur metabolisme asam arakidonat, sehingga kemangi mempunyai kemampuan anti-inflamasi. Kemangi juga dapat menghambat antikolinesterase dan meningkatkan *step down latency (SDL)* yang digunakan untuk pengobatan demensia dan alzheimer (Pandey dan Madhuri, 2010).

Ekstrak *aqueos* kemangi juga menunjukkan kemampuan inhibisi bakteri. Ekstrak tersebut dapat menginhibisi bakteri *Kliebsella*, *E.coli*, *Proteus*, dan *Staphylococcus aureus* serta ekstrak alkoholnya menunjukkan inhibisi pada *multi-drug resistant S.aureus* dan pada *resistant N.gonorrhoea* (Pandey dan Madhuri, 2010).

Kemangi meningkatkan produksi TNF- $\alpha$  yang meningkatkan proses penyembuhan luka. TNF- $\alpha$  dapat mempercepat proses epitelisasi pada proses

penyembuhan luka. (Rahman *et al.*, 2011). Ekstrak etanol daun dan batang kemangi dapat mencegah konvulsi tonik serta memiliki efek signifikan terhadap anxiolitik dan antistress. Efek tersebut terjadi karena kemangi terlibat dalam sistem GABA-ergic dan serotonergik. (Rahman *et al.*, 2011). Kemangi dapat berfungsi sebagai kardioprotektif karena menghambat isopeterenol yang menginduksi nekrosis miokardium. Kemangi juga memperbaiki neuropati perifer dengan menurunkan kadar asam thiobarbiturat (Rahman *et al.*, 2011).

#### 2.1.4 Kandungan Kemangi

Kandungan antioksidan daun kemangi seperti flavonoid, eugenol dapat mencegah terjadinya radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya (Lahon dan Das, 2011). Minyak atsiri kemangi mempunyai komposisi 71% eugenol, dan sisanya methyl eugenol, carvacol dan *sequestrene* (Pandey dan Madhuri, 2010). Dalam 100 mg daun kemangi mengandung 25 mg vitamin (Rahman *et al.*, 2011). Ekstrak daun kemangi terbukti berperan sebagai *radical scavenging* yang menghambat terbentuknya radikal DPHH dengan IC<sub>50</sub> sebesar 0,46±0,02b (Hakkim *et al.*, 2007).

Tabel 2.1 Kandungan Ekstrak Daun Kemangi In Vitro

No.	Kandungan	Jumlah (mg/ml dari ekstrak)
1	Total konten fenolik	3,05 ± 0,12b
2	Asam affeik	0,19 ± 0,04d
3	Asam ursalat	Tidak terdetekksi
4	<i>Isothymusin</i>	0,14 ± 0,09a
5	Eugenol	0,70 ± 0,21a
6	Asam sinapik	0,54 ± 0,01a
7	Asam rosmarinat	0,25 ± 0,05d

(Sumber: Hakkim *et al.*, 2007)

#### 2.1.5 Aktivitas Antioksidan dan Prooksidan

Kandungan terbanyak dalam ekstrak etanol daun kemangi adalah total konten fenolik (Hakkim *et al.*, 2007). Senyawa fenolik diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu asam fenolik, flavonoid dan tannin. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang paling banyak diteliti. Flavonoid tersusun atas 15 rantai karbon dengan 2 cincin benzen serta dihubungkan oleh cincin C *pyran* heterosiklik. Flavonoid dibagi menjadi antosianin dan antoxantin. Antosianin lebih memiliki

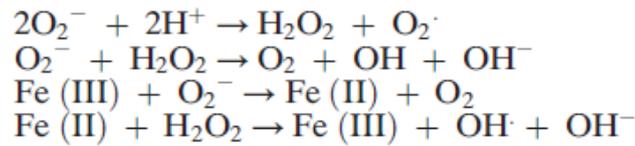
pigmen warna seperti merah, biru serta ungu daripada antoxantin. *Isoflavones*, *flavonoles* dan *flavones* merupakan subgroup dari flavonoid (Aytul, 2010).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan menghambat enzim yang bekerja dalam produksi anion superoksida. Antioksidan dari flavonoid memiliki mekanisme menekan terbentuknya ROS sebagai *chelating ion*, dan meningkatkan kinerja aktivitas antioksidan tubuh. Flavonoid menyediakan sisi pengikat untuk radikal bebas. Sisi ini adalah gugus katekol pada cincin B yang merupakan donor elektron yang baik. Aktivitas antioksidan flavonoid sangat bergantung pada cincin B. Mekanisme ini berjalan dengan mendonorkan sebuah elektron dan hidrogen ke radikal peroksil, hidroksil, dan peroksinitrit sehingga membuat radikal tersebut stabil (Kumar dan Pandey, 2013).

Senyawa fenolik seperti eugenol, carvacol, *isothymusin*, *apigenin*, asam rosmarinat, orietin, asam rosmarinat dan viscesin mempunyai kemampuan sebagai antioksidan melalui beberapa mekanisme. Mekanisme pertama yaitu HAT (*hydrogen atom transfer*) dengan mendonorkan atom hidrogen dan mekanisme kedua yaitu SET (*single electron transfer*) dengan mentransfer elektron. Mekanisme tersebut berjalan dengan cara mentransfer atom hidrogen atau elektron, sehingga terjadi reduksi terhadap metal ion, radikal dan *carbonyls* yang membuat ikatan kimia senyawa tersebut stabil (Aytul, 2010).

Antioksidan seperti polifenol menunjukkan hasil yang kontroversial terutama pada pemberian dosis yang tinggi. Tipe antioksidan, dosis, dan matriknya kemungkinan menjadi faktor yang menentukan apakah suatu antioksidan bermanfaat atau justru merusak. Pada saat tertentu antioksidan dapat berbalik fungsi menjadi prooksidan. Prooksidan dapat terbentuk pada konsentrasi tertentu atau pada pemberian antioksidan dosis tinggi serta adanya ion logam (Yordi *et al.*, 2012).

Ion logam Fe [Fe (III)] dapat merubah antioksidan menjadi prooksidan. Fe dapat bereaksi dengan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) menghasilkan radikal hidroksil yang disebut dengan reaksi fenton (Eghbaliferiz dan Iranshahi, 2016).



Gambar 2.2. Reaksi Fenton (sumber: Eghbaliferiz dan Iranshahi, 2016)

Terbentuknya radikal hidroksil (OH) yang merupakan oksidan yang kuat dapat menyebabkan stress oksidatif. stress oksidatif dapat menyebabkan perubahan suatu membran sel dan merusaknya. Rusaknya membran menyebabkan efek toksik dapat mencapai inti sel dan merusaknya, sehingga struktur sel tidak normal dan menjadi nekrosis (Andreas *et al*, 2015).

## 2.2 Toksisitas

Toksisitas adalah kemampuan suatu senyawa untuk dapat menimbulkan efek toksik pada suatu organisme. Senyawa yang menimbulkan toksisitas disebut toksin (Hodgson, 2010). Potensi toksisitas suatu senyawa dipengaruhi oleh dosis, konsentrasi pada reseptor, sifat zat, kondisi bioorganisme, dan bentuk efek yang timbul (Wirasuta dan Niruri, 2007).

Evaluasi toksisitas suatu senyawa perlu dilakukan untuk menentukan efek berbahaya yang ditimbulkannya (Mansuroh, 2013). Penelitian tentang toksikologi salah satunya digunakan untuk mengetahui LD<sub>50</sub>. LD<sub>50</sub> adalah dosis suatu zat yang dapat memberikan kematian pada 50% subyek yang mengonsumsinya, sehingga semakin besar LD<sub>50</sub> semakin baik suatu senyawa (Parasuraman, 2011).

Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui apakah suatu senyawa menimbulkan efek toksik atau tidak. Terdapat dua jenis uji toksisitas, yaitu uji toksisitas khusus dan uji toksisitas umum. Uji toksisitas khusus bertujuan untuk mengetahui dengan rinci toksisitas sediaan, seperti uji teratogenik, uji mutagenik, dan uji karsinogenik. Uji toksisitas umum bertujuan untuk mengetahui efek secara keseluruhan suatu sediaan pada hewan uji. Uji toksisitas umum dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis, dan uji toksisitas kronis (Lu, 1995). Uji toksisitas akut dilakukan untuk mengetahui efek toksik yang muncul tidak lebih dari 24 jam setelah pemberian senyawa dosis tunggal atau dosis berulang. Uji toksisitas subkronis adalah uji untuk mengetahui

efek toksik pada pemberian dosis berulang selama sebagian umur hewan uji, tetapi tidak lebih dari 10% total umur hewan uji. Uji toksisitas kronis adalah uji ketoksikan suatu senyawa dengan pemberian dosis berulang pada hewan uji selama seluruh umur hewan uji atau tidak kurang dari 12 bulan (Lukito, 2014).

Uji toksisitas akut dapat menentukan LD<sub>50</sub> dan menunjukkan organ sasaran yang mengalami kerusakan (Hodgson, 2010). OECD mempunyai tiga metode untuk uji toksisitas akut, yaitu OECD 420 – FDP (*fix dose procedure*), OECD 423 – ATC (*acute toxic class method*) dan OECD 425 – UDP (*Up and Down Procedure*). Pada metode OECD 420 hewan uji yang digunakan 5 hewan uji yang diberikan dosis bertingkat yaitu 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB dan dilihat tanda toksisitas dan kematian pada hewan uji. OECD 423 ATC menggunakan 3 hewan uji tiap tahapan dan uji ini ditentukan berdasarkan kematian hewan. OECD 425 UDP yang rata-rata menggunakan 6-9 ekor dengan dosis yang dianjurkan adalah 5,5; 17,5; 55; 175; 550; 1750; 5000 mg/kgBB (Gurria, 2001).

### 2.3 Uji Toksisitas Akut Oral OECD 420

Prinsip dari uji toksisitas akut oral OECD 420 adalah dengan mengelompokkan hewan uji dengan jenis kelamin yang sama ke dalam beberapa kelompok dosis yang telah ditetapkan yaitu 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB. Sebelum dilakukan uji utama, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan digunakan untuk menentukan dosis awal dengan satu hewan uji pada setiap dosis (Gurria, 2001).

Uji toksisitas akut oral OECD 420 – FDP (*fix dose procedure*) adalah metode uji toksisitas akut yang menggunakan hewan uji lebih sedikit daripada metode konvensional atau OECD 401. Pada OECD 420, digunakan 5 ekor hewan uji setiap dosis (Gurria, 2001). Pada metode konvensional, digunakan minimal 5 ekor hewan uji pada setiap dosis dan setelah uji pada satu jenis kelamin selesai, dilanjutkan pada jenis kelamin yang berbeda. (Gurria, 1987).

Hewan uji yang digunakan pada OECD 420 adalah spesies rodensia. Hewan uji yang digunakan berjenis kelamin sama di semua tahapan. Hewan uji betina lebih direkomendasikan karena secara umum lebih sensitif terhadap efek

toksik suatu senyawa. Umur hewan uji berkisar antara 8 sampai 12 minggu. Hewan uji berjumlah lima ekor setiap kelompok. Hewan uji ditempatkan di ruangan yang mendapat cahaya selama 12 jam dan gelap selama 12 jam dalam sehari. Hewan uji diadaptasi selama lima hari sebelum dilakukan uji toksisitas (Gurria, 2001).

Bahan uji diberikan dengan dosis tunggal. Sebelum diberikan, hewan uji dipuaskan makan terlebih dahulu. Untuk tikus, puasa makan terlebih dahulu selama satu malam  $\pm 12$  jam. Untuk mencit, puasa makan terlebih dahulu selama 3-4 jam. Volume bahan uji sebaiknya tidak melebihi 1 ml/100grBB (Gurria, 2001).

Pengamatan dilakukan secara intensif setiap 30 menit selama 4 jam pertama, setiap 4 jam selama 24 jam dan sehari sekali selama 14 hari (Gurria, 2001). Pengamatan tanda toksisitas merupakan pengamatan secara kualitatif yang dilakukan dengan melihat adanya perbedaan tingkah laku antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Tanda toksisitas yang diamati meliputi piloereksi, konvulsi (kejang), tremor (gemetar), nyeri, hipersalivasi, lakrimasi dan mati (Sabbani *et al.*, 2015).

Piloreksi adalah perubahan bulu hewan uji menjadi tegak dan keras akibat kontraksi otot-otot piloerektor pada sebagian tubuh mencit (Gurria, 2001). Timbulnya konvulsi ditandai dengan kontraksi yang tidak terkendali selama beberapa detik atau lebih lama. Tremor merupakan indikasi adanya gangguan pada sistem syaraf pusat hewan uji berupa gerakan berkedut otot dan gerakan kulit yang cepat (Hau dan Hoosier, 2003). Nyeri dapat ditandai ketika hewan uji menyipitkan bagian orbital, melipat daun telinga ke bagian dalam dan menjauhkan kumisnya dari wajah (Gurria, 2001). Hipersalivasi ditandai dengan produksi air liur berlebihan berupa cairan yang keluar dari sudut mulut hewan uji. Lakrimasi dilihat dari adanya air mata berwarna merah yang mengindikasikan stress pada hewan uji (Sabbani *et al.*, 2015).

Nilai LD<sub>50</sub> yang didapatkan berupa rentang dosis, bukan nilai pasti. Rentang dosis tersebut dapat dikelompokkan menurut klasifikasi dari *Globally Harmonized System* (GHS) (Gurria, 2001).

Tabel 2.2 Penggolongan Toksisitas Akut Oral GHS

Dosis (mg/KgBB)	Kematian	Kategori
5	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	1
5	$\geq 1$ ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	
50	$\geq 1$ ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	3
300	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	
300	$\geq 1$ ekor dengan gejala toksisitas dan atau $< 1$ mati	4
2000	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	
2000	$\geq 1$ ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	5
	Tidak ada gejala toksisitas	5/ <i>unclassified</i>

(Sumber: Algayerova, 2011)

#### 2.4 Toksisitas pada Hati

Hati mempunyai berat sekitar seperlima puluh berat tubuh pada orang dewasa sekitar 1200 – 1500 gram dan merupakan organ yang paling besar. Hati terdiri atas dua lobus, yaitu lobus kanan dan lobus kiri. Berat lobus kanan 6 kali dari berat lobus kiri. Pada bagian anterior kedua lobus ini dipisahkan ligamentum falciforme sedangkan pada bagian posterior oleh ligamentum venosum dan pada bagian inferior oleh ligamentum teres (Sherlock dan Dolley, 2002).

Aliran darah pada hati di suplai oleh vena porta dan arteri hepatica. Vena porta membawa darah dari limpa dan usus sedangkan arteri hepatica berasal dari arteri coeliaca yang mensuplai darah kaya oksigen. Pembuluh darah tersebut masuk melalui porta hepatis pada bagian belakang inferior lobus dekstra. Vena porta dan arteri hepatica terbagi menjadi dua di dalam porta hepatis masing-masing untuk lobus dekstra dan sinistra. Hati dipersarafi oleh pleksus hepatica bersinaps di pleksus coeliaca. Pleksus hepatica merupakan ganglia simpatis dari T7-T10 (Sherlock dan Dolley, 2002).

Setiap lobus hati terbagi menjadi struktur-struktur mikroskopis yang disebut lobulus. Lobulus mengelilingi vena sentralis yang mengalirkan darah dari lobulus secara radial. Terdapat kapiler diantara sel hati yang merupakan cabang dari vena

porta dan arteri hepatica yang disebut sinusoid. Sinusoid dibatasi oleh sel *kupffer* yang mempunyai fungsi fagosit. Selain sinusoid, juga terdapat saluran empedu. Empedu yang dibentuk sel hati diekskresi membentuk saluran empedu yang makin membesar menjadi duktus koledokus (Price dan Lorraine, 2006).

Hati merupakan tempat nutrisi dari saluran cerna diolah dan disimpan untuk digunakan oleh bagian tubuh lainnya. Hati berperan sebagai perantara antara darah dan sistem pencernaan. Hati memiliki berbagai fungsi bagi tubuh. Fungsi hati meliputi metabolisme karbohidrat, metabolisme protein, metabolisme lipid, tempat penyimpanan darah, vitamin, dan besi, berperan dalam pembekuan darah, serta berfungsi untuk mengeluarkan atau mengekskresikan obat-obatan, hormon, dan zat lain (Guyton dan Hall, 2012).

Di hati, metabolisme obat terjadi terutama di retikulum endoplasma dan sitosol. Metabolisme tersebut bertujuan untuk mengubah obat yang nonpolar menjadi polar. Obat yang polar akan larut air dalam sirkulasi darah dan dapat diekskresikan melalui hati atau empedu. Reaksi metabolisme dibagi menjadi reaksi fase 1 dan reaksi fase 2. Fase 1 merupakan reaksi oksidasi, reduksi, dan hidrolisis, yang mengubah obat menjadi lebih polar. Fase 2 merupakan reaksi konjugasi. Konjugasi terjadi dengan substrat endogen asam glukuronat, asam asetat, asam sulfat, atau asam amino dan hasilnya menjadi sangat polar (Guyton dan Hall, 2012).

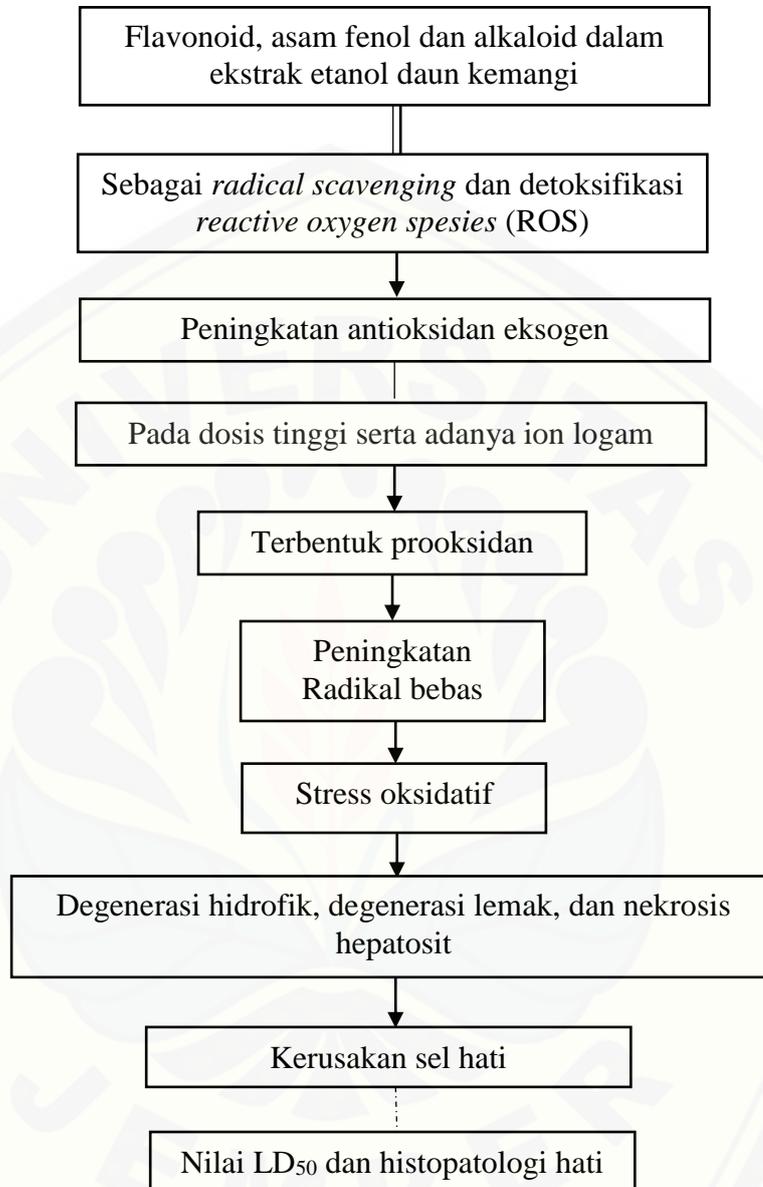
Degenerasi bisa menjadi salah satu tanda awal kerusakan hati. Proses degenerasi disebabkan stress oksidatif dari radikal bebas yang menyebabkan perubahan membran sel dan rusaknya. Rusaknya membran menyebabkan efek toksik dapat mencapai inti sel dan rusaknya, sehingga struktur sel tidak normal dan menjadi nekrosis. (Andreas *et al*, 2015).

Degenerasi hidrofik terjadi karena peningkatan permeabilitas plasma terhadap natrium. Permeabilitas terganggu karena rusaknya pompa natrium-kalium ATPase yang disebabkan stress oksidatif. Hal tersebut menyebabkan hipernatremia sel sehingga air mengalir masuk dan menyebabkan degenerasi hidrofik. Degenerasi lemak merupakan kerusakan hati yang lebih lanjut berupa adanya penimbunan trigliserida dalam vakuola hepatosit karena kemampuan

metabolisme telah menurun. Pada degenerasi lemak terlihat vakuola besar dan mendesak nukleus ke tepi sel. Karena rusaknya membran, maka stress oksidatif dapat masuk dan merusak inti sel menyebabkan struktur sel tidak normal dan menjadi nekrosis (Andreas *et al*, 2015). Nekrosis pada hepatosit ditandai dengan nukleus mengkerut, nukleus pecah menjadi beberapa fragmen, lisis pada nukleus dan membran sel sehingga batas antar sel tidak nampak jelas (Hastuti dan Sumpe, 2007).



## 2.5 Kerangka Teori



- : memicu  
= : berfungsi  
- - - : dilihat dari

Gambar 2.3 Kerangka konsep penelitian

Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) memiliki kandungan yang berperan sebagai *radical scavenger* yakni flavonoid, asam fenol dan alkaloid. Kandungan tersebut berfungsi untuk mendetoksifikasi ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang memicu peningkatan kadar antioksidan eksogen dalam tubuh. Pada saat tertentu antioksidan dapat berbalik fungsi menjadi prooksidan. Prooksidan dapat terbentuk pada konsentrasi tertentu atau pada pemberian antioksidan dosis tinggi serta adanya ion logam (Yordi *et al.*, 2012).

Prooksidan memicu peningkatan radikal bebas yang menimbulkan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat meningkatkan permeabilitas membran plasma yang memicu terjadi degenerasi hidrofik. Stress oksidatif menurunkan kemampuan metabolisme sel menyebabkan penumpukan lemak sehingga terjadi degenerasi lemak. Stress oksidatif yang masuk kedalam sel dapat merusak inti sel menyebabkan struktur sel tidak normal dan menjadi nekrosis (Andreas *et al.*, 2015).

Toksisitas dapat dilihat dengan nilai toksisitas akut LD<sub>50</sub>-nya. Selain itu, juga dapat dilihat efek toksisitas pada organ hati sebagai tempat metabolisme pertama obat (Price dan Lorraine, 2006).

## 2.6 Hipotesis Penelitian

Pada bubuk dari *Ocimum sanctum* dosis tertinggi 7 g/kgBB tidak memiliki efek toksik pada mencit (Sadashiv, 2010). Ekstrak *aqueous* dari *Ocimum sanctum* dosis 5 g/kgBB tidak menimbulkan toksisitas akut. Ekstrak alkohol dosis 4 g/kgBB *Ocimum sanctum* juga tidak menimbulkan gejala toksisitas akut (Rahman, 2011). Data penelitian sebelumnya menunjukkan tidak ada toksisitas dari daun kemangi, maka hipotesis penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun kemangi tidak toksik yang mempunyai kisaran LD<sub>50</sub> >2000 mg/kgBB dan tidak terdapat perbedaan histopatologi hati hewan uji kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

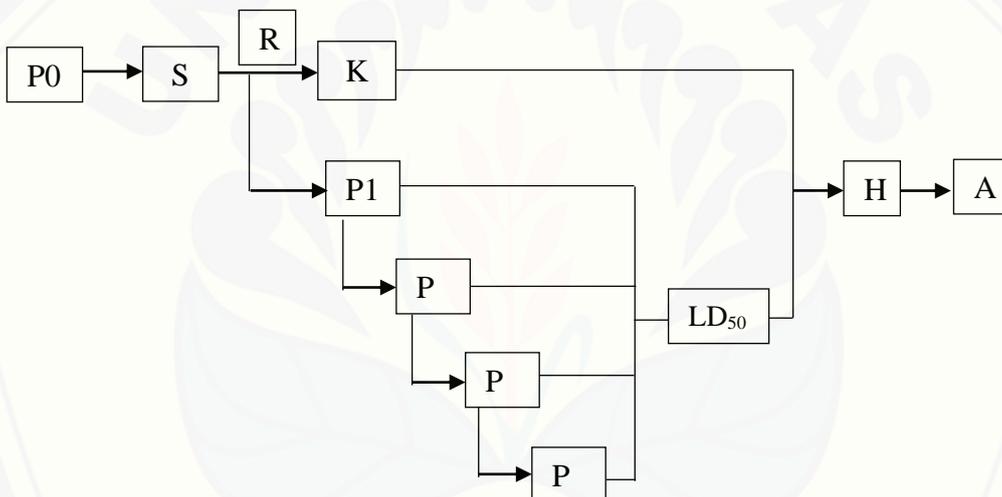
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true-experimental* dengan menggunakan rancangan penelitian *post-test only control group design*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah penelitian *post-test only control group design*.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- P0 : Populasi mencit
- S : Sampel
- R : Pengelompokan mencit yang dipilih secara acak dengan menandai individu mencit dan dilakukan pengundian.
- K : Kelompok kontrol diberikan Tween 80 dosis tunggal dengan dosis 0,01 ml/20grbb dan diamati setiap hari selama 14 hari.
- P1 : Kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol daun kemangi dosis tunggal dengan dosis 2000 mg/kgBB dan diamati setiap hari selama 14 hari. Apabila tidak terdapat bukti toksisitas,  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $< 1$  kematian maka dapat langsung ditentukan kisaran  $LD_{50}$ . Apabila terdapat  $\geq 2$  kematian maka dilakukan P2.
- P2 : Kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol daun kemangi dosis tunggal dengan dosis 300 mg/kgBB dan diamati setiap hari selama 14 hari. Apabila tidak terdapat bukti toksisitas,  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $< 1$

- kematian maka dapat langsung ditentukan kisaran LD<sub>50</sub>. Apabila terdapat  $\geq 2$  kematian maka dilakukan P3
- P3 : Kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol daun kemangi dosis tunggal dengan dosis 50 mg/kgBB dan diamati setiap hari selama 14 hari. Apabila tidak terdapat bukti toksisitas,  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $< 1$  kematian maka dapat langsung ditentukan kisaran LD<sub>50</sub>. Apabila terdapat  $\geq 2$  kematian maka dilakukan P2.
- P4 : Kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol daun kemangi dosis tunggal dengan dosis 5 mg/kgBB dan diamati setiap hari selama 14 hari. Pada dosis ini dapat ditentukan kisaran LD<sub>50</sub>.
- H : Histopatologi organ hati.
- A : Analisis data.

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan 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 Patologi Anatomi RSUD dr.Soebandi Jember untuk pembuatan preparat histopatologi organ hati. Waktu pelaksanaan adalah bulan November - Desember 2017.

### 3.4 Variabel Penelitian

Jenis variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah peningkatan dan penurunan dosis ekstrak etanol daun kemangi dalam mg/kgBB. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah kematian hewan uji dan gambaran histopatologi hati hewan uji. Variabel Terkontrol dalam penelitian ini meliputi:

- Frekuensi pemberian ekstrak etanol kemangi diberikan satu kali dosis tunggal.
- Cara pemberian ekstrak etanol daun kemangi diberikan secara oral menggunakan sonde oral mencit,
- Jenis mencit adalah mencit strain Balb/c betina,
- Berat badan mencit antara 16-24 gram,
- Umur mencit antara 8-12 minggu,
- Adaptasi mencit sebelum pengujian ekstrak yang dilakukan selama 5 hari.

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Ekstrak etanol daun kemangi adalah hasil ekstraksi daun kemangi menggunakan pelarut etanol 70%. Daun kemangi diperoleh dari Pasar Tanjung kemudian dideterminasi di Fakultas Pertanian. Ekstrak etanol daun kemangi diberikan dosis tunggal kepada mencit dengan dosis awal 2000 mg/kgBB setelah puasa makan selama 3-4 jam secara oral menggunakan sonde oral mencit. Ekstrak etanol daun kemangi dilarutkan dalam Tween 80 0,01 ml/20mgBB.

#### 3.5.2 Pengamatan Tanda Toksisitas

Pengamatan dilakukan secara intensif setiap 30 menit selama 4 jam pertama, setiap 4 jam selama 24 jam dan sehari sekali selama 14 hari (Gurria, 2001). Pengamatan tanda toksisitas merupakan pengamatan secara kualitatif yang dilakukan dengan melihat adanya perbedaan tingkah laku antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Tanda toksisitas yang diamati meliputi piloereksi, konvulsi (kejang), tremor (gemetar), nyeri, hipersalivasi, lakrimasi dan mati (Sabbani *et al.*, 2015).

#### 3.5.3 LD<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Daun Kemangi

LD<sub>50</sub> ekstrak etanol daun kemangi adalah dosis yang kemungkinan dapat memberikan kematian pada 50% pada hewan uji. LD<sub>50</sub> pada uji toksisitas akut OECD 420 berupa rentang dosis yang sesuai dengan klasifikasi toksisitas dari GHS (Tabel 2.2) (Gurria, 2001).

#### 3.5.4 Pengamatan Histopatologi Hati

Pengamatan kerusakan histopatologi sel hati mencit dilakukan secara umum meliputi gambaran degenerasi hidrofik, degenerasi lemak atau nekrosis pada hepatosit. Degenerasi hidrofik disebabkan meningkatnya permeabilitas plasma yang menyebabkan air masuk ke dalam sel (Andreas *et al.*, 2015). Degenerasi lemak menandai kerusakan hati yang lebih lanjut berupa adanya vakuolisasi sehingga sel tampak membengkak dengan sitoplasma pucat sehingga mendesak nukleus ke tepi sel. Nekrosis pada hepatosit ditandai dengan nukleus

mengkerut, nukleus pecah menjadi beberapa fragmen, lisis pada nukleus dan membran sel sehingga batas antar sel tidak nampak jelas (Hastuti dan Sumpe, 2007).

Derajat kerusakan hati dinilai menggunakan sistem skoring (Tabel 3.1). Pengamatan preparat dilakukan dibawah mikroskop optik dengan perbesaran 400 kali dan menggunakan 10 lapang pandang. Skoring dilakukan pada masing-masing lapangan pandang (Andreas *et al*, 2015).

Tabel 3.1 Skoring Derajat Kerusakan Jaringan Hati

Skor	Keterangan
0	Hepatosit tampak normal
1	Terdapat degenerasi hidrofik, degenerasi lemak atau nekrosis yang terfokus di satu tempat
2	Terdapat degenerasi hidrofik, degenerasi lemak atau nekrosis yang terfokus di beberapa tempat
3	Terdapat degenerasi hidrofik, degenerasi lemak atau nekrosis yang terfokus di seluruh tempat

(Sumber: Andreas *et al.*, 2015)

### 3.6 Alat Dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

- Alat untuk pemeliharaan mencit adalah bak plastik, penutup kawat, botol minum, tempat makan, dan label.
- Alat untuk pembuatan ekstrak daun kemangi adalah ayakan, *blender*, oven, timbangan, toples kaca, kertas saring, erlenmeyer *rotatory evaporataor*, dan pengaduk.
- Alat untuk pemberian ekstrak daun kemangi adalah pengaduk, *beaker glass*, spuit sonde, dan handscoon.
- Alat untuk mengambil hati mencit adalah handscoon, papan fiksasi, scalpel, dan pisau bedah.
- Alat untuk pembuatan preparat histopatologi hati adalah kaca objek, *cover glass*, dan mikroskop cahaya.

### 3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah air, makanan pelet, dan sekam.
- b. Bahan untuk ekstraksi daun kemangi adalah daun kemangi dan etanol 70%.
- c. Bahan untuk menyonde adalah ekstrak etanol daun kemangi, normal saline, dan Tween 80.
- d. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi hati adalah kloroform  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , formalin 10%, eosin, dan hematoksilin.

## 3.7 Prosedur Penelitian

### 3.7.1 Pemilihan Hewan uji

Hewan yang digunakan adalah mencit Balb/c betina. Digunakan mencit betina karena sedikit lebih sensitif pada uji toksisitas dibandingkan mencit jantan (Gurria, 2001).

Kriteria hewan uji meliputi:

- a. Mencit sehat dan tidak ada kelainan anatomi,
- b. Mencit betina harus yang belum pernah beranak dan tidak sedang hamil,
- c. Berat badan pada permulaan uji antara 16-24 gram,
- d. Umur pada permulaan uji antara 8-12 minggu.

Hewan diseleksi secara acak, diberi tanda untuk identifikasi tiap-tiap hewan, dan dilakukan adaptasi sekurang-kurangnya 5 hari sebelum diberi perlakuan.

### 3.7.2 Adaptasi Hewan Uji

Sebelum penelitian dilakukan, mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 5 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.

Ruangan untuk hewan uji bersuhu sekitar  $22^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). Ruangan juga dibuat mendapatkan cahaya selama 12 jam dan gelap pada 12 jam selanjutnya. Mencit diberi makan pelet turbo 512 dan diberi persediaan air yang tidak dibatasi.

Hewan uji setiap kandang berjumlah 5 dan ditempatkan berdasarkan kelompok dosis masing-masing.

### 3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*)

Daun kemangi didapat dari Pasar Tanjung dideterminasi oleh Fakultas Pertanian Universitas Jember. Surat determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran B. Daun kemangi sebanyak 4 kg yang dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan oven bersuhu 60°C. Kemudian dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk. Lalu diayak dengan menggunakan ayakan hingga didapatkan serbuk halus. Selanjutnya serbuk daun kemangi sebanyak 400 gram dimasukkan ke dalam toples, setelah itu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L (dengan perbandingan 1:7,5), didiamkan 72 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 70% dan diaduk secara terus menerus. Setelah filtrat didapatkan maka dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotatory evaporator* dengan suhu 50°C hingga pelarut etanol 70% menguap dan didapatkan hasil ekstrak semi kental etanol kemangi (Ali *et al.*, 2017).

### 3.7.4 Pembuatan Sediaan

Sediaan ekstrak yang dipakai dalam penelitian ini sesuai dengan *fixed dose* untuk uji toksisitas akut 420, yaitu 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB. Ekstrak kemudian dilarutkan ke dalam tween 80 sebanyak 0,01 ml/20grBB. Setelah itu larutan ekstrak didispersikan ke dalam aquades sampai volume 0,5 ml.

Perhitungan konsentrasi pada dosis awal P1 dengan volume administrasi oral (VAO) 0,5ml adalah

$$\begin{aligned} \text{Volume administrasi oral} &= \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{kgbb}} \right) \times \text{BB} (\text{kg})}{\text{konsentrasi} \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)} \\ 0,5 \text{ ml} &= \frac{2000 \times 0,02}{\text{konsentrasi} \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)} \\ \text{Konsentrasi} &= 40 \text{ mg}/0,5\text{ml} \end{aligned}$$

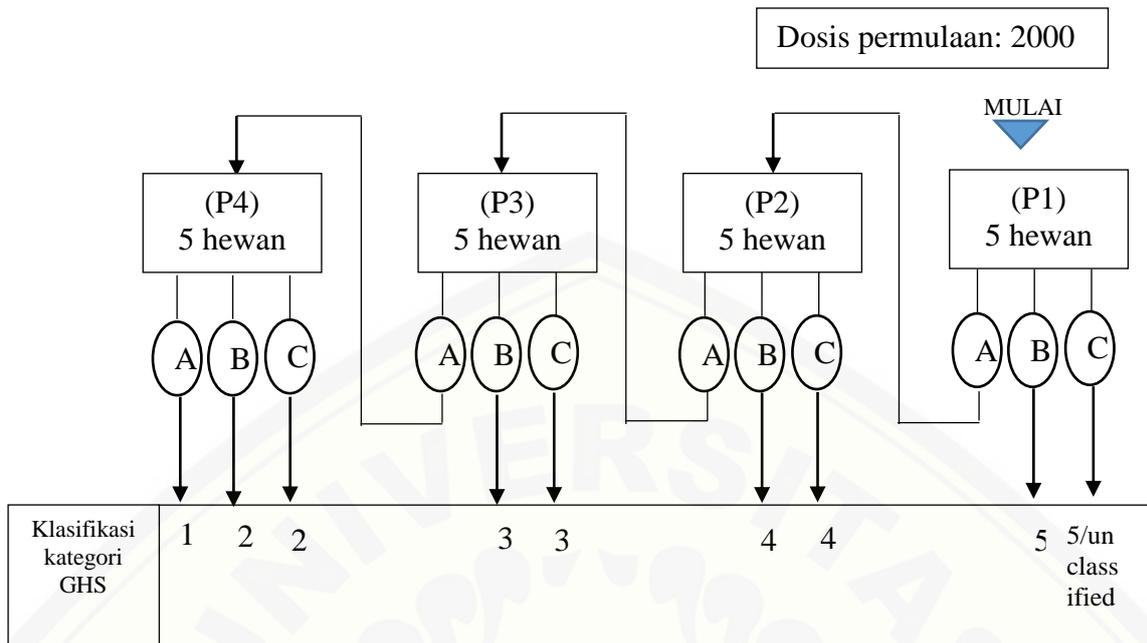
### 3.7.5 Uji Toksisitas Akut Oral Metode OECD 420

Langkah awal, dilakukan adaptasi dan pengelompokan hewan uji secara acak. Sebelum dipajankan, hewan uji ditimbang dan dihitung volume pemberian sesuai dengan dosis awal 2000 mg/kgBB. Pemejanaan dosis awal dilakukan pada kelompok P1. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari dengan mengamati tanda toksisitas yang muncul terutama bila ada kematian hewan uji.

Apabila P1 tidak ada toksisitas atau terdapat  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $\leq 1$  kematian, maka dapat langsung ditentukan cut off LD<sub>50</sub>-nya sesuai kategori GHS. Apabila terdapat  $\geq 2$  hewan uji yang mati, maka dilakukan perlakuan pada P2 dengan dosis diturunkan menjadi 300 mg/kgBB.

Apabila P2 tidak ada toksisitas atau terdapat  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $\leq 1$  kematian, maka dapat langsung ditentukan cut off LD<sub>50</sub>-nya sesuai kategori GHS. Apabila terdapat  $\geq 2$  hewan uji yang mati, maka dilakukan perlakuan pada P3 dengan dosis diturunkan menjadi 50 mg/kgBB.

Apabila P3 tidak ada toksisitas atau terdapat  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $\leq 1$  kematian, maka dapat langsung ditentukan cut off LD<sub>50</sub>-nya sesuai kategori GHS. Apabila terdapat  $\geq 2$  hewan uji yang mati, maka dilakukan perlakuan pada P4 dengan dosis diturunkan menjadi 5 mg/kgBB (Gurria, 2001).



#### Hasil yang dicapai

- (A)  $\geq 2$  kematian
- (B)  $\geq 1$  bukti toksisitas dan/atau  $< 1$  kematian
- (C) Tidak terdapat bukti toksisitas

Gambar 3.2 Skema Uji Toksisitas Akut OECD 420 Dosis Awal 2000mg/kgBB

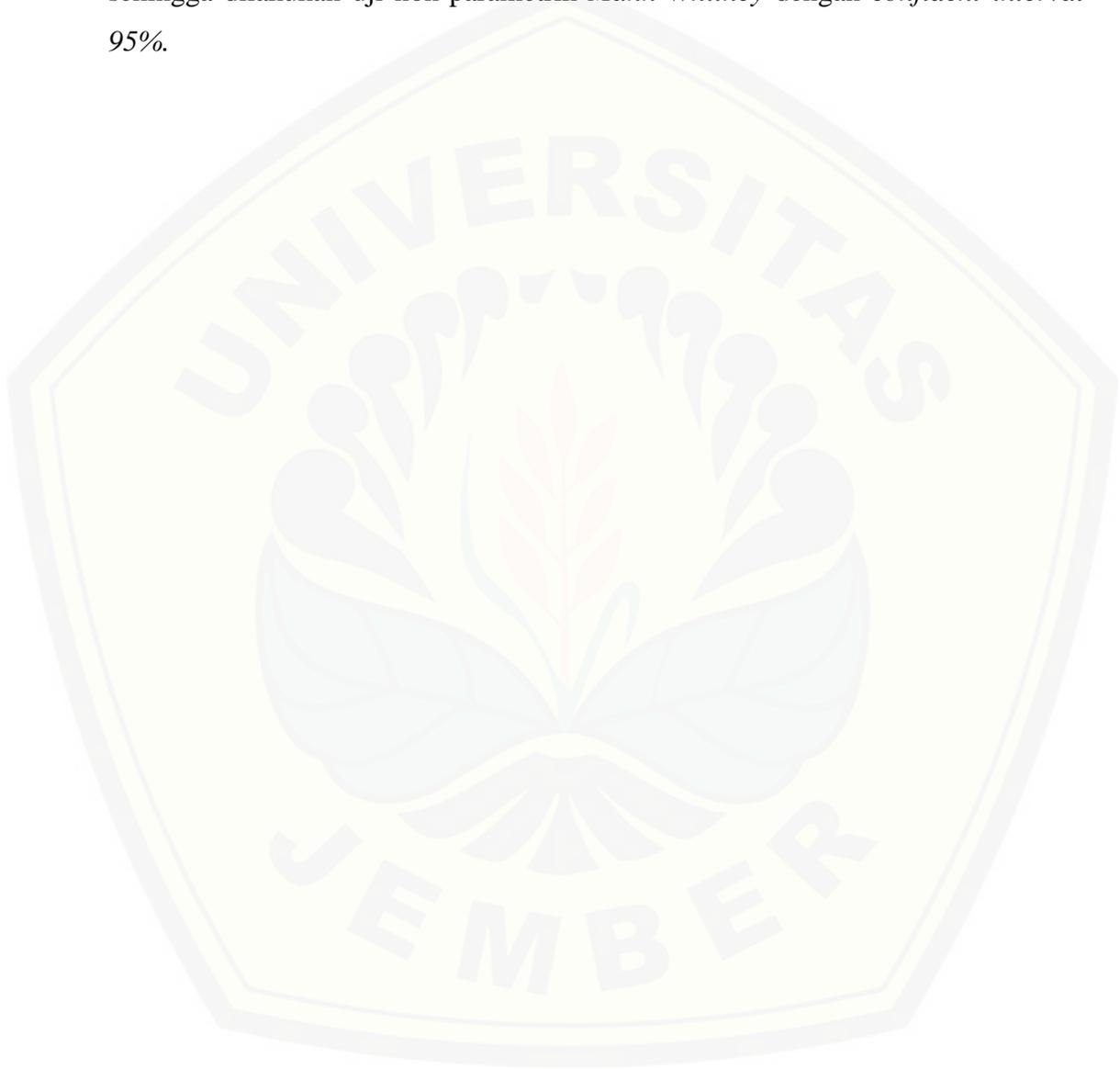
Kelompok kontrol uji toksisitas adalah 5 ekor mencit yang dipajan Tween 80 per oral dengan dosis tunggal 0,01 ml/20grBB. Kelompok kontrol diuji untuk mengetahui pengaruh tween terhadap hewan uji setelah pemajanan, karena tween digunakan sebagai pelarut sediaan ekstrak etanol daun kemangi.

#### 3.7.6 Histopatologi Hati

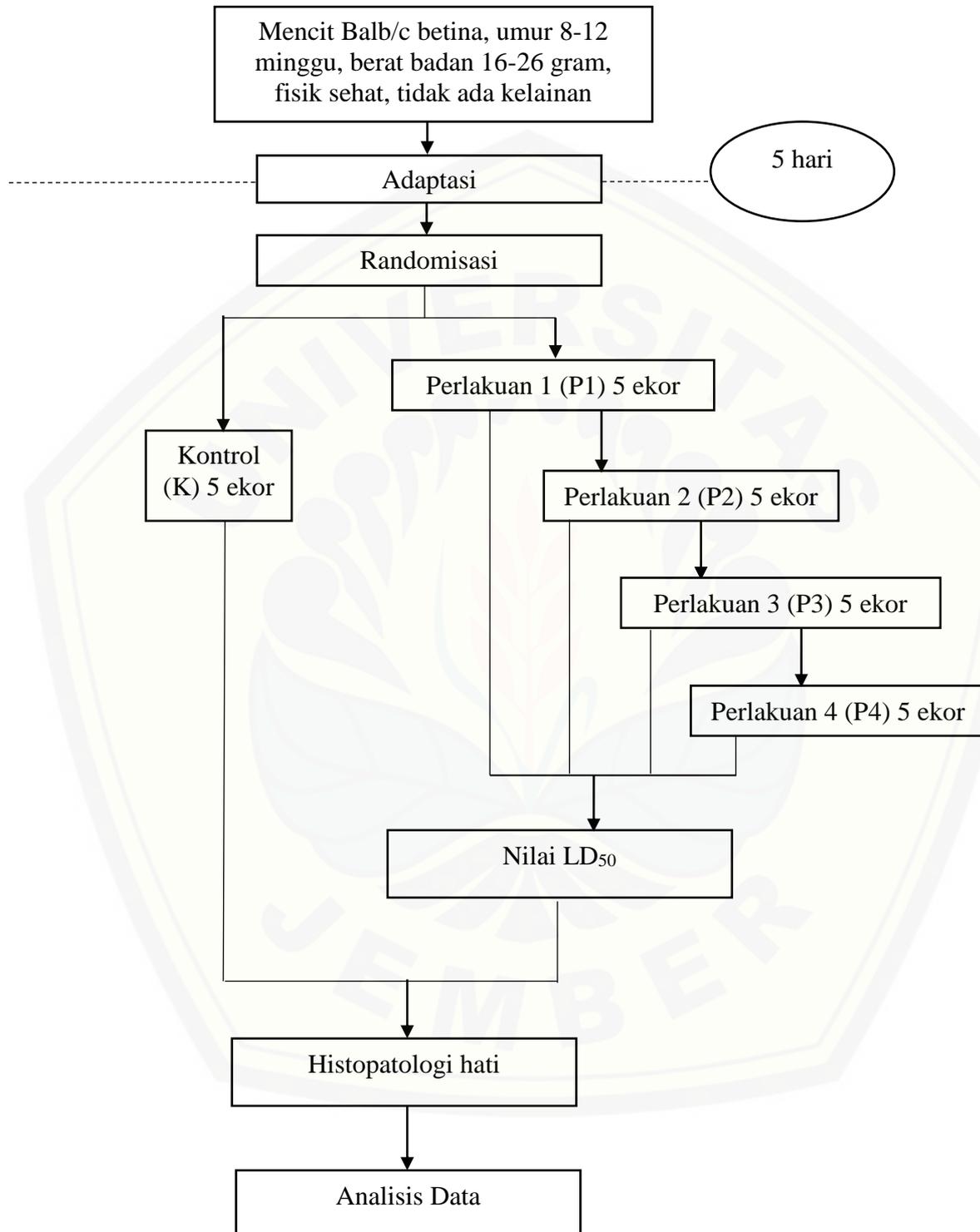
Hewan uji yang mati setelah terkena pajanan langsung dikorbankan dan dilakukan pembuatan preparat histopatologi hatinya (Lampiran D). Untuk hewan yang hidup pada kelompok LD<sub>50</sub>, dikorbankan pada hari ke 14 dan juga dilakukan pembuatan preparat histopatologi hatinya.

### 3.8 Analisis Data

Pengamatan dilakukan terhadap data hasil histopatologi hati. Perubahan pada organ hati dapat menunjukkan potensi toksisitas akut bahan uji. Skoring data histopatologi hati merupakan data ordinal dan sampel pada penelitian ini <30 sehingga dilakukan uji non-parametrik *Mann-Whitney* dengan *confident interval* 95%.



### 3.9 Alur Penelitian



Keterangan:

- K : Kontrol negatif (mencit Balb/c + tween).
- P1 : Mencit Balb/c + ekstrak etanol kemangi dengan dosis 2000 mg/kgBB.
- P2 : Mencit Balb/c + ekstrak etanol kemangi dengan dosis 300 mg/kgBB.
- P3 : Mencit Balb/c + ekstrak etanol kemangi dengan dosis 50 mg/kgBB.
- P4 : Mencit Balb/c + ekstrak etanol kemangi dengan dosis 5 mg/kgBB.

### 3.10 Uji Kelayakan Etik

Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit yang telah mendapat sertifikat kelayakan etik. Kelayakan etik bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan uji, melindungi hewan uji, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) mempunyai kisaran LD<sub>50</sub> >2000 mg/kgBB yang termasuk kategori GHS 5/*unclassified* yaitu senyawa tidak toksik secara akut.
2. Terdapat perubahan signifikan pada gambaran histopatologi hati mencit berupa degenerasi hidrofik pada pemberian akut ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) pada dosis 2000 mg/kgBB.

### 5.2 Saran

Pada penelitian ini, saat dilakukan *power analysis* sulit diambil kesimpulan yang konklusif karena data yang tidak adekuat. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat perubahan SGOT dan SGPT pada uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kemangi, serta penelitian mengenai toksisitas subkronis dan kronis ekstrak etanol daun kemangi untuk menunjang keamanannya sehingga dapat diteruskan pada uji klinis.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Algayerova, O. 2011. *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemical*. New York and Geneva: UN.
- Ali, A., M. Qasim, M.N. Aftab, S.M. Azam, F. Iqbal, S. Akram, dan M.Z. Hussain. 2017. Effects of Ocimum Basilicum Extract on Hematological and Serum Profile of Male Albino Mice after AlCl<sub>3</sub> Induced Toxicity. *Pure and Applied Biology*. 6(2): 505-510.
- Andreas, Heryanto, H.F. Triandto, M.I. Ilmiawan. 2015. Gambaran Histologi Regenerasi Hati Pasca Penghentian Paparan Monosodium Glutamat Pada Tikus Wistar. *E-Jurnal Kedokteran Indonesia Universitas Tanjungpura*. 3(1).
- Aytul, K.K. 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Olive Leaf Extract and Its Food Applications. *Thesis*. Turki: Graduate School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology.
- Cotoras M., H. Vivanco, R. Melo, M. Aguirre, E. Silva, and L. Mendoza. 2014. In vitro and in vivo evaluation of the antioxidant and prooxidant activity of phenolic compounds obtained from grape (vitis vinifera) pomace. *Molecules* 19: 21154–21167.
- Dahlan, S. 2014. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Eghbaliferiz, S., dan M. Iranshahi. 2016. Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytother. Res*. 2016.
- Fathurrachman, D.A. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata Linn*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Gottlieb, M.S. 2017. *The Drug Development Process*. <https://www.fda.gov/ForPatients/Approvals/Drugs/ucm405658.htm>. [diakses pada 20 September 2017].
- Gurria, J.A. 1987. *OECD Guideline For Testing Of Chemicals, Section 4*. Paris: OECD.
- Gurria, J.A. 2001. *OECD Guideline For Testing Of Chemicals Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure*. Paris: OECD.

- Guyton, A.C dan J.E. Hall. 2012. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Hakkim, F.L., C.G. Shankar dan S. Girija. 2007. Chemical Composition and Antioxidant Property of Holy Basil (*Ocimum sanctum L.*) Leaves, Stems, and Inflorescence and Their Invitro Callus Cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry India*.
- Hastuti, D. dan I.S. Sumpe. 2007. Pengenalan dan Proses Pembuatan Gelatin. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 3(1).
- Hau, J. dan G.L.V. Hoosier. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Science Second Edition*. Washington D.C: CRC Press.
- Hodgson, E. 2010. *A Textbook of Modern Toxicology Fourth Edition*. North Carolina: A John Wiley & Sons. Inc., Publication, 225-236.
- Jamshidi, N dan M.M. Cohen. 2017. Review Article the Clinical Efficacy and Safety of Tulsi in Humans: A Systematic Review of The Literature. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.2017:1-13.
- Kopaei, R.M. 2012. Medicinal Plants and The Human Needs. *J HerbMed Pharmacol*. 1(1): 1-2.
- Kopaei, R.M., dan A. Baradaran. 2013. Plants Antioxidants: from Laboratory to Clinic. *J Nephrothol*, 2(2): 152-153.
- Kumar, S. dan A.K. Pandey. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 1-16.
- 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.
- Larasati, R., B. Wirjatmadi, dan M. Adriani. 2016. Pengaruh Pemberian *Trans-fatty Acid* (TFA) dari Margarin dan Minyak Kelapa Sawit yang Dipanaskan Berulang Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa pada Tikus Wistar. *The Indonesian Journal of Public Health*. 11(1): 69-77.
- Lu F.C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko*. Jakarta: UI press.
- Lukito, P.K. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

- Lukito, P.K. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Mahajan, N., J. Singh dan S. Sinha. 2014. Comparison of Total Flavonoid, Phenolic Content, and Antioxidant Capacity in Leaf and Seed Extracts from White Holy Basil (*Ocimum sanctum*). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 5(4): 34-42.
- Mansuroh, F. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Akar Ginseng Kuning (*Renellia elliptica* Korth.) terhadap Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Munday, M.K., M. Roy, S. Roy, M.K. Awasthi dan R. Sharma. 2013. Antioxidant Potential of *Ocimum sanctum* in Arsenic Induced Nervous Tissue Damage. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 6(3): 95 – 101.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). *Temu Fungsional Non Peneliti*. 2001: 156-163.
- Muslimin, M.B. 2016. Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar SGOT dan SGPT Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Isoniazid. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Pandey, G. dan S. Madhuri. 2010. Pharmacological Activities of *Ocimum sanctum* (Tulsi): A Review. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*. 5(009):1.
- Parasuraman, S. 2011. Toxicological Screening. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2(2): 74-79.
- Price, S.A dan M.W Lorraine. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Patofisiologi Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Rahman, A., I. Rezuhanul, M. Kamruzzaman, K. Alam dan A. M. Jamal. 2011. *Ocimum sanctum* L.: A Review of Phytochemical and Pharmacological Profile. *American Journal of Drug Discovery and Development*.
- Raina, P., C.V. Chandrasekaran, M. Deepak, A. Aggarwal dan K.G. Ruchika. 2015. Evaluation of Subacute Toxicity of Methanolic/Aqueous Preparation of Aerial Parts of *O.sanctum* in Wistar Rats: Clinical, Hematological, Biochemical and Histopathological Studies. *Journal of Ethnopharmacology*. 175:509-517.

- Rameshthangam, P., dan J.P. Chitra. 2016. Synergistic Anticancer Effect of Green Synthesized Nickel Nanoparticles and Quercetin Extracted From *Ocimum sanctum* Leaf Extract. *Journal of Materials Science & Technology*.
- Sabbani, V., A. Ramesh dan S. Satla. 2015. Acute Oral Toxicity Studies of Ethanol Leaf Extracts of *Derris Scandes* & *Pulicaria Wightiana* in Albino Rats. *International Journal Of Pharmacological Research: India*.
- Sadashiv, P.S. 2010. Acute Toxicity Study of *Ocimum sanctum*. *International Research Journal of Pharmacy*. 1(1): 403-409.
- Safitri, E.E. 2016. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar MDA Hati Hewan Uji yang Diinduksi Isoniazid. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Sharwan, G., P. Jain, R. Pandey, dan S.S. Shukla. 2015. Toxicity Profile of Traditional Herbal Medicine. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*. 1(3): 81-90.
- Sherlock, S. dan J. Dooley. 2002. *Diseases of the Liver and Biliary System Eleventh edition*: Blackwell Science.
- Shetty, S., S. Udupa, dan L. Udupa. 2008. Evaluation of Antioxidant and Wound Healing Effects of Alcoholic and *Aqueous* Extract of *Ocimum sanctum* Linn in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 5(1): 95-101.
- Shirzad, H., F. Taji, dan M. Rafieian-Kopaei. 2011. Correlation Between Antioxidant Activity of Garlic Extracts and WEHI-164 Fibrosarcoma Tumor Growth in Balb/c Mice. *J Med Food*, 14(9): 969–974.
- Sudarsono, P., D. Gunawan, S. Wahyuono, I.A. Donatus dan Purnomo. 2002. *Tumbuhan Obat II: Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaannya*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sulaiman, A.A. 2017. *Basis Data Konsumsi Pangan*. [http://aplikasi2.pertanian.go.id/konsumsi/home\\_awal.php](http://aplikasi2.pertanian.go.id/konsumsi/home_awal.php). [diakses pada 15 Oktober 2017].
- Wirasuta, I.M.A.G., dan R. Niruri. *Toksikologi Umum*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Yordi, E.G., E.M. Perez, M.J. Matos dan E.U. Villares, 2012. *Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure–Activity Relationship Evidence*. Kroasia: Intech. 23-48.

## LAMPIRAN

## LAMPIRAN A. ETHICAL CLEARANCE

## A.1a Halaman pertama lembar persetujuan etik



The image shows a scanned document titled 'KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK' (Ethical Clearance Certificate) from Universitas Jember. The document is headed by the logo of Universitas Jember and the text 'KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER KOMISI ETIK PENELITIAN'. It provides contact information for the committee and details the approval of a research protocol. The protocol is for an acute toxicity test of ethanol extract of *Ocimum sanctum* leaves on liver and kidney function. The principal investigator is dr. Cholis Abrori, M.Kes, M.Pd.Ked. The document is signed and stamped by the head of the ethics committee, dr. Rini Pujiastuti, Sp.PK, on September 29, 2017.

 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 : 1159 /H25.1.11/KE/2017

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 :*

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum*) TERHADAP FUNGSI DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DAN GINJAL**

Nama Peneliti Utama : dr. Cholis Abrori, M.Kes, M.Pd.Ked.  
*Name of the principal investigator*

NIP : 197105211998031003

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

Jember, 29 September 2017  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Pujiastuti, Sp.PK  


**A.1b Halaman kedua lembar persetujuan etik**

**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

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

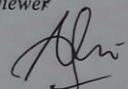
*Review Proposal* :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan ( Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak etanol daun kemangi agar didapatkan kadar yang diinginkan.
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan SGOT/SGPT, Ureum/Creatinin.
- Mohon diperhatikan control kualitas pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi hati dan ginjal
- Pembacaan preparat histopatologi hati dan ginjal dilakukan oleh orang yang kompeten, minimal oleh 2 orang serta menggunakan metode blinding.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan

Mengetahui  
Ketua/Komisi Etik Penelitian

  
dr. Rina Rizanti, Sp.PK

Jember, 25 September 2017  
Reviewer

  
dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

**LAMPIRAN B. SURAT IDENTIFIKASI TANAMAN KEMANGI**  
**B.1a Halaman Pertama Surat Identifikasi Tanaman Kemangi**

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS PERTANIAN  
**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN**  
Jl. Kalimantan Kampus Tegalboto, Jember 68121;  
Telp.: (0331) 334054, Fax.: (0331) 338422, e-mail: [soedradjad\\_faperta@unej.ac.id](mailto:soedradjad_faperta@unej.ac.id)  
[www.unej.ac.id](http://www.unej.ac.id)

Nomor : 055/UN25.1.3/BP/PS.8/2017  
Lampiran : 2 (lembar) lembar  
Hal : Hasil Identifikasi Tumbuhan

18 September 2017

Yth. : Pembantu **DEKAN I**  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Jember

Menindaklanjuti surat saudara Nomor: 1569/UN25.1.11/LT/2017, tanggal 6 September 2017 tentang Permohonan Ijin Penelitian untuk identifikasi tanaman, maka bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi morfologis 1 (satu) set contoh tanaman lengkap yang terdiri dari daun, batang, akar, dan buah beserta isinya (terlampir) dalam rangka penyusunan skripsi, atas nama:

1. Khana Nurfadhila (NIM. 142010101034), dan
2. Hafid Aji Prasetyo (NIM. 142010101075).

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.



Ketua

Ir. B. Soedradjad, M.T.  
NIP. 195707181984031001

**Tembusan:**

1. Dekan Fakultas Pertanian UNEJ (sebagai Laporan)
2. Mahasiswa yang bersangkutan

### B.1b Halaman Kedua Surat Identifikasi Tanaman Kemangi

#### HASIL IDENTIFIKASI MORFOLOGIS CONTOH TUMBUHAN

1.	MORFOLOGI DAUN	
	a. Bangun Daun	Bulat telur ( <i>ovatus</i> )
	b. Tepi Daun	Bergerigi ( <i>Serratus</i> )
	c. Pangkal Daun	Runcing ( <i>acutus</i> )
	d. Ujung Daun	Runcing ( <i>acutus</i> )
	e. Tulang Daun	Menyirip ( <i>Penninervis</i> ) berhadapan
	f. Warna Ibu Tulang Daun	Kuning kehijauan
	g. Permukaan Atas	Berbulu halus ( <i>Villosus</i> ) rapat
	h. Permukaan Bawah	Berbulu halus ( <i>Villosus</i> ) rapat
	i. Warna Daun	Hijau Tua (bagian atas) dan Hijau Muda (bagian bawah)
	j. Duduk Daun	Bersilang
	k. Rumus Daun	-
	l. Jenis Daun	Tunggal ( <i>Folium Simplex</i> )
2.	MORFOLOGI BATANG	
	a. Bentuk Batang	Segi Empat dan Beralur
	b. Permukaan Batang	Berbulu Halus
	c. Arah Tumbuh	Ke atas
	d. Percabangan	
3.	MORFOLOGI AKAR	
	Sistem perakaran	Tunggang
4.	MORFOLOGI BUNGA	
	a. Jenis Bunga	Majemuk
	b. Bentuk Bunga	Tandan
	c. Permukaan Bunga	Berbulu pendek
	d. Warna bunga	Hijau
	e. Bentuk Mahkota Bunga	Bulat telur
5.	MORFOLOGI BUAH	Tanaman belum berbuah
6.	MORFOLOGI BIJI	Tanaman belum berbiji
7.	MODIFIKASI ORGAN	
	a. Jenis Modifikasi	Tidak ada
	b. Lain-Lain	Tidak ada

Catatan:

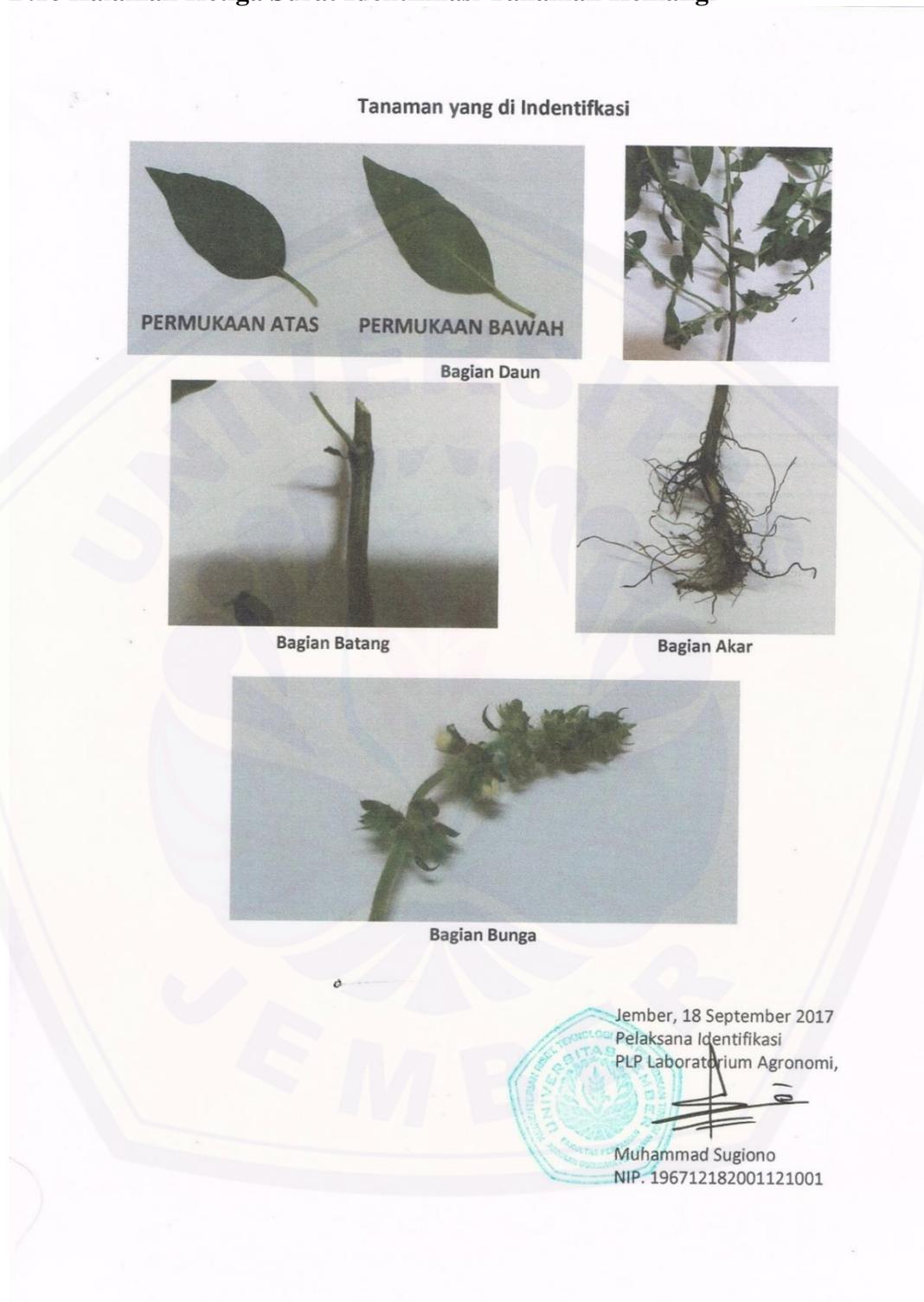
1. Tumbuhan yang diidentifikasi hanya berupa tanaman lengkap dengan akar, batang, daun, dan bunga.
2. Berdasar ciri morfologis, khususnya pada karakter akar, batang, daun, dan bunga dapat disimpulkan bahwa tumbuhan adalah Kemangi (*Ocimum sanctum*) var lokal.

Jember, 18 September 2017  
Pelaksana Identifikasi  
PLP Laboratorium Agronomi,



Muhammad Sugiono  
NIP. 196712182001121001

**B.1c Halaman Ketiga Surat Identifikasi Tanaman Kemangi**

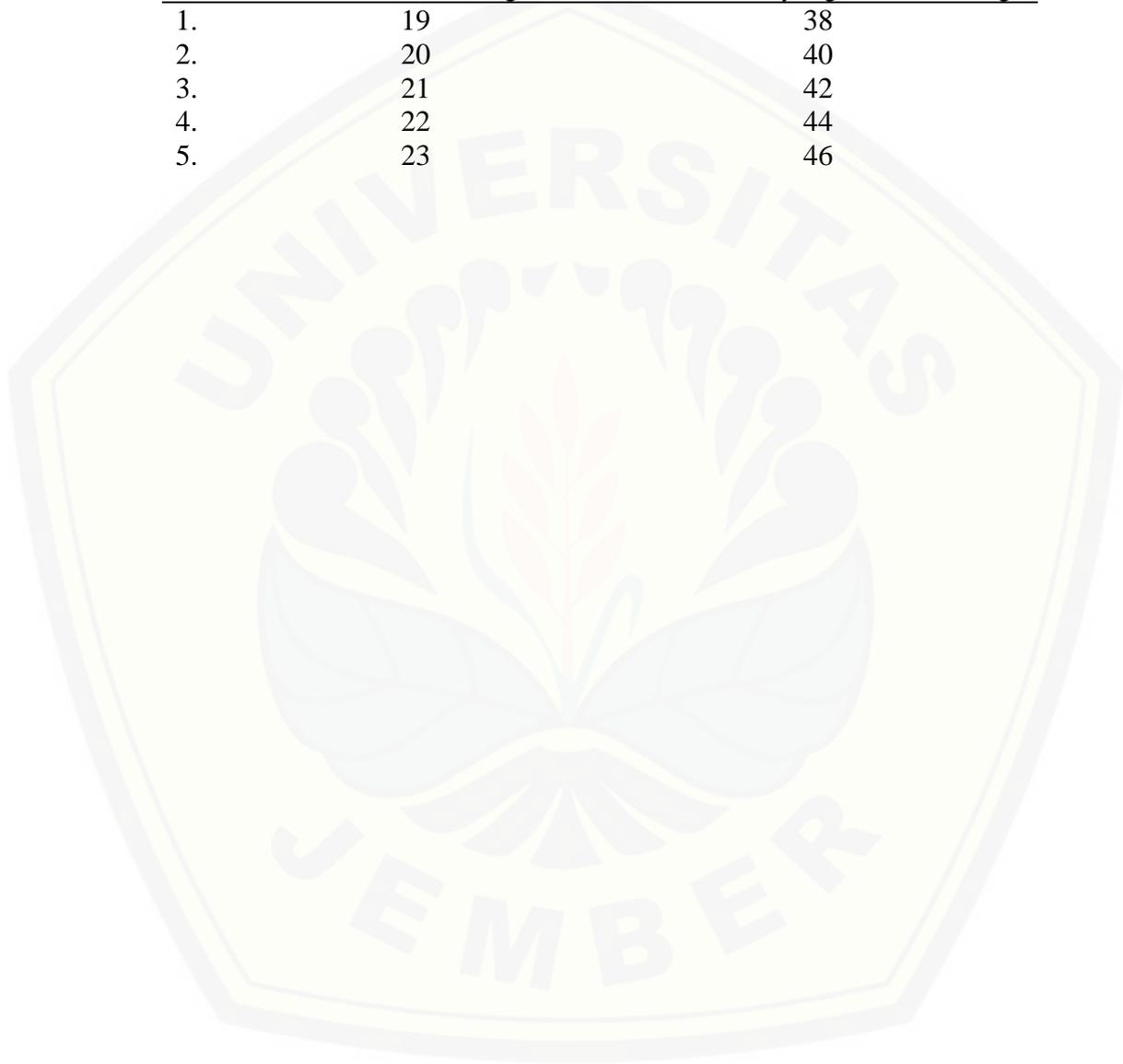


**LAMPIRAN C. TABEL DOSIS PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI**

Pemberian dosis ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*)

- Dosis 2000 mg/kgBB

No.	Berat badan mencit (gram)	Dosis ekstrak yang diberikan (mg)
1.	19	38
2.	20	40
3.	21	42
4.	22	44
5.	23	46



## LAMPIRAN D. PEMBUATAN PREPARAT

Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)

### CARA KERJA

Persyaratan dalam melakukan pengambilan sampel:

1. Sampel untuk memeriksa histopatologi harus segar, artinya jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan mati. Keterlambatan pengambilan jaringan, terlebih dalam suhu lapangan yang panas, mengakibatkan jaringan cepat menjadi busuk.
2. Ukuran jaringan yang diambil sekitar 1cm<sup>3</sup>. Jaringan harus segera difiksasi. Potongan jaringan yang terlalu besar mengakibatkan jaringan yang terletak di dalamnya tidak terfiksasi dengan sempurna, sehingga dapat autolisis.

Fiksasi dilakukan merendam jaringan dengan larutan formalin 10%. Biasanya dilakukan dengan cara merendam jaringan di dalam zat-zat kimia yang berfungsi sebagai bahan pengawet agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (autolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel. Bahan pengawet yang rutin digunakan adalah larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10% dengan pH berkisar antara 6,5-7,5. pH ideal adalah 7,0. Agar fiksasi jaringan dengan larutan berlangsung sempurna, maka perbandingan antara organ dan larutan yaitu 1:10, sedangkan lamanya fiksasi minimal 2 hari.

Proses Pembuatan Preparat Histopatologi

1. Memotong jaringan organ  
Setelah memotong jaringan organ yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette*, kemudian sejumlah *tissue cassette* dimasukkan ke dalam keranjang khusus (basket).
2. Proses dehidrasi  
Keranjang (basket) yang di dalamnya berisi jaringan organ, dimasukkan ke dalam mesin prosesor otomatis. Selanjutnya jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut: alkohol 70% (2 jam), alkohol 80% (2jam), alkohol 90% (2jam), alkohol absolute (2jam), alkohol absolut (2jam), xylol (2jam), parafin cair (2jam). Selanjutnya keranjang berisi *tissue cassette* dikeluarkan untuk dilakukan proses berikutnya.
3. Mencetak blok parafin  
Cetakan dari bahan stainless steel dihangatkan di atas api Bunsen, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara ditempat lain telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus, sehingga dicapai suhu 60°C. Parafin cair tersebut dituangkan ke dalam

jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan di *freezer* ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) sebelum dilakukan pemotongan.

4. Memotong blok jaringan

Blok parafin yang mengandung jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan berkisar  $3-4\mu$ . Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam waterbath bersuhu  $46^{\circ}\text{C}$ . Pada kesempatan ini bentuk irisan dirapikan, kemudian diletakkan di atas kaca obyek yang di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu  $60^{\circ}\text{C}$  sampai preparat siap untuk diwarnai.

#### PROSES PEWARNAAN HEMATOKSILIN DAN EOSIN

Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut

Xylol	3	Menit
Xylol	3	Menit
Alkohol absolut	3	Menit
Alkohol absolut	3	Menit
Alkohol 90%	3	Menit
Alkohol 80%	3	Menit
Bilas dengan air keran	1	Menit
Larutan hematoksilin	6-7	Menit
Bilas dengan air keran	1	Menit
Larutan pembiru	1	Menit
Air keran	1	Menit
Larutan eosin	1-5	Menit
Bilas dengan air keran	1	Menit
Alkohol 80%	10	Celupan
Alkohol 90%	10	Celupan
Alkohol absolute	10	Celupan
Alkohol absolute	1	Menit
Xylol	3	Menit
Xylol	3	Menit
Xylol	3	Menit

Preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat (DPX) dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan dapat dilihat di bawah mikroskop.

\*) Muntiha, M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). *Temu Fungsional Non Peneliti*. 2001:156-163

**LAMPIRAN E. DATA PENELITIAN****E.1 Pengamatan Bukti Toksisitas****Kelompok kontrol**

<b>Pengamatan</b>	<b>30 menit</b>					<b>4 jam</b>					<b>24 jam</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-2</b>					<b>Hari ke-3</b>					<b>Hari ke-4</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-5</b>					<b>Hari ke-6</b>					<b>Hari ke-7</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-8</b>					<b>Hari ke-9</b>					<b>Hari ke-10</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-11</b>					<b>Hari ke-12</b>					<b>Hari ke-13</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-14</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

**Kelompok perlakuan dosis 2000mg/kgBB**

<b>Pengamatan</b>	<b>30 menit</b>					<b>4 jam</b>					<b>24 jam</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-2</b>					<b>Hari ke-3</b>					<b>Hari ke-4</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-5</b>					<b>Hari ke-6</b>					<b>Hari ke-7</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-8</b>					<b>Hari ke-9</b>					<b>Hari ke-10</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-11</b>					<b>Hari ke-12</b>					<b>Hari ke-13</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

<b>Pengamatan</b>	<b>Hari ke-14</b>				
<b>mencit</b>	1	2	3	4	5
<b>Piloereksi</b>	-	-	-	-	-
<b>Konvulso</b>	-	-	-	-	-
<b>Tremor</b>	-	-	-	-	-
<b>Nyeri</b>	-	-	-	-	-
<b>Hipersalivasi</b>	-	-	-	-	-
<b>Lakrimasi</b>	-	-	-	-	-
<b>Mati</b>	-	-	-	-	-

(-): tidak terjadi

**E.2 Skoring Histopatologi Hati3**Hasil Pembacaan oleh *blind 1*

Kelompok Kontrol

sampel	LP	Total									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>K1</b>	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1
<b>K2</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>K3</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>K4</b>	0	2	0	1	2	0	0	2	0	0	2
<b>K5</b>	1	0	1	0	2	1	0	2	1	0	1

Kelompok Perlakuan

sampel	LP	Total									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>P1</b>	2	3	2	2	2	3	1	2	1	2	3
<b>P2</b>	2	1	1	3	2	3	2	3	2	3	3
<b>P3</b>	3	2	1	2	3	1	3	2	1	2	3
<b>P4</b>	3	1	1	2	2	2	1	2	3	2	3
<b>P5</b>	3	3	2	1	2	3	2	1	2	3	3

Hasil Pembacaan oleh *Blind 2*  
Kelompok Kontrol

<b>sampel</b>	<b>LP</b>	<b>Total</b>									
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	
<b>K1</b>	0	1	1	1	0	1	0	2	1	0	2
<b>K2</b>	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1
<b>K3</b>	0	2	2	2	1	3	1	2	2	1	3
<b>K4</b>	1	0	2	1	2	0	2	2	2	1	2
<b>K5</b>	1	0	2	1	0	0	1	1	0	0	2

Kelompok Perlakuan

<b>sampel</b>	<b>LP</b>	<b>Total</b>									
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	
<b>P1</b>	2	3	1	3	3	2	2	3	3	2	3
<b>P2</b>	3	2	2	2	3	2	2	1	3	2	3
<b>P3</b>	3	3	2	1	2	1	2	3	3	1	3
<b>P4</b>	2	2	1	3	3	2	2	2	3	2	3
<b>P5</b>	3	2	2	3	3	2	2	2	3	2	3

**LAMPIRAN F. ANALISIS DATA****NPAR TESTS**

/M-W= hasil BY kelompok(1 2)

/STATISTICS=DESCRIPTIVES QUARTILES

/MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

Notes		
Output Created		25-JAN-2018 09:18:00
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data	10
	File	
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /M-W= hasil BY kelompok(1 2) /STATISTICS=DESCRIPTIVES QUARTILES /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,02
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	224694

a. Based on availability of workspace memory.

## Mann-Whitney Test

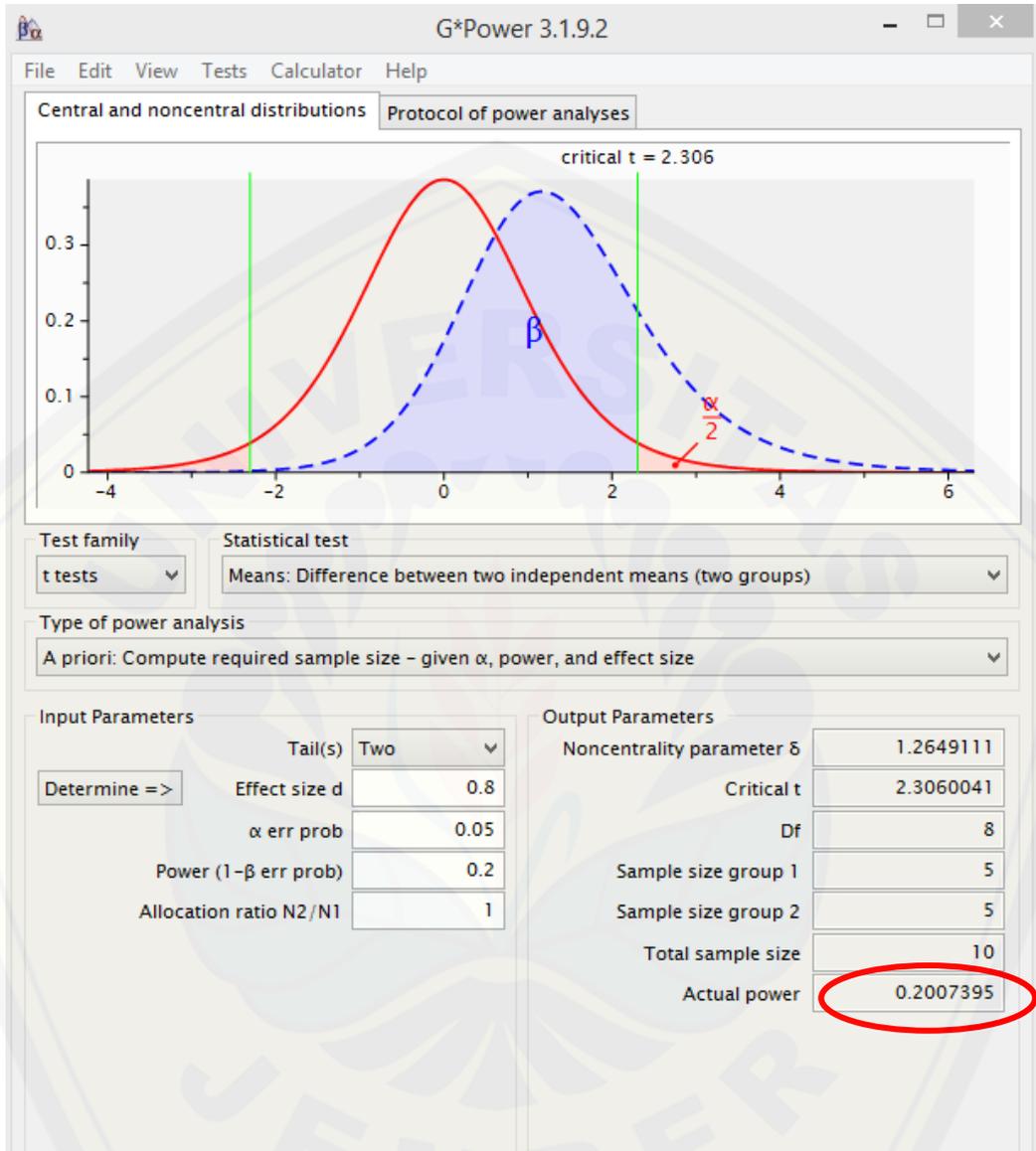
Ranks			
kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
hasil skoring kontrol	5	3,00	15,00
perlakuan	5	8,00	40,00
Total	10		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	hasil skoring
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,825
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Perhitungan Power Analysis dengan G\*Power 3.1.9.2**



**LAMPIRAN G. DOKUMENTASI PENELITIAN**



Kemangi dari Dusun Ragang Timur Desa Sukowono, Jember



Adaptasi Hewan Uji



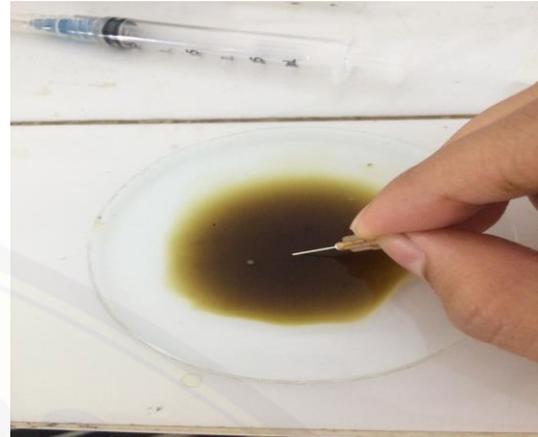
Penimbangan Serbuk



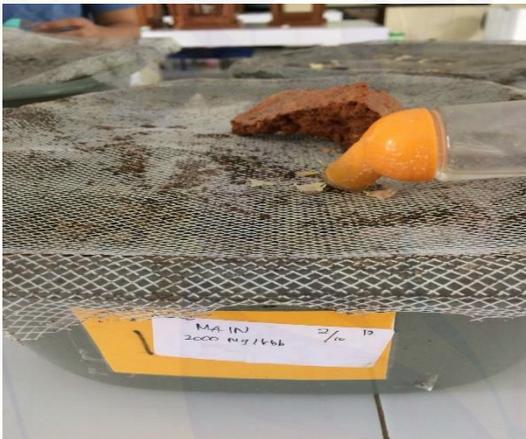
Maserasi dengan Pelarut Etanol



Ekstrak Semi Solid Etanol Daun Kemangi



Melarutkan Ekstrak Dengan Tween 80



Uji Pada Dosis 2000mg/kgBB



Anastesi Hewan Uji Untuk Pengambilan Organ Hati



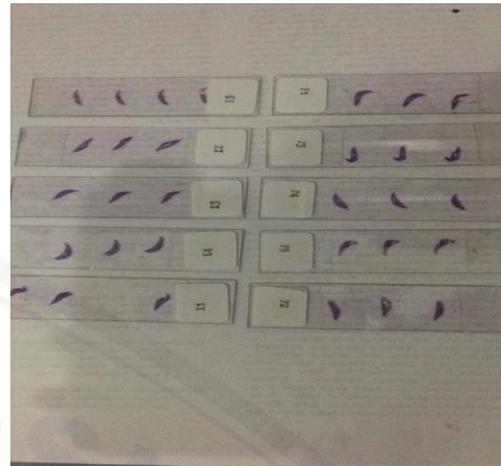
Pembedahan Mencit Untuk Diambil Organ Hati



Organ Hati Secara Makroskopik Kelompok Kontrol



Organ Hati Secara Makroskopik  
Kelompok Perlakuan



Pewarnaan H&E Organ Hati

