



PENETAPAN LD₅₀ EKSTRAK BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L.*) PADA TIKUS GALUR WISTAR DENGAN METODE OECD 425

¹Sartika Dewi*, ²Karunita Ika Astuti, ³Esty Restiana Rusida

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, STIKES Borneo Lestari, Banjarbaru

Info Article

Submitted :

23 Agustus 2022

Revised :

7 Januari 2023

Accepted :

24 Januari 2023

Corresponding Author :

Sartika Dewi

Email :

sartikadewi12051999@gmail.com

ABSTRAK

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) sebagai alternatif pengobatan penyakit degeneratif salah satunya untuk penurunan kadar glukosa dalam darah dan dalam pengembangannya sebagai obat, perlu dilakukan uji keamanan bahan alam dengan menguji toksisitas dari bunga telang. Penelitian ini untuk mengetahui gejala toksisitas dan nilai LD₅₀ dengan metode OECD 425. Hewan uji tikus betina galur wistar dibagi menjadi kontrol negatif (Na-CMC) dan kelompok perlakuan (ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*)) dengan dosis 2000 mg/kgBB. Hewan uji diamati gejala-gejala toksisitas meliputi berat badannya dan tanda toksisitas lainnya selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi tremor (gemetar), konvulsi (kejang), latergi (lesu), diare, koma dan mati. Hasil menunjukkan nilai LD₅₀ ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) adalah >2000 mg/kgBB, berdasarkan klasifikasi BPOM termasuk dalam kategori 4 yaitu toksik ringan. Hasil pengamatan hewan uji tidak mengalami gejala-gejala toksisitas, dan tidak mengalami perubahan bermakna pada berat badan hewan uji pada kontrol negatif dan kontrol perlakuan ($p > 0,05$).

Kata kunci: bunga telang, toksisitas akut, OECD 425

Access this article



ABSTRACT

Telang flower (*Clitoria ternatea L.*) as an alternative degenerative disease treatment, one of them for decrease blood glucose levels, and development as medicine, need to safety test of natural ingredients of Telang flower (*Clitoria ternatea L.*), this research for to found symptoms of toxicity and LD₅₀ by OECD 425 method. Animal test of female wistar rat divided into negative control group (Na-CMC) and treatment group 70% ethanol extract Telang flower (*Clitoria ternatea L.*) on 2000 mg/kgBB dose. Animal test observed on symptoms of toxicity on weight and other symptoms of toxicity during 14 days. The observations include tremor (shiver), convulsions, lethargic, diarrhea, coma and die. The result of LD₅₀ grade is >2000 mg/kgBB, result on the classification of BPOM in 4 category that is mild toxic category. Result of observation do not symptoms of toxicity, and do not experience a significant decrease in weight of animal teste on the negative control group and treatment control ($p > 0,05$).

1. PENDAHULUAN

Tanaman Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) mempunyai potensi farmakologis sebagai antidiabetes, anti inflamasi, antidepresan, antihistamin dan imunomodulator (Al-Snafi, 2016). Metabolit sekunder yang terdapat pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) yaitu flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin (Cahyaningsih dkk, 2019).

Senyawa flavonoid dari ekstrak bunga telang mempunyai mempunyai efektivitas sebagai antidiabetes. Didukung penelitian (Daisy dkk, 2009) dalam pemberian ekstrak air bunga telang dengan dosis 400 mg/kgBB menurunkan glukosa serum dan hemoglobin glukosilasi, serta meningkatkan insulin, glikogen otot hati dan tulang. Penelitian (Rajamanickam dkk, 2015) dalam pemberian ekstrak metanol, etil asetat, dan kloroform dengan dosis 300 mg/kgBB menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang lebih efektif dibandingkan kelompok dosis yang lain dan dapat meningkatkan berat badan tikus diabetes. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan adanya potensi bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) sebagai antidiabetes.

Pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif pengobatan penyakit diabetes memerlukan waktu yang relatif lebih lama, namun dikhawatirkan terjadinya efek samping pada penggunaan dalam jangka panjang. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai tingkat keamanan suatu obat herbal agar dapat menghindari efek bahaya yang ditimbulkan. Dengan demikian, perlu

dilakukan uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) pada tikus betina galur wistar sebagai tahap awal uji keamanan farmakologi yang nantinya dapat menjadi acuan uji keamanan lanjutan seperti uji kronis dan sub akut serta pengembangan obat tradisional dari tanaman Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*).

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, timbangan analitik (Sojiky), sonde oral (OneMed), spuit 1 cc dan 3 cc (OneMed), *waterbath* (Mommert), *rotary avaporator* (Heidolph), cawan penguap (Iwaki), dan labu ukur (Pyrex).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah simplisia bunga telang yang diperoleh dari Banjarbaru Kalimantan Selatan, Na-CMC, dan larutan etanol 70% teknis.

2.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus betina galur wistar berjumlah 7 ekor sudah layak etik dengan nomor 108/KEPK-FKULM/EC/IV/2022. Pengujian untuk perlakuan digunakan 5 ekor hewan uji dan 2 ekor untuk kontrol negatif. Tikus yang digunakan berusia 8-12 minggu, berat badan 120-200 gram, tikus dalam keadaan sehat dan tidak hamil. Hewan uji melakukan penyesuaian diri selama 5 hari sebelum dilakukan perlakuan. Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material kedap air, kuat, dan mudah dibersihkan. Luas area kandang per ekor

tikus dengan berat 100-200 gram adalah 148,4 cm² dan tinggi 17,8 cm² dengan suhu ruangan diatur menjadi 22°C ± 3°C dan kelembababn relatif 30-70% serta penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Hewan uji diberi pakan BR2 sesuai standar laboratorium dan diberikan tanpa batas (BPOM, 2014).

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Bunga Telang

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan suhu kamar menggunakan pelarut etanol 70%. Simplisia kering bunga telang diblender hingga diperoleh serbuk, kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 500 mL dalam 100 gr serbuk bunga telang yang sudah lolos ayakan mesh 40. Maserasi pertama dilakukan selama 3x24 jam sambil dilakukan pengadukan setiap 8 jam. Selanjutnya dilakukan remaserasi selama 2x24 jam. Hasil maserat dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring, dan dilanjutkan ke tahap evaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu kurang dari 50°C. Kemudian dilanjutkan menggunakan *waterbath* untuk mengentalkan ekstrak (Cahyaningsih dkk, 2019).

2.4.2 Uji Toksisitas Akut

Penelitian uji toksisitas akut bunga telang menggunakan metode OECD 425 (*Up and Down Procedure*) yang terdiri dari *limit test* dan *main test*. *limit test* adalah tes yang menggunakan dosis 2000 mg/kgBB dengan pengamatan selama 1x24 jam pada 1 ekor hewan uji, jika hewan uji dapat bertahan hidup, maka akan dilanjutkan pada 4 ekor hewan uji selanjutnya. Namun, jika hewan uji mengalami gejala toksisitas maupun

kematian, maka *limit test* akan dihentikan dan dilanjutkan ke *main test*. *Main test* dilakukan jika senyawa dalam sediaan uji ditemukan informasi ketoksikan, maka dosis yang diberikan akan diturunkan 1 tingkat di bawah tingkat LD₅₀ jika hewan uji dapat bertahan hidup, maka dosis akan dinaikkan 1 tingkat (OECD, 2008). Gejala-gejala yang diamati berupa kenormalan kulit dan bulu, mata, latergi (lesu), konvulsi (kejang), tremor (gemetar), diare, dan kematian (BPOM, 2014).

Hewan uji diadaptasi selama 15 hari sebelum diberikan perlakuan. Hewan uji dibagi menjadi 2 kelompok, 5 ekor sebagai kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol 70% bunga telang dan 2 ekor sebagai kelompok kontrol negatif yang diberikan Na-CMC 0,5%. Dilakukan limit test dengan dosis 2000 mg/kgBB secara per oral. Sebelum diberikan perlakuan, hewan uji ditimbang dan dipuasakan selama 14 jam agar sampel yang diberikan dapat langsung berinteraksi dengan sistem pencernaan dan tidak akan mengganggu proses pencernaan tikus (Oktafia, 2019). Setelah diberikan sampel dipuasakan selama 4 jam untuk mengoptimalkan penyerapan absorpsi pada pencernaan hewan uji (Mansuroh, 2013). Dilakukan pengamatan selama 30 menit, 4 jam, 24 jam, 48 jam, 7 hari dan 14 hari. Jika selama pengamatan hewan uji mengalami gejala toksisitas atau kematian, *limit test* akan dihentikan dan dilanjutkan ke *main test* dengan dosis 1 tingkat lebih rendah (Wati dkk, 2021).

2.4.3 Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa gejala-gejala toksisitas akut yang

terjadi pada hewan uji seperti kenormalan kulit dan bulu, mata, tremor, latergi (lesu), konvulsi (kejang), diare dan kematian. Data kuantitatif yang di ambil berupa jumlah hewan uji yang mati selama pengamatan 14 hari dan berat badan tikus dari hari ke-0 sampai hari ke-14. Analisis data berat badan menggunakan aplikasi SPSS For Windows dengan Independent T-Test (Wati dkk, 2021).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya potensi bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) sebagai antidiabetes. Namun belum ada penelitian lanjutan terkait keamanan pada tanaman tersebut. Uji toksisitas akut merupakan pengujian awal untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji melalui orang dalam waktu 24 jam di mana uji ini merupakan uji awal untuk mengetahui tingkat keamanannya. Metode penentuan toksisitas akut yang digunakan adalah OECD 425 (*Acute Toxicity Up and Down Procedure*) karena menggunakan lebih sedikit hewan uji dan nilai LD₅₀ lebih spesifik (BPOM, 2014). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang diekstraksi dengan etanol 70% menggunakan metode maserasi. Identifikasi senyawa ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) menurut Pere (2022) dalam penelitiannya positif mengandung metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpenoid, pada senyawa tanin dan steroid menunjukkan hasil negatif. Hasil ekstraksi yang diperoleh dari ekstrak

kental bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) 24,87 gr sehingga rendemen yang diperoleh dari ekstrak tersebut adalah 24,9%.

Uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) menggunakan metode OECD 425 *Up and Down Procedure* dikarenakan mempunyai kelebihan menggunakan hewan yang relatif sedikit dan dapat menentukan estimasi LD₅₀ yang lebih spesifik. Tikus betina galur wistar dipilih sebagai hewan uji dikarenakan tikus betina cenderung lebih sensitif dalam memunculkan tanda-tanda gejala toksisitas dibandingkan tikus jantan (Oktafia, 2019).

Pengamatan gejala toksisitas selama 14 hari setelah pemberian ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan dosis 2000 mg/kgBB sesuai dengan syarat pada tahapan uji toksisitas akut menggunakan metode OECD 425 sebagai tahap awal pengamatan, karena sebelumnya belum ada yang meneliti tanaman bunga telang terhadap uji toksisitas akut, maka diambil dosis awal yaitu 2000 mg/kgBB. Pada dosis 2000 mg/kgBB hewan uji tidak menunjukkan adanya gejala toksisitas.

Gejala toksisitas yang diamati meliputi kenormalan mata, kulit dan bulu, latergi (lesu), konvulsi (kejang), tremor (gemetar), diare dan kematian. Hal yang menyatakan bahwa tidak menimbulkan gejala toksisitas karena hewan uji pada kontrol perlakuan dan kontrol negatif mempunyai aktivitas yang sama yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hewan uji yang diamati selama 14 hari tidak ada yang mengalami kematian dengan dosis 2000

Penetapan LD50 Ekstrak Bunga Telang...

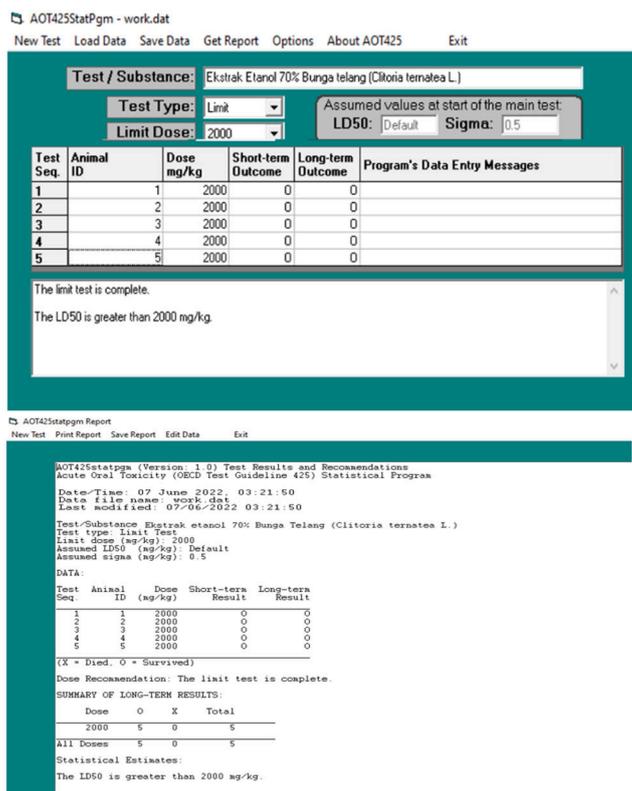
mg/kgBB sehingga didapatkan nilai LD₅₀ ekstrak etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) adalah >2000 mg/kgBB yang

ditentukan dengan menggunakan software AOT 425 StatPgm yang dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Tabel 1. Pengamatan gejala-gejala toksisitas selama 14 hari

Pengamatan	Pengamatan gejala-gejala toksisitas											
	30 mnt		4 jam		24 jam		48 jam		7 hari		14 hari	
	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P
Kulit dan bulu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Mata	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Latergi (lesu)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Konvulsi (kejang)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tremor (gemetar)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mati	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: K: Kelompok Kontrol Negatif, P: Kelompok Kontrol Perlakuan, N: Normal, (-): Tidak terjadi, (✓): Terjadi



Gambar 1. Hasil AOT 425 StatPgm Uji Toksisitas Akut

Perubahan rata-rata berat badan tikus selama 14 hari pada kelompok perlakuan dan kontrol negatif sama-sama mengalami naik turun hingga hari ke-14 namun tidak ada perbedaan yang

signifikan. Penelitian Wati dkk, 2021 rata-rata berat badan tikus dianalisis secara statistik menggunakan *Independent T-Test* dengan syarat data harus terdistribusi normal dan homogen. Pada *Independent*

T-Test didapatkan hasil sig (2-tailed) $p > 0,05$ dengan nilai 0,470 yang artinya rata-rata berat badan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif tidak ada perbedaan yang bermakna, sehingga pemberian ekstrak etanol 70% bunga

telang (*Clitoria ternatea L.*) tidak mempengaruhi berat badan tikus. Rata-rata berat badan tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**.

Tabel 2. Rata-rata berat badan tikus kelompok kontrol negatif selama 14 hari

Tikus	Berat Badan Tikus (gram) pada hari ke-			
	0	1	7	14
KN1	142	144	151	155
KN2	124	125	128	130
Rerata \pm SE	133 \pm 9	134,5 \pm 9,5	139,5 \pm 11,5	142,5 \pm 12,5

Keterangan: KN: Kontrol Negatif

Tabel 3. Rata-rata berat badan tikus kelompok kontrol perlakuan selama 14 hari

Tikus	Berat Badan Tikus (gram) pada hari ke-			
	0	1	7	14
KP1	120	120	128	130
KP2	139	137	139	139
KP3	132	138	136	135
KP4	125	129	130	135
KP5	120	119	120	124
Rerata \pm SE	127,2 \pm 3,8	128,6 \pm 4,03	130,6 \pm 3,31	132,6 \pm 2,6

Keterangan: KP: Kontrol Perlakuan

Berdasarkan nilai LD_{50} yang diperoleh dari uji ini adalah 2000 mg dan masuk kedalam kategori "toksik ringan" (BPOM, 2014). Hal ini diduga sampel ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang tidak mempunyai kandungan senyawa tanin. Siamtuti dkk (2017) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa makromolekul yang dapat berperan sebagai penolak nutrisi (*antinutrient*) dan penghambat enzim (*enzyme inhibitor*) yang dimana jika enzim terhambat, maka metabolisme tubuh juga ikut terganggu dan akan menimbulkan gejala-gejala toksisitas.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan pada pemberian ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap tikus betina galur wistar tidak memberikan efek toksik jika diamati dari gejalanya, nilai LD_{50} ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang di uji pada tikus betina galur wistar adalah lebih dari 2000 mg/kgBB, dan masuk dalam kategori 4 pada BPOM 2014, dengan klasifikasi toksik ringan. Harapan dengan adanya hasil penelitian ini bisa memberikan informasi kepada masyarakat terkait keamanan penggunaan bunga telang (*Clitoria*

ternatea L.) dalam jumlah yang banyak. Semoga jurnal ini dapat menjadi acuan untuk peneliti selanjutnya yang ingin mengembangkan penelitian uji toksisitas yang lebih spesifik lagi seperti uji toksikologi sub akut dan kronis serta histopatologi hewan uji.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih sebanyak-banyaknya kepada STIKES Borneo Lestari selaku institusi yang telah memberikan dukungan hingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Snafi, A.E. (2016). Pharmacological importance of *Clitoria ternatea* – A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6: 68-83.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2014). Peraturan Nomor 7 Tahun 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo. Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.
- Cahyaningsih, E., Putu, E.S.K., P. Santoso. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5: 51-57.
- Daisy, P., Santosh K., M. Rajathi. (2009). Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Effect of *Clitoria ternatea* Linn. In Alloxan-Induced Diabetic Rats. *African Journal of Microbiology Research*, 3(5).
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Dorong Pengembangan Industri Obat Tradisional. <https://www.kemkes.go.id/article/view/19082100002/kemenkes-dorongpengembangan-industri-obat-tradisional.html> diakses tanggal 08 Desember 2021.
- Oktafia, N., Susanti, R., Purwanti, N.U. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas (*Ananas comusus L.*) terhadap Tikus Betina. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4: 1-11.
- Organization for Economic Co-operation and Development. (2008). OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Up and Down Procedure (UDP), 425.
- Pere, M.Y. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Menggunakan Metode FRAP. Skripsi. S1 Farmasi, STIKES Borneo Lestari, Banjarbaru
- Rajamanickam, M., Kalaivanan, P., Sivagnanam, I. (2015). Evaluation of Anti-oxidant and Anti-Diabetic Activity of Flower Extract of *Clitoria ternatea L.* *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 08: 131.
- Siamtuti, W.S., Renika, A., Zulvika, K.W., Nanang A., Indra. (2017). Potensi Tannin pada Ramuan Ngingang sebagai Insektisida Nabati yang Ramah Lingkungan. *Bioeksperimen*, 3:2.
- Wati, H., Muthia, R., Kartini, Setiawan F. (2021). Acute Toxicity Study of the Ethanolic Extract of *Eleutherine bulbosa Urb* in Wistar Rats. *Pharmacy Education*, 2: 143-147.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to **Share** — copy and redistribute the material in any medium or format. **Adapt** — remix, transform, and build upon the material. Under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use. **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes. **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. **No additional restrictions** — You may not apply legal terms or technological measures that legally restrict others from doing anything the license permits.