



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum sanctum* Linn.) TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach
DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)**

LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Oleh:

Anindita Rosenda Eka Hendrawati

G2A 005 016

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2009

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) yang disusun oleh:

Nama : Anindita Rosenda Eka Hendrawati

NIM : G2A 005 016

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 22 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

Semarang, 24 Agustus 2009

Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

| | |
|---------|-------------|
| | Mengetahui, |
| Penguji | Pembimbing |

Dra. Endang Sri Sunarsih, Apt., M.Kes.

NIP. 131474328

Drs. Suhardjono, Apt., M.Si.

NIP. 130937451

Ketua Penguji

Drs. Gunardi, Apt., M.S.

NIP. 131673428

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| DAFTAR ISI | iii |
| DAFTAR TABEL | vi |
| DAFTAR GRAFIK | vii |
| DAFTAR LAMPIRAN | viii |
| ABSTRAK | ix |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A. Latar belakang..... | 1 |
| B. Perumusan masalah..... | 3 |
| C. Tujuan..... | 3 |
| D. Manfaat hasil..... | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. <i>Ocimum sanctum</i> Linn. | 5 |
| B. Brine Shimp Lethality Test..... | 8 |
| C. Toksikologi..... | 10 |
| BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS | |
| A. Kerangka teori..... | 11 |
| B. Kerangka konsep..... | 12 |
| C. Hipotesis..... | 12 |

BAB IV METODE PENELITIAN

| | |
|---------------------------------------|----|
| A. Ruang lingkup penelitian..... | 13 |
| B. Waktu dan lokasi penelitian..... | 13 |
| C. Jenis penelitian..... | 13 |
| D. Populasi dan sampel..... | 13 |
| 1. Populasi..... | 13 |
| 2. Sampel..... | 13 |
| 2.1. Kriteria inklusi..... | 13 |
| 2.2. Kriteria eksklusi..... | 14 |
| 2.3. Besar sampel..... | 14 |
| 2.4. Cara pengambilan sampel..... | 14 |
| E. Variabel penelitian..... | 14 |
| 1. Variabel bebas..... | 14 |
| 2. Variabel tergantung..... | 15 |
| F. Alat dan bahan..... | 15 |
| 1. Alat..... | 15 |
| 2. Bahan..... | 15 |
| G. Cara kerja..... | 15 |
| H. Data yang dikumpulkan..... | 17 |
| I. Alur penelitian..... | 18 |
| J. Validitas dan reliabilitas..... | 19 |
| K. Definisi operasional variabel..... | 19 |
| L. Analisis data..... | 20 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| BAB V HASIL PENELITIAN | 21 |
| BAB VI PEMBAHASAN | 23 |
| BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN | 26 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 27 |
| LAMPIRAN..... | 33 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Pengaruh ekstrak etanol daun kemangi (<i>Ocimum sanctum</i> Linn.) terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i> Leach..... | 22 |

DAFTAR GRAFIK

| Grafik | Halaman |
|---|---------|
| 1. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i> Leach..... | 23 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Analisa Probit..... | 33 |
| 2. Analisa Regresi..... | 36 |
| 3. Surat Keterangan Identifikasi Simplisia..... | 37 |
| 4. Surat Keterangan Identifikasi Air Laut..... | 38 |

**Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.)
Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp
Lethality Test (BST)**

Anindita Rosenda E H¹, Suhardjono²

ABSTRAK

Latar belakang: Kemangi adalah salah satu tanaman obat di Indonesia yang telah digunakan secara empiris. Hal ini perlu didukung oleh informasi ilmiah tentang khasiat dan efek samping yang ditimbulkan. Pemakaian setiap bahan atau zat memiliki potensi bersifat toksik tergantung takarannya dalam tubuh sehingga perlu dilakukan skrining awal. Tujuan penelitian kali ini ialah untuk membuktikan ada tidaknya potensi toksisitas pada ekstrak etanol daun kemangi menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *post test-only control group design*. Digunakan 250 ekor hewan percobaan larva *Artemia salina* Leach yang dibagi dalam 5 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 10 ekor. Setiap kelompok dilakukan 5 kali pengulangan percobaan. Sebagai bahan uji adalah ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan ke dalam larutan media yang berisi hewan uji. Konsentrasi akhir ekstrak dalam media yang berisi larva berturut turut adalah 10000, 5000, 2400, 1200, dan 0 µg/ml sebagai kontrol. Data diperoleh dari menghitung jumlah larva yang mati 24 jam setelah perlakuan. Berdasarkan data, LC₅₀ ekstrak etanol daun kemangi ditentukan dengan analisis probit menggunakan *SPSS 15 for windows*.

Hasil: Rata-rata kematian larva pada konsentrasi 10000, 5000, 2400, 1200, dan 0 µg/ml berturut-turut adalah 8.8, 3.8, 2, 1, dan 0. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin tinggi jumlah kematian larva. Hasil dari analisis probit menunjukkan harga LC₅₀ dari ekstrak etanol daun kemangi **5901,815 µg/ml**.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak etanol daun kemangi pada percobaan ini tidak menunjukkan potensi toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach menurut metode BST. Hal ini ditunjukkan dengan harga LC₅₀ lebih dari 1000 µg/ml.

Kata kunci: : kemangi, *Ocimum sanctum* Linn., *brine shrimp lethality test*, toksisitas.

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

² Staf Pengajar, Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

Acute Toxicity Test Of Etanol Extract Of The Kemangi Leaves (Ocimum sanctum Linn.) Toward Artemia salina Leach Using Brine Shrimp Lethality Test (BST) Method

Anindita Rosenda E H¹, Suhardjono²

ABSTRACT

Background: *Kemangi is an herbal plant in Indonesia that has been used empiriccaly. That's why it needs to be supported by scientific information concerning its uses and side effects. The use of every substance has the potency to become toxic depends on the degree in human body so it needs to be tested first. The aim of this research was to prove the presence of toxicity potency in leaves extraction of kemangi using BST method.*

Method: *This research was an experimental research using post test-only control group design. Total samples were 250 Brine shrimp (Artemia salina Leach) larvae. Ten larvae were used in each 5 groups with 5 times replication. Each group was consecutively given 10.000, 5000, 2400, and 1200 µg/ml concentrate of ethanol extraction of kemangi leaves. The fifth group was used as control. Data have been obtained by calculating amount of died larvae 24 hours after treatment. Through the data, LC₅₀ value was analyzed by probit analysis using SPSS 15 for windows.*

Result: *Mean larvae death in the concentration of 10000, 5000, 2400, 1200, and 0 consecutively were 8.8, 3.8, 2, 1, 0. the higher the extract concentration cause higher death of the larvae. the result of probit analysis indicated that LC₅₀ value of leaves extraction of kemangi was 5901.815 µg/ml.*

Conclusion: *The administering of leaves extraction of kemangi, in this research, had no toxicity potency to Artemia salina larvae according to BST method. It's indicated by LC₅₀ value more than 1000 µg/ml.*

Key words: *kemangi, Ocimum sanctum, brine shrimp lethality test, toxicity.*

¹ Undergraduate student, Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

² Lecturer, Department of Pharmacy, Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia kaya akan berbagai macam tanaman obat. Dari sekitar 30.000 spesies tumbuhan di Indonesia, sekitar 940 di antaranya adalah tanaman obat.^{1,2} Masyarakat Indonesia telah lama memanfaatkan tanaman obat sebagai obat tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan.^{2,3,4} Penggunaan obat tradisional sebagai upaya kesehatan promotif, preventif, kuratif, dan rehabilitatif cenderung meningkat. Hal ini dikarenakan adanya isu *back to nature* dan kepercayaan masyarakat terhadap kelebihan obat tradisional dibandingkan dengan obat modern, antara lain: efek sampingnya relatif kecil bila digunakan secara benar dan tepat; adanya efek komplementer dan atau sinergisme dalam ramuan obat tradisional/komponen bioaktif tanaman obat; pada satu tanaman bisa memiliki lebih dari satu efek farmakologi; serta obat tradisional lebih sesuai untuk penyakit-penyakit metabolik dan degeneratif.^{4,5} Salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia adalah kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.). Tanaman kemangi mudah didapatkan, tersebar hampir di seluruh Indonesia, dan dapat tumbuh secara liar atau pun dibudidayakan. Daun kemangi banyak digunakan sebagai sayur mentah (lalapan), peluruh air susu ibu, obat penurun panas, memperbaiki pencernaan, encok, urat syaraf, sariawan, panu, radang telinga,

perut kotor, muntah-muntah, mual, peluruh kentut, peluruh haid setelah bersalin, borok, memperbaiki fungsi lambung.^{6,7,8} Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan terhadap kemangi, didapatkan bahwa kemangi berkhasiat sebagai analgesik, anti-amnesic and nootropic, anthelmintik, anti bakterial, anti katarak, anti fertilitas, anti hiperlipidemi, anti inflamasi, anti lipidperoksidatif, anti oksidan, anti stress, anti thyroid, antitusif, anti ulkus, kemoprotektif, imunomodulator, radioprotektif, aktivitas hipoglikemik, aktivitas hipotensif, dan anti kanker.⁹ Penggunaan kemangi yang sudah didukung oleh data preklinik adalah untuk pengobatan diabetes.¹⁰ Namun perlu diingat pula bahwa obat bahan alam yang dianggap aman oleh masyarakat juga perlu diwaspadai. Hal ini dikarenakan setiap bahan atau zat memiliki potensi bersifat toksik tergantung takarannya dalam tubuh serta sulitnya standarisasi obat tradisional.^{11,12}

Mengingat pemanfaatan daun kemangi yang beragam tetapi masih berdasarkan pengalaman secara turun-temurun, maka masih perlu didukung oleh informasi ilmiah mengenai khasiat dan efek samping yang ditimbulkan.

Untuk keamanan pemanfaatan kemangi maka perlu dilakukan penelitian uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kemangi terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kemangi ini dipilih mengingat masih kurangnya informasi ilmiah mengenai potensi toksisitas daun kemangi. Bentuk sediaan ekstrak dipilih dengan harapan untuk menjaga keakuratan metode BST dengan mengeliminasi variabel lokasi penanaman kemangi,

waktu tanam, pemanenan, dan musim. Metode BST dipilih mengingat metode ini merupakan langkah pertama untuk uji toksisitas suatu ekstrak atau senyawa. Selain itu, metode BST ini sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya.¹³ Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BST ini jika memiliki LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$. Jika hasil uji BST menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker. Jika hasil uji BST menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan tidak bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk meneliti khasiat-khasiat lain dari ekstrak tersebut.

B. Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Apakah ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) memiliki potensi toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach ?

C. Tujuan

i. Tujuan Umum

Membuktikan ada tidaknya potensi toksisitas pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

ii. Tujuan Khusus

1. Mengukur persentase kematian larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.).
2. Menentukan nilai LC₅₀ larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.).

D. Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan informasi tentang potensi toksisitas ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Ocimum sanctum* Linn.

Kemangi merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang tidak hanya tumbuh di Indonesia tetapi juga di India, Taiwan, Cina, dan Asia Tenggara. Kemangi disebut juga tulsi, tulasi, holy basil, sacred basil.¹⁴

Menurut taksonominya, kemangi diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Tubiflorae
Suku : Labiatae
Marga : *Ocimum*
Jenis : *Ocimum sanctum* L.⁷

Deskripsi tanaman kemangi adalah sebagai berikut : Perawakan: herba tegak atau semak, tajuk membulat, bercabang banyak, sangat harum, tinggi 0,3-1,5 meter. Batang: batang pokok tidak jelas, bercabang banyak, hijau sering keunguan, berambut atau tidak. Daun: tunggal, berhadapan, tangkai daun 0,25-3 cm, helain daun, bulat telur – elip – memanjang, ujung meruncing-runcing, atau tumpul, pangkal bangun pasak sampai membulat, di kedua permukaan berambut halus, berbinti-bintik kelenjar rapat 0,75-7,5 x 0,5-2,75 cm, tepi daun; bergerigi lemah-bergelombang-rata. Bunga: susunan

majemuk berkarang atau tandan, terminal, 2,5-14 cm, di ketiak daun ujung, daun pelindung elip atau bulat telur, panjang 0,5-1 cm. Kelopak: 5, berlekatan berbentuk bibir, 1 membentuk bibir atas, bentuk bulat telur 2-3,5 mm, 1 bibir bawah membentuk 4 gigi, sisi luar berambut kelenjar, ungu atau hijau. Mahkota: berbibir 3 bibir atas 2 bibir bawah, panjang tabung 1,5-2 mm, cuping mahkota 3-5 mm, putih. Benang sari: 4, tersisip di dasar mahkota, 2 panjang. Putik: kepala putik bercabang dua, tidak sama. Buah: kelopak ikut menyusun buah, buah tegak dan tertekan, ujung bentuk kait melingkar, panjang kelopak buah 6-9 mm. Biji: tipe keras, coklat tua, gundul, waktu dibasahi segera membengkak.⁸

Mikroskopis: pada penampang melintang melalui tulang daun tampak epidermis atas terdiri dari satu lapis sel kecil, bentuk empat persegi panjang, warna jernih, dinding tipis, kutikula tipis dan licin. Pada pengamatan tangensial bentuk poligonal, berdinding lurus atau agak berkelok-kelok. Epidermis bawah terdiri dari satu lapis sel kecil bentuk empat persegi panjang warna jernih, dinding tipis, kutikula tipis dan licin. Rambut penutup, bengkok, terdiri dari 2-6 sel. Rambut kelenjar, pendek, terdiri dari 1 sel tangkai dan 2-4 sel kepala, bentuk bundar, tipe Lamiaceae. Jaringan palisade terdiri dari selapis sel bentuk silindrik panjang dan berisi banyak butir klorofil. Jaringan bunga karang, dinding poligonal, dinding samping lurus atau agak berkelok tipis, mengandung butir klorofil. Berkas pembuluh tipe kolateral terdapat jaringan penguat yaitu kolenkim. Stomata tipe diasitik pada epidermis atas dan bawah.¹⁵

Kemangi mengandung tanin (4,6%), flavonoid, steroid/triterpenoid, minyak atsiri (2%), asam heksauronat, pentosa, xilosa, asam metil homoanisat, molludistin serta asam ursolat.^{12,13} Komponen minyak atsiri *Ocimum sanctum* terdiri dari α -pinen, β -pinen, sabinen, mirsen, limonen, 1,8 sineol, Z- β -osimen, E- β -osimen, E-sabinenhidrat, E- α -bergamoten, β -kariofilen, E- β -farnesen, α -humulen, metilkavikol, α -terpineol, germakaran-D, β -bisabolen, α -bisabolen, eugenol (62%), metileugenol, α -bisabolol, eukaliptol, estragol, borneol, osimen, geraniol, anetol, 10-kadinol, β -karofilen, α -terpinol, kamfora, 3-oktanon, safrol, seskuitujen, linalool. Flavonoidnya terdiri dari flavon epigenin, luteolin, flavon-O-glikosida apigenin 7-O-glukoronida, luteolin 7-O-glukoronida, flavon C-glikosida orientin, vicenin, cirsilineol, cirsimaritin, isothymusin, isothymonin.^{8,14,15,16}

Kemangi mempunyai beragam khasiat antara lain : analgesik, anti-amnesic and nootropic, anthelmintik, anti bakterial, anti katarak, anti fertilitas, anti hiperlipidemi, anti inflamasi, anti lipidperoksidatif, anti oksidan, anti stress, anti thyroid, antitusif, anti ulkus, kemoprotektif, imunomodulator, radioprotektif, aktivitas hipoglikemik, aktivitas hipotensif, dan anti kanker.⁹ Penggunaan *Ocimum sanctum* yang sudah didukung oleh preliminary data klinik adalah untuk pengobatan diabetes.¹⁰

Kemangi memiliki beragam efek biologi dan farmakologi, antara lain : Minyak atsiri dan ekstrak etanol daun kemangi mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*

fluorescens, *Streptococcus alfa*, dan *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella typhi*, *Shigella*, *Vibrio cholera*, *Neisseria gonorrhoea*; dan jamur seperti: *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Rhizopus stolonifera*, and *Penicillium digitatum*.^{8,17,18,19}

Pengkonsumsian ekstrak *Ocimum sanctum* secara oral sejumlah 200 mg/kgBB selama 30 hari dilaporkan dapat menurunkan kadar glukosa plasma.²⁰

Aksi antioksidan *Ocimum sanctum* terjadi pada lima level yaitu : supresi formasi radikal, membersihkan radikal primer, membersihkan radikal sekunder, menyusun kembali membran, dan memperbaiki kerusakan.²¹

Eugenol dan flavonoid yang larut dalam air (orientin dan vicenin) mempunyai efek antioksidan, membersihkan radikal bebas dan mencegah pertumbuhan dan penyebaran kanker dengan cara memblokir suplai oksigen dan nutrisi.^{16,22} Asam ursolat mempunyai aktivitas imunomodulator dan *tissue protector* seperti penelitian Balanehru dan Nagarajan tahun 1991 yang menyebutkan bahwa asam ursolat mempunyai aktivitas melawan peroksidasi lipid di mikrosomal hepar.^{16,22} Asam ursolat dan carnosol mempunyai aktivitas inhibisi Nuclear Factor Kappa B (NF-KB), menghambat aktivitas tyrosinekinase dan ornithine decarboxylase sehingga berpotensi menghambat proses angiogenesis.^{23, 24}

B. Brine Shrimp Lethality Test^{13,25}

Brine Shrimp Lethality Test (BST) adalah salah satu metode skrining untuk menentukan sifat toksik suatu senyawa atau ekstrak secara akut dengan menggunakan hewan coba *Artemia salina*. Klasifikasi *Artemia salina* adalah sebagai berikut:

Filum : Arthropoda

Kelas : Crustacea

Bangsa : Anostraca

Suku : Artemidae

Marga : Artemia

Jenis : *Artemia salina*

Penetasan telur *Artemia salina* yang baik perlu memperhatikan beberapa faktor yaitu: hidrasi dari kista-kista, aerasi, penyiaran, suhu, derajat keasaman (pH), dan kepadatan telur dalam media penetasan.

Metode BST merupakan langkah pertama untuk uji toksisitas suatu ekstrak atau senyawa. Metode ini merupakan metode uji hayati yang sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva *Artemia salina* dengan parameter *lethal concentration 50* (LC₅₀). Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BST ini jika memiliki LC₅₀ kurang dari 1000 µg/ml. Jika hasil uji BST menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker.

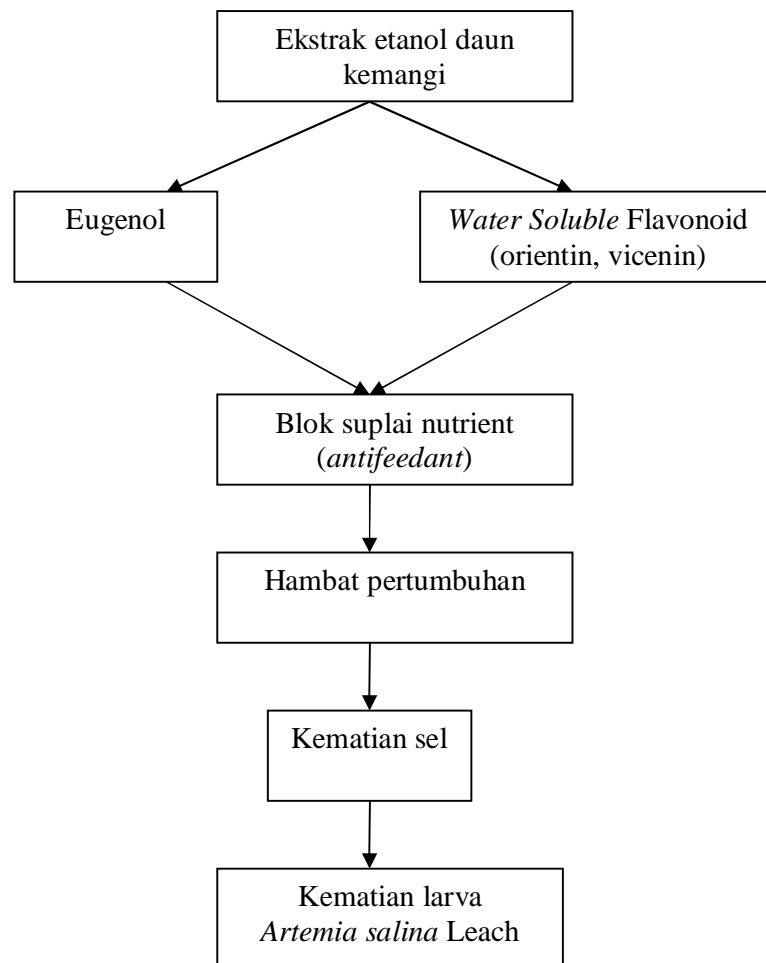
C. Toksikologi

Toksikologi merupakan disiplin ilmu yang mempelajari sifat-sifat racun zat kimia terhadap makhluk hidup dan lingkungan.²⁶ Setiap zat kimia pada dasarnya bersifat racun, tetapi setiap keracunan ditentukan oleh banyak faktor terutama dosis. Setiap zat kimia yang akan digunakan harus diuji toksisitas dan keamanannya. Setiap zat kimia, bila diberikan dengan dosis yang cukup besar akan menimbulkan gejala-gejala toksik. Untuk mengetahui sifat toksisitas ini pertama-tama harus ditentukan pada hewan coba melalui penelitian toksisitas akut dan subkronik. Selanjutnya, perlu ditentukan NEL (*No Effect Level*) yaitu jumlah atau konsentrasi suatu zat kimia yang ditemukan melalui penelitian atau observasi, yang tidak menimbulkan kelainan buruk, perubahan morfologi atau fungsi organ, pertumbuhan, perkembangan, maupun menguragi lama hidup hewan coba.²⁶ Selanjutnya, ditentukan pula ADI (*Acceptable Daily Intake*) yaitu dosis suatu zat kimia yang terbesar, yang dinyatakan dalam satuan mg/kgBB/hari, yang dapat diberikan setiap hari seumur hidup, dan diperkirakan tidak menimbulkan efek kesehatan yang buruk pada manusia, berdasarkan pengetahuan yang ada pada waktu itu.²⁶ Manfaat lain dari pengukuran toksisitas dalam berbagai bidang adalah dapat digunakan sebagai skrining ekstrak tumbuhan untuk kepentingan pengobatan, menentukan pertahanan anti-herbivora pada tumbuhan, menilai potensi dan efek bahaya dari pestisida baru, menilai toksisitas yang mungkin ditimbulkan oleh sumber polusi.²⁷

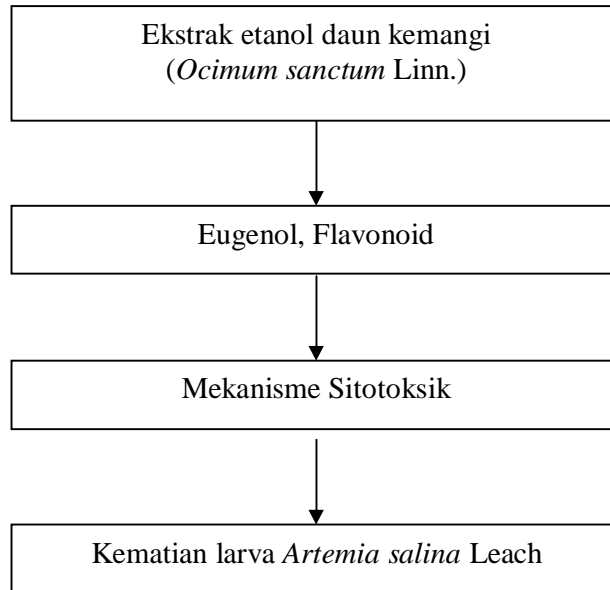
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

A. Kerangka Teori



B. Kerangka Konsep



C. Hipotesis

1. Hipotesis Mayor

Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) mempunyai potensi toksisitas.

2. Hipotesis Minor

1. Nilai LC_{50} ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$.
2. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi bidang farmasi dan kimia.

B. Waktu Dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan kurang lebih selama satu bulan. Lokasi penelitian di Laboratorium Farmasi dan Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

C. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test-only control group design*. Perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

D. Populasi Dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah larva *Artemia salina* Leach.

2. Sampel

2.1. Kriteria Inklusi:

1. Larva *Artemia salina* Leach berumur 48 jam.
2. Larva *Artemia salina* Leach yang tidak tampak cacat secara anatomi.

2.2. Kriteria Eksklusi:

Larva *Artemia salina* Leach yang tidak menunjukkan aktivitas pergerakan sebelum perlakuan.

2.3. Besar Sampel

Jumlah larva *Artemia salina* Leach yang digunakan adalah 10 ekor larva tiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini terdapat lima kelompok perlakuan dimana akan dilakukan replikasi lima kali untuk tiap kelompok perlakuan. Jadi, jumlah sampel total yang diperlukan adalah 250 ekor larva.²⁷

2.4. Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan *simple random sampling* terhadap larva *Artemia salina* Leach.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) yang diperoleh dengan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%.
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan adalah 10000, 5000, 2400, dan 1200 µg/ml.
3. Bahan daun kemangi segar yang diperoleh dari wilayah kelurahan Sendang Mulyo, Semarang.

4. Metode uji toksisitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).
5. Lama pelaksanaan uji BST selama 24 jam.
6. Hewan percobaan adalah larva *Artemia salina* Leach berusia 48 jam.

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek potensi toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan parameter LC₅₀. Jumlah kematian larva dihitung 24 jam setelah perlakuan. Kriteria kematian larva adalah larva tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Kain flannel hitam, bejana erlenmeyer, cawan porselen, *water bath*, pipet volume, pipet tetes, labu takar, timbangan, tabung uji (*vial*), wadah bening, aerator, lampu.

2. Bahan

Daun kemangi segar, larva *Artemia salina* Leach., air laut, etanol 70%.

G. Cara Kerja

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol daun kemangi. Daun kemangi segar yang digunakan dalam penelitian ini diidentifikasi dahulu di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang. Daun kemangi segar dikeringkan dengan cara menjemur di bawah sinar

matahari secara tidak langsung yaitu dengan ditutupi kain hitam. Pembuatan ekstrak etanol daun kemangi dalam penelitian ini dilakukan dengan cara dingin metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Daun kemangi yang sudah dikeringkan lalu dimasukkan ke dalam bejana erlenmeyer dengan ditambah etanol 70%. Campuran ini kemudian digojog-gojog supaya tercampur rata dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam campuran ini kemudian disaring dengan kain untuk didapat sari-sarinya. Pencampuran dan penyaringan ini dilakukan tiga kali secara berulang sampai warna campuran menjadi agak pudar. Sari daun kemangi yang diperoleh kemudian diletakkan di atas *water bath* suhu 70°C untuk menghilangkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental. Dari ekstrak kental yang diperoleh kemudian dibuat larutan induk konsentrasi 5% atau 50000 µg/ml, yaitu dengan cara mencampur 5 gram ekstrak kental ditambah air laut sampai volume 100 ml dengan labu takar. Kemudian dilakukan uji orientasi dahulu untuk menentukan konsentrasi larutan uji yang akan digunakan. Setelah dilakukan uji orientasi, didapatkan konsentrasi larutan uji yang digunakan yaitu sebagai berikut :

1. Larutan P1 konsentrasi 1% : 1 ml larutan induk 5% ditambah 4 ml air laut sehingga didapatkan konsentrasi 10000 µg/ml.
2. Larutan P2 konsentrasi 0,5% : 0,5 ml larutan induk 5% ditambah 4,5 ml air laut sehingga didapatkan konsentrasi 5000 µg/ml.
3. Larutan P3 konsentrasi 0,24% : 1,2 ml larutan induk 1% ditambah 3,8 ml air laut sehingga didapatkan konsentrasi 2400 µg/ml.

4. Larutan P4 konsentrasi 0,12% : 0,6 ml larutan induk 1% ditambah 4,4 ml air laut sehingga didapatkan konsentrasi 1200 µg/ml.
5. Larutan K (kelompok kontrol) : berisi 5 ml air laut sehingga didapatkan konsentrasi 0 µg/ml.

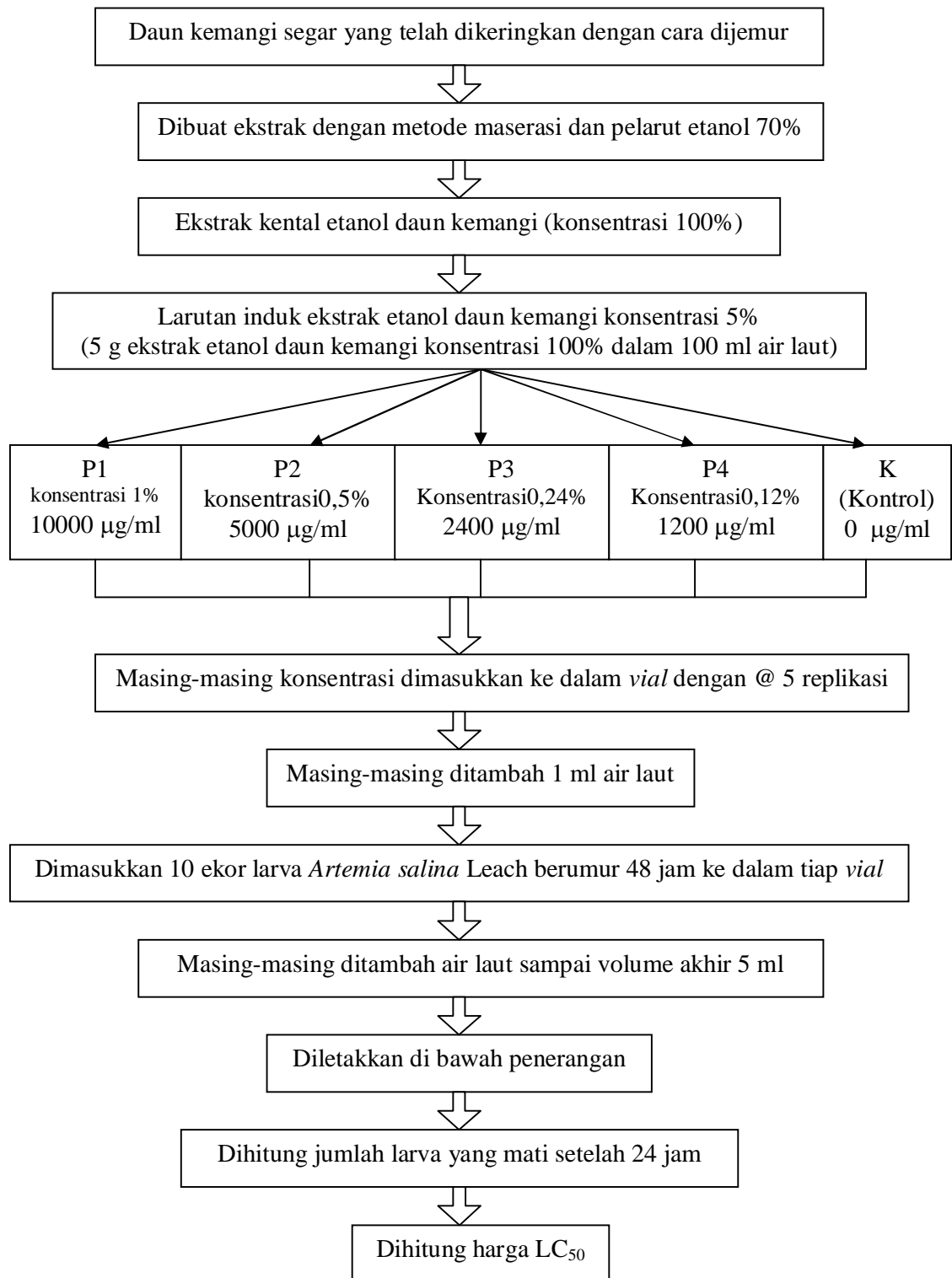
Penyiapan larva *Artemia salina* dilakukan dengan menetasakan telur *Artemia salina* 48 jam sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut di dalam wadah yang diberi suplai oksigen dari aerator dan diberi penerangan dengan lampu.

Pelaksanaan uji dilakukan dengan memasukkan larva *Artemia salina* yang telah berumur 48 jam ke dalam lima kelompok perlakuan yang berisi larutan P1, P2, P3, dan P4 dari ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) serta larutan kontrol. Masing-masing tabung uji berisi 10 ekor larva *Artemia salina*. Pada saat yang bersamaan dilakukan juga replikasi dari setiap kelompok perlakuan sebanyak lima kali. Dalam penelitian ini didapatkan volume akhir setiap tabung uji sebesar 5 ml. Tabung uji kemudian diletakkan di bawah penerangan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati.²⁸

H. Data Yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.).

I. Alur Penelitian



J. Validitas dan Reliabilitas

Validitas dijaga dengan:

1. Menyamakan kondisi larva *Artemia salina* Leach dengan cara menyamakan tempat dan kondisi penetasan (wadah, aerator), kondisi air laut, dan usia larva.
2. Mengambil secara acak (*simple random sampling*).
3. Menggunakan kriteria standar dalam menilai kematian larva *Artemia salina* Leach yaitu dengan cara mengamati larva yang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik.
4. Menggunakan alat ukur yang sama.

Reliabilitas data dijaga dengan replikasi lima kali pada tiap uji.

K. Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) : sediaan ekstrak kental dari simplisia nabati *Ocimum sanctum* dengan cara mengekstraksi daun kemangi kering dengan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi.
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10000, 5000, 2400, 1200, dan 0 µg/ml yang larut dalam dalam volume akhir 5 ml air laut sebagai media hidup hewan percobaan.
3. Daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) : daun kemangi segar yang diperoleh dari wilayah kelurahan Sendang Mulyo, Semarang.
4. Brine Shrimp Lethality Test (BST) : metode uji toksisitas akut dengan cara memaparkan ekstrak ke dalam media hidup larva *Artemia salina* Leach

sebagai hewan coba dan digunakan sebagai uji hayati sederhana untuk penelitian bahan alam.

5. Lama pelaksanaan uji BST : 24 jam.
6. *Artemia salina* Leach : sejenis udang-udangan primitif yang termasuk dalam filum Arthropoda yang digunakan sebagai hewan percobaan pada uji toksisitas akut dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Usia larva *Artemia salina* Leach yang digunakan dalam penelitian ini adalah 48 jam dengan media hidup yaitu air laut.
7. *Lethal concentration 50* (LC_{50}) : merupakan konsentrasi ekstrak dalam lingkungan di mana hewan uji dipajankan yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan percobaan. Dalam penelitian ini LC_{50} ekstrak etanol daun kemangi adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi di dalam air laut pada setiap tabung uji yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% larva *Artemia salina*.

L. Analisis Data

Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan analisis probit menggunakan *SPSS 15 for windows* untuk mengetahui harga LC_{50} .

BAB V

HASIL PENELITIAN

Proses pembuatan ekstrak etanol daun kemangi dalam penelitian ini digunakan 500 gram daun kemangi segar. Setelah dijemur, beratnya menjadi 81,4 gram. Dari 81,4 gram daun kemangi kering dihasilkan ekstrak kental sebanyak 26,86 gram.

Jumlah larva setiap tabung uji adalah 10 ekor. Jumlah sampel masing-masing kelompok perlakuan dengan replikasi sebanyak lima kali adalah 50 ekor. Jumlah total sampel untuk lima kelompok perlakuan adalah 250 ekor larva. Rata-rata kematian larva untuk masing-masing kelompok perlakuan diperoleh dengan menghitung total jumlah kematian setiap kelompok perlakuan sebanyak lima replikasi dan kemudian membaginya dengan jumlah replikasi. Jumlah larva *Artemia salina* yang mati dalam tiap tabung untuk setiap konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi ditunjukkan dalam tabel 1.

Hasil dari analisis probit dengan menggunakan *SPSS 15 for windows* menunjukkan harga LC_{50} dari ekstrak etanol daun kemangi adalah **5901,815 $\mu\text{g/ml}$** . Analisa probit yang lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 1.

Tabel 1. Pengaruh ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach.

| Kelompok Perlakuan | Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi | | | Volume akhir air laut | Jumlah kematian larva <i>Artemia salina</i> pada setiap replikasi (ekor) | | | | | Jumlah kematian | Rata-rata kematian | Persentase kematian (%) |
|--------------------|---|-------|-------|-----------------------|--|------|----|----|----|-----------------|--------------------|-------------------------|
| | % | g/5ml | µg/ml | | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | | | |
| | P1 | 1% | 0,05 | | 10000 | 5 ml | 9 | 8 | 7 | | | |
| P2 | 0,5% | 0,025 | 5000 | 5 ml | 4 | 2 | 6 | 4 | 3 | 19 | 3,8 | 38 |
| P3 | 0,24% | 0,012 | 2400 | 5 ml | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 10 | 2 | 20 |
| P4 | 0,12% | 0,006 | 1200 | 5 ml | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 5 | 1 | 10 |
| K | 0 | 0 | 0 | 5 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Keterangan :

P1, 2, 3, 4 : kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4

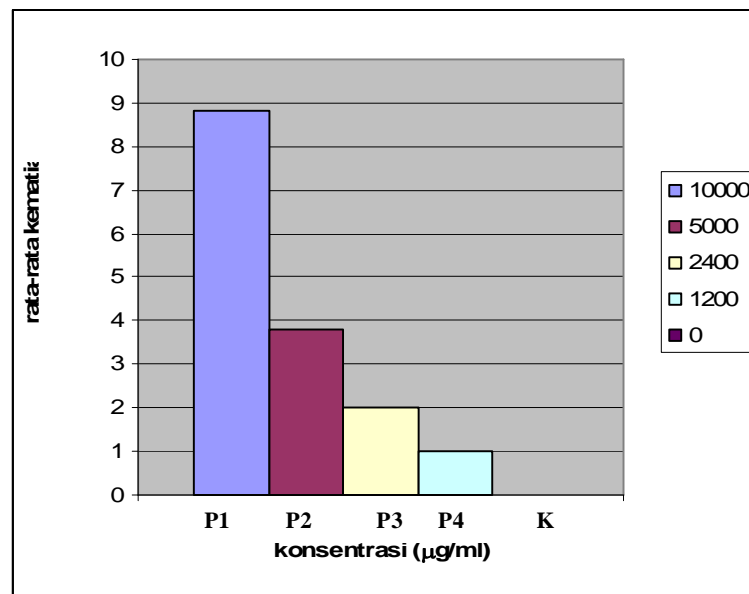
K : kelompok kontrol

R1, 2, 3, 4 : replikasi ke 1, 2, 3, 4

BAB VI

PEMBAHASAN

Brine Shrimp Lethality Test (BST) adalah salah satu metode skrining untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak secara akut dengan menggunakan hewan coba *Artemia salina*. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva *Artemia salina* dengan parameter *lethal concentration 50* (LC_{50}). Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BST ini jika memiliki LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$.^{13,25} Jika hasil uji BST menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker. Pengujian terhadap ekstrak etanol daun kemangi menunjukkan harga LC_{50} sebesar **5901,815 $\mu\text{g/ml}$** , sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun kemangi pada percobaan ini tidak memiliki potensi toksisitas menurut metode BST.



Grafik 1. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach

Berdasarkan grafik di atas didapatkan bahwa konsentrasi 10000 µg/ml menyebabkan rata-rata kematian larva tertinggi. Sedangkan pada konsentrasi 1200 µg/ml menyebabkan rata-rata kematian larva terendah. Pada kelompok kontrol tidak didapatkan kematian larva. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin tinggi jumlah kematian larva.

Metode BST dilakukan dengan cara pemaparan larutan ekstrak senyawa yang diuji kepada larva *Artemia salina* Leach. Dengan kata lain, larutan ekstrak senyawa tersebut harus larut sempurna dalam media hidup larva *Artemia salina* Leach yaitu air laut, sehingga konsentrasi sampel yang diperoleh menggambarkan konsentrasi sampel yang sebenarnya. Dalam penelitian kali ini, ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan dapat larut dalam air laut tetapi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan efek kematian terhadap larva *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan kurang optimal.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini untuk membuat ekstrak adalah etanol 70%. Sedangkan di dalam daun kemangi terkandung banyak zat aktif yang memiliki sifat kelarutan yang berbeda-beda, sehingga tidak semua zat aktif dapat dilarutkan dengan menggunakan etanol 70% misalnya flavanoid (orientin dan vicenin) yang bersifat larut dalam air. Terdapat pula zat aktif eugenol yang bersifat larut dalam alkohol. Eugenol merupakan komponen terbesar minyak atsiri dalam daun kemangi. Kadar eugenol dalam kemangi kurang dari 2% dan bersifat mudah menguap, sehingga menyebabkan efek potensi toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* menjadi kurang begitu tampak.

Flavonoid dan eugenol merupakan metabolit sekunder dari kemangi. Metabolit sekunder ini adalah senyawa yang disintesis tumbuhan untuk mempertahankan eksistensi dalam berinteraksi dengan ekosistem. Eugenol yang merupakan komponen terbesar minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas anti serangga melalui beberapa mekanisme: mengganggu jalur metabolik mayor dan menyebabkan kematian secara cepat, beraksi sebagai attractant, pengelak, fagostimulan, antifeedant.²⁹ Hal ini sesuai dengan penelitian ini yaitu dengan pemaparan ekstrak etanol daun kemangi dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* melalui efek antifeedant (pengelak makanan) diperoleh melalui mekanisme stimulasi terhadap reseptor khusus pengelak atau penyimpangan fungsi normal neuron, sehingga memberikan efek phagostimulan.³⁰ Berdasarkan penelitian Satoh K et al disebutkan bahwa eugenol memiliki efek antioksidan dan sitotoksik yang diperiksa menggunakan ESR spectroscopy.³¹

Orientin merupakan flavonoid glikosida yang terkandung dalam kemangi yang bersifat larut air. Berdasarkan penelitian FU Xiao-Chun et al disebutkan bahwa orientin memiliki potensi vasodilatator melalui mekanisme menghambat pelepasan ion kalsium intrasel dan influx ion kalsium dari ekstrasel sehingga dapat menghambat kontraksi otot polos pembuluh darah pada aorta kelinci.³²

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun kemangi pada percobaan ini tidak menunjukkan potensi toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach yang ditunjukkan dengan harga LC₅₀ lebih dari 1000 µg/ml menurut metode BST.

B. SARAN

Pada penelitian ini tidak terbukti bahwa ekstrak etanol daun kemangi memiliki potensi toksisitas. Berdasarkan hasil ini, diperlukan uji toksisitas lebih lanjut dari ekstrak etanol daun kemangi dalam bentuk sediaan yang dapat larut lebih sempurna dalam media hidup larva *Artemia salina* Leach dan lebih terstandarisasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Masa Depan Obat Tradisional Indonesia Cerah. [online] 2008 [cited 2009 January 23]. Available from :
<http://teknologitinggi.wordpress.com/2008/08/12/masa-depan-obat-tradisional-indonesia-cerah>.
2. Anonim. Obat Tradisional dan Obat Herbal - Tantangan ke depan Farmasis. [online] 2008 [cited 2009 January 23]. Available from : <http://www.informasi-obat.com/content/view/276/67/>.
3. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
4. Katno, Pramono S. Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional. [online] 2007 [cited 2009 January 23]. Available from:
http://cintaialam.tripod.com/keamanan_obat%20tradisional.pdf.
5. Sari LORK. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian [serial online] 2006 April [cited 2009 January 23]; Vol. III (1): 1-7. Available from : <http://ictcenter-purwodadi.net/pustakamaya/download.php?id=1605>
6. Badan Litbang Kehutanan. Tumbuhan berguna Indonesia. Jilid III. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya; 1987.
7. Syamsuhidayat SS, dan Hutapea JR. Inventaris tanaman obat Indonesia I. Jakarta : Departemen Kesehatan RI; 1991; 420-421.

8. Sudarsono, Gunawan D, Wahyuono S, Donatus IA, Purnomo. Tumbuhan obat II (hasil penelitian, sifat-sifat, dan penggunaannya). Yogyakarta : Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada; 2002.
9. Dattani M. Ocimum sanctum and its therapeutic applications. [online] 2008 [cited 2009 January 14]. Available from:
<http://www.pharmainfo.net/keywords/ocimum-sanctum>.
10. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. [online] 2002 [cited 2009 January 27] Volume 2. Available from:
<http://whqlibdoc.who.int/publications/2002/9241545372.pdf>
11. Syarif A. Perlu bukti khasiat dan keamanan obat bahan alam. Majalah Farmacia [online] 2008 Maret [cited 2009 January 16]; Vol. 7 (8): 70.
Available from : http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/one_news.asp?IDNews=695.
12. Peter AGM. Herbal remedies. N Engl J Med [serial online] 2002 Dec [cited 2009 January 16]; Vol. 347 (25): 2046-2056. Available from :
<http://content.nejm.org/cgi/reprint/347/25/2046.pdf>.
13. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med [serial online] 1982 May [cited 2009 January 22]; 45(5): 31-4.
Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17396775>.
14. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. [online] 2002 [cited 2009 January 27] Volume 2. Available from:
<http://whqlibdoc.who.int/publications/2002/9241545372.pdf>

15. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
16. Anonymous. Sino-vedic anticancer herbs. [online] [cited 2009 January 14]. Available from: <http://www.cancercliniconline.com/treatment/htm>.
17. Anonymous. *Ocimum sanctum* (tulsi). [online] 2005 [cited 2009 January 14]. Available from : <http://www.arjunanatural.com/HTML/tulsiExtract.htm>.
18. Geeta, Vasudevan DM, Kedlaya R, Deepa S, Ballal M. Activity of *ocimum sanctum* (the traditional Indian medicinal plant) against the enteric pathogens. *Indian J Med Sci* [serial online] 2001 [cited 2009 January 14]; 55:434-8. Available from: <http://www.indianjmedsci.org/text.asp?2001/55/8/434/12025>.
19. Prebuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary And Alternative Medicine* [serial online] 2006 [cited 2009 January 27]; 6: 39. Available from : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1693916&blobtype=pdf>.
20. Modak M, Dixit P, Londhe J, Ghaskadbi S, Paul T, Devasagayam. Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J Clin Biochem Nutr* [serial online] 2007 [cited 2009 January 27]; 40: 163-173. Available from : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=2275761&blobtype=pdf>.
21. Ashok DB, Vaidya, Thomas PA, Devasayagayam. Current status of herbal drugs in India: an overview. *J Clin Biochem Nutr* [serial online] 2007 [cited 2009 January 27]; 41: 1-11. Available from :

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=2274994&blobtype=pdf>.

22. Siddique YH, Ara G, Beg T, Afzal. Anti-genotoxic effect of *Ocimum sanctum* L. extract againsts cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured mammalian cells. *Acta Biologica Hungarica* [serial online] 2007 [cited 2009 January 28]; 58 (4): 397-409. Available from :
<http://www.akademai.com/content/k22k202832201750/fulltext.pdf>.
23. Sangar SM, Yance D, Wong RK. Natural health products that inhibit angiogenesis: a potential source for investigational new agents to treat cancer—Part 1. *Current Oncology* [serial online] [cited 2009 January 27]; 13 (1): 14-26. Available from :
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1891166&blobtype=pdf>.
24. Sangar SM, Yance D, Wong RK. Natural health products that inhibit angiogenesis: a potential source for investigational new agents to treat cancer—Part 2. *Current Oncology* [serial online] [cited 2009 January 27]; 13 (1): 14-26. Available from :
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1891180&blobtype=pdf>.
25. Firdayani, Agustini K, Kusumaningrum S. Uji sitotoksisitas ekstrak methanol spongs *Gelliodes fibulatus* terhadap A. salina. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2003; 1 (3): 141-5.

26. Departemen Farmakologi dan Terapeutik. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007.
27. Rice SA, Maness IB. Brine shrimp bioassays: a useful technique in biological investigations. *The American Biology Teacher* [serial online] 2004 [cited 2009 Feb 7]; 66 (3): 208-215. Available from : <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1662/0002-7685%282004%29066%5B0208%3ABSBAUT%5D2.0.CO%3B2>.
28. Colegate SM, Molyneux RJ. Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination. CRC Press [serial online] [cited 2009 Feb 2]; Ed.2. Available from: <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=In8kaHnX5gUC&oi=fnd&pg=PA11&dq=ursolic+acid+artemia+salina+antifeedant&ots=0GQrQov74U&sig=a2yYCjIeuPWsVEpMEPVBeYwkQ24#PPA217,M1>.
29. Chapter 5 : Toxicology Of Plant Materials. [serial online] [cited 2009 Feb 7]. Available from : <http://www.fao.org/dorcep/x2230e/x2230e15.htm>
30. Koul O. Phytochemical and insect control : an antifeedant approach. *Critical Reviews in Plant Sciences* [serial online] 2008 [cited 2009 Feb 7]; 27 (1): 1-24. Available from : <http://www.informaworld.com/smpp/content~content=a793261196~db=all>
31. Satoh K, Ida Y, Sakagami H, Tanaka T, Fujisawa S. Effect of antioxidants on radical intensity and cytotoxic activity of eugenol. *Anticancer Research* [serial online] 1998 [cited 2009 Feb 7]; 18: 1549-52. Available from : <http://www.inist.fr/article29.html>.

32. FU Xiao-Chun ; WANG Min-Wei ; LI Shao-Peng ; YING ZHANG ;
WANG Huai-Liang. Vasodilatation produced by Orientin and its mechanism
study. Biological & pharmaceutical bulletin [serial online] 2005 [cited 2009
Feb 7]; 28: 37-41. Available from : <http://www.inist.fr/html>

Lampiran 1. Analisa Probit

Probit Analysis

Warnings

Relative Median Potency Estimates are not displayed because there is no grouping variable in the model.

Data Information

| | | N of Cases |
|---------------|--|------------|
| Valid | | 5 |
| Rejected | Missing | 0 |
| | Number of Responses > Number of Subjects | 0 |
| Control Group | | 1 |

Convergence Information

| | Number of Iterations | Optimal Solution Found |
|--------|----------------------|------------------------|
| PROBIT | 13 | Yes |

Parameter Estimates

| Parameter | Estimate | Std. Error | Z | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---------------------------------|----------|------------|--------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT ^a Konsentrasi | .000 | .000 | 4.191 | .000 | .000 | .000 |
| Intercept | -1.748 | .380 | -4.600 | .000 | -2.128 | -1.368 |

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX

Chi-Square Tests

| | | Chi-Square | df ^a | Sig. |
|--------|------------------------------|------------|-----------------|-------------------|
| PROBIT | Pearson Goodness-of-Fit Test | .676 | 3 | .879 ^b |

- a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.
- b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

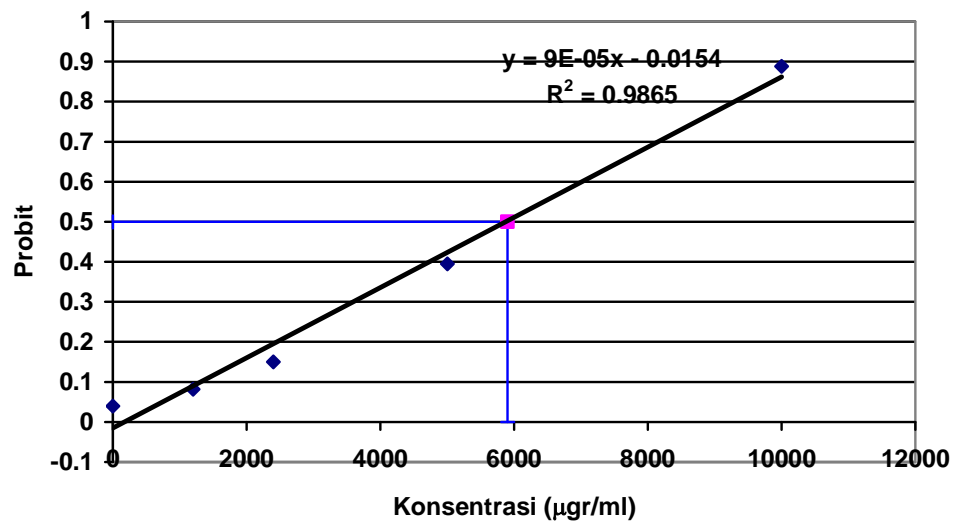
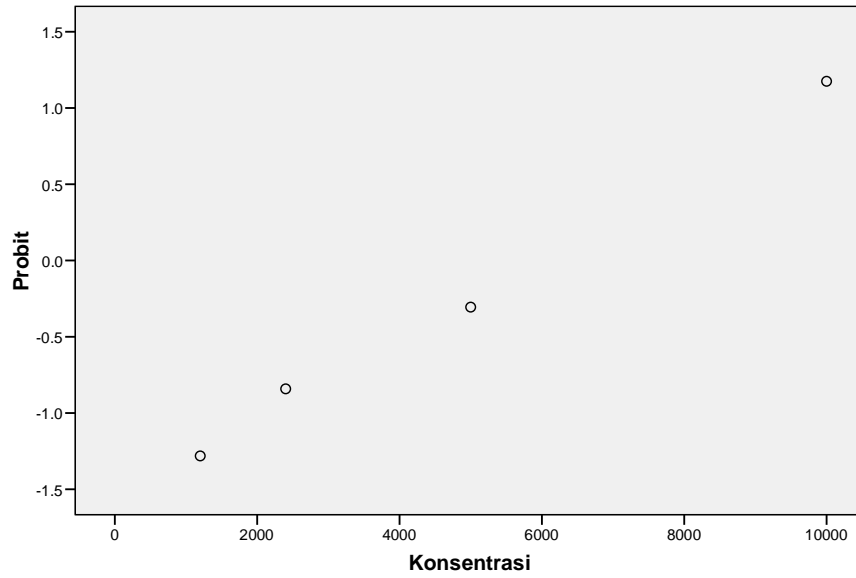
Cell Counts and Residuals

| | Number | Konsentrasi | Number of Subjects | Observed Responses | Expected Responses | Residual | Probability |
|--------|--------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|-------------|
| PROBIT | 1 | .000 | 10 | 0 | .402 | -.402 | .040 |
| | 2 | 1200.000 | 10 | 1 | .818 | .182 | .082 |
| | 3 | 2400.000 | 10 | 2 | 1.498 | .502 | .150 |
| | 4 | 5000.000 | 10 | 4 | 3.947 | -.147 | .395 |
| | 5 | 10000.000 | 10 | 9 | 8.876 | -.076 | .888 |

Confidence Limits

| Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi | | |
|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|
| | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT .010 | -1951.252 | -7813.819 | 412.323 |
| .020 | -1031.038 | -6142.281 | 1096.396 |
| .030 | -447.192 | -5091.082 | 1539.756 |
| .040 | -7.987 | -4306.654 | 1879.627 |
| .050 | 349.272 | -3673.569 | 2161.072 |
| .060 | 653.356 | -3138.928 | 2404.840 |
| .070 | 919.978 | -2673.877 | 2622.301 |
| .080 | 1158.706 | -2260.869 | 2820.401 |
| .090 | 1375.820 | -1888.407 | 3003.718 |
| .100 | 1575.673 | -1548.530 | 3175.436 |
| .150 | 2403.120 | -179.251 | 3924.298 |
| .200 | 3060.749 | 851.042 | 4577.436 |
| .250 | 3624.936 | 1679.909 | 5192.803 |
| .300 | 4131.593 | 2372.386 | 5797.292 |
| .350 | 4601.086 | 2966.663 | 6404.848 |
| .400 | 5046.589 | 3488.780 | 7023.153 |
| .450 | 5477.619 | 3958.184 | 7657.120 |
| .500 | 5901.815 | 4390.137 | 8311.045 |
| .550 | 6326.011 | 4797.065 | 8989.995 |
| .600 | 6757.040 | 5189.575 | 9700.856 |
| .650 | 7202.543 | 5577.428 | 10453.424 |
| .700 | 7672.037 | 5970.637 | 11262.048 |
| .750 | 8178.694 | 6380.998 | 12148.654 |
| .800 | 8742.881 | 6824.802 | 13149.084 |
| .850 | 9400.509 | 7328.890 | 14328.427 |
| .900 | 10227.956 | 7948.350 | 15827.107 |
| .910 | 10427.810 | 8096.040 | 16191.013 |
| .920 | 10644.924 | 8255.771 | 16587.060 |
| .930 | 10883.652 | 8430.618 | 17023.322 |
| .940 | 11150.274 | 8625.007 | 17511.445 |
| .950 | 11454.357 | 8845.676 | 18069.185 |
| .960 | 11811.617 | 9103.679 | 18725.712 |
| .970 | 12250.822 | 9419.229 | 19534.461 |
| .980 | 12834.668 | 9836.311 | 20611.938 |
| .990 | 13754.882 | 10489.185 | 22314.675 |

Probit Transformed Responses



Lampiran 2. Analisa Regresi

Regression

Variables Entered/Removed^a

| Model | Variables Entered | Variables Removed | Method |
|-------|-------------------|-------------------|--------|
| 1 | Konsentrasi | . | Enter |

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: Probability

Model Summary

| Model | R | R Square | Adjusted R Square | Std. Error of the Estimate |
|-------|-------------------|----------|-------------------|----------------------------|
| 1 | .993 ^a | .9865 | .982 | .047078 |

- a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

ANOVA^b

| Model | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------|------------|----------------|----|-------------|---------|-------------------|
| 1 | Regression | .485 | 1 | .485 | 218.888 | .001 ^a |
| | Residual | .007 | 3 | .002 | | |
| | Total | .492 | 4 | | | |

- a. Predictors: (Constant), Konsentrasi
b. Dependent Variable: Probability

Coefficients^a

| Model | | Unstandardized Coefficients | | Standardized Coefficients | t | Sig. |
|-------|-------------|-----------------------------|------------|---------------------------|--------|------|
| | | B | Std. Error | Beta | | |
| 1 | (Constant) | -.0154 | .030 | | -.506 | .648 |
| | Konsentrasi | 9E-005 | .000 | .993 | 14.795 | .001 |

- a. Dependent Variable: Probability

Lampiran 3. Surat Keterangan Identifikasi Simplisia



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI
Alamat: Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229

Semarang, 15 JUNI 2009

No. : 358/H.37.1.4.5/PP/2009
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada Yth.
Sdr. ANINDITA ROSENDA – NIM. G2A.005016
Mahasiswa Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro
Semarang

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi-FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES), adalah sebagai berikut.

Divisio : Magnoliophyta
Classis : Magnoliopsida
SubClassis : Asteridae
Ordo : Lamiales
Familia : Lamiaceae
Genus : Ocimum
Species : *Ocimum basilicum* L. forma *citratum* Back.

Vern. name : Kemangi

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi



Dra. Aditya Marianti, M.Si.
NIP. 132 046 851

Kepala Lab. Biologi

Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si.
NIP. 131 909 216

Lampiran 4. Surat Keterangan Identifikasi Air Laut



DEPARTEMEN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PENGAWASAN DAN PENGENDALIAN
SUMBERDAYA KELAUTAN DAN PERIKANAN
**SATUAN KERJA PENGAWASAN SUMBERDAYA
KELAUTAN DAN PERIKANAN PEKALONGAN**

Alamat : Kawasan Industri Pelabuhan Perikanan Nusantara Pekalongan
Jl. Sekuning 2 Telp. / Fac. (0285) 7938789 Krapyak Lor, Pekalongan 51149
e-mail : p2sdkp.pki@gmail.com

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa hasil Identifikasi bahan uji / sampling
oleh :

N a m a : ANINDITA ROSENDA EKA HENDRAWATI
NIM : G2A005016

Dari hasil verifikasi laboratorium di PPN Pekalongan adalah air laut.

Pekalongan, Juni 2009

An. Ka. Satker PSDKP
Pengawas Ahli bidang Mutu hasil Perikanan



PURWADI, S.Pi
Nip. 19710213 199103 1 002