

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP KADAR BILIRUBIN TOTAL
Studi Eksperimental Terhadap Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi
CCl₄**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Indy Anindya Damayanti

30102000090

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2023

SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP KADAR BILIRUBIN TOTAL
Studi Eksperimental Terhadap Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi
CCl₄

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Indy Anindya Damayanti

30102000090

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 4 Oktober 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

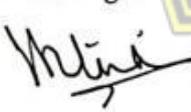
Anggota Penguji I


Dra. Eni Widayati, M.Si


Dr. dr. Chodidjah, M.Kes

Pembimbing II

Anggota Penguji II


Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarwati, M.Kes


Dr. Suparmita, S.Si., M.Si

Semarang,
Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan.


Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sc.KF., S.H

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Indy Anindya Damayanti

NIM : 30102000090

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP KADAR BILIRUBIN TOTAL
(Studi Eksperimental Terhadap Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi
CCl₄)”**

Adalah benar hasi; karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan Tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai aturan yang berlaku.

Semarang, 30 September 2023

Yang menyatakan,



Indy Anindya Damayanti

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT atas limpahan rahmat dan karuniaNya penulis diberikan kesehatan, kekuatan, serta kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini. Skripsi ini berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Kadar Bilirubin Total” (Studi Eksperimental Terhadap Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi CCl₄) dan disusun sebagai salah satu persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Keberhasilan penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari doa dari berbagai pihak yang telah mendukung penulis, maka pada kesempatan ini penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung
2. Dra. Eni Widayati, M.Si, dan Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II, yang bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, masukan, serta saran agar penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik
3. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes dan Dr. Suparmi, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan untuk penyusunan skripsi ini

4. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Islam Sultan Agung Semarang sebagai pemberi dana hibah penelitian dengan nomor kontrak penelitian 246/B.1/SA-LPPM/VII/2021, yang diketuai oleh Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes
5. Orang tua, kakak-kakak, serta keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan doa, dukungan, fasilitas, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
6. Staff Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini
7. Teman-teman serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat terutama bagi ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, September 2023
Penulis

Indy Anindya Damayanti

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
SURAT PERNYATAAN	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR SINGKATAN	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum	3
1.3.2 Tujuan khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat teoritis	4
1.4.2 Manfaat praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Bilirubin.....	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Metabolisme bilirubin.....	6
2.1.3 Nilai rujukan bilirubin	11
2.1.4 Faktor yang memengaruhi kadar bilirubin dalam tubuh.....	12
2.1.5 Enzim pada hepar.....	15
2.2 Daun Kemangi.....	16
2.2.1 Deskripsi	16
2.2.2 Taksonomi.....	17
2.2.3 Morfologi	18
2.2.4 Kandungan senyawa dan efek farmakologis	19
2.3 Silymarin Sebagai Hepatoprotektor	20
2.4 Karbon Tetraklorida (CCl ₄)	21

2.4.1 Mekanisme kerusakan hepar karena CCl ₄	21
2.5 Hubungan antara ekstrak daun kemangi dengan kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl ₄	24
2.6 Kerangka Teori	28
2.7 Kerangka Konsep	29
2.8 Hipotesis	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	30
3.2 Variabel dan Definisi Operasional.....	30
3.2.1 Variabel	30
3.2.2 Definisi operasional	30
3.3 Populasi dan Sampel	31
3.3.1 Populasi penelitian.....	31
3.3.2 Sampel penelitian.....	31
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	33
3.4.1 Alat penelitian.....	33
3.4.2 Bahan penelitian	33
3.5 Cara penelitian.....	33
3.5.1 Cara pembuatan dan pemberian dosis ekstrak etanol daun kemangi....	33
3.5.2 Pemberian silymarlin	34
3.5.3 Pemberian karbon tetraklorida.....	34
3.5.4 Prosedur penelitian	34
3.5.5 Pemberian perlakuan	35
3.5.6 Cara pengambilan darah	36
3.5.7 Cara pemeriksaan kadar bilirubin total.....	37
3.5.8 Alur penelitian.....	38
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian	39
3.7 Analisa hasil	39
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian.....	40
4.1 Pembahasan Hasil.....	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	50

DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	55



DAFTAR SINGKATAN

ALB	: Asam Lemak Bebas
ALT	: <i>Alanine Aminotransferase</i>
AST	: <i>Aspartate Transaminase</i>
CCl ₃	: Triklorometil
CCl ₃ O ₂	: Triklorometilperoksi
CCl ₄	: Karbon Tetraklorida
CYP-450	: Sitokrom P-450
ECM	: <i>Extracelullar Matrix</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
HSC	: <i>Hepatic Stellate Cells</i>
MSG	: Monosodium glutamat
NAPQI	: <i>N-acetyl-p-benzoquinone imine</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Pembentukan dan perusakan sel darah merah (Tortora, 2014)	7
Gambar 2. 2	Perubahan heme menjadi bilirubin (Barret, 2012).....	8
Gambar 2. 3	Proses konjugasi bilirubin dalam hepatosit (Ganong, 2012)	9
Gambar 2. 4	Daun kemangi (Dokumen pribadi).....	18
Gambar 4. 1	Diagram rerata kadar bilirubin total.....	43



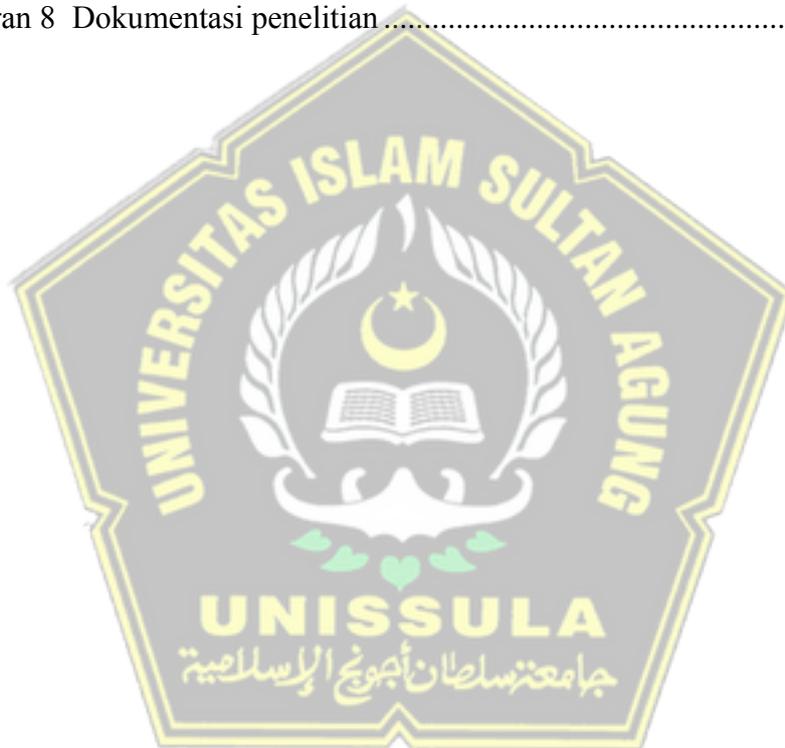
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Referensi Nilai Normal Bilirubin Pada Manusia (Tortora, 2014).....	11
Tabel 4.1.	Rerata Kadar Bilirubin Total, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji Kruskal-Wallis.....	41
Tabel 4.2.	Tabel Hasil Uji Mann Whitney	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil analisis statistik deskriptif kadar bilirubin total, normalitas, dan homogenitas	55
Lampiran 2	Hasil analisis uji deskriptif, uji normalitas dan uji homogenitas setelah data ditransformasi.....	59
Lampiran 3	Hasil analisis uji Krukal-Wallis.....	62
Lampiran 4	Hasil analisis uji Mann-Whitney	63
Lampiran 5	Ethical clearance.....	72
Lampiran 6	Surat keterangan bebas peminjaman	73
Lampiran 7	Surat keterangan penelitian	74
Lampiran 8	Dokumentasi penelitian.....	75



INTISARI

Kadar bilirubin total merupakan salah satu parameter untuk menilai fungsi hepar. Peningkatan kadar bilirubin total dapat disebabkan oleh paparan radikal bebas, salah satunya CCl_4 yang terdapat pada alat pemadam kebakaran dan pestisida. Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) bersifat hepatoprotektor melalui mekanisme penghambatan aktivasi CYP-450. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih galur Wistar yang diinduksi CCl_4 .

Jenis penelitian eksperimental dengan desain *post test only control group*. Sampel yang digunakan adalah tikus putih galur wistar berjumlah 25 ekor dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (K1), kelompok induksi CCl_4 (K2), kelompok induksi CCl_4 dan Silymarin 46,9 mg/200 g BB (K3), kelompok induksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun kemangi dosis 300 mg/kg BB (K4), dan kelompok induksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun kemangi dosis 400 mg/kg BB (K5). Penelitian dilakukan selama 14 hari dan pada hari ke-15 dilakukan analisa kadar bilirubin total.

Hasil rerata kadar bilirubin total pada K1 sebesar 0.408 ± 0.095 mg/dL, K2 sebesar $1.568 \pm 0,203$ mg/dL, K3 sebesar $0.624 \pm 0,077$ mg/dL, K4 sebesar $0.866 \pm 0,077$ mg/dL, dan K5 sebesar $0.596 \pm 0,077$ mg/dL. Analisis hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p < 0,05$. Hasil uji Mann-Whitney didapatkan $p < 0,05$ pada semua kelompok kecuali antara kelompok K3 dengan K5.

Kesimpulan dari hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih galur Wistar yang diinduksi CCl_4 .

Kata Kunci :

Ekstrak etanol daun kemangi, Bilirubin total, Silymarin, Hepatoprotektor, Toksisitas

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan bahan hepatotoksik dan banyak dijumpai sebagai bahan-bahan untuk pestisida, alat pemadam kebakaran, bahan pendingin, dan pembersih pakaian (Marks *et al.*, 2012). CCl_4 dimetabolisme di dalam sel sehingga membentuk CCl_3 , dan menjadi CCl_3O_2 yang lebih reaktif lagi ketika bereaksi dengan oksigen sehingga merusak sel, termasuk sel sel yang terdapat di hepar (Normasiwi dan Setiorini, 2020). Kerusakan sel hepar akibat paparan CCl_4 menyebabkan penurunan fungsi hepar dan memengaruhi fungsi metabolisme terhadap bilirubin (Santoso, 2016).

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memiliki banyak efek farmakologis salah satunya hepatoprotektor. Kemangi memiliki kandungan antioksidan yang dapat mencegah kerusakan hepar dengan cara menyeimbangkan ROS (Lina *et al.*, 2020). Flavonoid yang terkandung pada daun kemangi digunakan untuk menyeimbangkan radikal bebas dan menghambat proses peroksidasi lipid (Wahyudi *et al.*, 2018). Sampai saat ini, penelitian pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap kadar bilirubin total belum pernah dilakukan, sehingga penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun kemangi terhadap bilirubin total.

Kerusakan hepar dapat berlanjut pada kondisi yang serius. Hepar merupakan organ penting yang memiliki fungsi biokimia dan metabolik, termasuk menetralkan zat toksik dan mengeluarkan bahan-bahan yang dapat merugikan di dalam tubuh (Barrett, 2012). Apabila zat toksik di dalam tubuh tidak dapat dinetralkan dapat menjadi kondisi gagal hati yang jika dibiarkan dapat menyebabkan kematian (Thanapirom *et al.*, 2019). Maka dari itu, kandungan antioksidan dalam tanaman obat hepatoprotektor diperlukan dalam mencegah kerusakan hepar.

Ekstrak daun kemangi terbukti memiliki aktivitas hepatoprotektor karena kadar SGPT dan SGOT pada tikus yang diberikan MSG dapat diturunkan dengan pemberian daun kemangi dosis optimal 350 mg/kg BB (Wahyudi *et al.*, 2018). Penelitian Wulandari *et al.* (2019) membuktikan bahwa tikus yang diinduksi aspartame dapat diturunkan kadar SGPT dan SGOT dengan pemberian ekstrak etanol daun kemangi 300 mg/kg BB. Kerusakan hepatosit juga terbukti dapat menurun dengan pemberian ekstrak etanol daun kemangi pada tikus yang diberi asam urat. Berdasarkan penelitian – penelitian sebelumnya, terbukti bahwa kandungan antioksidan dalam daun kemangi dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor, namun belum banyak penelitian yang meneliti langsung mengenai pengaruh daun kemangi terhadap kadar bilirubin pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl₄.

Berdasarkan penjelasan latar belakang tersebut, maka diperlukan penelitian untuk membuktikan pengaruh ekstrak etanol daun kemangi

(*Ocimum Basilicum* L.) terhadap kadar bilirubin pada tikus putih galur Wistar yang diinduksi CCl_4 .

1.2 Rumusan Masalah

“Apakah pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) berpengaruh terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih galur Wistar yang diinduksi CCl_4 ?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih galur Wistar yang diinduksi CCl_4

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Mengetahui rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar kelompok normal (K1)

1.3.2.2 Mengetahui rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 sebagai kontrol negatif (K2).

1.3.2.3 Mengetahui rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 sebagai kontrol negatif (K2).

1.3.2.4 Mengetahui rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 dan silymarin dosis 46,9 mg/200grBB sebagai kontrol positif (K3).

1.3.2.5 Mengetahui rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang yang diinduksi CCl_4 dan diberikan ekstrak etanol daun kemangi dosis 300 mg/kgBB sebagai perlakuan 1 (K4).

1.3.2.6 Mengetahui kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang yang diinduksi CCl_4 dan diberikan ekstrak etanol daun kemangi dosis 400 mg/kgBB sebagai perlakuan 2 (K5).

1.3.2.7 Mengetahui perbedaan rerata kadar bilirubin total pada berbagai kelompok perlakuan untuk menentukan dosis ekstrak daun kemangi yang paling efektif sebagai hepatoprotektor.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi

(*Ocimum basilicum* L.) terhadap kadar bilirubin total sehingga dapat membuka peluang bagi peneliti lain untuk melakukan pengembangan penelitian.

1.4.2 Manfaat praktis

Sebagai dasar pemanfaatan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) untuk mengurangi kerusakan hepar yang ditandai dengan peningkatan bilirubin sehingga dapat dibudidayakan dan digunakan oleh masyarakat.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bilirubin

2.1.1 Definisi

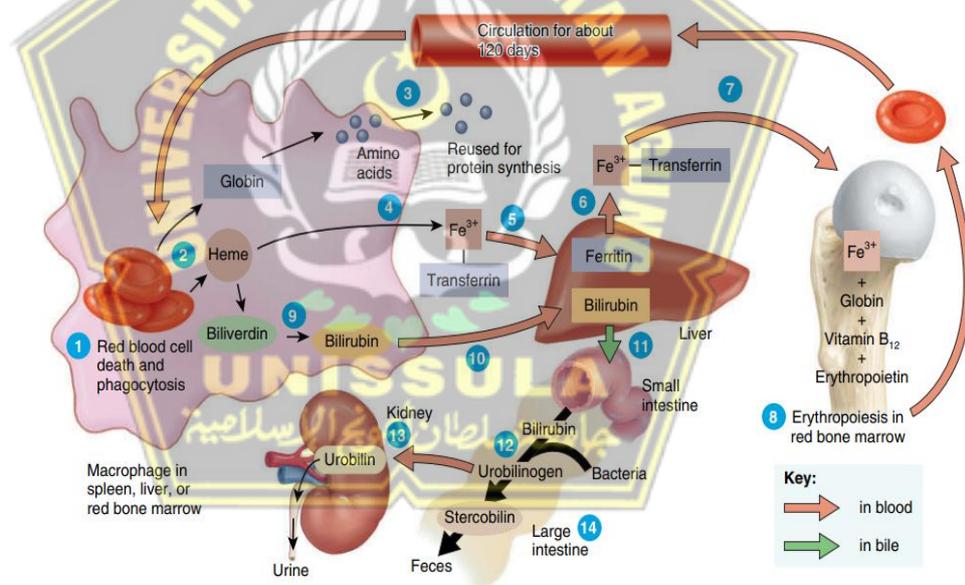
Bilirubin merupakan pigmen kuning dan memiliki struktur tetrapireol serta tidak larut dalam air (Sudoyo *et al.*, 2010). Bilirubin adalah produk akhir dari pemecahan hemoglobin yang dapat dijadikan sebagai alat atau parameter untuk mendiagnosis penyakit darah hemolitik ataupun untuk mendiagnosis berbagai jenis penyakit hepar (Hall, 2014). Bilirubin memiliki rumus kimia $C_{33}H_{36}O_6N_4$ (National Center for Biotechnology Information, 2023). Bilirubin yang tadinya bersifat non polar kemudian dikonjugasikan dengan asam glukoronat menjadi molekul yang lebih polar (Rodwell *et al.*, 2015)

2.1.2 Metabolisme bilirubin

Eritrosit atau sel darah merah memiliki masa hidup yaitu sekitar 120 hari. Jika masa hidup eritrosit sudah habis, eritrosit menjadi rapuh sehingga tidak bisa bertahan dalam sirkulasi darah. Membran sel eritrosit pecah sehingga hemoglobin lepas dan ditangkap oleh makrofag untuk kemudian difagositosis (Hall, 2014).

Pemecahan eritrosit dan pemecahan eritrosit imatur di sumsum tulang membentuk 80% dari bilirubin, sedangkan 20% bilirubin

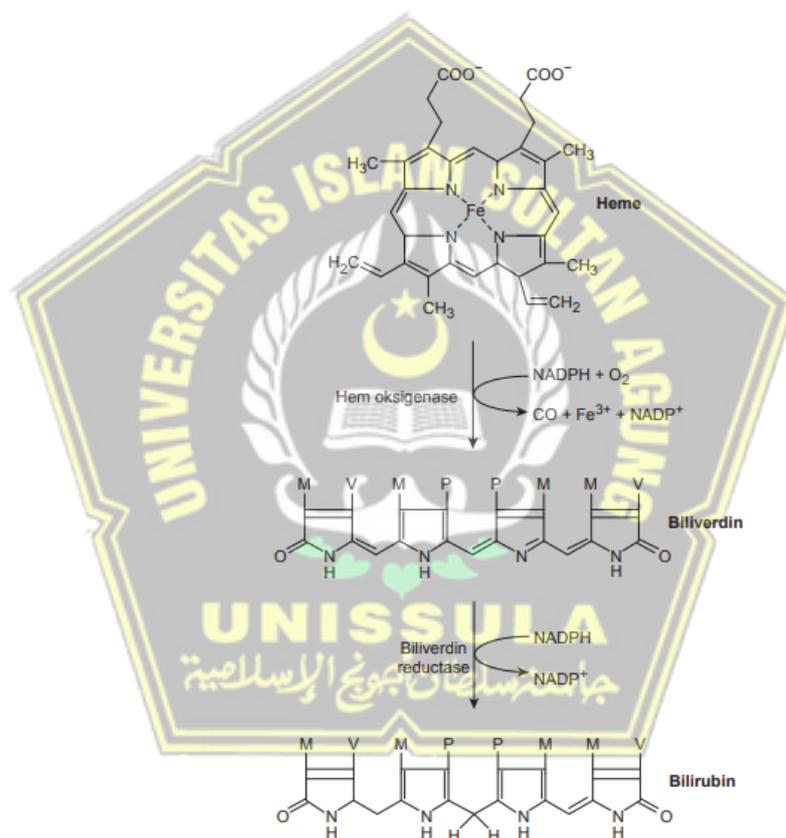
berasal dari *turnover* atau pergantian protein dari jaringan lain yang mengandung protein heme terutama di hepar dan otot, salah satu contohnya yaitu myoglobin (Kalakonda *et al*, 2022). Gambar 2.1 menjelaskan mengenai proses perombakan sel darah merah, dimana eritrosit difagositosis dan hemoglobin akan dipecah menghasilkan produk *heme* dan *globin*. Selanjutnya, dari pemecahan itu globin dipecah kembali menjadi asam amino untuk sintesis protein baru, sedangkan heme melepaskan Fe dan akan berikatan dengan protein plasma transferrin, yaitu protein transporter Fe di sirkulasi darah.



Gambar 2.1 Pembentukan dan perusakan sel darah merah (Tortora, 2014)

Pada gambar 2.2 menunjukkan tahapan berikutnya yaitu ketika zat besi dikeluarkan dari heme, bagian zat non-besi pigmen

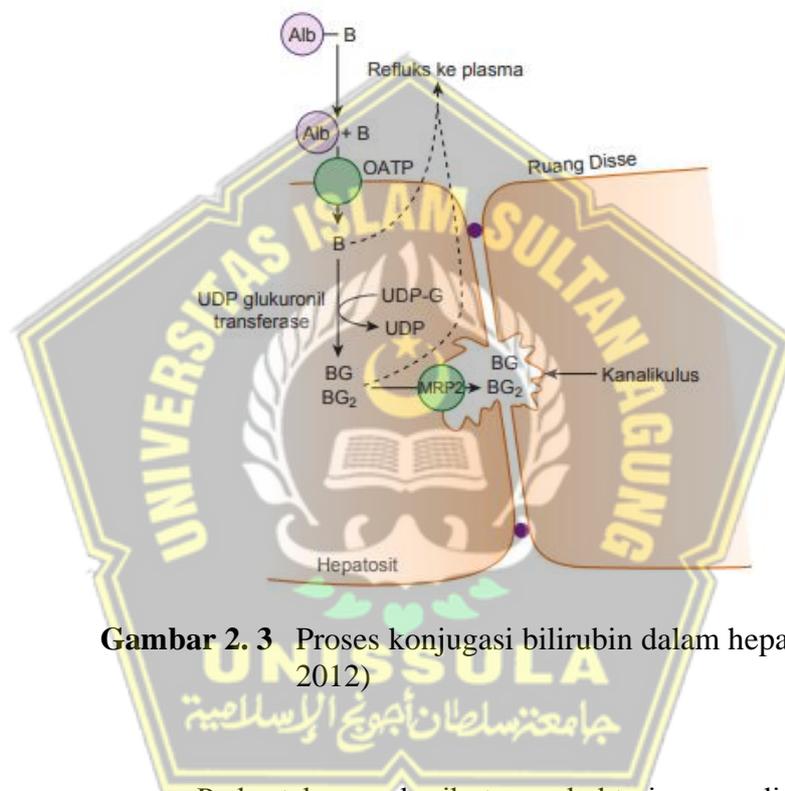
heme diubah menjadi biliverdin oleh heme oksigenase. biliverdin mengalami reduksi secara cepat oleh enzim biliverdin reductase menjadi bilirubin bebas atau yang biasa disebut bilirubin tak terkonjugasi (Barret, 2012). Bilirubin tak terkonjugasi berikatan dengan protein albumin dan ditransport melalui darah ke hepar (Conti, 2021).



Gambar 2.2 Perubahan heme menjadi bilirubin (Barret, 2012)

Di dalam hepar, bilirubin tak terkonjugasi oleh sel hepar diambil dengan bantuan protein hepar (protein ligandin). Gambar 2.3 menunjukkan proses konjugasi dengan asam glukoronat, dari

bilirubin tak terkonjugasi menjadi bilirubin terkonjugasi dengan bantuan enzim glukoronil transferase dari retikulum endoplasma. Kemudian bilirubin terkonjugasi ditransport dari sel hepar ke dalam saluran empedu. Selanjutnya, bilirubin dibawa ke usus melalui aliran empedu.



Gambar 2.3 Proses konjugasi bilirubin dalam hepatosit (Ganong, 2012)

Pada tahapan berikutnya, bakteri usus di dalam kolon mereduksi bilirubin terkonjugasi menjadi urobilinogen dan stercobilinogen. Stercobilinogen dikeluarkan dalam feses, sedangkan urobilinogen masuk ke dalam sirkulasi darah melalui reabsorpsi kembali oleh mukosa usus dan sebagian besar dikembalikan ke hepar lalu masuk ke siklus enterohepatic. Sebagian kecil lainnya dikeluarkan dalam urin (Tortora, 2014).

Bilirubin total merupakan jumlah jumlah bilirubin tak terkonjugasi dengan bilirubin terkonjugasi (Conti, 2021). Pemeriksaan kadar bilirubin total dapat digunakan untuk menilai fungsi hepar. Bilirubin yang belum berkonjugasi dengan asam glukoronat disebut sebagai Bilirubin tak terkonjugasi atau *indirect*, sedangkan bilirubin terkonjugasi atau *direct* merupakan bilirubin yang telah berkonjugasi dengan asam glukoronat di dalam hepar yang dikatalisis oleh enzim glukoronil transferase (Barret, 2012).

Paparan zat toksik seperti karbon tetraklorida, maupun konsumsi parasetamol dan MSG (*monosodium glutamate*) secara berlebihan dapat menimbulkan kerusakan hepar akibat penumpukan radikal bebas dari zat toksik tersebut. Kerusakan hepar yang terus menerus akibat paparan radikal bebas dapat berujung pada keadaan fibrosis hepar jika dibiarkan terus menerus.

Pada saat terjadi kondisi fibrosis hepar, jaringan ikat terbentuk sebagai respon terhadap cedera hepar, dimana pada saat terjadi cedera hepar terjadi pengaktifan sel HSC (*Hepatic Stellate Cells*) sehingga HSC terfokus pada tempat terjadinya cedera dan mensekresi ECM (*Extracelullar matrix*) atau jaringan parut, apabila terjadi penumpukan ECM menyebabkan gangguan pada sel hepar dan jika dibiarkan dapat menyebabkan sirosis hepatis. Kebocoran bilirubin dari sel-sel hepar yang rusak atau sel-sel ductuli sehingga bilirubin dapat masuk ke dalam aliran darah dan

menyebabkan kadar bilirubin total dalam darah meningkat (Satriya, 2017).

2.1.3 Nilai rujukan bilirubin

Nilai rujukan kadar bilirubin bergantung pada laboratorium diagnostic yang mengatur kualitas kontrolnya sendiri untuk rentang referensinya (Conti, 2021). Namun, menurut Tortora dan Derrickson (2014) referensi nilai normal bilirubin pada manusia tertera di bawah (Tabel 2.1)

Tabel 2. 1 Referensi Nilai Normal Bilirubin Pada Manusia (Tortora, 2014)

Spesimen	Nilai referensi (Satuan Internasional)
Bilirubin (Serum)	
Bilirubin direk	<0,5 mg/dL (<5.0 $\mu\text{mol/L}$)
Bilirubin indirek	0,2 – 1.0 mg/dL (18 – 20 $\mu\text{mol/L}$)
Bayi baru lahir	1.0 – 12.0 mg/dL (<200 $\mu\text{mol/L}$)

Beberapa kondisi dapat menyebabkan peningkatan kadar bilirubin total. Bilirubin direk dapat meningkat pada kerusakan hepar sehingga fungsi ekskresinya menjadi terganggu atau nilai bilirubin direk juga bisa meningkat pada kondisi batu empedu sehingga ekskresi bilirubin menjadi terganggu dan mengakibatkan bilirubin dalam darah menjadi meningkat. Sedangkan nilai bilirubin indirek

biasanya meningkat pada saat terjadi kondisi sel darah merah mengalami hemolisis yang berlebihan (Tortora dan Derrickson, 2014). Apabila kadar bilirubin dalam darah berlebihan, atau biasa disebut hyperbilirubinemia, terutama bilirubin direk menyebabkan kondisi ikterus (*jaundice*) dimana terjadi penumpukan bilirubin dalam darah, membrane mukosa, mukosa kulit, dan sklera sehingga tampak berwarna kuning.

2.1.4 Faktor yang memengaruhi kadar bilirubin dalam tubuh

Peningkatan kadar bilirubin dari dalam tubuh dapat diklasifikan menjadi 3 berdasarkan tempat kelainannya, yaitu prehepatik, hepatic, dan paska hepatic (Rosida, 2016) :

1. Prehepatik

a. Penyakit hemolitik

Pada penyakit hemolitik terjadi peningkatan destruksi eritrosit sehingga produk akhir dari destruksi eritrosit mengalami peningkatan, salah satunya bilirubin.

2. Hepatik

a. Sindrom Gilbert

Sindrom Gilbert merupakan penyakit genetik dimana pada penderita sindrom Gilbert terjadi penurunan kecepatan penyerapan bilirubin oleh

hepar sehingga kadar bilirubin dalam darah meningkat.

b. Sindrom Crigler-Najjar

Pada penderita sindrom Crigler-Najjar terjadi gangguan konjugasi bilirubin akibat defisiensi enzim glukoronil transferase sehingga kadar bilirubin meningkat.

3. Paska hepatic

a. Kerusakan hepatosit

Sel-sel hepar yang rusak dapat menyebabkan kebocoran dari bilirubin sehingga bilirubin dapat masuk ke dalam aliran darah. Akibatnya, kadar bilirubin dalam darah meningkat.

b. Obstruksi saluran empedu

Terjadinya penyumbatan atau obstruksi pada saluran empedu menyebabkan bilirubin terkonjugasi tidak dapat dikeluarkan oleh sel hepar ke dalam saluran empedu.

Peningkatan kadar bilirubin juga dapat disebabkan karena faktor lain seperti :

A. Usia

Pada bayi baru lahir selama minggu pertama sering kali terjadi hiperbilirubinemia yang disebabkan karena metabolisme bilirubin pada bayi yang belum sempurna (Maryunani, 2014).

B. Konsumsi obat-obatan tertentu

a. Asetaminofen

Asetaminofen merupakan obat yang bersifat hepatotoksik juga dapat meningkatkan kadar bilirubin dalam darah.

Konsumsi asetaminofen atau parasetamol dapat meningkatkan bilirubin karena akumulasi radikal bebas sehingga proses detoksifikasi oleh antioksidan endogen terganggu karena senyawa NAPQI (*N-acetyl-p-benzoquinone imine*) yang tinggi dapat mengikat sejumlah GSH (*Glutathione*) dimana GSH juga berfungsi dalam konjugasi bilirubin dan mengakibatkan kadar bilirubin meningkat.

b. Obat antituberkulosis

Rifampisin dan isoniazid yang merupakan obat-obatan untuk mengatasi penyakit tuberkulosis juga bersifat hepatotoksik yang dapat meningkatkan kadar bilirubin jika dikonsumsi terlalu lama karena penumpukan radikal bebas (Untari *et al.*, 2015).

c. Ceftriakson dan Ibuprofen

Ceftriakson dan ibuprofen bersaing dengan bilirubin untuk berikatan dengan albumin, sehingga konsumsi ceftriakson dan ibuprofen juga dapat memengaruhi kadar bilirubin (Conti, 2021).

C. Alkohol yang dikonsumsi berlebihan

Proses peroksidasi lipid dapat terus terjadi apabila alkohol dikonsumsi secara terus-menerus. Akibatnya, sel hepar rusak dan memengaruhi kadar bilirubin serum. (Pranoto dan Nugrahalia, 2020).

2.1.5 Enzim pada hepar

Hepar memiliki enzim SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) dan enzim SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*) yang letaknya lebih banyak ditemukan di dalam hepatosit. Kadar enzim SGOT dan SGPT dapat digunakan untuk menilai fungsi hepar. Pemeriksaan kadar SGPT atau dikenal sebagai ALT (*Alanin Aminotransferase*) merupakan parameter yang spesifik dalam menilai fungsi hepar. Enzim SGOT atau biasa disebut (*Aspartate Aminotransferase*) dan SGPT mengkatalisis pemindahan gugus asam amino dengan asam alfa-ketoglutarat secara irreversibel. Apabila terjadi kerusakan pada hepar, SGPT dan SGOT dilepaskan ke dalam pembuluh darah dan kadarnya di dalam serum meningkat (Hasanuddin *et al.*, 2019).

Parameter lain yang bisa digunakan untuk menilai fungsi hepar adalah dengan menggunakan pemeriksaan kadar albumin. Albumin merupakan protein di dalam plasma yang memiliki fungsi untuk membantu mempertahankan tekanan osmotik dalam plasma. Albumin diproduksi oleh retikulum endoplasma di hepar, sehingga apabila hepar itu mengalami gangguan, maka kadar albumin juga ikut terganggu (Siregar dan Silitonga, 2021).

2.2 Daun Kemangi

2.2.1 Deskripsi

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sering dijumpai di Indonesia dan sering dikonsumsi sebagai lalapan oleh masyarakat Indonesia. Kemangi juga biasa digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit sebagai obat bahan alam karena mengandung senyawa kimia yang menguntungkan (Bangun, 2012).

Kemangi biasa disebut sebagai Basil dalam bahasa Inggris atau bisa juga disebut sebagai Babul Tulsi dalam bahasa Hindi dan Bengalis. Kemangi memiliki nama lain dalam beberapa bahasa daerah di Indonesia. Dalam bahasa Sunda, tanaman biasa disebut *surawung*, sedangkan dalam bahasa Jawa, sering disebut kemangi atau *kemangen*, dalam bahasa Bali disebut *uku-uku*, dan dalam

bahasa Ternate disebut sebagai *lufe-lufe* (Sukandar *et al.*, 2015; Latief, 2012).

2.2.2 Taksonomi

Menurut Bilal dkk (2012) dan Purushothaman dkk (2018) tanaman kemangi memiliki hierarki taksonomi yaitu :

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

Superdivision : *Spermatophyta*

Division : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Subkelas : *Asteridae*

Ordo : *Lamiales*

Famili : *Lamiaceae*

Genus : *Ocimum*

Spesies : *basilicum*

Nama binomial : *Ocimum basilicum*



2.2.3 Morfologi

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memiliki batang berbentuk segi empat yang tingginya 60 – 70 cm dan dikelilingi oleh bulu bulu halus di sepanjang batangnya (Latief, 2012). Batang kemangi bercabang dengan jumlah sekitar 25 hingga 75 cabang, memiliki permukaan batang beralur yang berwarna hijau (Lina *et al.*, 2020). Bunga pada tanaman kemangi berwarna putih dan tersusun dalam tandan.

Gambar 2.4 menunjukkan daun kemangi yang berbentuk oval dengan panjang sekitar 3 – 4 cm, berwarna hijau muda, dan memiliki rambut halus di permukaan bawahnya (Latief, 2012). Pada daun kemangi, terdapat banyak titik seperti kelenjar minyak . Kelenjar minyak pada daun kemangi menghasilkan minyak atsiri sehingga daun kemangi memiliki aroma yang khas (Bilal, 2012).



Gambar 2. 4 Daun kemangi (Dokumen pribadi)

2.2.4 Kandungan senyawa dan efek farmakologis

Kandungan senyawa kimia dari kemangi (*Ocimum basilicum* L.) telah banyak diteliti. Kemangi dapat digunakan sebagai antikolinesterase, perangsang aktivitas system saraf pusat, melebarkan pembuluh darah kapiler, dan sebagai penguat hepar karena mengandung 1,8 sineol. Pada daun kemangi juga terdapat kandungan arginine yang dapat berfungsi sebagai antihepatitis (Bangun, 2012; Abrori *et al.*, 2019).

Nilai IC₅₀ yang dimiliki ekstrak etanol daun kemangi adalah 39,771 µg/mL, mengindikasikan bahwa daun kemangi memiliki aktivitas antioksidan kuat (Siska *et al.*, 2020). Menurut Lina *et al.* (2020), daun kemangi dapat mencegah kerusakan hepar karena pada daun kemangi terdapat kandungan senyawa antioksidan seperti eugenol, asam ursolic, dan flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh Kumalasari dan Andriana (2020) juga mengungkapkan bahwa kemangi bisa digunakan sebagai hepatoprotektor dan immunomodulator karena mengandung antioksidan, seperti flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin.

Kandungan minyak atsiri yang ada di kemangi bisa dipakai sebagai pembunuh bakteri dan digunakan untuk melawan aktivitas bakteri *Escherichai coli*, *Salmonella spp*, *Campylobacter jejunii*, dan *Clostridium perferingens*. Selain itu, daun kemangi juga memiliki aktivitas antiviral, antifungi, dan dapat berperan sebagai

antikonsulvan. Daun kemangi juga dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah, serta dapat menurunkan produk peroksidasi lipid dan profil lipid serum. Ekstrak daun kemangi juga diketahui memiliki aktivitas renoprotektif, neuroprotektif, dan terbukti efektif dalam mengatasi *acne vulgaris* (Hussain *et al.*, 2016).

2.3 Silymarin Sebagai Hepatoprotektor

Silymarin (*Silybum marianum*), atau yang biasa dikenal dengan *milk thistle*, merupakan ekstrak tanaman herbal yang digunakan untuk mengatasi dan mencegah kerusakan hepar. Silymarin terbukti dapat mengoptimalkan fungsi hepar yang dapat dilihat berdasarkan parameter tes laboratorium seperti enzim ALT dan AST, ALP, bilirubin *direct* dan bilirubin total, serta albumin.

Silymarin memiliki kandungan antioksidan yang dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor. Silymarin menghambat produksi leukotriene dan radikal bebas pada sel kuppfer hepar serta menghambat siklus 5-lipoksigenase (Widayati dan Erni, 2020). Silymarin menghambat lipid peroksidasi serta menghambat fibrosis hepar dengan cara mengaktivasi dari HSC karena kandungan antioksidan yang dimiliki oleh silymarin, salah satunya kandungan flavonoid (Camini dan Costa, 2020; Janel dan Noll, 2014).

2.4 Karbon Tetraklorida (CCl₄)

2.4.1 Mekanisme kerusakan hepar karena CCl₄

Karbon tetraklorida merupakan senyawa kimia berwarna bening, berbau manis, dan memiliki sifat mudah menguap tetapi tidak mudah terbakar. Karbon tetraklorida atau CCl₄ adalah bahan kimia buatan dan tidak terbentuk secara alami di lingkungan. Sebagian besar karbon tetraklorida yang terlepas di lingkungan sekitar dalam bentuk gas. Karbon tetraklorida biasanya digunakan untuk membuat cairan pendingin dan propelan aerosol untuk kaleng aerosol, namun sekarang penggunaan propelan aerosol sudah mulai ditinggalkan. Cairan pembersih, alat pemadam kebakaran, dan pestisida juga masih banyak ditemukan kandungan CCl₄-nya (ATSDR, 2005).

Penggunaan CCl₄ lebih banyak digunakan sebagai reagen laboratorium untuk merusak hepar dan ginjal. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa dengan pemberian CCl₄ pada tikus dapat menyebabkan kerusakan pada organ hepar, yaitu peningkatan enzim hepar dan peningkatan radikal bebas (Su *et al.*, 2016). Kerusakan hepar dapat timbul setelah 24 jam atau lebih. Kerusakan yang timbul pada organ hepar akibat karbon tetraklorida dapat menyebabkan tumor hepar dan berujung pada keadaan sirosis hepatis (National Center for Biotechnology Information, 2023).

Proses masuknya dan penyerapan CCl_4 ke dalam tubuh manusia dapat melalui inhalasi ataupun melalui permukaan kulit. Dosis pemberian CCl_4 memengaruhi derajat kerusakan hepar. Pada paparan CCl_4 akut dosis tinggi mengakibatkan nekrosis sentrilobular yang dapat disertai ataupun tidak disertai dengan steatosis. Pada paparan CCl_4 yang berulang dapat menyebabkan fibrosis dan sirosis. CCl_4 menyebabkan pembentukan radikal bebas terus meningkat dan terjadi proses peroksidasi lipid, serta penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan yang lama-kelamaan merusak hepar. Pemeriksaan histopatologis yang tampak dari pemberian CCl_4 menghasilkan gambaran infiltrasi lemak, nekrosis sentrilobular, fibrosis, dan berujung pada sirosis sel-sel hepar.

Karbon tetraklorida atau CCl_4 dimetabolisme oleh retikulum endoplasma dan mitokondria, serta terbentuknya radikal bebas triklorometil (CCl_3) yang dikatalisis oleh enzim sitokrom P-450 (CYP-450) (Dewi *et al.*, 2021). Makromolekul penting seperti protein, lipid, dan asam nukleat secara irreversible dapat membentuk ikatan dengan radikal bebas CCl_3 sehingga menimbulkan gangguan bahkan bisa sampai menyebabkan nekrosis sel. Selanjutnya, radikal bebas triklorometil menjadi radikal bebas yang lebih reaktif ketika bereaksi dengan oksigen dan membentuk triklorometilperoksi (CCl_3O_2). Triklorometilperoksi mengalami reaksi berantai dengan asam lemak bebas sehingga memulai proses terjadinya preoksidasi

lipid dan jika dibiarkan berlanjut menjadi nekrosis (Normasiwi dan Setiorini, 2020).

Daerah yang berdampak akibat toksisitas CCl_4 yaitu pada sentribular hepatosit yang mengandung banyak $\text{CYP}_{2\text{E}1}$. Enzim $\text{CYP}_{2\text{E}1}$ yang memediasi proses biotransformasi CCl_4 . Ikatan kovalen radikal bebas dengan enzim $\text{CYP}_{2\text{E}1}$ menyebabkan $\text{CYP}_{2\text{E}1}$ tidak berfungsi dengan baik. Fungsi retikulum endoplasma menjadi terganggu, paparan CCl_4 juga menghambat penyerapan kalsium yang berakibat pada peningkatan kadar kalsium dalam sel. Akibatnya, fosfolipase A_2 teraktivasi sehingga menyebabkan regenerasi mitokondria menjadi terganggu dan berujung pada perubahan permeabilitas mitokondria (Zhang, 2019). Kerusakan sel hepar menyebabkan penurunan fungsi hepar dan memengaruhi kadar bilirubin karena kebocoran dari sel hepar yang rusak (Santoso, 2016)

Penelitian membuktikan bahwa penginduksian CCl_4 pada tikus menyebabkan terjadinya peningkatan enzim hepar pada tikus seperti ALT (*Alanine Aminotransferase*), AST (*Aspartate Transaminase*), ALB (Asam Lemak Bebas), dan peningkatan kadar bilirubin (Li *et al*, 2013). Serupa dengan penelitian Normasiwi dan Setiorini tahun 2020 juga mengungkapkan pemberian dosis CCl_4 sebanyak 1 ml/kg BB pada hewan coba tikus menyebabkan peningkatan kadar bilirubin direk dan bilirubin total. CCl_4 bersifat

hepatotoksik yang mengakibatkan terganggunya fungsi hepar, salah satunya fungsi metabolisme bilirubin (Hafez *et al.*, 2015).

Pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk menilai kerusakan hepar adalah dengan menggunakan tes fungsi hepar, salah satunya dengan pengukuran bilirubin serum (Setiati *et al.*, 2014). Pemeriksaan bilirubin serum dapat memberikan informasi mengenai kemampuan hepar untuk mengambil dan memproses bilirubin (Normasiwi dan Setiorini, 2020).

2.5 Hubungan antara ekstrak daun kemangi dengan kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl₄

Pemberian induksi CCl₄ dapat meningkatkan kadar bilirubin oleh karena penumpukan radikal bebas dari hasil perubahan CCl₄ menjadi senyawa CCl₃ dan CCl₃O₂, yaitu senyawa radikal bebas yang lebih reaktif sehingga dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid jika dibiarkan terus menerus menyebabkan kerusakan berbagai organ, salah satunya hepar. Hepar menjadi rusak oleh karena peroksidasi lipid dan merusak sel hepar sehingga dapat memengaruhi fungsi hepar salah satunya fungsi metabolisme dan memengaruhi kadar bilirubin total (Satriya, 2017).

Obat herbal seperti kemangi (*Ocimum basilicum* L.) diberikan sebagai *adjuvant* pencegahan dari kerusakan hepar. Kandungan antioksidan yang terdapat di dalam daun kemangi dapat menetralkan radikal bebas yang

dihasilkan dari reaksi. Penelitian-penelitian sebelumnya telah membuktikan sifat hepatoprotektor yang dimiliki kemangi dan terbukti mempunyai kandungan senyawa antioksidan tinggi.

Salah satu senyawa yang terkandung dalam daun kemangi yaitu flavonoid, dikenal sebagai antioksidan kuat yang berpotensi dapat menurunkan kerusakan jaringan dan fibrosis (Asri *et al.*, 2019). Flavonoid dapat menambah fungsi kerja antioksidan endogen yang dihasilkan oleh tubuh melalui pembersihan langsung radikal, nitrit oksida, dan xantin oksidase, sehingga kerusakan jaringan akibat paparan radikal bebas dapat berkurang serta mencegah kerusakan hepatosit akibat peroksidasi lipid (Simanjatak, 2012; Sahlan *et al.*, 2021). Flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 (Hardiningtyas *et al.*, 2014). Inhibisi aktivitas CYP450 menyebabkan perubahan CCl_4 menjadi CCl_3 juga menjadi lebih sedikit.

Kandungan senyawa lain yang terdapat pada daun kemangi adalah tannin. Mekanisme hepatoprotektor yang dimiliki oleh tannin sama dengan mekanisme hepatoprotektor yang dimiliki flavonoid. Gugus OH^- yang dimiliki oleh senyawa fenolik dari flavonoid dan tannin bekerja sebagai penangkal radikal bebas. Flavonoid dan tannin membuat radikal bebas tereduksi menjadi lebih stabil dengan cara memberikan atom hidrogennya sehingga radikal bebas terikat langsung dan kerusakan hepar dapat dihambat.

Daun kemangi juga mengandung senyawa saponin yang juga merupakan hepatoprotektor. Senyawa saponin mampu menyebabkan pembentukan hidoperoksida dan superoksida dan proses pembentukan lipid peroksida dapat dihambat. Adanya antioksidan alami yang terkandung dalam daun kemangi diharapkan dapat menghambat proses peroksidasi lipid yang terjadi akibat paparan CCl_4 dan dapat menghambat kerusakan hepar yang lebih parah sehingga tidak sampai pada kondisi fibrosis dan kadar bilirubin total tidak berpengaruh secara signifikan karena sifat hepatoprotektor yang dimiliki daun kemangi (Putri dan Rahman, 2021; Gusungi *et al.*, 2020).

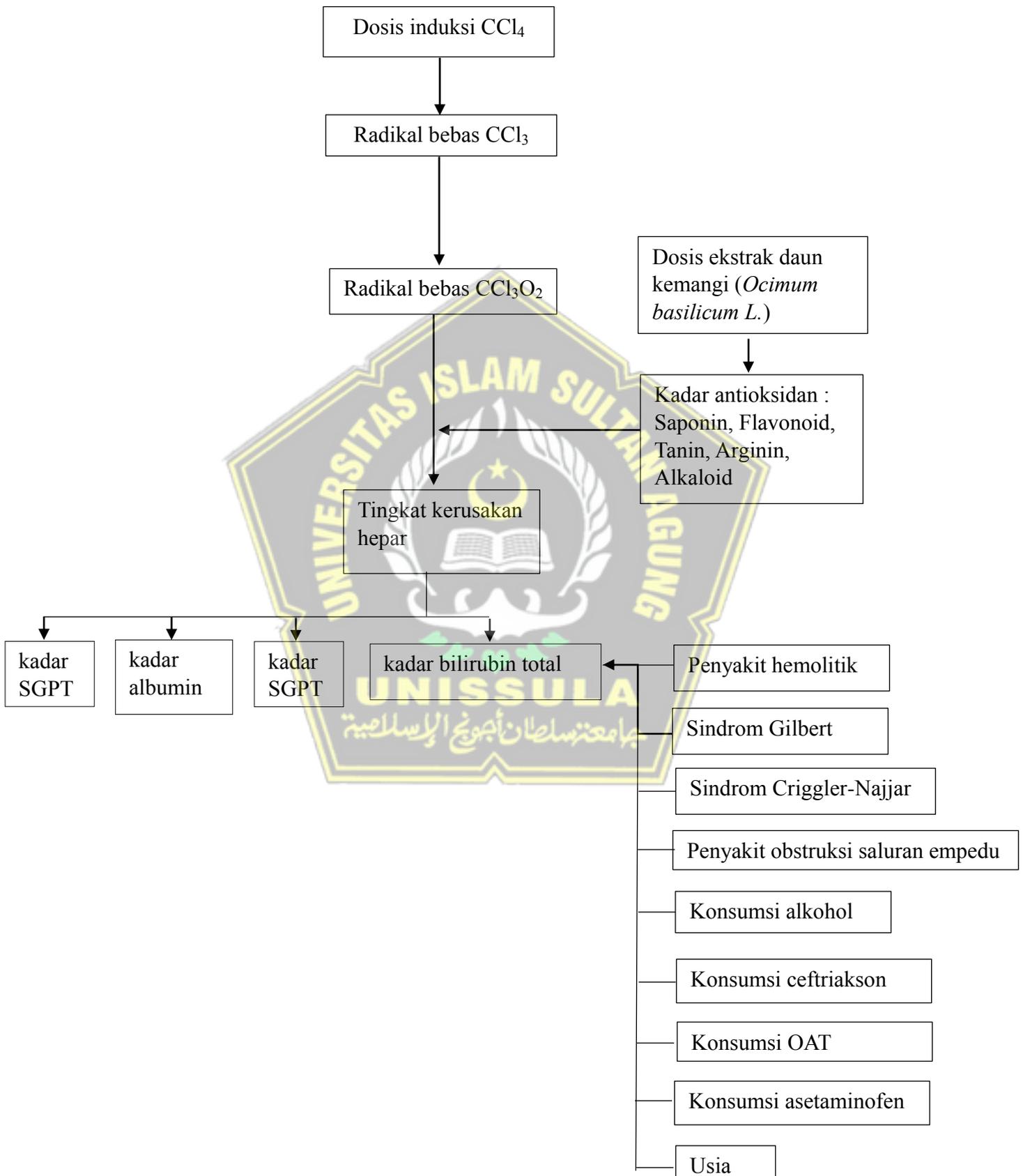
Wahyudi *et al* (2018) dalam penelitiannya membuktikan pada tikus yang diinduksi MSG bahwa kadar SGPT dan SGOT menurun karena pemberian ekstrak etanol daun kemangi dosis 350 mg/kg BB. Penelitian lain yang dilakukan oleh Wulandari *et al* (2019), membuktikan bahwa kerusakan hepatosit pada mencit yang induksi asam urat dapat dicegah dengan pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Pemberian dosis bertingkat memberikan hasil peningkatan proteksi kerusakan hepatosit pada mencit (Kusuma, 2010).

Pengaruh kemangi terhadap kadar bilirubin belum pernah dilakukan penelitiannya tetapi pada penelitian yang dilakukan Susilowati (2017), kadar bilirubin total pada mencit yang terpapar CCl_4 dapat diturunkan karena kandungan antioksidan seperti flavonoid, alkaloid, sterol, tannin, dan senyawa kimia lain yang terkandung pada ekstrak air buah maja (*Aegle*

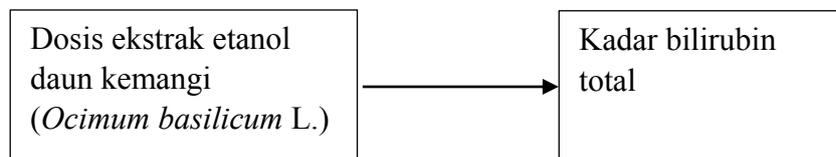
marmelos L.) dosis 3 ml. Pada penelitian lain juga terbukti kadar bilirubin pada tikus dengan induksi CCl_4 dapat diturunkan dengan pemberian ekstrak *Curcuma mangga* val. *Rhizome* karena aktivitas antioksidan seperti flavonoid dan kurkumin yang terkandung didalamnya Peningkatan kadar bilirubin pada tikus yang diinduksi CCl_4 dapat dihambat dengan pemberian senyawa antioksidan tambahan (Normasiwi dan Setiorini, 2020).



2.6 Kerangka Teori



2.7 Kerangka Konsep



2.8 Hipotesis

Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) berpengaruh terhadap kadar bilirubin total pada tikus galur wistar yang diinduksi CCl_4 .



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan desain *post test only control group design*.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel bebas

Dosis pemberian ekstrak etanol daun kemangi

3.2.1.2 Variabel tergantung

Kadar bilirubin total

3.2.2 Definisi operasional

3.2.2.1 Dosis pemberian ekstrak etanol daun kemangi

Ekstrak daun kemangi dibuat dengan teknik maserasi. Daun kemangi direndam di dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:4. Dosis ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan pada hewan coba dalam penelitian ini adalah 300 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB.

Skala data : Rasio

3.2.2.2 Kadar bilirubin total

Kadar bilirubin total merupakan jumlah bilirubin dalam serum darah tikus yang diambil melalui plexus retroorbitalis pada hari ke-15. Kadar bilirubin diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri dan dinyatakan dalam satuan mg/dL.

Skala data : Rasio

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi penelitian

Populasi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur wistar yang diperoleh dari Universitas Gajah Mada.

3.3.2 Sampel penelitian

3.3.2.1 Kriteria inklusi

Pada penelitian ini memiliki kriteria inklusi meliputi :

- a) Tikus dengan jenis kelamin jantan
- b) Usia tikus 2,5 – 3 bulan
- c) Bobot tikus 150 – 200 g
- d) Tikus dalam keadaan sehat dan tidak ada kelainan anatomis

3.3.2.2 Kriteria *drop-out*

Kriteria *drop-out* dalam penelitian ini adalah tikus mati

3.3.2.3 Besar sampel

Untuk menentukan besar sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federrer (Asri *et al.*, 2019) yaitu

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

$$(n - 1)(5 - 1) \geq 15$$

$$4(n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah subjek per kelompok

Dari hasil perhitungan menggunakan rumus tersebut, maka besar sampel dalam penelitian ini sejumlah 5 ekor pada tiap kelompok perlakuan, sehingga diperlukan total 25 ekor hewan coba.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat penelitian

Peralatan yang dibutuhkan adalah kandang tikus beserta tempat pakan dan minumnya, timbangan tikus, rak dan tabung reaksi, spuit dan sonde lambung khusus, *sentrifuge*, *vacutainer* bertutup merah, tabung *ependorf*, *alcohol swab*, pengaduk tabung untuk anestesi tikus, kapas, mikropipet, kertas saring, *oven*, blender, ayakan, dan *spectrophotometry*

3.4.2 Bahan penelitian

Pada penelitian ini menggunakan bahan daun kemangi, karbon tetraklorida, *olive oil*, etanol 96%, aquades, pakan standar, serum darah tikus, dan Silymarin (Hepamax[®])

3.5 Cara penelitian

3.5.1 Cara pembuatan dan pemberian dosis ekstrak etanol daun kemangi

Daun kemangi dicuci dengan air lalu dikeringkan di dalam oven suhu 40°C selama 48 jam. setelah itu dihancurkan dengan blender sampai menjadi serbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan. Setelah itu sampel daun kemangi diekstraksi dengan cara maserasi. Sampel daun kemangi direndam di dalam etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:4, kemudian

ekstrak etanol daun kemangi tersebut diinkubasi selama 24 jam dengan pengadukan pada suhu kamar. Setelah itu, rendaman hasil remaserasi disaring dengan menggunakan kertas saring (Lina *et al.*, 2020). Pada penelitian ini dosis ekstrak etanol daun kemangi diberikan dengan dosis 300 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB pada dua kelompok yang berbeda.

3.5.2 Pemberian silymarin

Silymarin (Hepamax[®]) diberikan dengan dosis 46,9 mg/200 g BB setiap hari selama 14 hari secara peroral dapat memberikan efek hepatoprotektor (Priyani, 2019; Wintariani dan Suena, 2017)

3.5.3 Pemberian karbon tetraklorida

Induksi CCl₄ diberikan dengan dosis 1 ml/kg BB (Normasiwi dan Setiorini, 2020), disesuaikan dengan perhitungan menurut berat badan dari mencit. Induksi CCl₄ diberikan secara intraperitoneal dengan dilarutkan dengan *olive oil* 1:1 sebanyak 3 kali dalam 1 minggu selama 2 minggu dengan rentang waktu 2-3 hari (Padauleng dan Nurhidayati, 2016; Priyani, 2019).

3.5.4 Prosedur penelitian

Penelitian dilakukan selama 15 hari di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta dengan prosedur :

1. Tikus putih jantan galur wistar dipilih yang berusia 2,5 – 3 bulan dan memiliki bobot 150 – 200 g, tikus dalam keadaan

sehat dan tanpa kelainan anatomis, diambil 25 ekor tikus dari seluruh populasi tikus di Universitas Gajah Mada.

2. Tikus putih galur wistar tersebut diadaptasikan dengan lingkungannya selama 7 hari di Universitas Gajah Mada.
3. Tikus dikelompokkan dengan metode *simple random sampling*, dimana hewan coba yang telah diadaptasi selama 7 hari, diacak dan dibagi dalam 5 kelompok yang masing masing terdiri dari 5 ekor tikus, untuk dijadikan sebagai sampel penelitian.

3.5.5 Pemberian perlakuan

- a. Kelompok normal (K1) : Tikus putih jantan galur tidak diinduksi CCl_4 dan tidak diberikan ekstrak etanol daun kemangi
- b. Kelompok kontrol negatif (K2) : Tikus putih jantan galur wistar diberikan induksi CCl_4 1 ml/kg BB 3 kali dalam 1 minggu selama 2 minggu
- c. Kelompok kontrol positif (K3) : Tikus putih jantan galur wistar diberikan silymarin (Hepamax[®]) dengan dosis 46,9 mg/200 g BB pada hari ke-1 sampai hari ke-14 secara peroral, dan diberikan induksi CCl_4 1 ml/kg BB 3 kali dalam 1 minggu selama 2 minggu
- d. Kelompok perlakuan 1 (K4) : Tikus putih jantan galur wistar diberikan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 300 mg/kg

BB pada hari ke-1 sampai hari ke-14, dan diberikan induksi CCl_4 1 ml/kg BB 3 kali dalam 1 minggu selama 2 minggu

- e. Kelompok perlakuan 2 (K5) : Tikus putih jantan galur wistar diberikan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 400 mg/kg BB pada hari ke-1 sampai hari ke-14, dan diberikan induksi CCl_4 1 ml/kg BB 3 kali dalam 1 minggu selama 2 minggu

Kemudian tikus putih jantan galur wistar diambil sampel darahnya untuk dilakukan pemeriksaan kadar bilirubin total pada hari ke-15.

3.5.6 Cara pengambilan darah

Siapkan alat yang diperlukan yaitu mikrohematokit tube steril, *vacutainer* bertutup merah, tabung *ependorf* dan *alcohol swab*, kemudian tabung *ependorf* dan *vacutainer* tertutup diberikan penomoran dengan menggunakan label. Tikus putih jantan galur wistar dianestesi dengan cara dimasukkan ke dalam tabung kloroform selama 30 – 60 detik, setelah itu tikus dilakukan *handling* posisi pengambilan darah. Sampel darah diambil dari plexus retroorbital dengan cara menusukkan mikrohematokrit non heparin, kemudian sampel darah ditampung sampai volume 3cc ke dalam *vacutainer* bertutup merah, setelah sampel darah yang didapatkan cukup, mikrohematokrit dicabut lalu sisa darah di sudut bola mata tikus dibersihkan dengan *alcohol swab*. Setelah itu, sampel darah *disentrifuge* dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit lalu ambil

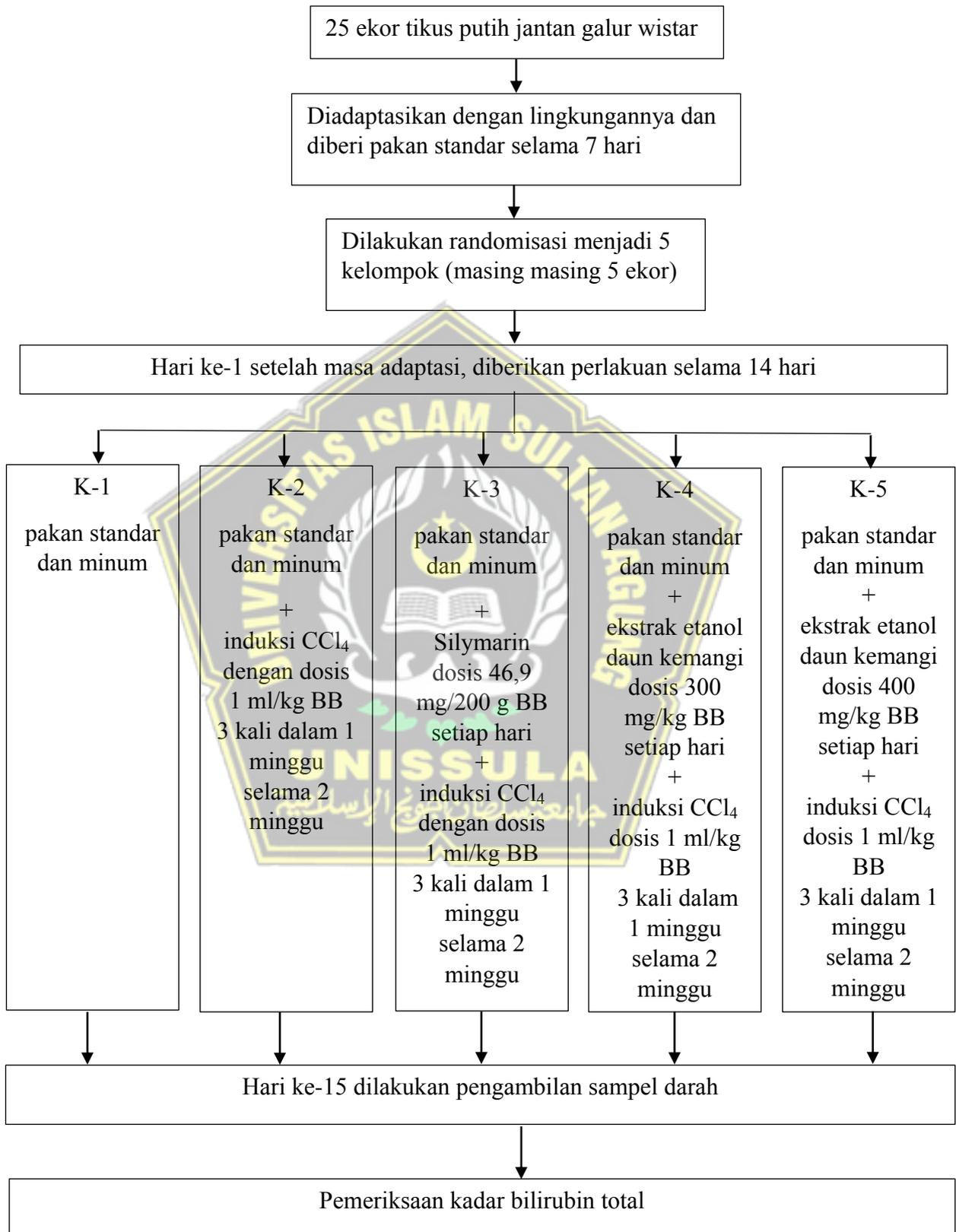
serum dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* yang sudah diberi label. Segera ukur kadar bilirubin total menggunakan spektrofotometer. Sampel diletakkan pada tempat dengan cahaya yang minimal dan diperiksa maksimal 1 jam setelah pengambilan sample darah (Satriya, 2017).

3.5.7 Cara pemeriksaan kadar bilirubin total

Kadar bilirubin total dalam penelitian ini diperiksa dengan metode *spectrophotometry* menggunakan absorbansi 454 nm. Kadar bilirubin dinyatakan dalam satuan mg/dL (Satriya, 2017).



3.5.8 Alur penelitian

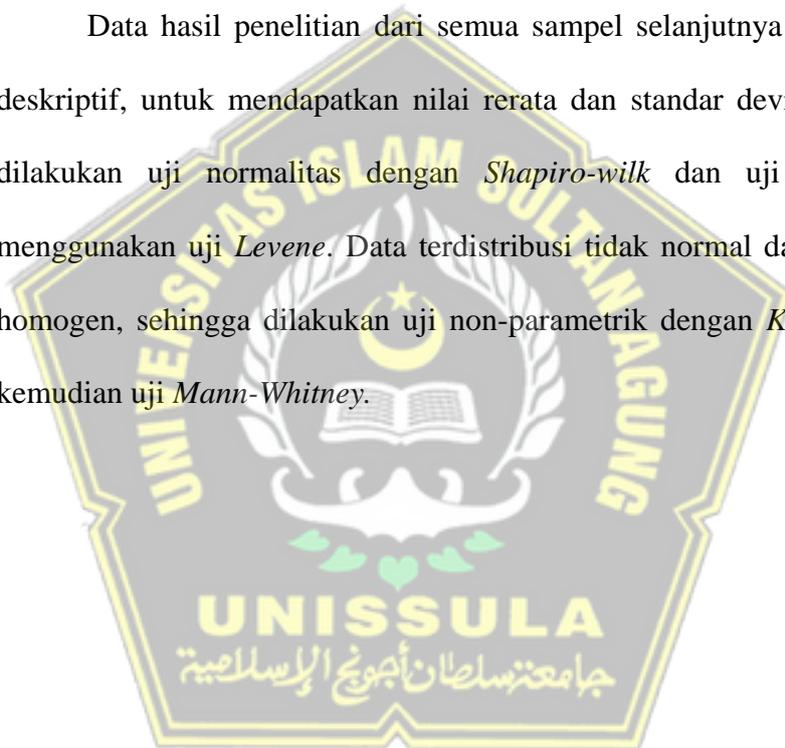


3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 15 hari pada Mei – Juni 2023 serta perlakuan pada hewan coba serta pengukuran kadar bilirubin total dilakukan di Universitas Gajah Mada Yogyakarta

3.7 Analisa hasil

Data hasil penelitian dari semua sampel selanjutnya dilakukan uji deskriptif, untuk mendapatkan nilai rerata dan standar deviasi kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Data terdistribusi tidak normal dan varian data homogen, sehingga dilakukan uji non-parametrik dengan *Kruskal-Wallis*, kemudian uji *Mann-Whitney*.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta selama 15 hari. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal (K1), kelompok yang diinduksi CCl_4 sebagai kontrol negatif (K2), kelompok yang diinduksi CCl_4 dan diberi Silymarin 46,9 mg/200grBB sebagai kontrol positif (K3), kelompok yang diinduksi CCl_4 dan diberi ekstrak etanol daun kemangi 300 mg/kg BB sebagai perlakuan 1 (K4), dan kelompok yang diinduksi CCl_4 dan diberi ekstrak etanol daun kemangi 400 mg/kg BB sebagai perlakuan 2 (K5). Tidak ada tikus yang *drop out* selama penelitian berjalan.

Pada hari ke-15 paska perlakuan, pemeriksaan kadar bilirubin total dilakukan dengan menggunakan metode *spectrophotometry*, dan didapatkan hasil rerata kadar bilirubin total. Dari data bilirubin tersebut, uji normalitas dengan uji *Saphiro wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene* dilakukan. Selanjutnya dari hasil uji normalitas serta homogenitas dilakukan uji Kruskal-Wallis. Data rerata kadar bilirubin total, hasil uji *Saphiro wilk*, uji *Levene*, dan uji Kruskal-Wallis disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Rerata Kadar Bilirubin Total, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji Kruskal-Wallis

Kelompok Perlakuan	Rerata \pm SD (mg/dL)	Nilai p		
		Uji <i>Saphiro-wilk</i>	Uji <i>Levene</i>	Uji Kruskal-Wallis
Normal (K1)	0.408 \pm 0.095	0.322	0.150	<0.001
Kontrol negatif (K2)	1.568 \pm 0.203	0.512		
Kontrol positif (K3)	0.624 \pm 0.077	0.006		
Perlakuan 1 (K4)	0.866 \pm 0.077	0.006		
Perlakuan 2 (K5)	0.596 \pm 0.077	0.006		

Berdasarkan Tabel 4.1 memperlihatkan rerata kadar bilirubin total paling tinggi adalah pada kelompok kontrol negatif (K2) dan paling rendah pada kelompok kelompok normal (K1). Urutan rerata kadar bilirubin total dari yang paling tinggi ke rendah adalah : kontrol negatif (K2), perlakuan 1 (K4), kontrol positif (K3), perlakuan 2 (K5), dan normal (K1).

Hasil uji normalitas didapatkan nilai $p > 0.05$ pada kelompok normal (K1) ($p = 0.032$) dan kontrol negatif (K2) ($p = 0.512$) yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Untuk kontrol positif (K3) ($p = 0.006$), perlakuan 1 (K4) ($p = 0.006$), dan perlakuan 2 (K5) ($p = 0.006$) didapatkan hasil data terdistribusi tidak normal ($p < 0.05$). Berdasarkan hasil analisis tersebut terdapat data yang berdistribusi tidak normal sehingga dilakukan transformasi data dengan menggunakan Lg10, kemudian dilakukan uji normalitas ulang dan didapatkan nilai $p > 0.05$ pada kelompok normal (K1) dan kontrol negatif (K2), sedangkan pada kontrol positif (K3), perlakuan 1

(K4), dan perlakuan 2 (K5) didapatkan nilai $p < 0.05$ sehingga tetap didapatkan distribusi data tidak normal.

Uji homogenitas diperoleh nilai $p = 0.150$ ($p > 0.05$) yang mengindikasikan varian data bersifat homogen. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas maka dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi tidak normal serta varian data homogen, sehingga selanjutnya dilakukan uji non parametrik dengan menggunakan Kruskal–Wallis untuk melihat perbedaan kadar bilirubin total antar berbagai kelompok.

Berdasarkan uji non parametrik Kruskal – Wallis didapatkan nilai $p < 0.001$ yang berarti bahwa setidaknya terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan ($p < 0.05$). Untuk mengetahui perbedaan kadar bilirubin total antara dua kelompok, selanjutnya dilanjutkan uji *mann whitney* yang hasilnya disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2. Tabel Hasil Uji Mann Whitney

Kelompok	<i>p value</i> uji mann whitney
Normal (K1)	Kontrol negative (K2) 0.008*
	Kontrol positif (K3) 0.013*
	Perlakuan 1(K4) 0.007*
	Perlakuan 2 (K5) 0.016*
Kontrol negatif (K2)	Kontrol positif (K3) 0.008*
	Perlakuan 1 (K4) 0.008*
	Perlakuan 2 (K5) 0.008*
Kontrol positif (K3)	Perlakuan 1 (K4) 0.007*
	Perlakuan 2 (K5) 0.549
Perlakuan 1 (K4)	Perlakuan 2 (K5) 0.007*

Keterangan * = signifikan ($p < 0.05$)

Hasil uji *mann whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antara berbagai kelompok, kecuali antara kelompok kontrol positif (K3) dengan perlakuan 2 (K5) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan dengan nilai $p = 0.549$ ($p > 0.05$). Rerata kadar bilirubin total secara grafik dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diagram Rerata Kadar Bilirubin Total

4.1 Pembahasan Hasil

Rerata kadar bilirubin total pada kelompok normal (K1) berbeda signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa induksi CCl_4 terbukti dapat menyebabkan peningkatan kadar bilirubin total secara signifikan. Temuan penelitian ini sejalan dengan temuan Priyani (2019), bahwa pemberian CCl_4 dosis 1 ml/kg BB selama 14 hari dengan rentang pemberian setiap 2 – 3 hari dapat menyebabkan kenaikan kadar bilirubin total oleh karena sifat hepatotoksisitas yang dimiliki oleh CCl_4 .

Kenaikan kadar bilirubin total pada kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa CCl_4 dapat menginduksi kerusakan hepar. Kerusakan hepar yang disebabkan karena CCl_4 bermula ketika CCl_4 masuk ke dalam tubuh, CCl_4 berubah menjadi radikal CCl_3 dengan bantuan enzim sitokrom P450 (CYP450), kemudian berikatan dengan oksigen dan membentuk CCl_3O_2 dan menginisiasi proses peroksidasi lipid di dalam membrane sel hepar yang bisa menyebabkan kebocoran sel hepar sehingga kadar bilirubin total meningkat (Normasiwi dan Setiorini, 2018).

Rerata kadar bilirubin total antara kelompok kontrol negatif (K2) dengan kelompok kontrol positif (K3) menunjukkan perbedaan yang signifikan, yang berarti bahwa pemberian Silymarin dengan dosis 46,9 mg/200 g BB tikus dapat mencegah kenaikan kadar bilirubin total pada tikus yang diinduksi CCl_4 . Sejalan dengan temuan Wintariani dan Suena (2017) yang mengungkapkan bahwa silymarin merupakan fitofarmaka dan lazim digunakan untuk mencegah kerusakan hati, termasuk mencegah kenaikan kadar bilirubin darah. Silymarin memiliki sifat hepatoprotektor. Flavonoid dan zat antioksidan lain dalam silymarin mampu mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid sehingga radikal bebas yang terbentuk dapat dinetralkan dan peningkatan kadar bilirubin total dapat dicegah.

Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat menghambat peningkatan kadar bilirubin total akibat induksi CCl_4 . Pada penelitian ini, terlihat antara kelompok kontrol negatif (K2) yang hanya diberikan induksi CCl_4 dengan perlakuan 2 (K4) yaitu yang diberi ekstrak etanol daun

kemangi baik dosis 300 mg/kg BB) maupun perlakuan 2 (K5) yaitu kelompok yang diberi ekstrak etanol daun kemangi baik dosis 400 mg/kg BB) menunjukkan perbedaan signifikan. Peningkatan kadar bilirubin pada kelompok perlakuan 1 (K4) dan perlakuan 2 (K5) lebih rendah dibandingkan dengan peningkatan kadar bilirubin pada kelompok kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa daun kemangi mempunyai kemampuan sebagai hepatoprotektor sehingga mampu mencegah kenaikan kadar bilirubin total akibat radikal bebas.

Penelitian Melja dan Suryani (2020) membuktikan efek hepatoprotektor kemangi pada tikus yang diinduksi aspartam melalui parameter kadar SGOT dan SGPT. Sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan, kerusakan hepatosit dapat dikendalikan dengan senyawa antioksidan yang dimiliki daun kemangi serta mencegah proses peroksidasi lipid. Akibatnya radikal bebas dapat dinetralisir dengan meningkatnya antioksidan.

Sejalan dengan penelitian Wahyudi *et.al.* (2018), pemberian ekstrak kemangi dosis 300 mg/kg BB terbukti mampu menekan proses peroksidasi lipid sehingga fungsi hepar tetap terjaga. Daun kemangi memiliki kandungan antioksidan, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid dapat menekan aktivitas sitokrom P450 (CYP450) sehingga mencegah proses peroksidasi lipid serta kenaikan kadar bilirubin total juga dapat dicegah (Hardiningtyas *et al.*, 2014; Quintieri *et al.*, 2011).

Hasil antara kelompok perlakuan 1 (K4) dengan kelompok perlakuan 2 (K5) juga memperlihatkan perbedaan signifikan, dimana rerata kadar bilirubin total tikus yang diberikan dosis 400 mg/kg BB lebih rendah dibandingkan tikus yang diberikan dosis 300 mg/kg BB. Penyebabnya dapat dikarenakan senyawa antioksidan yang terdapat di dalam kemangi lebih tinggi seiring dengan peningkatan dosis, sehingga radikal bebas yang terbentuk dapat dinetralkan dengan lebih optimal bila diberikan dosis yang lebih tinggi dan rerata kadar bilirubin menjadi lebih rendah (Santoso, 2016). Dapat disimpulkan, ekstrak etanol daun kemangi dosis 400 mg/kg BB lebih efektif dalam mencegah kenaikan kadar bilirubin total akibat induksi CCl_4 .

Analisis hasil antara kontrol positif (K3) dengan kelompok perlakuan 1 (K4) menunjukkan perbedaan yang signifikan, Apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K3), kelompok perlakuan 1 (K4) memiliki rerata kadar bilirubin lebih tinggi yang mengindikasikan bahwa dengan pemberian dosis 300 mg/kg BB belum mampu mencegah kenaikan kadar bilirubin total seefektif silymarin dosis 46,9 mg/200 g BB tikus, yang dapat disebabkan karena kurangnya kandungan antioksidan yang terdapat pada dosis 300 mg/kg BB sehingga belum cukup mampu untuk menetralkan radikal bebas seoptimal silymarin dosis 46,9 mg/200 g BB. Akibatnya peningkatan kadar bilirubin total pada tikus yang diberi dosis 300 mg/kg BB lebih besar dibandingkan yang diberikan silymarin (Santoso, 2016).

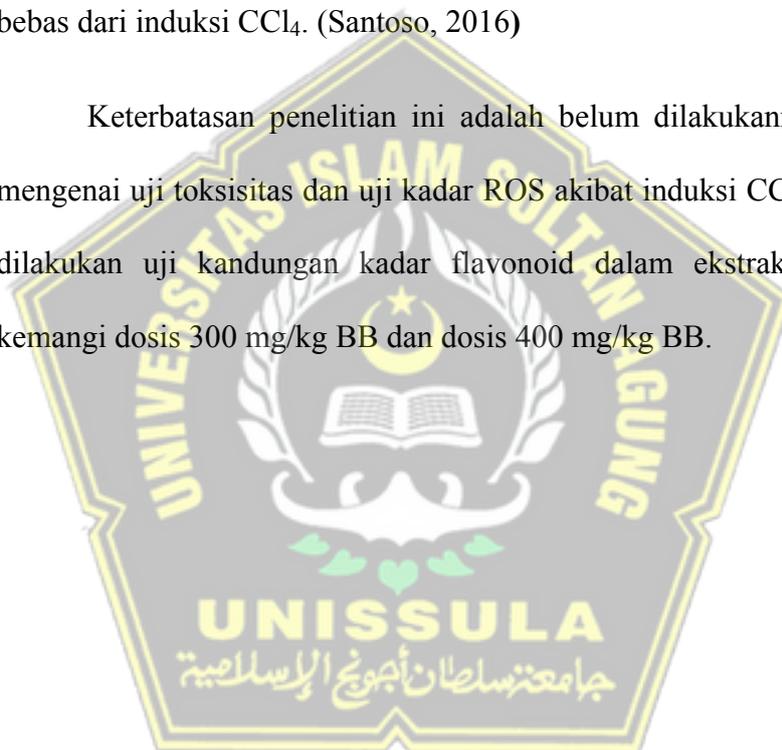
Hasil uji kelompok kontrol positif (K3) dengan kelompok perlakuan 2 (K5) memperlihatkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan dengan rerata kelompok perlakuan 2 (K5) sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif (K5). Berdasarkan temuan tersebut dapat dikatakan bahwa silymarin dosis 46,9 mg/200 g BB tikus sama efektifnya dengan dosis 400 mg/kg BB ekstrak etanol daun kemangi untuk mencegah kenaikan kadar bilirubin total pada tikus. Kandungan zat antioksidan seperti flavonoid yang terkandung di dalam dosis 400 mg/kg BB mampu menetralkan radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipid optimal silymarin.

Rerata kadar bilirubin total antara kelompok normal (K1) dengan kelompok kontrol positif (K3) memperlihatkan ada perbedaan signifikan yang artinya pemberian Silymarin dosis 46,9 mg/200 g BB juga belum mampu mencegah kenaikan kadar bilirubin total sampai kondisi normal pada tikus yang diinduksi CCl_4 . Serupa dengan penelitian Santoso (2016) yang mengungkapkan bahwa Silymarin membutuhkan waktu kerja yang lama untuk memperbaiki kondisi hepar untuk sampai pada kondisi normalnya, yaitu selama 8 minggu sedangkan pada penelitian ini hanya diberikan silymarin selama 14 hari.

Pada temuan hasil uji menunjukkan bahwa antara kelompok normal (K1) dengan kelompok perlakuan 1 (K4) serta antara kelompok normal (K1) dengan kelompok perlakuan 2 (K5) terdapat perbedaan signifikan, mengindikasikan pemberian ekstrak daun kemangi dapat mencegah

peningkatan kadar bilirubin total, namun, baik dosis 300 mg/kg BB maupun dosis 400 mg/kg BB belum bisa mencegah kenaikan bilirubin total sampai pada kondisi normal yang dapat disebabkan karena kurangnya dosis ataupun durasi pemberian ekstrak daun kemangi yang kurang lama. Akibatnya, antioksidan pada daun kemangi masih belum mampu dalam menangkal dan menetralkan semua kerusakan hepatosit akibat radikal bebas dari induksi CCl₄. (Santoso, 2016)

Keterbatasan penelitian ini adalah belum dilakukannya penelitian mengenai uji toksisitas dan uji kadar ROS akibat induksi CCl₄ serta belum dilakukan uji kandungan kadar flavonoid dalam ekstrak etanol daun kemangi dosis 300 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

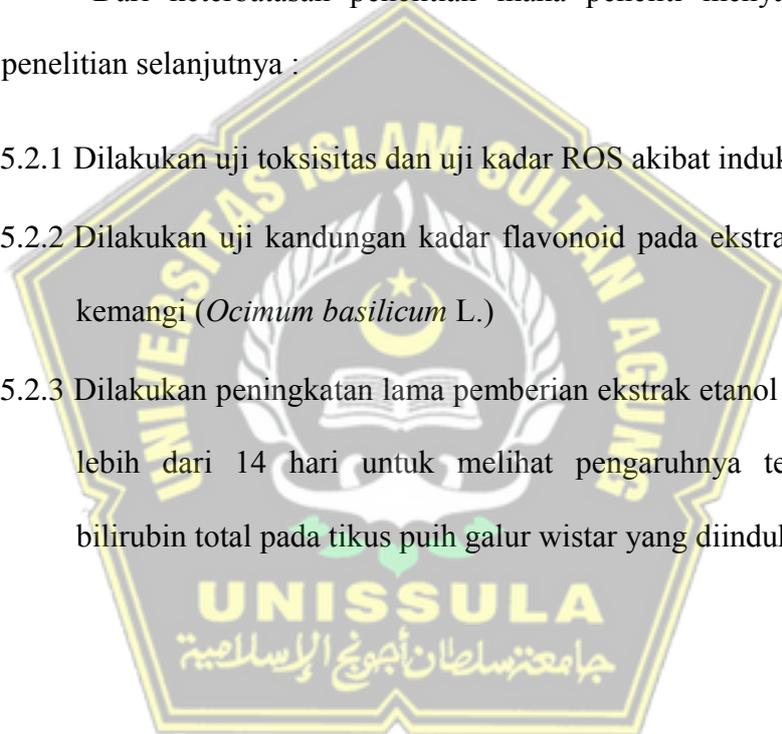
- 5.1.1 Ekstrak etanol daun kemangi dapat mencegah kenaikan kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 .
- 5.1.2 Rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar pada kelompok normal (K1) adalah 0.408 mg/dL.
- 5.1.3 Rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 sebagai kontrol negatif (K2) adalah 1.568 mg/dL.
- 5.1.4 Rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 dan silymarin dosis 46,9 mg/200 g BB sebagai kontrol positif (K3) adalah 0.624 mg/dL.
- 5.1.5 Rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun kemangi dosis 300 mg/kg BB sebagai perlakuan 1 (K4) adalah 0.866 mg/dL.
- 5.1.6 Rerata kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl_4 dan ekstrak etanol daun kemangi dosis 400 mg/kg BB sebagai perlakuan 2 (K5) adalah 0.569 mg/dL.

5.1.7 Dosis ekstrak etanol daun kemangi 400 mg/kg BB lebih efektif dibandingkan dosis ekstrak etanol daun kemangi 300 mg/kg BB dalam mencegah kenaikan kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl₄.

5.2 Saran

Dari keterbatasan penelitian maka peneliti menyarankan untuk penelitian selanjutnya :

- 5.2.1 Dilakukan uji toksisitas dan uji kadar ROS akibat induksi CCl₄
- 5.2.2 Dilakukan uji kandungan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.)
- 5.2.3 Dilakukan peningkatan lama pemberian ekstrak etanol daun kemangi lebih dari 14 hari untuk melihat pengaruhnya terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih galur wistar yang diinduksi CCl₄.



DAFTAR PUSTAKA

- Abrori, C., Nurfadhila, K., Sakinah, E., 2019. Acute Toxicity Tests Of Basil Leaves (*Ocimum sanctum*) Ethanolic Extract Determined By Ld50 And Renal Histopathology. Oai:Jurnal.Unej.Ac.Id:Article/6501 .
- Asri, R., Handayani, D., Sundaryono, A., Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pmipa Fkip, P., 2019. Profil Fitokimia Dan Pengaruh Ekstrak Tangkai Daun Talas Kemumu (*Colocasia Gigantea Hook.F*) Terhadap Jumlah Leukosit Mus Musculus. Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia 3, 48–56.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2005. Toxicological profile for Carbon Tetrachloride. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. https://www.atsdr.cdc.gov/csem/carbon-tetrachloride/toxicological_effects.html diakses pada tanggal 27 Februari 2023 pukul 20.31 WIB.
- Barrett, K.E., 2012. Ganong Fisiologi Kedokteran Edisi 24. Penerbit Buku Kedokteran EGC. McGraw Hill. Jakarta.
- Bilal, A., Jahan, N., Ahmed, A., Bilal, N., Habib, S., Hajra, S., 2012. Phytochemical And Pharmacological Studies On *Ocimum Basilicum* Linn - A Review.
- Cahaya Widya Putri, W., Rahman, H., 2021. Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum L.*) Pada Mencit Putih Jantan Yang Diinduksi Parasetamol Hepatoprotective Activity Of Rambutan Leaf (*Nephelium Lappaceum L.*) Ethanol Extract In Male Mice Induced By Paracetamol, Jurnal Farmasi Indonesia.
- Conti, C., 2021. Bilirubin: The Toxic Mechanisms Of An Antioxidant Molecule. Arch Argent Pediatr 119.
- Dawn B. Marks, A.D.M.C.M.S., 2012. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis.
- Dewi, N., Wiratmini, N., Sudirga, S., 2021. Gambaran Histologi Hati Dan Ginjal Mencit (*Mus Musculus L.*) Yang Diinduksikarbon Tetraklorida (CCl₄) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*). Jurnal Biologi Udayana 26, 21–31.
- Gusungi, D.E., Maarisit, W., Potalangi, N.O., 2020. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (Mcf-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung Dendrophthoe Pentandra. Jurnal Biofarmasetikal Tropis. 2020 3, 166–174.

- Hafez, M.M., Al-Harbi, N.O., Al-Hoshani, A.R., Al-Hosaini, K.A., Al Shrari, S.D., Al Rejaie, S.S., Sayed-Ahmed, M.M., Al-Shabanah, O.A., 2015. Hepato-Protective Effect Of Rutin Via Il-6/Stat3 Pathway In CCl₄-Induced Hepatotoxicity In Rats. *Biol Res* 48.
- Hall, J.E., 2014. *Guyton And Hall Textbook Of Medical Physiology*, 12th Ed. Elsevier, Amerika Serikat.
- Hardiningtyas, S.D., Purwaningsih, S., Handharyani, E., 2014. Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jphpi* 2014 17, 80–91.
- Hussain, I., Khan, B.A., Abbas, K.A., 2016. Biomedical Description Of *Ocimum Basilicum L* Covid-19 In Pakistan View Project Drug Delivery And Cosmetics Lab View Project Saima Rubab Lahore Medical And Dental College.
- Lina, M., Kumalasari, F., Andiarna, F., Psikologi, F., Uin, K., Ampel, S., Surabaya, I., Kunci, K., Ocimum, :, Maserasi, L., 2020. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L*). *Indonesian Journal For Health Sciences* 4, 39–44.
- Melja, V.V., Suryani, D., 2020. Perbandingan Efek Protektif Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum*) Dan Kurkuma (*Curcuma Xanthoriza*) Terhadap Fungsi Hepar Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Aspartam. *Jurnal Pandu Husada* 1, 130.
- Normasiwi, F., Setiorini, 2020. Utilization Of Mango Ginger (*Curcuma Mangga Val.*) Rhizome Extracts To Decrease Serum Bilirubin In Male Rats (*Rattus Norvegicus L.*). In: *Iop Conference Series: Earth And Environmental Science*. Institute Of Physics Publishing.
- Pranoto, H., Nugrahalia, M., 2020. Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Dan Buah Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Pada Tikus Yang Di Induksi Alkohol. *Jurnal Biosains* 6, 37.
- Purushothaman, B., Prasannasrinivasan, R., Suganthi, P., Ranganathan, B., Gimbin, J., Shanmugam, K., 2018. A Comprehensive Review On *Ocimum Basilicum*. *Journal Of Natural Remedies* 18, 71–85.
- Quintieri, L., Palatini, P., Moro, S., Floreani, M., 2011. Inhibition Of Cytochrome P450 2c8-Mediated Drug Metabolism By The Flavonoid Diosmetin. *Drug Metab Pharmacokinet* 26, 559–568.
- Rodwell, V.W., Bender, D.A., Botham, K.M., Kennelly, P.J., Weil, P.A., 2015. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 30th Ed. The McGraw-Hill Education.
- Rosida, A., 2016. *Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati*.
- Santoso, D.I., 2016. Efek Kombinasi *Curcuma Xanthorrhiza* Dan *Nigella Sativa* Terhadap Kadar Bilirubin Dan Albumin Pada Tikus Yang Diinduksi CCl₄.

- Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo, A., Simadibrata, M., Setiyohadi, B., Syam, A., 2014. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid Ii, 6th Ed. Internapublishing, Jakarta.
- Simanjutak, K., 2012. Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan. Bina Widya 23 No. 3, 135–140.
- Siska Tatiana, W., Ria, S., 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Dpph Dan Uji Sitotoksik Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Pada Ekstrak Daun Kemangi Antioxidant Activity Test Using DPPH Method And Sitotoxicic Test On T47d Breast Cancer Cells In Kemangi Leaf Extract.
- Su, S.-B., Dong, S., Chen, Q.-L., Song, Y.-N., Sun, Y., Wei, B., Li, X.-Y., Hu, Y.-Y., Liu, P., 2016. Mechanisms Of CCl4-Induced Liver Fibrosis With Combined Transcriptomic And Proteomic Analysis.
- Sudoyo, A., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., Setiati, S., 2010. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I, 5th Ed. Internapublishing, Jakarta.
- Sukandar, D., Hermanto, S., Amelia, E.R., Novianti, C.P., 2015. Karakterisasi Fraksi Aktif Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Biji Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*). Jurnal Kimia Valensi 39–49.
- Thanapirom, K., Treeprasertsuk, S., Soonthornworasiri, N., Poovorawan, K., Chaiteerakij, R., Komolmit, P., Phaosawasdi, K., Pinzani, M., 2019. The Incidence, Etiologies, Outcomes, And Predictors Of Mortality Of Acute Liver Failure In Thailand: A Population-Base Study. Bmc Gastroenterol 19.
- Tortora, G.J., Derrickson, B., 2014. Tortora Principles Of Anatomy And Physiology 14th Ed. Wiley. Amerika Serikat.
- Untari, M.K., Keswara, Y.D., Aini, D.N., Purnamasari, D., 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis Dan Daun Pepaya Terhadap Kadar Bilirubin Pada Tikus Putih Yang Diinduksi Isoniazid Dan Rifampisin Effect Of Ethanol Extract Mangosteen Peel And Papaya Leaf Against Bilirubin Levels In Isoniazid And Rifampicin Induced Rats 12, 148–156.
- Wahyudi, A., Bahar, Y., Septianawati, P., 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L Folium*) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) Yang Diinduksi MSG.
- Wintariani, N.P., Suen, N.M.D.S., 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas Lamk*) Sebagai Hepatoprotektor Terhadap Kadar Bilirubin Total Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Jurnal Ilmiah Medicamento 3, 110–114.
- Wulandari, A., Maulana, A.M., Adi, R., Putra, N., Romdhoni, M.F., 2019a. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Terhadap Cedera Hepatosit : Kajian Pada Bahan Biologis Tersimpan (Bbt) Hepar Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Galur Swiss Yang Diinduksi Asam Urat Effects Of

Ethanol Extract Of Basil Leaves (*Ocimum Basilicum L.*) On Hepatocyte Injury: Study On Stored Biological Materials (Bbt) Of Liver Mice (*Mus Musculus*) Swiss Male Strain Induced By Gout. *Medica Arteriana (Med-Art)* 1 No.2.

Wulandari, A., Maulana, A.M., Adi, R., Putra, N., Romdhoni, M.F., 2019b. *Medica Arteriana (Med-Art)* Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Terhadap Cedera Hepatosit : Kajian Pada Bahan Biologis Tersimpan (Bbt) Hepar Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Galur Swiss Yang Diinduksi Asam Urat Effects Of Ethanol Extract Of Basil Leaves (*Ocimum Basilicum L.*) On Hepatocyte Injury: Study On Stored Biological Materials (Bbt) Of Liver Mice (*Mus Musculus*) Swiss Male Strain Induced By Gout. *Medica Arteriana (Med-Art)* 1.

