

UJI AKTIVITAS ANTIMUTAGENIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*OCIMUM BASILICUM* L.) TERHADAP MENCIT DENGAN MENGGUNAKAN METODE MIKRONUKLEUS ASSAY

Rahmawati dan Tabran

Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur, Makassar.

ABSTRAK

Kanker merupakan penyebab kematian utama di berbagai belahan dunia. Kanker dapat terjadi akibat adanya mutasi gen. Penyakit ini ditandai dengan adanya kerusakan dan ketidaknormalan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel yang mengakibatkan timbulnya mutasi genetik yang sangat potensial menghasilkan sel kanker. Salah satu bahan alam yang dikembangkan sebagai antimutagenik karena kandungan kimia yang dimilikinya adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antimutagenik ekstrak etanol daun kemangi terhadap mencit (*Mus musculus* L.) dengan menggunakan metode uji mikronukleus.

Serbuk daun kemangi dimaserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak etanol daun kemangi selanjutnya dibuat dalam bentuk suspensi dengan dosis 50 mg/kgBB, 100mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Uji antimutagenik dilakukan dengan metode uji mikronukleus (MN) dengan melihat penurunan jumlah mikronukleus pada 200 sel eritrosit polikromatik (PCE) sumsum tulang paha mencit yang telah diinduksi larutan siklofosamid 50 mg/kgBB.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan dosis 50 mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB yang diberikan selama 7 hari secara oral mampu menurunkan jumlah persentase sel eritrosit polikromatik (PCE) yang bermikronukleus yang diamati melalui preparat apusan sumsum tulang paha mencit. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan dosis 200 mg/kgBB ($7,33 \pm 2,88$) menurunkan jumlah sel mikronukleus lebih banyak dibandingkan dengan dosis 50 mg/kgBB ($43 \pm 19,95$) dan 100 mg/kgBB ($26,33 \pm 3,21$).

Kata Kunci: Antimutagenik, Ekstrak etanol daun kemangi, dan Mikronukleus (MN)

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama dengan jumlah penderita yang terus bertambah setiap tahun. *Union for International Cancer Control* (UICC) memperkirakan peningkatan kasus kanker per tahun mencapai seratus kasus baru dari seratus ribu penduduk di dunia, termasuk Indonesia (UICC,2012). Di Indonesia kanker telah merupakan masalah kesehatan masyarakat yang besar, yang perlu ditanggulangi secara menyeluruh, terpadu, efektif efisien, ekonomis dan manusiawi. Kanker dapat menyerang seluruh lapisan masyarakat, walaupun yang terbanyak pada manusia usia lanjut.

Kanker dapat terjadi akibat adanya mutasi gen. Penyakit ini ditandai dengan

adanya kerusakan dan ketidaknormalan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel yang mengakibatkan timbulnya mutasi genetik yang sangat potensial menghasilkan sel kanker. Terjadinya penyakit ini dapat diinduksi oleh faktor lingkungan yang disebut faktor karsinogen. Zat karsinogen dapat berasal dari bahan alam maupun dari hasil sintesis (Tortora dkk, 2001:226).

Uji antimutagenik dilakukan untuk mengetahui adanya kemungkinan senyawa yang mempunyai sifat antimutagen. Serangkaian uji antimutagenik dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu secara *in vivo* dan secara *in vitro*. Salah satu metode uji antimutagenik sitogenetika secara *in vivo* adalah dengan metode uji mikronukleus. Uji mikronukleus merupakan suatu metode pemeriksaan yang secara luas digunakan untuk mendeteksi efek genotoksik dalam waktu singkat (Saleh, 2010). Hal tersebut karena uji mikronukleus memiliki prosedur yang lebih sederhana, dapat dilakukan oleh siapa saja, dan lebih cepat dibandingkan dengan metode lainnya (Fenech, 1997; Kamboj & Sumita 2007).

Pengobatan kanker secara medis dilakukan dengan terapi penyinaran, pembedahan, dan kemoterapi (Calabresi, 2001). Obat antikanker yang ideal seharusnya dapat menghabiskan sel kanker tanpa membahayakan jaringan sehat. Namun sampai sekarang belum ditemukan obat yang memenuhi kriteria demikian (Fahmi, U. 1993). Salah satu metode pengobatan kanker yang masih terus dikembangkan adalah penggunaan agen antikanker dari bahan alam. Penggunaan bahan alam lebih aman, karena efek sampingnya yang relatif kecil jika digunakan dengan benar dan tepat.

Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antimutagenik adalah kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Kemangi merupakan tanaman yang banyak mengandung senyawa gizi maupun non gizi seperti minyak-minyak essensial yang berkhasiat. Banyak penelitian mengenai kemangi sudah pernah dilakukan, beberapa penelitian tersebut menunjukkan kemangi memiliki aktifitas antifungi (Baly, 2009), antibakteri (Yuhana *et al*, 2011), antipiretik (Sutrisna, 2009), antioksidan, analgesik dan hepatoprotektor (Singh *et al.*, 2007), hingga Antiinflamasi (Chattopadhyay *et al*, 1994). Kemangi juga memiliki aktivitas antikanker berdasarkan penelitian Dasgupta, Rao & Yadava, 2004 yaitu dosis kemangi 150-300 mg/kgBB mampu menurunkan DMBA sebagai penginduksi karsinogen pada tumor kulit sebesar 12,5% pengurangan pada dosis rendah dan 18,75% pada dosis tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu Air suling, aluminium foil, dapar fosfat, ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.), entelan, etanol 96 %, gabus , kain kasa, metanol, minyak emersi, Natrium karboksil metil selulosa (Na CMC) (teknis), NaCl 0,9%, pewarna giemsa, pewarna May-Gruenwald, Siklofosamid® (Kalbe Farma), serum darah sapi segar (serum bovine albumin (Erybank®), xilol.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi batang pengaduk, blender (National), botol kaca kecil (vial), deck glass, gelas kimia (Pyrex[®]), gelas piala (Pyrex[®]), gelas untuk pewarna, gunting bedah, labu tentukur (Pyrex[®]), objek glass, Optic lab mikroskop connector, seperangkat alat maserasi, sendok tanduk, stirrer, stopwatch, timbangan analitik OHAUS (Camry[®]), objek glass, pentul, pipet tetes, spoit 1 ml, spoit 20 ml, kanula (sonde), pisau bedah, pinset, mikroskop (Olympus[®]), mikrotube, sentrifuge. Timbangan hewan.

Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan galur Bulb/c yang diperoleh dari Peternakan mencit di Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini menggunakan 3 ekor mencit putih jantan untuk tiap kelompok.

Pengambilan Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan secara purposif, yaitu tanpa membandingkan dengan daerah lain. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diperoleh dari pasar induk Terong Makassar.

Ekstraksi Daun Kemangi

Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang dikumpulkan dipisahkan dari tangkainya lalu dicuci bersih menggunakan air yang mengalir kemudian dikeringkan (simplisia kering). Simplisia kering dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia (Depkes RI, 2011).

Serbuk simplisia ditimbang kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol sampai terendam sempurna selama 5 x 24 jam dalam botol kaca tertutup baik dan terlindung cahaya sambil sekali-kali diaduk. Hasil perendaman ini disaring dan diuapkan dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dan ekstrak ditimbang.

Uji Aktivitas Antimutagenik

a. Penyiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah mencit dengan berat 20-30 g dibagi 5 kelompok dimana setiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.

b. Penyiapan Suspensi NaCMC 1%

Pembuatan suspensi NaCMC 1% (b/v) dengan cara ditimbang NaCMC sebanyak 1 gram. NaCMC lalu dilarutkan dengan 50 ml air hangat sambil diaduk menggunakan stirrer hingga tercampur rata. Kemudian dicukupkan hingga 100 ml lalu diaduk hingga homogen. Setelah itu dimasukkan ke dalam wadah tertutup.

c. Penyiapan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

Ekstrak etanol daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) untuk dosis 50mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dibuat dengan cara ekstrak dikonversi untuk berat mencit standar 20 g sehingga masing-masing diperoleh 1 mg, 2 mg dan 4 mg. Selanjutnya dibuat suspensi, penyiapan suspensi ekstrak ini dibuat berlebih berdasarkan volume

pemberian untuk berat mencit maksimal selama 7 hari.

d. Penyiapan Larutan Siklofosfamid 50 mg/kgBB

Pembuatan larutan siklofosfamid 50 mg/kgBB dilakukan dengan cara sebagai berikut: ditimbang sebanyak 1 mg/20 gBB (dihitung berdasarkan perhitungan berat badan mencit yang diketahui dibagi dengan berat mencit standar lalu dikali dengan berat serbuk yang ditimbang) lalu obat siklofosfamid kemudian disuspensikan dalam 1 ml larutan fisiologis [NaCl 0,9% (b/v)] labu tentukur dan diaduk hingga homogen. Penyiapan larutan siklofosfamid ini dibuat berlebih berdasarkan volume pemberian perberat mencit maksimal.

e. Pengujian Antimutagenik

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 3 ekor hewan percobaan. Kelompok tersebut adalah:

- 1) Kelompok I : Kontrol negatif, kelompok mencit yang diberikan larutan suspensi CMC 1% (1 ml/30 gBB) selama 7 hari secara oral.
- 2) Kelompok II : Kontrol positif, kelompok mencit yang diinduksikan larutan siklofosfamid dengan dosis 50 mg/kg BB (i.p) pada hari pertama, kemudian setelah 30 jam diberikan larutan suspensi CMC 1% (vol. 1 ml/30 gBB) secara oral setiap hari hingga hari ke 7.
- 3) Kelompok III : Kelompok mencit yang diinduksikan larutan siklofosfamid 50 mg/kg BB pada hari pertama. Setelah 30 jam, diberikan larutan suspensi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan dosis 50mg/kg BB (1 ml/30 gBB) secara peroral setiap hari hingga hari ke 7.
- 4) Kelompok IV : Kelompok mencit yang diinduksikan larutan siklofosfamid 50 mg/kgBB pada hari pertama. Setelah 30 jam, diberikan larutan suspensi ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB (1 ml/30 gBB) secara peroral setiap hari hingga hari ke 7.
- 5) Kelompok V :Kelompok mencit yang diinduksikan larutan siklofosfamid 50 mg/kg BB pada hari pertama. Setelah 30 jam, diberikan larutan suspensi ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 200mg/kgBB (1 ml/30 gBB) secara peroral setiap hari hingga hari ke 7.

Pada hari ke-8, hewan dibunuh dengan cara dislokasi leher kemudian dibedah dan tulang femurnya diambil dan dibersihkan Ujung proksimal tulang dipotong dan diambil sumsum tulang femurnya menggunakan spoit yang berisi serum bovine sebanyak 0,1 ml dengan dapar fosfat (1:1 v/v) dengan cara jarum suntik dimasukkan ke dalam saluran sumsum tulang yang terbuka lalu cairan sumsum disedot perlahan, syringe kemudian disempritkan agar cairan sumsum bercampur dengan serum bovine dan dapar fosfat lalu ditampung di dalam mikrotube.

f. Pembuatan Preparat Hapusan Sumsum Tulang Femur

Pembuatan preparat hapusan tulang femur mencit dilakukan menurut Metode Busk (1984) dan Compliance (2007). Campuran sumsum tulang dan serum bovine-dapar

fosfat (1:1 v/v) dalam mikrotube disentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit, kemudian supernatannya dibuang. Endapannya disuspensikan kembali dengan 2 tetes serum bovine-dapar fosfat (1:1 v/v). Kemudian satu tetes suspensi sel diambil dan diletakkan di atas slide dan dengan menggunakan slide yang lain ditarik berlawanan arah membentuk sudut 45° sehingga terbentuk lapisan yang tipis. Kemudian slide dikeringkan anginkan, difiksasi dengan metanol selama 3 menit. Preparat kemudian dimasukkan kedalam gelas yang telah diisi pewarna May-Gruenwald. Pewarnaan tersebut dilakukan selama 3 menit. Selanjutnya preparat direndam kembali ke dalam pewarna May-Gruenwald yang telah diencerkan dengan aquades dengan perbandingan 1:1 selama 2 menit, preparat kemudian dicuci dengan aquades sebanyak 2 kali. Tahap selanjutnya preparat direndam ke dalam gelas yang sudah diisi larutan pewarna giemsa yang telah dicampur dengan dapar fosfat dengan perbandingan 1 : 23 selama 10 menit. Preparat dicuci dengan aquades kemudian dikeringkanginkan. Selanjutnya preparat dicelupkan ke dalam gelas yang diisi larutan xilol selama 10 menit kemudian dibilas dengan aquades. Dikeringkanginkan, diberi entelan lalu ditutup dengan deck glass dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 × 100 dengan bantuan minyak immersi. Jumlah sel mikronukleus dalam 200 sel dihitung.

g. Teknik Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan program SPSS 20. Untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antimutagenik pada tiap perlakuan dilakukan uji ANAVA satu arah. Jika terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* 5% untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan. Berdasarkan nilai signifikansi, $p < 0,05$ dianggap signifikan.

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan menguji antimutagenik ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) pada sel eritrosit sumsum tulang paha mencit dengan menggunakan metode uji mikronukleus, didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Rerata Jumlah Mikronukleus Per 200 PEC pada sumsum tulang femur mencit selama 7 hari perlakuan

Klp	Perlakuan	Jumlah mikronukleus dalam 200 sel eritrosit polikromatik			Tota	Rata-rata ± SI	Persentase Penurunan Mikronukleus
		Mencit 1	Mencit 2	Mencit 3			
1.	KK-	0	1	0	1	0,33 ± 0,57	99,78%
2.	KK+	154	155	142	451	150,33 ± 7,23	0,00%
3.	KP1	66	30	33	129	43 ± 19,95	77,17%
4.	KP2	25	30	24	79	26,33 ± 3,21	84,48%

5.	KP3	9	9	4	22	7,33 ± 2,88	95,124%
----	-----	---	---	---	----	-------------	----------------

Keterangan :

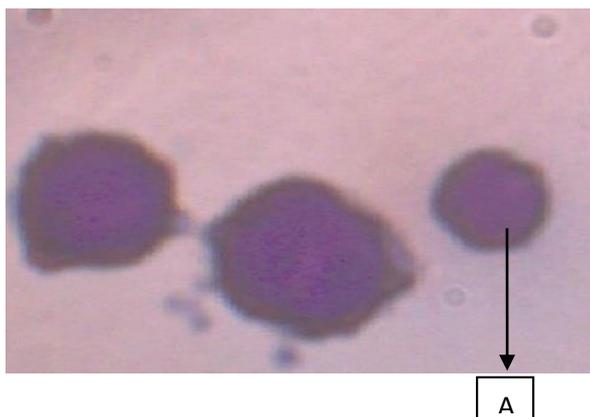
KK- = NaCMC 1%

KK+ = NaCMC 1% + Siklofosfamida dosis 50 mg/kgBB

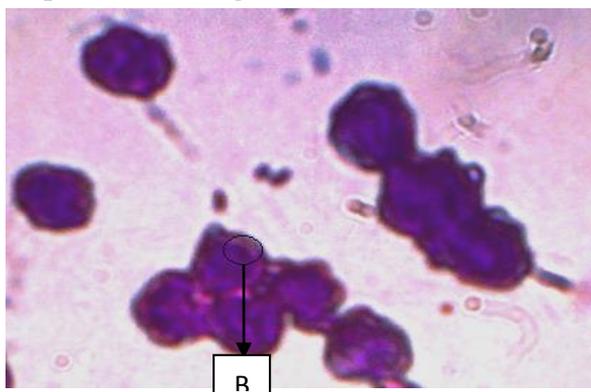
KP1 = Siklofosfamida 50 mg/kgBB + Ekstrak Etanol Kemangi 50 mg/kgBB

KP2 = Siklofosfamida 50 mg/kgBB + Ekstrak Etanol Kemangi 100 mg/kgBB

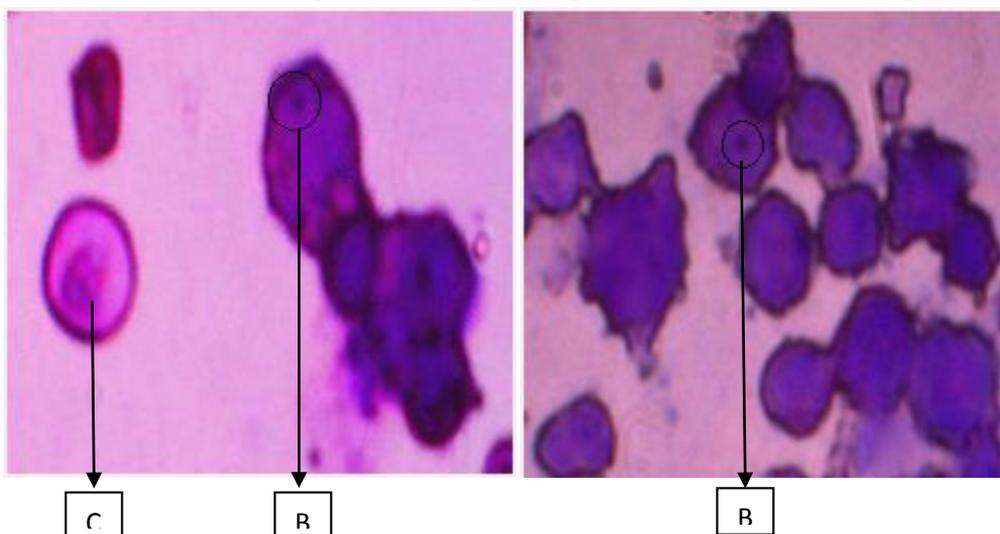
KP3 = Siklofosfamida 50 mg/kgBB + Ekstrak Etanol Kemangi 200 mg/kgBB



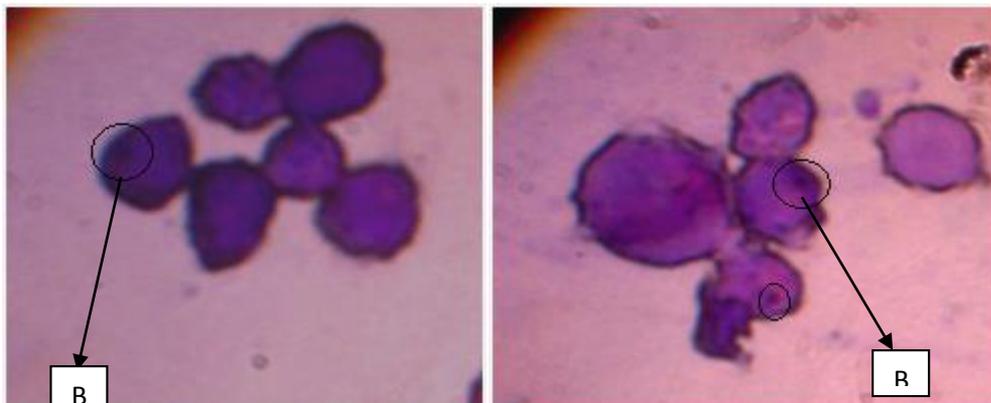
Gambar 1. Kelompok kontrol negatif (Pembesaran 1000x + 5x optical zoom)



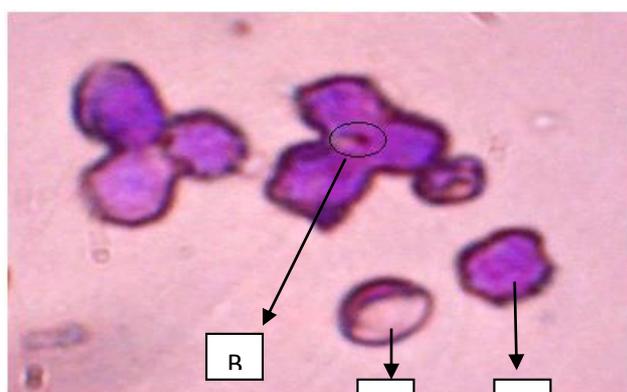
Gambar 2. Kelompok kontrol positif (pembesaran 1000x + 5x optical zoom)



Gambar 3. kelompok ekstrak kemangi 50 mg/kgBB (Pembesaran 1000x + 5x optical zoom)



Gambar 4. kelompok ekstrak kemangi 100 mg/kgBB (Pembesaran 1000x + 5x optical zoom)



Gambar 5. Kelompok ekstrak kemangi 200 mg/kgBB (Pembesaran 1000x + 5x optical zoom)

- Keterangan :
- a = Sel Normal
 - b = Sel bermikronukleus
 - c = Sel NCE (Eritrosit normokromatik)
 - d = Sel PCE (Eritrosit polikromatik)

PEMBAHASAN

Mutasi merupakan perubahan yang terjadi pada gen atau pada kromosom. Mutasi dapat dikaitkan dengan timbulnya berbagai kelainan. Selain dapat terjadi secara spontan, mutasi juga dapat diinduksi oleh berbagai factor, misalnya seperti radiasi, senyawa kimia tertentu, dan virus. Faktor-faktor penginduksi mutasi dikenal dengan istilah mutagen (Purwadiwa dkk, 2000:18).

Salah satu indikator terjadinya mutasi yaitu adanya mikronukleus. Mikronukleus merupakan hasil mutasi dari kromosom utuh yang patah kemudian tampak sebagai nukleus yang berukuran kecil di dalam suatu sel. Mikronukleus mudah diamati pada sel polikromatik eritrosit. Jumlah sel eritrosit polikromatik bermikronukleus menunjukkan tingkat kerusakan genetic dalam system eritropoitik suatu makhluk hidup (Schmid D,

1975:31).

Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah mikronukleus tertinggi terdapat pada KK+ sebesar 150,33 lalu berturut-turut KP1, KP2 dan KP3. Hal tersebut sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa siklofosfamida termasuk karsinogen golongan satu dalam menyebabkan kanker tidak hanya pada manusia tapi juga pada hewan uji.

Siklofosfamida merupakan agen alkilasi yang merupakan antikanker yang mempunyai kemampuan mengikat gugus alkil secara kovalen dengan gugus lain dalam berbagai siklus atau bekerja dengan tidak spesifik (Avendanõ & Menéndez, 2008). Siklofosfamid tidak secara langsung memberikan efek sitotoksik tapi diaktifkan dulu oleh enzim mikrosomal. Tempat alkilasi utama di dalam DNA posisi N⁷ guanin.

Sifat mutagenitas dan karsinogenisitas siklofosfamid tersebut muncul sebagai akibat dari alkilasi posisi tertentu pada basa nitrogen, khususnya posisi yang terlibat dalam ikatan hydrogen pada waktu penyusunan kelengkapan pasangan basa Watson-crick seperti O⁶-guanin, dan O⁴-timin, menyebabkan kesalahan pemasangan basa komplemen pada proses replikasi DNA. Akibatnya terjadi mutasi titik (mutagenesis) yang jika terakumulasi akan menyebabkan kanker (karsinogenesis) (Lyngdoh, 1994).

Tabel hasil penelitian memperlihatkan pada KK- memiliki rerata jumlah mikronukleus sebesar 0,33, hal ini tidak menunjukkan bahwa pada Na-CMC bersifat mutagenik karena terdapat 1 sel mikronukleus MNPEC. Maidona (2003), disebutkan bahwa pengamatan sampai 2000 PEC hanya mampu mendeteksi 1-2 mikronukleus pada kelompok kontrol negatif. Proses ini terjadi secara alamiah bukan karena adanya mutagen atau pun zat yang bersifat karsinogen.

Berdasarkan Uji linier RAL dan Analisis Ragam (ANOVA) satu arah diperoleh nilai f_h sebesar 119,25 lebih besar daripada f_t tabel 3,40-5,99 atau $f_h > f_t$ yang menunjukkan adanya perbedaan dalam kelima kelompok perlakuan. Selain itu terlihat adanya penurunan jumlah mikronukleus pada kelompok perlakuan (KP1, KP2 dan KP3) dibandingkan KK+. Dengan demikian pemberian ekstrak etanol daun Kemangi dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB mampu menurunkan jumlah mikronukleus.

Hasil penghitungan uji mikronukleus menunjukkan bahwa persentase penurunan jumlah mikronukleus per 200 sel PCE yang dibandingkan dengan KK+ pada KP1, KP2 dan KP3 secara berurutan yaitu 71,17%, 84,48% dan 95,12%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol kemangi berbanding lurus dengan penurunan jumlah mikronukleus.

Pada hasil perhitungan koefisien keragaman (KK) didapatkan nilai lebih dari 10% yakni 21,27% dalam literature disebutkan bila KK antara >10% maka uji lanjut yang digunakan sebaiknya uji Duncan's (DMRT). Pada perhitungan uji Duncan's (DMRT) hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan kecuali KK- dengan KP3, KP1 dengan KP2 yang menunjukkan tidak ada

perbedaan yang nyata dengan demikian untuk menentukan mana kelompok perlakuan yang terbaik tentu kelompok perlakuan yang paling mendekati dengan kontrol negatif (KK-) dalam hal ini KP3. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan dosis tanaman dari marga yang sama namun jenis yang berbeda yakni *Ocimum sanctum* pada dosis 400 – 800 mg/kg (p.o) juga mampu menurunkan jumlah mikronukleus yang berbanding lurus dengan kenaikan dosis (Benerjee et al., 1996). Kemampuan kemangi dalam menurunkan jumlah mikronukleus yang menjadi parameter penyebab kanker di duga kuat berasal dari kandungan yang dimilikinya. Eugenol dan Flavanoid yang larut dalam air (orientin dan vicenin) mempunyai efek antioksidan, membersihkan radikal bebas dan mencegah pertumbuhan dan penyebaran kanker dengan cara memblok suplai oksigen dan nutrien (Siddique, et al, 2009). Namun yang tidak kalah pentingnya kandungan non gizi berupa minyak-minyak essensial antara lain monoterpenes, monoterpenoids, sesquiterpen juga diduga kuat sebagai zat yang bersifat antimutagenik dan karsinogenik seperti linalool, β -myrcene dan 1,8-cineole. Penelitian Stajkovic, et al (2007) memperlihatkan bagaimana senyawa-senyawa tersebut mampu menurunkan persentasi mutagen akibat induksi UVC dan beberapa bahan kimia lainnya seperti benzo[a]pyrene dan 2-nitropropane (2-NP).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memiliki aktivitas antimutagenik ditandai dengan semakin tingginya dosis ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan pada sel eritrosit sumsum tulang paha mencit yang telah diinduksi siklofosfamida maka semakin meningkatnya persentase penurunan sel mikronukleus PCE.

DAFTAR PUSTAKA

- Avendanõ, C., & Menéndez, J.C. 2008. Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs. Oxford: Elsevier.
- Baly, Rosita., 2009. Uji Aktifitas Antifungi Fraksi Etanol Infusa Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L. f. *citratum* Back.) terhadap *Candida albicans* dan *Trychophyton mentagrophytes* Serta Profil kromatografinya. Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Benerjee, S., Prashar, R., Kumar, A & Rao A.R, 1996. Modulatory Influence of Alcoholic Extract of *Ocimum* Leaves on Carcinogen-Metabolizing enzyme Activities and Reduced Gluthatione level in Mouse. *In Nutr Cancer*, 25: 205-217.
- Busk, L., B. Sjostrom and U. G. Ahlborg., 1984. Effect of Vitamin A on Cyclophosamida Mutagenicity In vitro (Ames Test) and in vivo (Mouse Micronucleus Test), *Fd. Chem, Toxic*, 22.
- Calabresi, P. and B. A. Chabner, 2001. Chemotherapy of Neoplastic Diseases *in*

- Goodman, L. S. and A. Gilman, *The Pharmacological Basic of Therapeutics*, 10th Edition, The Mc Graw-Hill Companies Inc., New York.
- Chattopadhyay, R.R., Sarkar, S.K., Ganguly, S. and Basu, T.K. 1994. A Comparative Evaluation of Some Anti-Inflammatory Agent of Plant Origin. *Fitoterapia*, LXV. 146 – 148.
- Compliance Resource Centre, 2007. In Vivo Mammalian Bone Marrow Cytogenics Test: Micronucleus Assay. In Alen, Y et al. *Uji Efek Antikanker Ekstrak Etanol Daun Akar Lambuang (Merremia peltata (L.) Merr.) Pada Mencit Putih Jantan Dengan Metode Mikronucleus Assay*. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Surabaya.
- Dasgupta T, Rao A.R, Yadava P.K., 2004. Chemomodulatory efficacy of basil leaf (*Ocimum basilicum*) on drug metabolizing and antioxidant enzymes, and on carcinogen-induced skin and forestomach papillomagenesis. *Phytomedicine*;11:139–51. [Pubmed]
- Didi Jauhari Purwadiwarsa, Anas Subarnas, Cucu Hadiansyah, Supriyatna. 2000. Aktivitas Antimutagenik dan Antioksidan Daun Puspa (*Schima wallichii kort*). *Cermin Dunia Kedokteran* no. 127.
- Fahmi, U., S. Syamsudin dan N. Akbar, 1993. Perilaku Hidup Sehat Mengurangi Resiko Kanker, *Proceeding* : 16 thn Yayasan Kanker Indonesia, Jakarta.
- Fenech, M. 2007. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols* 2(5): 1084-1104.
- Kamboj, M., & S. Mahajan. 2006. Micronucleus an upcoming marker of genotoxic damage. *Clinal Oral Investigations* 11: 121 – 126.
- Lyngdoh, D. 1994. Mutagenic Role of Watson-Crick Protons in alkylated DNA Bases: A Theoretical Study. *J. Biosci.* 19 (2): 131.
- Maidona, S. 2003. Telaah mutagenik infus rimpang kencur (*Kaempferia galanga L.*) melalui uji mikronukleus pada sumsum tulang mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur DDY. Skripsi tidak diterbitkan. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Saleh J., Ahmad K. (2010). Clastogenic Studies on Tandaha Dam water in Asser. J. Black Sea/ Mediterranean Environment. Vol. 16(1). Hlm 33.
- Schmid, W. 1975. The Micronucleus Test. *Mutation Res.*
- Siddique YH, Ara G, Beg T, Afzal. 2007. Antogenotoxic Effect of *Ocimum sanctum L.* Extract Againsts Cyproterone Acetate Induced Genotoxic damage in Cultured Mammalian Cells. *Acta Biologica Hungarica* [serial online] cited 2009 january 28; 58(4): 397-409. Available from : <http://www.akademai.com/content/k22k20282201750/fulltext.pdf>.
- Singh, S., Taneja, M, and Majundar DK., 2007. Biological Activities of *Ocimum Sanctum L.* fixed oil an Overview. *Indian J. Exp. Biol.* 45(5): 403 - 412.
- Stajkovic, O., Beric-Bjedov T, Mitic-Culafic D, Stankovic-Gracic B, Simic D, Knezevic-Vukcevic J., 2007. Antimutagenic Properties of Basil (*Ocimum*

- basilicum L.) in *Salmonella typhimurium* TA₁₀₀. Fakultas Biologi, Universitas Belgrade, Serbia. *In Food Technol. Biotechnol.* 45 (2) : 213-217.
- Sutrisna, EM., dkk. 2009. Potensi Antipiretik Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dan Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L) D.C). Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo. *In Pharmacon*, Vol. 10 No 2. (64-69).
- Tortora, Funke, and Case .2001. *Microbiology and Introduction* 7th Edition. New York: an imprint of Adisson Wesley Longman, Inc.
- Yuhana, S. A, Kusdarwati. R, Meles. D. K., 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus iniae* Secara In Vitro. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya.