

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiah, AD.A. (2018). *Uji aktivitas minyak cengkeh (oleum caryophylli) terhadap peroksidasi lipid darah tikus (Rattus norvegicus) yang diinduksi isoniazid-rifampisin*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Balls, M. James B. Jacqueline. (1995). *Animals and Alternatives in Toxicology*. Great Britain at the University Press. Cambridge.
- BPOM RI. (2014). Pedoman Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo.
- Brater, D.C. (1998). Diuretic Theraphy. *The New England Journal of medicine*.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., Ornston, L.N., Jawetz, Melnick & Adelberg. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran* (terjemahan), Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Bustaman, Sjahrul. (2011). *Potensi Pengembangan Minyak Daun Cengkih Sebagai Komoditas Ekspor Maluku*. Bogor: Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian.
- Clarke, E.G.C. and Myra L. Clarke. (1975). *Veterinary Toxicology*. Bailliere Tindall. London.
- Dehghani, F., Heshmatpour, A., Panjehshahin, M.R. and Khozani, T.T. (2012). Toxic effects of water/ alcoholic extract of *Syzygium aromaticum* on sperm quality, sex hormones and reproductive tissues in male mouse. *IUFS J Biology* 71 (2): 95 – 102.
- Djabir YY, Sumarheni, Aminullah, Mufidah, Yusuf PM, and Febrianty MA. (2020). *Clove oil (oleum caryophylli) effects on liver and renal function biomarkers in rats treated with toxic dose of isoniazid-rifampicin in 4th International Conference on Science*. Makassar, Indonesia.
- Dibazar S P, Fateh S, Daneshmandi S. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*) ingredients affect lymphocyte subtypes expansion and cytokine profile responses: an in vitro evaluation. *Food and drug analysis*.


- Donatus I.A., (2001). *Toksikologi dasar*. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- El-Hadary, A.E., Hassanien, M.F.R, (2015) 'Hepatoprotective peffect of cold- pressed Oleum caryophylli oil against carbon tetrachloride (CCl₄)- induced hepatotoxicity in rats', *Pharmaceutical Biology*, vol. 54.
- Fadli, M.Y.,. (2015). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbes* (lour.) merr) Terhadap Gambaran Histopatologi Lambung pada Tikus Galur Sprague dawley. *Skripsi*. Fakultas kedokteran Universitas Lampung.
- Fonsart J, Menet M-C, Declèves X, Galons H, Créte D, Debray M, et al. (2008). Sprague–dawley rats display metabolism-mediated sex differences in the acute toxicity of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (mdma, ecstasy). *Toxicology and Applied Pharmacology*;230(1):117-125.
- Ganong, W. F. (2003). *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Hajar F, Taleb M, Aoun B, and Shatila A. (2011). Dipstick urine analysis screening among asymptomatic school children. *North American journal of medical sciences*.;3(4):179.
- Helms, A., Quan, J., Herfindal, T., Gourley, R., Zeind, S., Hudson, Q., et al, (2006). *The Drug and Disease Management 8*, United States of America, Lippincot Williams & Wilkins
- Ibrahim, M., Anwar, A. (2012). *Uji Lethal Dose 50% (LD50) Poliherbal (Curcuma xanthorizza, Kleinhovia hospital, Nigella sativa, Arcangelisia flava dan Ophiocephalus striatus) Pada heparmin® terhadap mencit (Mus musculus)*. Research & Development PT. Royal Medicalink Pharmalab.
- Lazarovici, P., Haya. (2002). Chimeric toxin : *mechanisms of action and therapeutic applications*. Taylor and Francis Group.
- Liu QX, Chen HY, and Lu DH. (2013). *Research of urine analyzer based on color sensor*. in *Advanced Materials Research*. Trans Tech Publ.
- Loomis, T.A. and A.W. Hayes, (1996). *Loomis's Essentials of Toxicology*. 4th ed. California Press.

- Loomis, T.A. (1978). *Essential Of Toxicology*. 3rd ed. Lea & Febiger, Philadelphia
- Lu, F.C. (1995). *Toksikologi Dasar : Asas, Organ, Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Edisi 2. UI Press. Jakarta.
- Malole, M.B.M, C.S.U. Pramono .1989. *Pengantar Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Mansur, (2008). *Toksikologi dan Distribusi agent Toksik Edisi 2*. UI Press: Jakarta.
- Milind, P., and Deepa, K. (2011). Pro-Cholinergic, Hypo-Cholesteromelic and Memory Improving Effect of Clove. *International Research Journal Of Pharmacy*. Pharmcology Division, Dept.Pharm. Sciences, Guru Jambheshwar University of Science and technology, Hisar, Haryana. India.
- Moghaddam AP, Eggers JS, and Calabrese EJ. (1998). Evaluation of sex difference in tissue repair following acute carbon tetrachloride toxicity in male and female sprague–dawley rats. *Toxicology*;130(2):95-105.
- Mustapa, M.A., Tuloli, T. Mooduto, A. (2018). Uji toksisitas akut yang diukur dengan penentuan LD50 ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap mencit (*Mus musculus*) menggunakan metode Thompson-Weil. *Review Jurnal*. Fakultas Olahraga dan kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo.
- Mutschler, E. (1991). *Dinamika Obat. Edisi ke 5*. Mathilda B, Widiyanto, Penerjemah. Bandung. Penerbit ITB. Terjemahan dari Arzneimittelwirkungen 5 Vollig neurbear beitete und ewwiterteaufilage.
- Nurdjannah, N. dan T. Hidayat, (1994). Pengaruh cara dan waktu penyulingan terhadap mutu minyak bunga cengkeh. *article review Buletin Littro*.
- Nurdjannah, N., (2004). Diversifikasi Tanaman Cengkeh, J. Perspektif. 3. *article review*. (2): 61–70.
- Nurhidayati, L. dan Sulistiowati. (2013). Penetapan kadar eugenol dalam minyak atsiri dari tiga varietas bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*(L) Merr. & L.M. Perry) secara kromatografi gas. Seminar Nasional dalam Rangka Lustrum X Fakultas Farmasi Univesitas Pancasila.

- Priyanto. (2010). *Toksikologi Ed:2* : Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi. Depok.
- Prianto H et al. (2013). Isolasi dan karakterisasi dari minyak bunga cengkeh (*Syzigium aromaticum*) kering hasil distilasi uap. *Kimia Student Journal*.
- Razafimamonjison G, Jahiel M, Duclos T, Ramanoelina P, Fawbush F, Danthu P. (2014). Bud, leaf and stem essential oil composition of *Syzigium aromaticum* from Madagascar, Indonesia and Zanzibar. *International Journal of Basic and Applied Sciences*.
- Shalaby S.E.M., El-Din M.M., Abo-Donia S.A., Mettwally M., Attia Z.A. (2011). Toxicological effects of essential oils from *Eucalyptus globules* and clove *Eugenia caryophyllus* on albino rats. *Pol. J. Environ. Stud.*;20(2):429–434.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem*.
- Siswandono, S. B. (1995). *Kimia medisinal*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Sohilait, H.J. (2015). 'Chemical Composition of the Essential Oils in *Eugeniacyrophylata*, Thunb from Amboina Island', *Science Journal of Chemistry*, vol. 3.
- Sutarno. (2015). *Biodiversitas Indonesia: Penurunan dan upaya pengelolaan untuk menjamin kemandirian bangsa*. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Syamsuhidayat dan Hutapea, J.R., (1991). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Vijayasteltar, L., Nair, G.G., Maliakel, B., Kuttan, L. (2016). Safety assessment of a standardized polyphenolic extract of clove buds: subchronic toxicity and mutagenicity studies. India. *Journal Toxicology reports* 3. India.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat analisis minyak cengkeh



Importer of Essential Oils, Absolutes, and Carrier Oils
Jakarta, Indonesia Customessentialoil@gmail.com Phone 081295037988

Certificate of Analysis

Product Name : **CLOVE BUD OIL**
Botanical Name : *Syzygium aromaticum*
Product Code : 150026
Batch Number : 200224/177110
Appearance : Mobile Liquid
Color : Yellow to light brown
Odor : Sweet, spicy, eugenol, aromatic, clove, woody
Production Date : February 24, 2020
Shelf Life : 24 Months in fully sealed containers
Quantity of Purchased : 1 Kg
Packaging : 1 Bottle @1 Kg

Technical Analysis:

Test Item	Specification	Result
Density (@20°C)	1.0588 – 1.0892	1.0740
Specific Gravity (@20°C)	1.0607 – 1.0911	1.0759
Refractive Index (@20°C)	1.5011 – 1.5315	1.5163
Optical Rotation (°)	(-1.5) – (0)	(-0.85)
Eugenol Content (GC)	Min 80%	82.54%
Eugenol Acetat Content (GC)	Min 7%	7.41%
Solubility	Soluble in alcohol and oils, Insoluble in Water	Conform to standard
Fatty Oil	Negative	Passed
Mineral Oil	Negative	Passed

Storage Condition : Store unopened containers with temperature between 10°C to 25°C

This document has been electronically produced and does not require any signature

DISCLAIMER:
The information contained in this Certificate of Analysis is obtained from current and reliable sources. The information is correct at the time of testing, and the results may vary depending on batch and time of testing. Happy Green shall not be liable for any errors or delays in the content, or for any actions taken in reliance thereon. The information remains property of Happy Green and should not be propagate or used for any other purpose.

Lampiran 2. Rekomendasi persetujuan etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSPTN UNIVERSITAS HASANUDDIN
RSUP Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR
Sekretariat : Lantai 2 Gedung Laboratorium Terpadu
JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245.



Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, MMed, PhD, SpGK TELP. 081241850858, 0411 5780103. Fax : 0411-581431

REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

Nomor : 453/UN4.6.4.5.31/ PP36/ 2020

Tanggal: 24 Agustus 2020

Dengan ini Menyatakan bahwa Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :

No Protokol	UH20070331	No Sponsor Protokol	
Peneliti Utama	Surya Nengsih, S.Si, Apt	Sponsor	
Judul Peneliti	Uji Toksisitas Akut Penggunaan Oral Minyak Cengkeh (<i>Oleum caryophylli</i>) Terhadap Biomarker Darah Dan Urin Pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).		
No Versi Protokol	1	Tanggal Versi	30 Juli 2020
No Versi PSP		Tanggal Versi	
Tempat Penelitian	Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar		
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku 24 Agustus 2020 sampai 24 Agustus 2021	Frekuensi review lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan FKUH	Nama Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K)	Tanda tangan	
Sekretaris Komisi Etik Penelitian Kesehatan FKUH	Nama dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)	Tanda tangan	

Kewajiban Peneliti Utama:

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan
- Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 Jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Laporan SUSAR dalam 72 Jam setelah Peneliti Utama menerima laporan
- Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah
- Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir
- Melaporkan penyimpangan dari protokol yang disetujui (protocol deviation / violation)
- Mematuhi semua peraturan yang ditentukan

Lampiran 3. Perhitungan LD₅₀

Dosis (mg/kgBB)	Jumlah tikus	Tikus yang hidup	Tikus yang mati	% kematian	Log D	Probit kematian
1000	10	10	0	0	3	0
2000	10	8	2	20	3,3010	4,16
5000	10	3	7	70	3,6990	5,52

Regrasi linear :

a : -22,3169

b : 7,6630

R : 0,8727

LD₅₀ = hewan uji yang 50%, nilai probitnya : 5.00

Y : nilai probit

X : log dosis untuk

Persamaan regresi :

$$Y = bx + a$$

$$Y = 7,6630 X + (-22,3169)$$

$$5 = 7,6630 X - 22,3169$$

$$5 + 22,3169 = 7,6630$$

$$X = (5+22,3169) / 7,6630$$

$$X = 3,5467$$

Maka dosis LD₅₀ adalah antilog X = antilog 3,5647 = 3,670 g/kgBB

Lampiran 4. Dokumentasi penelitian



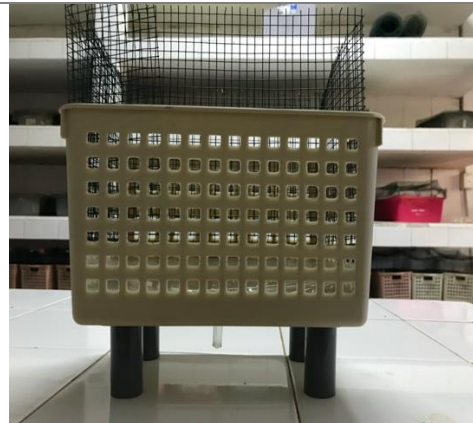
Gambar 6. Minyak cengkeh



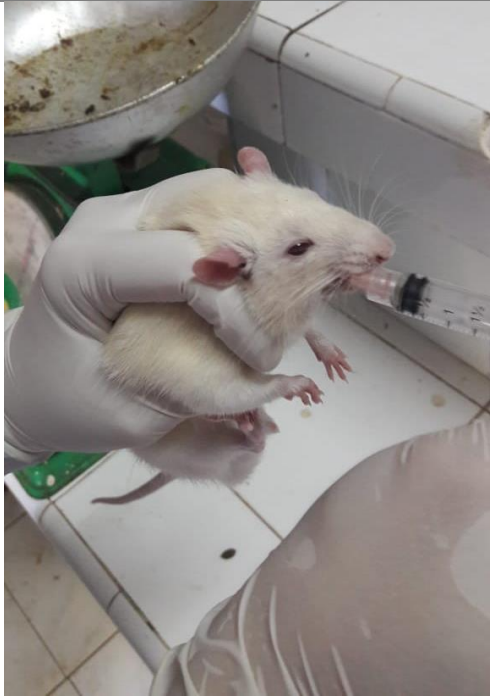
Gambar 7. Penimbangan hewan coba



Gambar 8. Bagian dalam kandang tikus



Gambar 9. Bagian luar kandang tikus



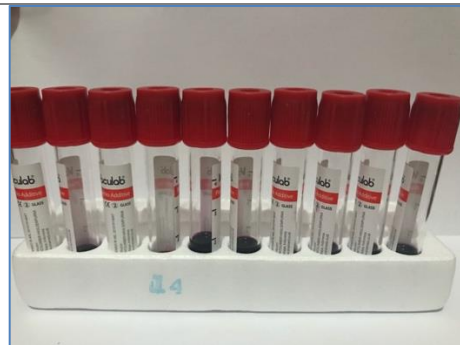
Gambar 10. Pemberian per-oral hewan coba



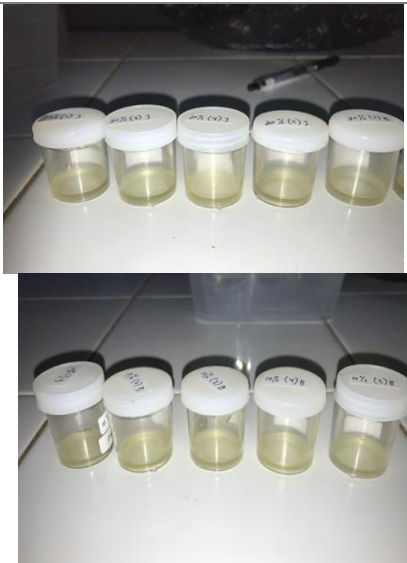
Gambar 11. Pembusuan hewan coba



Gambar 12. Pengambilan darah hewan coba



Gambar 13. Sampel darah tikus



Gambar 14. Sampel urin tikus

Gambar 15. Strip
verify U-120[®]Gambar 16. Verify U120 Urine
AnalyzerGambar 17. Humalyzer 3500
(pengukuran sampel plasma)