

ARTIKEL PENELITIAN

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) GALUR DDY**  
***SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF BAY LEAVES (*Syzygium polyanthum*)***  
***ETHANOL EXTRACT ON MALE MICE (*Mus musculus*) DDY STRAIN***

**Ris Kristiana<sup>1</sup>, Rhea Veda Nugraha<sup>2</sup>, Devi Irawati<sup>3</sup>, Teja Koswara<sup>1</sup>, Endah Hamidah Abbas<sup>1</sup>, Oki Meilani Dewi<sup>1</sup>, Yuke Ireka<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

Email Korespondensi: kristiana1980@gmail.com

**ABSTRAK**

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) adalah sejenis tanaman di Indonesia yang dipergunakan sebagai bahan obat tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Salah satu prasyarat suatu tanaman dapat dikembangkan menjadi suatu obat, yaitu dengan dilakukan uji toksisitas subkronis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas subkronis daun salam terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan galur DDY. Metode penelitian bersifat eksperimental menggunakan 24 mencit yang diberi ekstrak etanol daun salam selama 28 hari yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan variasi dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan kelompok kontrol. Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu kematian mencit, perubahan perilaku, perubahan berat badan, dan berat organ relatif pada organ ginjal, hepar, paru-paru, jantung, limpa, dan testis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam tidak menimbulkan efek toksik berupa kematian, perubahan berat badan, dan perbedaan berat organ relatif paru, jantung, limpa dan testis. Namun, pemberian ekstrak etanol daun salam menimbulkan pengaruh terhadap organ ginjal dan hepar berupa penurunan berat organ relatif. Ginjal dan hepar merupakan organ tubuh sasaran zat toksik. Hepar terpapar zat toksik yang dibawa oleh vena porta lalu mendetoksifikasi zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh. Selanjutnya ginjal terpapar racun karena berkaitan dengan kerjanya yang membuang berbagai toksik dan zat asing lainnya dari tubuh.

**Kata kunci:** berat organ relatif, daun salam, toksisitas subkronis

## ABSTRACT

*Bay leaf (Syzygium polyanthum) is one of the plants in Indonesia that is used as a traditional medicine to treat many kind of disease. One of the prerequisites for a plant to be developed into a drug is by conducting a subchronic toxicity test. This study aims to determine the subchronic toxicity effects of bay leaves on male mice (Mus musculus) DDY strain. This is an eksperimental study using 24 mice with 28 days bay leaf extract and divided into 4 groups with dose variations of 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW, 1000 mg/kgBW, and a control group. Observations made in this study were mouse death, behavioral changes, changes in body weight, and relative organ weight in the kidneys, liver, lungs, heart, spleen, and testes. The results showed that administration of bay leaf ethanol extract did not cause toxic effect in mice, such as death, changes in body weight, and differences in relative organ weight of the lungs, heart, spleen and testes. However, the administration of bay leaf ethanol extract has an effect on the kidney and liver organs in the form of a decrease in relative organ weight. Kidney and liver are organs target of toxic substances. The liver is exposed to toxic substances carried by the portal vein and then detoxifies the toxic substances that enter the body. Furthermore, the kidneys are exposed to toxins because they are related to their work of removing various toxins and other foreign substances from the body.*

*Keywords: bay leaf, relative organ mass, subchronic toxicity*

## PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah lama memanfaatkan keanekaragaman bahan herbal untuk memenuhi kebutuhan seperti pangan, papan, sandang, pupuk, dan obat-obatan. Penggunaan obat tradisional populer di banyak negara, karena mudah ditemukan, murah, dan dapat dibuat sendiri oleh masyarakat. Oleh karena itu, penelitian terhadap tanaman yang digunakan sebagai pengobatan tradisional semakin meningkat.<sup>1,2,3,4</sup>

Tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu yang sering digunakan sebagai tanaman obat, yaitu menggunakan daunnya. Daun salam oleh masyarakat digunakan sebagai bahan obat untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti diabetes, gangguan lambung, hemoroid, penyakit kulit seperti

scabies, hipertensi, dan kolesterol tinggi. Bioaktivitasnya telah terbukti secara ilmiah sebagai antimikroba, antioksidan, antidiabetes, dan anti-kolesterol.<sup>1</sup> Berdasarkan analisis fitokimia daun salam (*Syzygium polianthum*) mengandung berbagai metabolit sekunder seperti *essential oils*, tannin, flavonoid, terpenoid..<sup>5,7</sup>

Pada pembuatan dan pengembangan obat, selain melihat efektivitas, harus dilihat keamanan. Uji keamanan atau uji toksisitas adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data respons dosis yang khas dari sediaan uji sehingga membantu menentukan tingkat bahaya suatu zat dan dosis aman bagi manusia. Uji toksisitas subkronis adalah uji

yang bertujuan untuk mengamati efek toksik yang dapat diamati selama 14, 28 hingga 90 hari. Uji toksisitas kronis bertujuan untuk mendeteksi efek toksik dengan durasi penelitiannya bisa mencapai 1 tahun.<sup>8,9,10,11</sup>

Penelitian terhadap efek toksisitas subkronis diantaranya meliputi pengamatan terhadap gejala toksik dan gejala klinis yang terjadi berupa perubahan kulit, bulu, mata, aktivitas otonom (misalnya lakrimasi, keadaan pupil (mengecil atau melebar), pola pernapasan yang tidak biasa), perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), kejang. Serta monitoring berat badan. Penimbangan berat organ sekurang-kurangnya 5 organ utama yaitu hati, limpa, jantung, ginjal, dan paru-paru dan pengamatan kematian.<sup>8</sup> Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas subkronis daun salam terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan galur DDY

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu jenis rancangan percobaan dimana perlakuan diberikan secara acak kepada seluruh unit percobaan. Objek pada penelitian adalah daun salam yang sesuai dengan kriteria inklusi yaitu Daun salam berwarna hijau, dan daun yang didapatkan dari Perkebunan

Manoco Lembang. Kriteria eksklusi daun salam dalam penelitian yaitu daun salam yang sudah layu atau membusuk. Subjek penelitian adalah 24 ekor mencit jantan galur DDY yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol, dan kelompok perlakuan Ekstrak Etanol Daun salam (EDDS) dosis 250 mg/KgBB, EEDS dosis 500 mg/KgBB, dan EEDS dosis 1000 mg/KgBB selama 28 hari. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani.

## **Prosedur Penelitian**

### **Cara Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam**

Pembuatan EEDS di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unjani dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 1000 gram serbuk daun salam, ditambahkan 3000 mL etanol 96%, dihomogenkan selama 30 menit, dimaserasi selama 72 jam, disaring menggunakan kertas saring *Whatman*, filtratnya diuapkan menggunakan *Vacum Rotary Evaporator*, dan ekstrak pekat yang didapat dituang pada cawan porselen sebelum dimasukkan ke dalam eksikator, dan didiamkan selama 24 jam.<sup>12</sup>

### **Perlakuan Hewan Coba**

Mencit jantan yang telah dilakukan adaptasi selama 7 hari kemudian dibagi ke dalam 4 kelompok. Kelompok K1(Kontrol) hanya diberi pelet tinggi protein dan air

minum saja, K2 diberi pelet tinggi protein, air minum, dan EEDS setiap hari dengan dosis 250 mg/kgBB. K3 diberi pelet tinggi protein, air minum, dan EEDS dengan dosis 500 mg/kgBB. K4 diberi pelet tinggi protein, air minum, dan EEDS dengan dosis 1000 mg/kgBB. Angka kematian mencit diamati selama 28 hari, dan berat badan mereka ditimbang sebelum dan sesudah pemberian EEDS untuk memantau perubahan. Pada hari ke-29, mencit dilakukan *euthanasia* dengan cara memasukkan mencit ke dalam CO<sub>2</sub> chamber, setelah menghirup CO<sub>2</sub> kemudian mencit akan mati lalu organ mencit yang terdiri dari jantung, paru, hati, ginjal, limpa dan testis diambil untuk dilakukan penimbangan.

### **Analisis Gejala Toksisitas**

Pengamatan dilakukan untuk melihat adanya efek toksik pada organ dan sistem yang dipengaruhi oleh sediaan uji. Pengamatan dilakukan pada titik waktu pada menit ke-30, ke-60, ke-120 dan ke-240. Pengamatan gejala toksik pada penelitian ini dilihat dari beberapa hal sesuai pedoman uji toksisitas BPOM yaitu gejala toksisitas terhadap susunan saraf pusat dilakukan dengan cara pengamatan ada tidaknya kejang, pengamatan toksisitas terhadap susunan saraf otonom dilakukan dengan cara pengamatan ada tidaknya lakrimasi, pengamatan toksisitas terhadap

sistem neuromuskular dilakukan dengan cara pengamatan terhadap aktivitas motorik seperti cara jalan menjadi mundur dan tingkah laku menjadi pasif, pengamatan toksisitas terhadap organ kulit dilakukan dengan cara pengamatan terhadap adanya perubahan warna kulit dan adanya bulu rontok, pengamatan toksisitas terhadap mata meliputi ada tidaknya ptosis dan yang terakhir dilakukan pengamatan juga terhadap pola pernafasan meliputi ada tidaknya sesak.<sup>8</sup>

### **Analisis Berat Badan**

Berat badan masing-masing kelompok mencit diperiksa dan dicatat saat sebelum dan sesudah perlakuan yaitu pada hari pertama dan hari terakhir untuk melihat pengaruh daun salam terhadap perkembangan berat badan sampel.

### **Analisis Berat Organ Relatif/Relative Organ Weight (ROW)**

Pada hari ke-29 dilakukan pembedahan organ ginjal, jantung, hepar, paru-paru, limpa dan testis, lalu penimbangan organ. Bobot organ relatif/ *Relative Organ Weight* (ROW) masing-masing organ kemudian dihitung menurut persamaan berikut ini:<sup>8</sup>

$$\text{Berat Organ Relatif (BOR)} = \frac{\text{Berat absolut(g)}}{\text{Berat badan mencit sebelum autopsi}} \times 100$$

### **Analisis Jumlah Kematian**

Pengamatan dilakukan pada saat penelitian berlangsung, yaitu mulai hari ke-1 sampai hari ke-28 setelah perlakuan.

### **Analisis Data**

Penelitian ini dianalisis dengan statistik menggunakan *software SPSS*. Pertama dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk Test*, karena sampel yang digunakan dalam penelitian jumlahnya kurang dari 50 sampel dan dinyatakan berdistribusi normal bila nilai

$p > 0.05$ . dilanjutkan dengan analisis bivariabel yang bertujuan untuk menguji efek pemberian ekstrak etanol daun salam

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Tabel 1** Jumlah hewan mati dan hewan yang menunjukkan gejala toksik 28 hari setelah pemberian ekstrak etanol daun salam

No	Kelompok	Jumlah Sampel	Jumlah Kematian	Observasi Gejala Toksik
1	Kontrol (K1)	6	0	Tidak ada
2	EEDS 250 mg/kgBB (K2)	6	0	Tidak ada
3	EEDS 500 mg/kgBB (K3)	6	0	Tidak ada
4	EEDS 1000 mg/kgBB (K4)	6	0	Tidak ada

Dari hasil yang didapat, 28 hari perlakuan menunjukkan tidak ada hewan yang mati baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

Hal ini sejalan dengan penelitian uji toksisitas akut Bagus (2020) bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam pada uji toksisitas akut dengan hewan coba mencit sampai dosis tertinggi yaitu 5000 mg/kgBB tidak menyebabkan kematian.

Obat tradisional dikatakan aman digunakan apabila pada uji praklinik salah satunya uji toksisitas subkronis suatu senyawa pada dosis tertentu tidak berpengaruh terhadap kematian. Hasil penelitian yang dilakukan tidak terdapat kematian hewan percobaan pada pengamatan selama 28 hari meskipun sudah diberikan ekstrak etanol daun salam dengan

dosis tertinggi yaitu 1000 mg/kgbb. Berdasarkan pedoman BPOM apabila tidak menimbulkan efek toksik pada dosis tertinggi yaitu 1000 mg/kgBB maka dosis tidak perlu dinaikkan lagi. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan daun salam tidak menimbulkan efek menurut pedoman BPOM karena tidak ditemukan efek toksik pada dosis 1000 mg/kgBB.

Dari hasil pengamatan uji kualitatif, selama 28 hari didapatkan tidak terdapat gejala gejala toksik berarti yang timbul pada mencit seperti perubahan warna kulit, bulu rontok, mata ptosis, lakrimasi, perubahan cara jalan, tingkah laku pasif, sesak dan kejang. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Bagus (2020) mengenai uji toksisitas akut daun salam mengkonfirmasi,

bahwa pada dosis 5000 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB, dan 1250 mg/kgBB tidak terdapat perubahan tingkah laku pada hewan percobaan.<sup>11</sup>

Seluruh kelompok hewan percobaan dilakukan pengukuran berat badan untuk

mengetahui adanya penurunan atau peningkatan berat badan pada mencit.

**Tabel 2** Berat badan semua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Rerata berat badan mencit		% Kenaikan/Penurunan BB
	H1	H28	H1/H28
K1	31,67 ± 2,34	37,17 ± 2,64	+17,36%
K2	31 ± 2,68	31,67 ± 4,93	+2,16%
K3	31,33 ± 2,50	29,17 ± 4,070	-6,89%
K4	31,17 ± 2,14	29 ± 2,76	-6,96%

Hasil menunjukkan bahwa rata-rata berat badan mencit berubah cenderung menurun setelah diberikan ekstrak etanol daun salam seperti kelompok K2 dari 31gram naik sedikit menjadi 31.67 gram, kelompok K3 dari 31,33 gram turun menjadi 29.17 gram, kelompok K4 dari 31.17 turun menjadi 29, sedangkan kelompok K1 yang merupakan kelompok kontrol tidak diberikan ekstrak etanol daun salam naik signifikan dari 31.67 menjadi 37.17. Terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok K4, dengan nilai  $p < 0,006 < 0,05$ . Ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam pada kelompok K4 menyebabkan penurunan berat badan.

Perubahan berat badan bisa dipengaruhi oleh kandungan yang ada pada tanaman tersebut, salah satunya senyawa tanin dan saponin. Tanin berpotensi menyebabkan

pembakaran kalori dan lemak dalam tubuh sehingga menyebabkan penurunan berat badan, karena tanin memiliki sifat anti nutrisi dengan mengganggu pencernaan berbagai nutrisi dan mencegah tubuh menyerap zat-zat bermanfaat yang tersedia, dan tanin juga dapat berikatan dengan protein dan menyebabkan protein tersebut menyusut, serta kompleks protein tanin dapat menyebabkan inaktivasi enzim pencernaan dan penurunan daya cerna protein yang disebabkan oleh substrat protein.<sup>13</sup> Saponin memiliki sifat hidrofobik pada bagian tertentu dan hidrofilik pada rantai gula, yang membuat saponin mudah larut dalam air tetapi tidak dapat larut dalam eter. Senyawa ini bekerja dengan cara berikatan dengan asam empedu dan kolesterol, sehingga memiliki peran sebagai agen anti-obesitas dan anti-adipogenik.

Saponin memiliki kemampuan untuk berikatan dengan kolesterol dan memberikan efek penurunan kadar kolesterol dalam tubuh, yang pada akhirnya membantu menurunkan kadar kolesterol secara keseluruhan serta berat badan.<sup>14</sup> Daun salam mengandung senyawa tanin yang memiliki sifat astringen, yang memberikan rasa pahit karena kelompok polifenol yang dimilikinya. Tanin ini mampu mengikat serta mengendapkan atau mengecilkan protein. Selain itu, sifat astringen dari tanin menyebabkan sensasi kering dan sepat di mulut.<sup>15</sup> Penurunan nafsu makan dapat terjadi baik di tingkat pusat di otak maupun di tingkat perifer pada reseptor indera pengecap di *taste buds*. Perubahan dominan dalam rasa pahit dapat menyebabkan penurunan nafsu makan, yang pada akhirnya juga bisa menurunkan berat badan dan daya tahan tubuh.<sup>16</sup>

Seluruh hewan percobaan dilakukan pembedahan pada hari ke-29 untuk dilakukan pengambilan organ-organ dan dilakukan perhitungan berat relatif organ-organ dengan rumus yang sudah ditentukan.

Hasil pemeriksaan berat organ relatif sesuai yang ditunjukkan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata berat organ relatif berbeda tidak signifikan setelah diberikan ekstrak etanol daun salam seperti organ ginjal dan hepar menunjukkan penurunan berat organ relatif dibandingkan dengan kontrol, sedangkan organ paru-paru, jantung, limpa dan testis menunjukkan kenaikan berat organ relatif dibandingkan dengan kontrol. Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam berefek terhadap berat organ relatif. Namun hasil ini masih harus diteliti lebih lanjut untuk mencari signifikansinya.

**Tabel 3** Gambaran berat organ relatif

Kelompok	Ginjal	Hepar	Paru	Jantung	Limpa	Testis
K1	1,73 ± 0,16	7,88 ± 0,97	0,70 ± 0,01	0,63 ± 0,11	0,49 ± 0,11	0,75 ± 0,17
K2	1,59 ± 0,11	6,72 ± 0,77	0,71 ± 0,07	0,61 ± 0,09	0,52 ± 0,25	0,75 ± 0,11
K3	1,75 ± 0,22	7,93 ± 1,59	0,94 ± 0,13	0,60 ± 0,07	0,75 ± 0,22	0,79 ± 0,16
K4	1,64 ± 0,12	6,24 ± 0,96	0,89 ± 0,18	0,71 ± 0,15	0,81 ± 0,32	0,86 ± 0,14

Berdasarkan hasil penelitian tidak adanya perbedaan signifikan antara berat organ relatif kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan menunjukkan ekstrak etanol daun salam

tidak bersifat toksik, karena efek toksik pada berat organ relatif ditandai dengan terjadinya penurunan berat organ relatif, terkecuali organ paru-paru sehingga untuk memastikan harus dilanjutkan dengan

pemeriksaan histopatologi pada organ paru-paru.

Penurunan berat organ termasuk pada salah satu kriteria yang menunjukkan bahwa suatu bahan mengandung sifat toksik sehingga menyebabkan terjadinya perubahan ukuran secara signifikan.<sup>17</sup>

Hepar dan ginjal merupakan organ tubuh sasaran zat toksik karena memegang peranan penting dalam proses metabolisme tubuh. Zat toksik akan dibawa oleh vena porta ke hati yang selanjutnya hati akan mendetoksifikasi zat-zat racun yang masuk ke dalam tubuh. Selanjutnya ginjal akan terpapar racun karena berkaitan dengan kerjanya yang membuang berbagai toksik dan zat asing lainnya dari tubuh.<sup>18</sup>

Organ hepar memiliki peran penting dalam mengolah dan membersihkan berbagai zat kimia dalam tubuh, sehingga organ ini rentan terhadap efek toksik dari zat-zat tersebut. Sebagai organ utama yang mengatur metabolisme, hati juga berfungsi untuk memproses dan menyintesis zat-zat yang akan didistribusikan ke seluruh tubuh.<sup>19,20</sup> Dalam menjalankan fungsinya, hati sering kali terpapar oleh obat-obatan, zat kimia, dan virus. Zat kimia yang masuk ke dalam tubuh akan melalui proses detoksifikasi dan inaktivasi di hati, sehingga menjadi tidak berbahaya. Dalam kadar tertentu, paparan ini tidak akan merusak hati karena hati mampu

melakukan regenerasi sel dengan cepat. Namun, jika paparan berlangsung terus-menerus, fungsi regenerasi hati penurunan.<sup>20</sup>

Ginjal merupakan organ yang mengekskresikan urine bersama dengan sebagian besar zat toksikan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa ginjal merupakan salah satu organ yang menjadi target utama paparan zat toksik yang terbawa oleh aliran darah, terkonsentrasi pada ginjal dalam filtrat glomerulus dan melintasi tubulus-tubulus sehingga semua bagian berpotensi terkena efek merugikan dari toksikan. Organ ginjal juga melakukan bioaktivasi atau detoksifikasi pada jenis toksikan tertentu.<sup>10</sup>

Penelitian ini masih perlu dieksplorasi lebih lanjut dengan penelitian potensi toksisitas untuk tingkat kronis serta rentang dosis yang lebih besar dan variasi dosis yang lebih banyak untuk mengetahui potensi ketoksikan yang sesungguhnya dari ekstrak etanol daun salam

## **KESIMPULAN**

Pemberian bertingkat EEDS dengan dosis (250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB) dalam waktu 28 hari tidak menyebabkan kematian, tidak menimbulkan gejala toksik (perubahan perilaku), tidak menyebabkan perubahan berat badan yang signifikan. Penurunan berat organ relatif organ hanya terjadi pada

organ hepar dan ginjal. Studi lebih lanjut diperlukan untuk melihat ada atau tidaknya perubahan struktur jaringan dari organ-organ terkait.

### **KONFLIK KEPENTINGAN**

Penulisan artikel ini tidak memiliki konflik kepentingan.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih kepada Perkebunan Manoco, Lembang, Jawa Barat, Indonesia yang telah menyediakan daun salam, Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani yang membantu penelitian ini, serta kepada para profesional yang telah membantu penelitian, penyusunan makalah dan pemberi dana.

### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Herbie T. Kitab Tanman Berkhasiat Obat: 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh. Adhe, editor. Yogyakarta: Octopus Publishing House; 2015.
2. Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. Obat herbal tradisional. 2014. 1–20 p.
3. Tanaman Obat Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian RI;2021
4. World Health Organization. WHO Traditional Medicine Strategy (2014-2023); 25-53
5. Silalahi M. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan). Jdp. 2017;10(1):1–16.
6. Dewanti Safira. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam pada Mencit Jantan. Borneo Journal of Pharmascientech;2023
7. Mulyadi Caroline Irene. Efek Ekstrak Etanol Daun Salam Diabndingkan Simvastatin Terhadap Kadal HDL Serum Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak.; 2023
8. BPOM. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indones. 2022;1–220.
9. Kurniawidjaja LM, Lestari F, Tejamaya M, Ramdhan DH. Konsep Dasar Toksikologi Industri. Fkm Ui. 2021. 1–181 p.
10. Elisa Nurma Riana, Netty Ino Ischak CLFH, Esa Indah Ayudia, Iffa Afiqa Khairani NAL, Anggraeni Sih Prabandari, Miftahurrahmah MSS, Jeane Siswitasari Mulyana I. Toksikologi Dasar. Angewandte Chemie International Edition, 6(11),

- 951–952. 2023. 5–24 p.
11. Kristiana R, Djamaludin M, Permana BY. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Mencit Galur DDY (*Mus musculus*). *Med Kartika J Kedokt dan Kesehat.* 2021;4(4):355–68.
  12. Iriani Y, Ramona Y, Astiti NPA. Potensi Ekstrak Ethanol Daun Salam Dan Air Rebusan Daun Salam Untuk Memperbaiki Profil Lipid (Ldl-Kolesterol) Darah Pada Tikus Wistar. *Metamorf J Biol Sci.* 2021;8(1):89.
  13. Popova A, Mihaylova D. Antinutrients in Plant-based Foods: A Review. *Open Biotechnol J.* 2019;13(1):68–76.
  14. Triwahyuni, Tussy. Rusmini, Hetty. Yuansah R. Pengaruh Pemberian Senyawa Saponin Dalam Ekstrak Mentimun (*Cucumis sativus*) Terhadap Penurunan Berat Badan Mencit (*Mus musculus* L). *L Anal Farm.* 2019;4(1):59–65.
  15. Setty Siamtuti W, Aftiarani R, Kusuma Wardhani Z, Alfianto N, Viki Hartoko I. Potensi Tannin Pada Ramuan Nginang Sebagai Insektisida Nabati Yang Ramah Lingkungan. *Bioeksperimen J Penelit Biol.* 2017;3(2):83.
  16. Putri Silviana. Hubungan Antara Nafsu Makan Dengan Asupan Energi Protein Pada Pasien Kanker Payudara. *Media Gizi Indonesia;* 2019. 14(2).170-176
  17. Veteriner dan Biomedis J, Adela Putri S, Luh Putu Ika Mayasari N, Studi Sarjana Kedokteran Hewan P, Kedokteran Hewan dan Biomedis S. Uji Toksisitas Akut Minyak Kemiri (*Aleurites moluccana* L.) pada Mencit (*Mus musculus*). 2024;2(1):9–15. Available from: [https://journal.ipb.ac.id/index.php/jvet\\_biomed](https://journal.ipb.ac.id/index.php/jvet_biomed)
  18. Ceriana R, Putri Rejeki D. Uji Toksisitas Makroskopis Pada Organ Ginjal, Hati, Jantung dan Limpa Mencit Hiperglikemia yang Diberi Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambai (*Baccaurea motleyana*). *J Pharm Heal Res.* 2023;4(2):183–9.
  19. Katarey D, Verma S. Drug induced liver injury. *Gen Med Clin Med.* 2016;16(6):104–9.
  20. Rahman S, Kosman R, Siamea AC. Efek Hepatoprotektor Dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Cassia siamea* LAMK.) Pada Tikus (*Rattus norvegicus*). *J Ilm As-Syifaa.* 2017;9(2):131–6.