**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL 70% BUNGA TELANG *(Clitoria ternatea L.)* TERHADAP TIKUS BETINA GALUR WISTAR DENGAN METODE OECD 425**

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

1,2,3Program Studi Farmasi, STIKES Borneo Lestari, Banjarbaru

|  |  |
| --- | --- |
| **Info Article** | **ABSTRAK** |
| **Submitted :** | 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** |
|  |
| **Revised :** |
|  |
| **Accepted :** |
|  |
|  |
| **Corresponding Author :** |
| Sartika DewiKarunita Ika AstutiEsty Restiana Rusida |
|  |
| **Email :** |
| *sartikadewi12051999@gmail.com* |
|  |
| **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).**Keywords:* ***Telang Flower, acute toxicity test, OECD 425*** |

|  |
| --- |
|  |

1. **PENDAHULUAN**

Riskesdas (2019) pada tahun 2010 hingga 2018 menyatakan bahwa masyarakat Indonesia menggunakan obat tradisional meningkat hingga 44,3%. Salah satu tanaman yang digunakan adalah Bunga Telang *(Clitoria ternatea L.)* yang 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 daripada glibenklamid 10 mg/kgBB dan dapat meningkatkan berat badan tikus diabetes. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan adanya potensi bunga telang *(Clitoria ternatea L.)* sebagai alternatif pengobatan penurunan kadar glukosa darah.

Hal yang mendasari pengguaan bahan alam untuk 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 menggunakan metode *Acute Toxicity Up and Down Procedure* (OECD 425 (BPOM, 2014). Sehingga dapat menjadi acuan pengembangan obat tradisional dari tanaman Bunga Telang *(Clitoria ternatea L.)*  dan dapat menjadi sumber informasi dalam pengembangan obat tradisional.

1. **METODE PENELITIAN**
	1. **Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, timbangan analitik (Sojikyo), sonde oral (OneMed), spuit 1 cc dan 3 cc (OneMed), *waterbath* (Memmert), *rotary avaporator* (Heidolph), cawan penguap (Iwaki), labu ukur (Pyrex) dan hewan uji yang sudah layak etik dengan nomor 108/KEPK-FKULM/EC/IV/2022.

* 1. **Bahan**

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

* 1. **Prosedur Penelitian**

**2.3.1 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℃. Kemudian dilanjutkan menggunakan *waterbath* untuk mengentalkan ekstrak.

**2.3.4 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 kematiaan (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 absorbsi 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).

**2.3.5 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).

1. **HASIL DAN PEMBAHASAN**

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 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 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 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 ± SE | 133 ± 9 | 134.5 ± 9.5 | 139.5 ± 11.5 | 142.5 ± 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 ± SE | 127,2 ± 3,8 | 128,6 ± 4,03 | 130,6 ± 3,31 | 132,6 ± 2,6 |

Keterangan: KP: Kontrol Perlakuan

Menurut kriteria BPOM (2014) ekstrak etanol 70% bunga telang *(Clitoria ternatea L.*) termasuk dalam klasifikasi tingkat toksik nomor 4 yaitu “toksik ringan” dengan rentang nilai LD50 500-5000 mg. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanol 70% bunga telang *(Clitoria ternatea L.*) memiliki tingkat toksisitas yang ringan. 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.

1. **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 LD50 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.

1. **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 Nginang 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.

|  |  |
| --- | --- |
| Creative Commons License | **Copyright © 2020** 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. |