

Efikasi Pemberian Maserasi Kemangi sebagai Antifertilitas terhadap Profil Hematologi dan Biokimia Darah Tikus Betina

(Efficacy of Holy Basil Maceration Administration as Antifertility to Hematology and Blood Biochemistry of Female Rats)

Andriyanto^{*}, Rindy Fazni Nengsih¹, Leliana Widi¹, Hamdika Yendri¹, Mawar Subangkit², Elpita Tarigan³, Yusa Irarang³, Aulia Andi Mustika¹, Lina Noviyanti Sutardi², Wasmen Manalu¹

¹Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor

²Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor ³Fakultas Kedokteran Hewan, Kampus IPB Dramaga, 16680, IPB University, Bogor

*Penulis untuk korespondensi: andriyanto@apps.ipb.ac.id

Diterima 1 Agustus 2022, Disetujui 1 November 2022

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi khasiat fitofarmaka lokal Indonesia yaitu kemangi sebagai antifertilitas dalam meningkatkan kesehatan dan keamanan tikus betina. Sebanyak 15 ekor tikus betina galur *Sprague-Dawley* (umur 8 minggu, bobot badan 220-230 g) dibagi acak ke dalam 3 perlakuan dan 5 ulangan, yaitu: kontrol (K0); kemangi 1% (K1); dan kemangi 5% (K5) dalam bentuk maserasi yang ditambahkan ke dalam air minum. Pemberian jamu dilakukan selama 20 hari dimulai pada fase diestrus. Parameter profil darah yang diamati adalah gambaran darah merah (jumlah butir darah merah, hematokrit, dan hemoglobin) dan diferensial darah putih (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, basofil). Parameter keamanan diamati dengan melihat fungsi organ hati (SGPT, SGOT) dan ginjal (ureum, kreatinin). Hasil menunjukkan bahwa profil darah dan pengamatan fungsi hati dan ginjal pada kelompok tikus betina yang diberi kemangi tidak terdapat perbedaan nyata ($P > 0.05$) dengan kelompok kontrol. Pemberian kemangi tidak memengaruhi kondisi fisiologis tikus betina dan tidak toksik sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan tikus betina.

Kata kunci: antifertilitas, biokimia darah, kemangi, maserasi, profil darah, tikus betina

ABSTRACT

This study was aimed to explore the efficacy of local Indonesian phytopharmaca holy basil as antifertility in improving health and safety of female adult rats. Fifteen female *Sprague-Dawley* rats (aged 8 week-old, 200-230 g b.w) were randomly divided into 3 treatment groups with 5 replications each, i.e: control (K0), 1% (K1) and 5% (K5) holy basil; in the form of maceration that mixed in drinking water. The administration of holy basil maceration was given during 20 days starting in diestrus phase. The blood profile parameters observed were red blood count (number of red blood cells, hematocrit, and hemoglobin) and white blood differential (lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils, basophils). Safety parameters were observed by looking at the function of the liver and renal. The results showed that the blood profile and liver (SGPT, SGOT) and renal function (ureum, creatinine). The results showed that the group of female rats were given holy basil had no significant difference ($P > 0.05$) with the control group. It concluded that administration of holy basil maceration did not affect the physiological condition and not toxic for female rats to improve its health.

Keywords: antifertility, blood biochemistry, female rats, hematology, holy basil, maceration

PENDAHULUAN

Seiring dengan pertumbuhan laju penduduk Indonesia yang terlihat dari peningkatan angka natalitas dibandingkan dengan mortalitas membuat pemerintah Indonesia menetapkan program keluarga berencana (KB). Hal tersebut bertujuan untuk menekan pertumbuhan jumlah penduduk dan menjaga kesehatan ibu dan anak (Kemenkes RI, 2014). Salah satu penekanan dari program KB ialah penggunaan alat kontrasepsi. Kontrasepsi bertujuan untuk mengatur fertilitas dan membatasi kelahiran termasuk jumlah anak hidup. Namun, limbah kontrasepsi akan menjadi masalah berkelanjutan. Untuk itu, perlu dicari alternatif kontrasepsi alami yang dapat menurunkan fertilitas pada wanita dan pria.

Kemangi merupakan salah satu tanaman berkhasiat Indonesia yang banyak mengandung komponen metabolit sekunder aktif dan kegunaannya berkaitan erat dengan aktivitas seksual (Wicaksono *et al.*, 2013). Kemangi juga diketahui memiliki khasiat sebagai antioksidan, antikanker, radioprotektif, antihipertensi dan kardioprotektif, antimikroba, imunomodulator, hepatoprotektor, dan antifertilitas (Almatroodi *et al.*, 2020; Ponnusam *et al.*, 2015; Baruah & Kma, 2019). Kemangi memiliki aroma yang khas karena mengandung minyak atsiri (sineol, eugenol, linalool, timol), karvakrol, asam ursolat, asam askorbat, kampene, betakarotin, terpineol, aldehid, alkaloid, dan flavonoid (Vinnata *et al.*, 2018; Verma, 2016).

Senyawa bioaktif asam ursolat pada kemangi diteliti memiliki efek sebagai antifertilitas. Senyawa tersebut mampu mengurangi spermatogenesis dengan memperlambat aktivitas sel sertoli pada pria, sedangkan aktivitas eugenol pada kemangi dapat memperpanjang fase siklus estrus pada wanita (Effendi *et al.*, 2015; Poli & Challa, 2019). Berdasarkan penelitian tersebut, kemangi berpotensi dijadikan alternatif baru kontrasepsi alami. Namun, belum diketahui status kesehatan dan keamanan pemberian kemangi untuk dikonsumsi oleh wanita. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi status kesehatan dan keamanan pemberian kemangi dengan bantuan hewan model tikus betina.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dan analisis sampel dilakukan di iRatco Veterinary Laboratory Services, Bogor.

Bahan dan Alat

Penelitian menggunakan hewan percobaan

tikus betina galur *Sprague-Dawley*, berumur 8 minggu, memiliki bobot badan 220-230 g, dan belum pernah bunting diperoleh dari iRatco Veterinary Laboratory Services, Bogor, kemangi, ketamin, xylazine, bedding, bahan untuk analisis hematologi. Peralatan yang digunakan adalah Mindray BC-2800 *hematology analyzer*, *magnetic hot plate stirrer*, EDTA dan *plain vacuum tube*, *disposable syringe* 3 mL, kapas ontrol, sarung tangan, masker, *cooling box*, mortar, tabung Erlenmeyer, dan saringan 100 µm mesh.

Pembuatan Sediaan Kemangi

Pembuatan sediaan maserasi kemangi dilakukan dengan cara menggerus kasar 100 g kemangi segar di dalam mortar. Gerusan kemangi dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer berisi air 100 mL dan dipanaskan di atas *magnetic hot plate stirrer* sampai mencapai suhu 100°C. Sediaan maserasi kemudian didinginkan di suhu ruang dan disaring menggunakan saringan 100 µm mesh untuk mendapatkan larutan stok. Larutan stok diencerkan untuk mendapatkan dosis larutan maserasi kemangi 1% dan 5%. Sediaan maserasi disimpan dalam botol dan dimasukkan ke dalam kulkas (suhu 4°C). Sediaan dibuat setiap 3 hari sekali.

Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini telah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor dengan nomor 007/KEH/SKE/1/2020. Sebanyak 15 ekor tikus betina galur *Sprague-Dawley* dimasukkan ke dalam kandang berupa box plastik berukuran 30x40 cm. Kandang tersebut dilengkapi dengan bedding berupa serbuk gergaji yang telah steril. Tikus diberi pakan standar secara *ad libitum*. Aklimatisasi tikus dilakukan selama 7 hari dan dibagi ke dalam tiga kelompok yaitu kelompok tikus yang tidak diberikan perlakuan maserasi kemangi atau kontrol (K0), kelompok tikus yang diberikan maserasi kemangi 1% (K1), dan maserasi kemangi 5% (K5). Pemberian maserasi kemangi dilakukan selama 20 hari.

Perlakuan dan Pengumpulan Data

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-21. Tikus dianestesi menggunakan ketamin (100 mg/kg bb) dan xylazin (3 mg/kg bb) melalui intraperitoneal. Pengambilan darah dilakukan secara intrakardial. Darah diambil sebanyak 4 mL, yaitu 1 mL dimasukkan ke dalam tabung EDTA (hematologi) dan 3 mL dimasukkan ke dalam tabung *plain*. Uji hematologi dilakukan menggunakan Mindray BC-2800 *hematology analyzer* (PT. Mindray Medical Indonesia)

sesuai dengan petunjuk penggunaan alat. Parameter hematologi yang diuji yaitu meliputi jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, nilai hematokrit, total leukosit, dan diferensial leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil). Uji biokimia darah dilakukan dengan spektrofotometer UV. Parameter biokimia darah yang diuji meliputi pemeriksaan fungsi hati (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* atau SGPT dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* atau SGOT) dan fungsi ginjal (ureum dan kreatinin).

Analisis Data

Data hasil penelitian yang dianalisis menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat perbedaan antar perlakuan pada taraf nyata 0.05. Pengujian statistik dilakukan menggunakan aplikasi *Microsoft Excel 2019* dan *Minitab 16*.

HASIL

Pemeriksaan hematologi dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kemangi terhadap status kesehatan tikus betina. Profil hematologi yang diamati ialah gambaran sel darah merah dan sel darah putih antara tikus kontrol dan tikus yang diberikan maserasi kemangi 1% dan 5%. Data kuantitatif profil hematologi tikus yang diberikan perlakuan maserasi kemangi pada akhir penelitian (hari ke-21) ditunjukkan pada Tabel 1.

Hasil pemeriksaan gambaran sel darah merah menunjukkan bahwa jumlah eritrosit, nilai hemoglobin, dan hematokrit tikus yang diberikan perlakuan maserasi kemangi 1% dan 5% tidak mengalami perbedaan nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P > 0.05$). Hasil pemeriksaan gambaran sel darah putih dan diferensiasi (jumlah leukosit, persentase limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil) pada kelompok tikus yang diberi perlakuan maserasi kemangi 1% dan 5% tidak menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P > 0.05$). Keamanan sediaan maserasi kemangi terhadap tubuh tikus betina dapat dilakukan pemeriksaan dengan mengukur fungsi hati dan ginjal. Kadar enzim SGPT dan SGOT yang tinggi dalam darah menjadi acuan untuk mengetahui adanya gangguan fungsi hati. Kadar ureum dan kreatinin yang tinggi dalam darah juga mengindikasikan adanya gangguan fungsi ginjal. Data kuantitatif pemeriksaan fungsi hati dan ginjal tikus yang diberikan perlakuan maserasi kemangi pada akhir penelitian (hari ke-21) ditunjukkan pada Tabel 2.

Hasil pemeriksaan SGPT dan SGOT pada kelompok tikus yang diberikan maserasi kemangi 1% dan 5% tidak

menunjukkan perbedaan nyata $p > 0.05$ dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil pemeriksaan fungsi ginjal dengan parameter ureum dan kreatinin pada kelompok tikus yang diberikan maserasi kemangi 1% dan 5% tidak menunjukkan perbedaan nyata $p > 0.05$ dibandingkan dengan kelompok kontrol.

PEMBAHASAN

Status kesehatan dan keamanan merupakan indikator yang dapat diukur sebagai salah satu penentu efikasi sediaan. Pemeriksaan darah penting dilakukan karena darah merupakan sistem transportasi utama yang berfungsi untuk mengedarkan nutrisi ke seluruh tubuh untuk kelangsungan metabolisme (Rosidah *et al.*, 2020). Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa pemberian maserasi kemangi pada tikus betina tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol sehingga tidak memengaruhi fisiologi tubuh tikus. Nilai eritrosit berada pada rentang nilai normal eritrosit pada tikus yang berkisar antara $2.09\text{--}6.8 \times 10^6/\mu\text{L}$ masih tergolong normal karena diikuti pula oleh kelompok kontrol (Delwatta *et al.*, 2018). Pemeriksaan hematokrit dan hemoglobin juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan. Jumlah hematokrit dan hemoglobin normal pada tikus masing-masing yaitu berkisar antara 37.9–49.9%, dan 13.7–16.8 g/dL (He *et al.* 2017).

Pemberian maserasi kemangi 1% dan 5% pada tikus betina menunjukkan tidak ada perbedaan nyata jumlah leukosit, limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, dan basofil dibandingkan dengan kelompok kontrol. Jumlah leukosit yang normal pada tikus betina adalah $1.13\text{--}7.49 \times 10^3/\mu\text{L}$, jumlah normal neutrofil yaitu berkisar diantara $0.15\text{--}1.5 \times 10^3/\mu\text{L}$, limfosit diantara $0.82\text{--}5.66 \times 10^3/\mu\text{L}$, monosit di antara $0.02\text{--}0.16 \times 10^3/\mu\text{L}$, eosinofil di antara $0.01\text{--}0.15 \times 10^3/\mu\text{L}$, dan basofil, diantara $0\text{--}0.03 \times 10^3/\mu\text{L}$ (He *et al.* 2017). Penelitian Navin *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak minyak esensial kemangi dapat bertindak sebagai antibakteri dan antiinflamasi yang signifikan. Ekstrak metanol dan air dari kemangi dapat menghambat inflamasi akut yang ditimbulkan dari pemberian karagenan (Almatroodi *et al.*, 2020). Ekstrak kemangi mengandung senyawa fenol yang berfungsi sebagai antioksidan dan mampu meningkatkan jumlah leukosit menurut El-Shafei *et al.*, (2021). Senyawa fenol bekerja secara sistemik ke seluruh tubuh dengan menurunkan reaksi radikal bebas sehingga metabolisme tubuh bekerja secara maksimal termasuk proses pembentukan darah merah dan darah putih.

Selain pemeriksaan darah, pemeriksaan terhadap fungsi organ juga dilakukan dengan mengukur kadar SGPT, SGOT, kreatinin, dan ureum. Pemeriksaan

Tabel 1. Data kuantitatif profil hematologi tikus yang diberikan perlakuan maserasi kemangi pada akhir penelitian (hari ke-21)

Parameter	Maserasi kemangi (% air minum)		
	Ko	K1	K5
Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)	5.66 ± 0.88^a	4.79 ± 0.47^a	5.52 ± 1.05^a
Hematokrit (%)	43.25 ± 2.77^a	41.39 ± 3.65^a	44.08 ± 3.29^a
Hemoglobin (g%)	14.87 ± 2.28^a	13.85 ± 2.89^a	13.94 ± 1.11^a
Jumlah leukosit ($10^3/\text{mm}^3$)	3.95 ± 1.95^a	4.05 ± 2.65^a	3.29 ± 2.18^a
Limfosit (%)	2.93 ± 1.48^a	3.74 ± 0.39^a	3.21 ± 1.86^a
Monosit (%)	0.03 ± 0.02^a	0.04 ± 0.02^a	0.04 ± 0.02^a
Neutrofil (%)	1.05 ± 0.56^a	0.95 ± 0.36^a	1.09 ± 0.60^a
Eosinofil (%)	0.12 ± 0.06^a	0.09 ± 0.07^a	0.13 ± 0.04^a
Basofil (%)	0.01 ± 0.009^a	0.004 ± 0.009^a	0.01 ± 0.01^a

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0.05$)

Tabel 2. Data kuantitatif pemeriksaan fungsi hati dan ginjal tikus yang diberikan perlakuan maserasi kemangi pada akhir penelitian (hari ke-21)

Perlakuan	Maserasi kemangi (% air minum)		
	Ko	K1	K5
SGPT (U/L)	22.11 ± 4.78^a	23.60 ± 5.41^a	19.40 ± 5.73^a
SGOT (U/L)	101.60 ± 18.17^a	96.80 ± 25.16^a	82.60 ± 28.62^a
Ureum (mmol/L)	9.69 ± 1.89^a	7.81 ± 1.55^a	10.19 ± 2.79^a
Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	46.47 ± 6.80^a	46.22 ± 8.17^a	44.16 ± 3.12^a

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0.05$)

fungsi hati tikus betina yang diberi maserasi kemangi 1% dan 5% menunjukkan kadar SGPT dan SGOT yang masih berada pada rentang nilai normal, yaitu 16–48 U/L dan 65–203 U/L (He *et.al.* 2017). Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian maserasi kemangi tidak mengganggu fungsi organ hati. Daun kemangi juga menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan atau antiradikal bebas karena memiliki kandungan flavonoid, eugenol, dan asam ursalat. Studi lain menyebutkan bahwa pemberian ekstrak air dingin kemangi (3g/100g, secara oral selama 6 hari) terbukti efektif melindungi hati tikus albino dari kerusakan akibat induksi terhadap karbon tetraklorida (0,2 ml/100 g).

Pemeriksaan fungsi organ ginjal dilakukan dengan mengukur kadar kreatinin dan ureum pada tikus. Kreatinin adalah salah satu jenis asam amino yang merupakan produk hasil katabolisme kreatin otot yang diekskresikan melalui ginjal (Ekwempu *et al.*, 2019). Ureum merupakan hasil metabolisme nitrogen atau katabolisme protein dimana gugus amino dilepas dari asam amino yang kemudian akan dirombak menjadi amonia dan dibawa ke hati untuk proses pembentukan ureum. Perubahan kadar kreatinin dan

ureum dalam darah dapat mengindikasikan adanya gangguan fungsi ginjal. Penyebab peningkatan kadar kreatinin kemungkinan dapat terjadi karena kerja otot yang berat atau karena terjadi gangguan pada fungsi ginjal (Ekwempu *et al.*, 2019). Tabel 2 menunjukkan kadar ureum dan kreatinin pada kelompok tikus yang diberikan maserasi kemangi 1% dan 5% tidak menunjukkan perbedaan nyata ($p > 0.05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol sehingga dapat dikatakan tidak toksik pada tubuh tikus betina. Hal tersebut terjadi akibat aktivitas antiradikal bebas yang dimiliki oleh senyawa fenol didalam ekstrak daun kemangi. Menurut penelitian Thadani (2015) kemangi memiliki efek menurunkan kadar ureum dan kreatinin secara signifikan pada tikus diabetes selama 8 minggu.

Pemberian sediaan maserasi kemangi 1% dan 5% melalui air minum tidak memengaruhi profil hematologi (gambaran sel darah merah, sel darah putih, dan diferensiasi sel darah putih) tikus dilihat dari tidak adanya perbedaan nyata dengan kelompok kontrol. Pemberian sediaan maserasi kemangi 1% dan 5% juga tidak menyebabkan perubahan pada fungsi organ hati dan ginjal melalui parameter SGPT, SGOT, ureum dan kreatinin. Pemberian kemangi sebagai

antifertilitas tidak memengaruhi kondisi fisiologis tikus betina dan tidak toksik sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan tikus betina.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada KEMENRISTEK DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui program penugasan dalam skema *World Class Research* dengan nomor kontrak 005/SP2H/LT/DRPM/2021.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatroodi SA, Alsahli MA, Almatroudi A, Rahmani AH. 2020. *Ocimum sanctum*: role in diseases management through modulating various biological activity. *Pharmacognosy Journal* 12(5):1198–1205.
- Baruah TJ, Kma L. 2019. Vicenin-2 acts as a radiosensitizer of the non-small cell lung cancer by lowering Akt expression. *Biofactors* 45(2):200–210.
- Delwatta SL, Gunatilake M, Baumans V, Seneviratne MD, Dissanayaka MLB, Batagoda SS, Udagedara AH, Walpola PB. 2018. Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal Model Experimental Medicine* 1(4):250–254.
- Effendi EM, Maheshwari H, Listya MMI. 2015. Aktivitas estrogenik ekstrak etanol 70% herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) premenopause. *Fitofarmaka* 5(1):10–18.
- Ekwempu AI, Shindang J, Nnanna OU, Sariem C, Davou G, Danaan EN. 2019. Serum creatinine and urea levels in wistar rats exposed to glacial acetic acid. *The Tropical Journal of Health Sciences* 26(1):32–37.
- El-Shafei, Sally MA, El-salam AHS, Hassan MS, Mohamed NH. 2021. Potential activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves extracts on phenol induced physiological alterations and hematotoxicity in mice. *Assiut J. Agric. Sci*;52(4):66–84.
- He Q, Su G, Liu K, Zhang F, Jiang Y, Gao J, *et al.* 2017. Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in *Sprague-Dawley* rats using the nonparametric rank percentile method. *PLoS One*. 12(2):1–18.
- [KEMENKES RI]. 2014. *Situasi dan Analisis Keluarga Berencana*. Jakarta (ID): Infodatin Kemenkes RI.
- Navin M, Ajay L, Naseem S, Seema S, Surendra S, Isha N. 2013. Preliminary ex-vivo and an animal model evaluation of *Ocimum sanctum*'s essential oil extract for its antibacterial and anti-inflammatory properties. *Oral Health and Dental Management* 12(3):174–179.
- Poli V & Challa C. 2019. A comparative study of eugenol and *Ocimum sanctum* Linn. leaf extract on the antifertility effect in female albino rats. *Journal of the Chinese Medical Association* 82(3): 231–234.
- Rosidah I, Ningsih S, Renggani TN, Agustini K, Efendi J. 2020. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* jantan umur 7 dan 10 minggu. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia* 7(1):136–145.
- Thadani S. 2015. Renoprotective effect of *Ocimum sanctum* in comparison with holmesartan medoxomil and pitavastatin in metformin treated diabetic rats. *Internasional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6(10):4433–4441.
- Verma S. 2016. Chemical constituents and pharmacological action of *Ocimum sanctum* (Indian holy basil-Tulsi). *The Journal of Phytopharmacology* 5(5):205–207.
- Vinnata NN, Salni, Nita S. Pemberian fraksi daun kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kesehatan* 9(3):366–375.
- Wicaksono aw, Trilaksana IGNB, Laksmi DNDI. 2013. Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap Lama Siklus Estrus Pada Mencit. *Indonesia Medicus Veterinus* 2(4):369–374.