

## UJI TOKSISITAS AKUT DERMAL EKSTRAK BATANG TALAS (*Colocasia esculenta* (L) Schoot) TERHADAP TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*)

Isti Nurmaidah<sup>1</sup>, Fitri Andriani Fatimah<sup>2\*</sup>, Muhammad Nurul Hasanudin<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Universitas Nahdlatul Ulama Yogyakarta

Email: [fitri.andriani.f@unu-jogja.ac.id](mailto:fitri.andriani.f@unu-jogja.ac.id)

### **Abstract**

**Background:** Toxicity testing of new drugs needs to be done to determine their efficacy and safety. Taro stem extract (*Colocasia esculenta*. (L) Schott) contains tannins, saponins, flavonoids, steroids and terpenoids, each of which has the potential to cure drugs.

**Objective:** This study aims to assess the acute dermal toxicity effects of taro stem extract on male wistar rats (*Rattus norvegicus*).

**Method:** The method used refers to the OECD Guideline for Testing of Chemicals - No. Test: 402, Acute Dermal Toxicity - LD50 cut off.

**Result:** The preliminary test started from doses of 200, 1000 and 2000 mg/KgBW and the main test was carried out up to a dose of 2000 mg/KgBW, both of which showed no irritation response or death of the test animals..

**Conclusion:** The conclusion of the irritation index scoring = 0, prove that taro stem extract does not cause skin irritation such as erythema and edema, the LD50 value of taro stem extract (*Colocasia esculenta*. (L) Schott) is >2000 mg/kgBW, included in the unclassified category 5, namely low toxicity and safe for topical use.

**Keywords:** Acute toxicity, dermal, *Colocasia esculenta*. (L) Schott, *rattus norvegicus*.

### **Abstrak**

**Latar belakang:** Pengujian toksisitas terhadap obat baru perlu dilakukan untuk mengetahui efikasi dan keamanannya. Ekstrak batang talas (*Colocasia esculenta*. (L) Schott) mengandung tanin, saponin, flavonoid, steroid dan terpenoid, masing-masing zat tersebut mempunyai potensi penyembuhan obat.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek toksisitas akut dermal ekstrak batang talas pada tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*).

**Metode:** Metode yang digunakan merujuk pada OECD Guideline for Testing of Chemical - No. Test: 402, Acute Dermal Toxicity – LD<sub>50</sub> cut off.

**Hasil:** Uji pendahuluan dimulai dari dosis 200, 1000 dan 2000 mg/KgBB dan uji utama dilakukan sampai dengan dosis 2000 mg/KgBB keduanya tidak terdapat respon iritasi dan kematian hewan uji.

**Kesimpulan:** Hasil skoring indeks iritasi = 0, membuktikan bahwa ekstrak batang talas tidak menyebabkan iritasi kulit seperti eritema dan edema, nilai LD<sub>50</sub> ekstrak batang talas (*Colocasia esculenta*. (L) Schott) adalah >2000 mg/KgBB, termasuk dalam kategori 5 *unclassified* yaitu toksisitas rendah dan aman digunakan secara topikal.

**Kata kunci:** Toksisitas akut, dermal, *Colocasia esculenta*. (L) Schott, *rattus norvegicus*

## PENDAHULUAN

Menurut WHO, pengobatan tradisional, termasuk penggunaan obat herbal, telah dimanfaatkan secara luas di berbagai negara di dunia. Namun, penggunaan obat tradisional ini harus dilakukan secara rasional dan didasarkan pada bukti ilmiah ((Siahaan dan Aryastami, 2018). Pemerintah Indonesia menyatakan bahwa penggunaan pengobatan tradisional melalui konsumsi herbal, jamu, atau obat-obatan lain yang berasal dari tumbuhan obat (TO) dapat mendukung kemandirian masyarakat dalam menjaga Kesehatan (Siahaan). Menurut Peraturan Kepala BPOM Nomor 24 Tahun 2017 tentang Kriteria dan Tata Laksana Registrasi Obat, obat yang memperoleh izin edar harus memenuhi sejumlah kriteria. Obat tersebut harus memiliki khasiat yang terbukti secara meyakinkan serta tingkat keamanan yang memadai, yang didukung oleh hasil uji nonklinik dan uji klinik, atau bukti lain sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan. Selain itu, obat harus memenuhi standar mutu yang ditetapkan, termasuk proses produksi yang sesuai dengan ketentuan. Obat harus memenuhi persyaratan mutu sesuai standar yang berlaku, termasuk diproduksi sesuai dengan Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB) dan didukung oleh bukti yang valid. Selain itu, obat wajib dilengkapi dengan informasi produk dan label yang mencakup keterangan lengkap, objektif, dan tidak menyesatkan untuk memastikan penggunaannya dilakukan secara tepat (BPOM, 2017).

Bahaya dari paparan obat pada manusia dapat diketahui dengan mengidentifikasi efek yang merugikan, seperti efek kumulatif, karsinogenik, teratogenik, atau mutagenik. Informasi ini diperoleh melalui percobaan menggunakan hewan uji dalam serangkaian uji toksisitas. Uji toksisitas bertujuan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi serta menentukan data dosis-respon yang spesifik dari bahan uji. Hasil dari uji toksisitas tersebut dapat menjadi dasar dalam menentukan dosis penggunaan yang aman bagi manusia (BPOM, 2017).

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, serangkaian uji toksisitas nonklinik secara *in vivo* mencakup berbagai jenis pengujian, seperti uji toksisitas akut oral, subkronik oral, kronik oral, teratogenisitas, sensitisasi kulit, iritasi mata, iritasi akut dermal, iritasi mukosa vagina, serta uji toksisitas subkronik dermal. Faktor-faktor yang memengaruhi keandalan hasil uji toksisitas meliputi pemilihan spesies dan galur hewan uji, jumlah hewan yang digunakan, metode pemberian sediaan uji, penentuan dosis uji, efek samping yang diamati, serta teknik dan prosedur pengujian, termasuk cara penanganan hewan selama penelitian (BPOM, 2017).

Pengujian toksisitas pada produk atau obat baru yang akan dipasarkan biasanya dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas, keamanan, dan potensi toksisitasnya. Selain itu, uji keamanan juga diperlukan untuk memenuhi persyaratan atau mendapatkan izin edar produk atau obat tersebut di masyarakat. Dalam konteks penggunaan Minyak Rajas, diperlukan langkah lanjutan untuk mengumpulkan data

ilmiah terkait potensi toksisitasnya pada hewan uji. Salah satu uji toksisitas yang umum dilakukan pada tahap awal adalah uji toksisitas akut dermal (Anderson dan Meade, 2014).

Tumbuhan telah lama dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan untuk berbagai penyakit. Produk alami yang berasal dari tumbuhan menjadi sumber utama senyawa yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian penemuan obat baru. Beberapa obat yang saat ini berperan sebagai agen terapeutik merupakan hasil pengembangan dari produk alami tumbuhan (Najmi et al., 2022). Secara tradisional, masyarakat telah memanfaatkan berbagai bagian tumbuhan, seperti daun, kulit batang, kulit pohon, dan bunga, sebagai obat topikal. Pengembangan obat herbal semakin berkembang, terutama karena adanya risiko efek samping berbahaya yang sering dikaitkan dengan obat sintesis. Akibatnya, pengobatan alternatif dan komplementer, khususnya yang menggunakan obat herbal, kini semakin populer dan mendapat perhatian lebih luas (Zhang et al., 2015). Namun, penggunaan obat herbal, khususnya obat herbal terstandar untuk penggunaan topikal, tetap memiliki potensi risiko efek samping, seperti reaksi alergi, fotosensitisasi, dermatitis atopik, atau munculnya jerawat. Oleh karena itu, uji toksisitas akut dermal menjadi salah satu persyaratan penting dalam proses pengembangan obat herbal terstandar topical (Ernst, 2000).

Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit adalah *Colocasia esculenta*, yang lebih dikenal sebagai talas. Talas adalah tumbuhan pangan berupa herba tahunan dari keluarga talas-talasan (*Araceae*). Seluruh bagian tumbuhan ini diduga memiliki potensi sebagai alternatif obat luka, khususnya tangkai daunnya yang kerap digunakan sebagai pembalut luka baru atau sebagai obat alternatif untuk mengobati luka (Dewangga et al., 2017).

Talas diduga mengandung senyawa aktif seperti flavonoid dan saponin (Wijaya, 2014). Flavonoid, fenolik, dan tanin merupakan beberapa senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid melibatkan efek bakteriolitik, penghambatan sintesis protein, DNA, dan RNA, serta pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut. Proses ini merusak membran sel bakteri, yang kemudian menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler (Sujana, 2024). Saponin memiliki tingkat toksisitas yang tinggi terhadap fungi, sehingga berperan dalam mendukung proses penyembuhan luka (Alfonsius Wijaya et al., 2014).

Penilaian potensi toksisitas akut dermal ekstrak batang talas (*Colocasia esculenta* L.) dalam studi ini dilakukan berdasarkan panduan *The OECD Guideline for Testing of Chemicals - Test No. 402: Acute Dermal Toxicity - Fixed Dose Procedure* (OECD, 2017). Parameter uji mencakup evaluasi klinis, pengamatan makroskopis dan kematian pada hewan uji. Standar OECD dipilih karena diakui secara internasional oleh banyak negara untuk menguji keamanan produk, termasuk bahan kimia, kosmetik, dan obat-obatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas akut dermal ekstrak batang talas (*Colocasia esculenta* L.) sebagai salah satu langkah dalam memastikan aspek keamanan penggunaan obat topikal.

## **METODE**

### **Lokasi penelitian dan *Ethical Clearance***

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Industri Halal. Universitas Nahdlatul Ulama Yogyakarta. Seluruh prosedur penggunaan hewan uji telah dilakukan sesuai dengan protokol yang berlaku dan memperoleh persetujuan dari Komite Etik Penelitian Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, sebagaimana tercantum dalam surat persetujuan etik hewan bernomor 022407097.

### **Bahan dan Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, alat cukur, sarung tangan latex (*Safe glove*), oven (*food dehydrator* FD-30), *cut pen*, kamera smartphone, alat tulis, timbangan analitik (Ohaus), batang pengaduk, toples kaca, cawan porselen, *chopper* (Mitochiba), pipet tetes (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), gelas ukur (Herma), Gelas beker (Approxy), timbangan presisi (Sojiky), *rotary evaporator* (IKA HB Digital) dan alat-alat lainnya. Sedangkan Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang talas (*Colocasia esculenta*. (L) Schott), etanol 96%, aquadest, Wagner, serbuk Mg, HCL pekat, asam sulfat pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, kassa steril, dan plester.

### **Pembuatan Simplisia**

Batang talas yang sudah dipisahkan dari daun nya dicuci dengan menggunakan air mengalir sampai bersih kemudian ditiriskan, selanjutnya dilakukan perajangan dan dikeringkan menggunakan oven (*food dehydrator* FD-30) dengan suhu 50°C selama 8 jam dan dihaluskan menggunakan blender hingga terbentuk serbuk halus

### **Pembuatan Ekstrak**

Serbuk halus simplisia batang talas (*Colocasia esculenta*. L) kemudian di maserasi. Langkah awal serbuk ditimbang lalu dimasukkan kedalam toples kaca dan ditambahkan pelarut etanol 96%. Selama maserasi dilakukan pengadukan dan didiamkan selama 72 jam. Proses pengadukan menggunakan batang pengaduk 2 kali dalam 24 jam selama 5 menit.

Toples disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung, setelah 72 jam lalu maserat disaring dan ditampung dalam wadah untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan untuk menguapkan pelarut etanol hingga diperoleh ekstrak kental batang talas (*Colocasia esculenta*. L) (Alfonsius Wijaya et al., 2014).

### **Analisis Kandungan Fitokimia**

#### **Senyawa Flavonoid**

Ekstrak kental sebanyak 1-2 g ditambahkan dengan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Jika adanya perubahan warna merah atau jingga pada ekstrak menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

#### **Senyawa Alkaloid**

Ekstrak kental sebanyak 1 g ditambahkan beberapa pereaksi weagner. Terbentuknya endapan berwarna coklat mengindikasikan adanya alkaloid.

### **Senyawa Saponin**

Ekstrak kental sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat selama 30 detik. Apabila terdapat buih yang stabil setinggi 1-10 cm menandakan adanya kandungan saponin.

### **Senyawa Terpenoid dan Steroid**

Ekstrak batang talas sebanyak 1 g dalam tabung reaksi yang ditambahkan kloroform sebanyak 20 tetes, kemudian dikocok. Masing-masing asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes ditambahkan pada sampel. Terpenoid memberikan warna merah atau ungu, sedangkan steroid memberikan warna biru atau hijau.

### **Persiapan Hewan Uji**

Penelitian ini melibatkan tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji. Tikus yang digunakan dalam kondisi sehat, berusia 8–10 minggu, dengan berat badan 200–300 gram, serta memiliki kulit yang utuh tanpa kerusakan. Sebelum perlakuan, hewan uji diistirahatkan selama satu minggu untuk memungkinkan adaptasi fisiologi terhadap lingkungan baru. Sehari sebelum pemberian bahan uji, rambut pada area *dorsal* atau *flank* dengan ukuran 6 x 8 cm (minimal 10% dari total luas permukaan tubuh) dicukur sebagai lokasi paparan bahan uji. Untuk mempermudah pencukuran, digunakan krim *Veet Pure Formula*. Pencukuran dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari cedera pada dermis, memastikan kulit tetap sehat dan utuh sesuai pedoman (OECD, 2017a).

### **Prosedur Uji Toksisitas Akut Dermal**

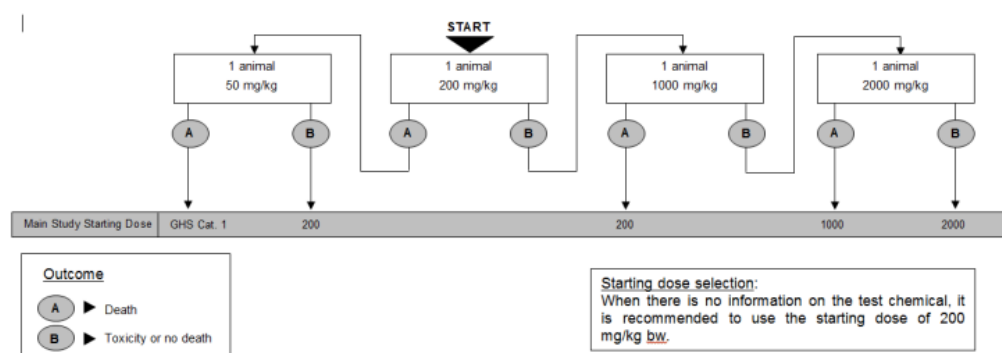
Pengembangan model hewan uji dalam penelitian ini mengacu pada *The OECD Guideline for Testing of Chemicals - Test No. 402: Acute Dermal Toxicity - Fixed Dose Procedure*. Parameter yang diamati meliputi evaluasi klinis, pemeriksaan makropatologi kulit, pemeriksaan patologi anatomi, dan mortalitas pada hewan uji (OECD, 2017). OECD No. 402 bertujuan untuk mengidentifikasi dosis terendah yang dapat menyebabkan gejala toksisitas dan kematian setelah paparan zat kimia melalui rute dermal. Pemilihan metode OECD didasarkan pada optimalisasi desain penelitian dengan meminimalkan jumlah hewan uji. Selain itu, metode ini diakui secara internasional dan banyak digunakan oleh peneliti di berbagai negara.

Uji pendahuluan dilakukan pada lima hewan uji sesuai dengan tahapan yang ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan informasi yang tersedia mengenai bahan kimia uji, dosis awal yang digunakan dapat dipilih dari 50, 200, 1000, atau 2000 mg/kg BB. Jika informasi tentang bahan uji belum tersedia, pengujian dianjurkan dimulai dengan dosis 200 mg/kg BB. Namun, jika data yang tersedia cukup, dosis awal dapat dimulai pada 1000 mg/kg BB (OECD, 2017). Dosis tertinggi yang tidak menyebabkan kematian atau tidak menunjukkan tanda-tanda toksisitas berat akan digunakan untuk tahap evaluasi utama (Saputra et al., 2023).

Bahan kimia uji diaplikasikan pada area kulit yang telah ditentukan, kemudian ditutup dengan kassa steril dan dibalut menggunakan plester yang tidak menyebabkan iritasi. Langkah ini bertujuan untuk memastikan bahan uji tetap kontak dengan kulit selama 24 jam tanpa ada risiko tertelan oleh hewan uji. Setelah periode paparan berakhir, plester dilepas, dan sisa bahan kimia yang menempel pada kulit dibersihkan menggunakan aquadest atau pelarut netral lainnya, sebelum dilakukan observasi lebih lanjut.

Observasi dilakukan dengan mencakup penilaian klinis, pengamatan patologi, serta pencatatan kematian hewan uji pada jam ke-0, 24, 48, dan 72 setelah pemaparan bahan uji, dan dilanjutkan hingga hari ke-14. Jika terjadi kematian atau gejala toksisitas berat pada hewan uji, pengujian dilanjutkan dengan dosis yang lebih rendah. Apabila dosis uji terendah yang direkomendasikan tetap menyebabkan kematian atau gejala toksisitas berat, maka pengujian dihentikan. Dosis tertinggi yang tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas berat akan digunakan untuk uji utama toksisitas akut dermal.

Penelitian ini telah melakukan uji pendahuluan menggunakan dosis 200 mg/kg BB. Pada semua interval pengamatan, tidak ditemukan kematian maupun respons klinis yang mengindikasikan tanda-tanda toksisitas berat. Uji lanjutan dilakukan dengan dosis 2.000 mg/kg BB menggunakan prosedur yang sama pada hewan uji baru. Berdasarkan pedoman OECD (2017), dosis 2.000 mg/kg BB adalah dosis maksimum yang direkomendasikan untuk utama uji toksisitas akut dermal. Pada tahap ini, ditambahkan dua ekor hewan uji baru untuk setiap kelompok perlakuan dan kontrol. Dalam uji ini, ekstrak batang talas diaplikasikan secara topikal pada dosis tunggal 2.000 mg/kg BB, sedangkan kelompok kontrol diberikan placebo dalam jumlah yang sama seperti kelompok perlakuan. Proses uji dilakukan sesuai tahapan yang ditunjukkan pada Gambar 1.

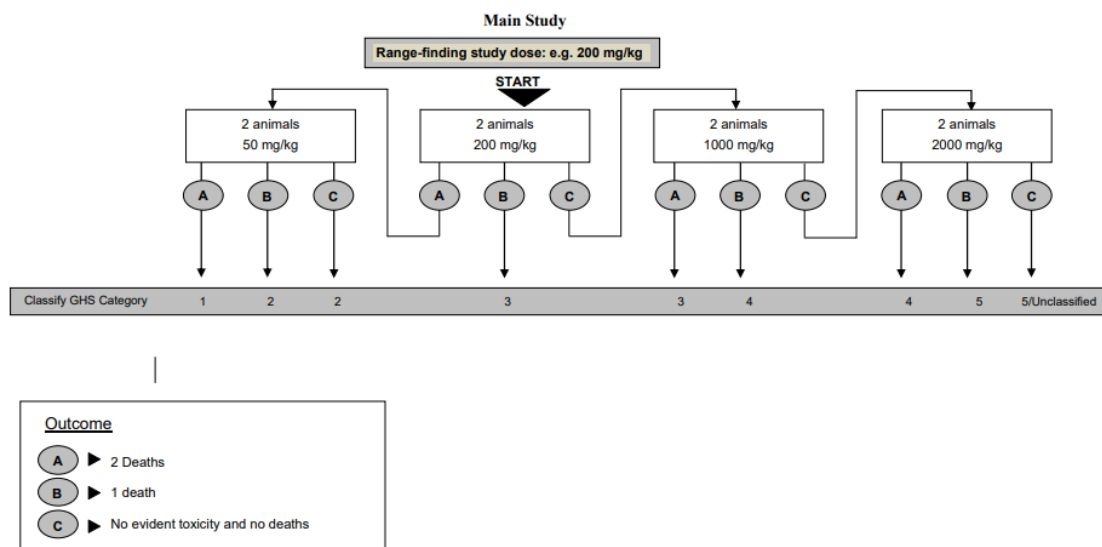


**Gambar 1. Bagan Alir Uji Pendahuluan Toksisitas Akut Dermal (OECD, 2017b)**

Dosis untuk uji utama ditentukan berdasarkan hasil dari uji pendahuluan. Setiap kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dosis, terdiri atas dua hewan uji. Bahan uji diaplikasikan pada kulit yang telah dicukur, lalu ditutup dengan kassa steril dan dibalut menggunakan

plester yang tidak menyebabkan iritasi. Langkah ini dilakukan untuk memastikan bahan uji tetap bersentuhan dengan kulit selama 24 jam tanpa risiko tertelan oleh hewan.

Setelah periode paparan selesai, plester dilepas, dan sisa bahan uji yang masih menempel pada kulit dibersihkan menggunakan aquadest atau pelarut netral lainnya. Observasi dilakukan pada interval waktu 0, 24, 48, dan 72 jam setelah paparan, kemudian dilanjutkan hingga hari ke-14. Pengamatan meliputi evaluasi respons iritasi secara makroskopis dan pencatatan kematian. Alur proses uji utama dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Bagan Alir Uji Utama Toksisitas Akut Dermal (OECD, 2017b)**

### Pengamatan Klinis

Hewan dari kedua kelompok perlakuan diamati secara klinis segera setelah periode paparan selesai. Pemeriksaan dilakukan secara intensif setiap jam selama 6 jam pertama, diikuti pemantauan selama 24 jam, dan selanjutnya observasi dilakukan sekali sehari hingga hari ke-14. Penimbangan berat badan tikus dilakukan bersamaan dengan pengamatan klinis visual, serta pencatatan adanya kematian pada hewan uji.

Setiap tanda toksik yang muncul, waktu kemunculan, durasi toksisitas, waktu pemulihan klinis, perubahan berat badan, dan waktu kematian dicatat secara sistematis dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Observasi khusus mencakup tanda seperti tremor, kejang, air liur berlebihan, diare, lesu, tidur, hingga koma. Pengamatan juga meliputi perubahan pada kulit, rambut, mata, selaput mukosa, sistem pernapasan, peredaran darah, sistem saraf pusat dan otonom, aktivitas somatomotor, serta pola perilaku (Merdana et al., 2020). Penimbangan berat badan dilakukan sebelum perlakuan dimulai, kemudian dilanjutkan setiap hari hingga akhir periode observasi. Hewan yang ditemukan dalam kondisi kritis, menunjukkan gejala nyeri parah, atau mengalami cedera fisik permanen harus segera disuntik mati sesuai prosedur etis (Merdana et al., 2020).

### Pengamatan Makroskopis

Pengamatan makroskopis kulit mencakup evaluasi visual untuk mendeteksi perubahan atau reaksi yang tampak pada kulit setelah terpapar bahan uji. Pengamatan makroskopis pada area kulit yang diberi perlakuan dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah aplikasi bahan uji untuk mendeteksi adanya respon iritasi, seperti eritema dan edema. Penilaian dilakukan menggunakan metode *Draize Test* guna menentukan tingkat iritasi kulit (Merdana et al., 2020).

Penentuan LD50 untuk sediaan uji dilakukan berdasarkan pedoman *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS, 2023). Penilaian dan penetapan indeks iritasi menggunakan metode *Amended Draize Test* (OECD, 2017a). Skoring dilakukan dengan skala arbitrer, yaitu:

**Tabel 1. Penilaian Reaksi pada Kulit (BPOM, 2022)**

<b>Pembentukan eritema</b>	<b>Skor</b>
Tidak ada eritema.....	0
Eriteman sangat kecil (tidak bisa dibedakan).....	1
Eritema terlihat jelas.....	2
Eritema sedang sampai parah.....	3
Eritema parah (darah daging) dan terdapat pembentukan sechar yang menghambat penilaian eritema .....	4
<b>Pembentukan Udema</b>	<b>Skor</b>
Tidak ada udema.....	0
Udema sangat kecil (hamper tidak dapat dibedakan).....	1
Udema kecil (batas area terlihat kelas).....	2
Udema Tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm).....	3
Udema parah (luas bertambah lebih dari 1 mm dan melebar melebihi area pemaparan oleh sediaan uji).....	4

Skor iritasi (indeks iritasi primer) bahan uji adalah kombinasi seluruh observasi dari pengujian. Indeks iritasi primer dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks iritasi primer} = \frac{A - B}{C}$$

Sumber = (BPOM, 2022)

Keterangan :

- A : Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan perlakuan pada jam ke-24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan

B : Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan kontrol pada jam ke-24, 48, dan 72

C : Jumlah hewan

Sedangkan Klasifikasi indeks iritasi primer ditentukan sebagai berikut: Tidak mengiritasi (*Non-irritating*): <0,5; Iritasi ringan (*Slightly irritating*): 0,5–2,0; Iritasi sedang (*Moderately irritating*): 2,0–5,0; dan Iritasi parah (*Highly irritating*): 5,0–8,0 (BPOM, 2022).

### Penilaian toksisitas akut dermal

Penetapan LD50 untuk sediaan uji mengacu pada *Global Harmonized System of Classification (GHS)* (Tabel 2 dan 3).

**Tabel 2. Klasifikasi Uji Toksisitas Akut (GHS, 2023)**

	Kategori klasifikasi	konversi estimasi titik toksisitas akut
<b>Rute Pemaparan Kulit</b>	$0 < \text{kategori } 1 \leq 50$	5
	$50 < \text{kategori } 1 \leq 200$	50
	$200 < \text{kategori } 1 \leq 1000$	300
	$1000 < \text{kategori } 1 \leq 2000$	1100
	$2000 < \text{kategori } 1 \leq 5000$	2500

**Tabel 3. Elemen Label Untuk Uji Toksisitas Akut Dermal (GHS, 2023)**

	Kategori 1	Kategori 2	Kategori 3	Kategori 4	Kategori 5
<b>Simbol</b>	Tengkorak dan tulang bersilang	Tengkorak dan tulang bersilang	Tengkorak dan tulang bersilang	Tanda seru	Tidak ada
<b>Sinyal kata</b>	Bahaya	Bahaya	Bahaya	Peringatan	Peringatan
<b>Pernyataan bahaya</b>	Fatal jika kontak dengan kulit	Fatal jika kontak dengan kulit	Toksik jika terkena kulit	Berbahaya jika terkena kulit	Mungkin berbahaya jika terkena kulit

### Analisis Data






Data hasil pengamatan akan disajikan secara deskriptif. Data keseluruhan dinyatakan dalam bentuk mean ( $\bar{x} \pm SD$ ). Sedangkan indeks iritasi primer ditentukan berdasarkan Metode *Amended Draize Test*. Kesimpulan dibuat berdasarkan analisis deskriptif terhadap hasil evaluasi setiap parameter.

## HASIL

### A. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kental tangkai daun talas. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung beberapa golongan senyawa aktif, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid. Rincian hasil analisis kualitatif terhadap ekstrak tangkai daun talas disajikan pada Tabel 4 berikut:

**Tabel 4. Pengujian Fitokimia Ekstrak Tangkai Talas**

Uji Fitokimia	Hasil Pengujian	Gambar Uji	Indikator
Flavonoid	+		Terdapat perubahan warna hitam kemerahan.
Alkaloid	+		Terbentuk endapan warna coklat
Saponin	+		Terbentuk buih setinggi 1 cm.
Terpenoid	+		Terbentuk warna jingga kemerahan
Steroid	+		Terbentuk endapan warna hijau.

### B. Uji Makroskopis Kulit

Hasil uji iritasi kulit pada penelitian ini dilakukan pada kelompok uji pendahuluan dan kelompok uji utama dituangkan pada tabel 5 dan 6 berikut ini.

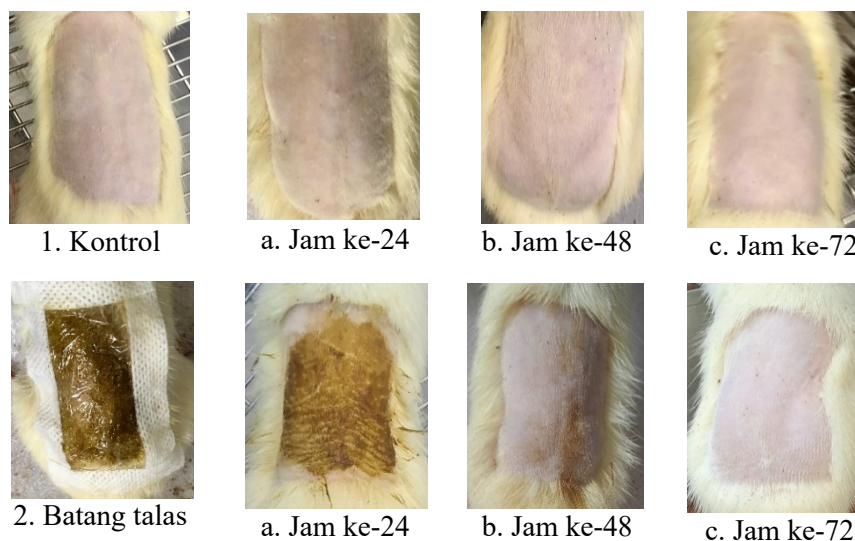
**Tabel 5. Skoring Indeks Iritasi Uji Pendahuluan menurut *Amended Draize System***

Kelompok	Skor Iritasi	
	Eritema	Edema

Kontrol	0	0
Batang talas 200 mg/KgBB	0	0
Batang talas 1.000 mg/KgBB	0	0
Batang talas 2.000 mg/KgBB	0	0
<b>Total skor (Kontrol-Batang talas)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Rerata indeks iritasi</b>		<b>0</b>
<b>Hasil</b>		Tidak mengiritasi

**Tabel 6. Skoring Indeks Iritasi Uji Utama menurut *Amanded Draize System***

Kelompok	Hewan ke-	Skor Iritasi	
		Eritema	Edema
Kontrol	1	0	0
	2	0	0
Batang talas 2.000 mg/KgBB	1	0	0
	2	0	0
<b>Total skor (Kontrol-Batang talas)</b>		<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Rerata indeks iritasi</b>			<b>0</b>
<b>Hasil</b>			Tidak mengiritasi



**Gambar 3. Pengamatan Makroskopis kulit uji pendahuluan kontrol dan Batang talas dosis 2000 mg/KgBB**

### C. Evaluasi Klinis

Hasil gejala toksik pada penelitian ini dilakukan pada kelompok uji pendahuluan dan kelompok uji utama dituangkan pada tabel 7 dan 8 berikut ini.

**Tabel 7. Evaluasi Klinis Uji Pendahuluan**

No	Pengamatan toksik	gejala	Dosis (mg/KgBB)		
			200	1000	2000
1	Kulit		-	-	-
2	Bulu		-	-	-
3	Mata		-	-	-
4	<i>Membrane mucosa</i>		-	-	-
5	Lemas		-	-	-
6	Tidur		-	-	-
7	Koma		-	-	-
8	Berjalan mundur		-	-	-
9	Berjalan menggunakan perut		-	-	-
10	Sistem saraf pusat		-	-	-
11	Sistem saraf otonom		-	-	-

**Tabel 8. Evaluasi Klinis Uji Utama**

No	Pengamatan toksik	gejala	Dosis (mg/KgBB)		
			200	1000	2000
1	Kulit		-	-	-
2	Bulu		-	-	-
3	Mata		-	-	-
4	<i>Membrane mucosa</i>		-	-	-
5	Lemas		-	-	-
6	Tidur		-	-	-
7	Koma		-	-	-
8	Berjalan mundur		-	-	-
9	Berjalan menggunakan perut		-	-	-
10	Sistem saraf pusat		-	-	-
11	Sistem saraf otonom		-	-	-

#### D. Penilaian LD<sub>50</sub>

**Tabel 9. Hasil Pengamatan Kematian Hewan Uji Pendahuluan**

Kelompok	Dosis ekstrak (mg/KgBB)	Jumlah Tikus	
		Hidup	Mati
Kontrol Normal	0	1	0
Perlakuan	200	1	0
Perlakuan	1000	1	0
Perlakuan	2000	1	0

Penilaian LD<sub>50</sub> berdasarkan *The OECD Guideline for Testing of Chemicals - Test No. 402: Acute Dermal Toxicity - Fixed Dose Procedure*. Batas LD50 merujuk pada tingkat dosis tertentu yang digunakan sebagai dasar dalam mengklasifikasikan toksisitas akut suatu zat berdasarkan nilai LD50 (Lethal Dose 50%). LD50 merupakan jumlah dosis yang menyebabkan kematian pada 50% populasi hewan uji. Nilai ambang ini digunakan untuk menentukan kategori tingkat toksisitas dari

suatu zat. Pada penelitian ini dilakukan pada kelompok uji pendahuluan dan kelompok uji utama dituangkan pada tabel 9 dan 10 berikut ini.

**Tabel 10. Hasil Pengamatan Kematian Hewan Uji Utama**

Kelompok	Dosis ekstrak (mg/KgBB)	Jumlah Tikus	
		Hidup	Mati
Kontrol normal	0	2	0
Perlakuan	2000	2	0

## PEMBAHASAN

### Uji Pendahuluan

Pengamatan makroskopis pada kulit dilakukan dengan mengevaluasi secara visual adanya perubahan atau reaksi yang muncul setelah kulit terpapar bahan uji (Najmi et al., 2022). Iritasi kulit tidak hanya terjadi secara lokal pada area permukaan yang rusak, tetapi juga berpotensi menimbulkan efek toksik serius yang dapat membahayakan keselamatan jiwa (BPOM, 2022). Oleh karena itu, pengamatan makroskopis penting dilakukan untuk menilai tingkat iritasi dari ekstrak batang talas sebelum digunakan pada manusia, guna mencegah terjadinya reaksi hipersensitivitas serta mengetahui tingkat keamanan bahan bagi konsumen. Tujuan utama dari pengamatan ini adalah mendeteksi adanya tanda-tanda kerusakan atau iritasi yang ditimbulkan oleh bahan uji. Evaluasi dilakukan pada area kulit yang telah diberi perlakuan pada jam ke-24, 48, dan 72 dengan memperhatikan munculnya gejala iritasi seperti eritema (kemerahan) dan edema (pembengkakan).

Dalam penelitian ini telah dilakukan uji pendahuluan menggunakan dosis 200 mg/KgBB serta kontrol. Sesuai pedoman (OECD, 2017a), uji dilanjutkan dengan peningkatan dosis menjadi 1000 mg/KgBB, yang hasil evaluasinya juga menunjukkan keamanan. Selanjutnya, dosis ditingkatkan hingga 2000 mg/KgBB, yang merupakan dosis maksimum sesuai pedoman (OECD, 2017a). Meskipun dosis dinaikkan, tidak ditemukan tanda-tanda toksisitas atau gejala iritasi seperti eritema dan edema. Data hasil observasi dan evaluasi uji pendahuluan disajikan dalam Tabel 5. Skor iritasi untuk kelompok kontrol serta kelompok perlakuan dengan dosis 200 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB, dan 2000 mg/KgBB masing-masing adalah nol (0). Total skor nol (0) ini menunjukkan bahwa ekstrak batang talas pada dosis yang diuji tidak menyebabkan iritasi.

### Uji Utama

Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa dosis tertinggi sebesar 2.000 mg/KgBB direkomendasikan untuk pengujian utama toksisitas akut dermal (OECD, 2017a). Uji utama dilakukan dengan prosedur yang sama, menggunakan dua hewan uji baru untuk setiap kelompok perlakuan dan kontrol. Ekstrak batang talas diaplikasikan secara topikal dengan dosis tunggal 2.000 mg/KgBB, sedangkan kelompok kontrol hanya dilakukan pembersihan area punggung menggunakan kain basah

tanpa penambahan ekstrak. Hasil pengamatan pada jam ke-24, ke-48, dan ke-72 setelah aplikasi menunjukkan tidak adanya lesi kulit, seperti eritema atau edema. Dokumentasi pengamatan masing-masing tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan dosis 2.000 mg/KgBB disajikan dalam Gambar 3 dan Tabel 6.

Pengamatan makroskopis pada tikus 1 dengan dosis 2000 mg/KgBB ditampilkan dalam Gambar 3. Observasi dilakukan segera setelah periode paparan, serta pada jam ke-24, ke-48, dan ke-72. Selama pengamatan, tidak ditemukan gejala toksisitas baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Pada hari pertama setelah paparan, terlihat perubahan perilaku berupa geliat tidak nyaman selama 3-5 detik, yang diduga disebabkan oleh keberadaan benda asing pada tubuh hewan uji. Pada pengamatan jam ke-24 hingga pengamatan pada jam ke-72, tidak ditemukan tanda kemerahan atau pembengkakan pada area perlakuan.

Berdasarkan hasil tersebut, penilaian dilakukan menggunakan *Amended Draize System* untuk parameter eritema dan edema. Skor iritasi pada kelompok kontrol dan perlakuan dosis 2000 mg/KgBB yang tercantum dalam Tabel 5 menunjukkan nilai nol (0). Total skor nol (0) ini mengindikasikan bahwa ekstrak batang talas pada dosis tersebut tidak menyebabkan reaksi iritasi.

## **Penilaian Toksisitas Akut Dermal**

### **Gejala Toksik**

Tujuan pengujian toksisitas akut dermal ekstrak batang talas adalah untuk mengevaluasi potensi efek toksisitas ekstrak, pengaruhnya terhadap kondisi makroskopis kulit, dan menentukan LD<sub>50</sub>. Uji LD<sub>50</sub> merupakan langkah awal untuk menilai keamanan bahan herbal dengan mengukur dosis tunggal yang menyebabkan peluang kematian sebesar 50% pada hewan uji (Saputra et al., 2023).

Berdasarkan hasil pengamatan pada uji pendahuluan setelah pemberian ekstrak etanol bunga telang dengan dosis 200, 1000, dan 2000 mg/KgBB kepada tikus jantan tidak ditemukan tanda-tanda toksisitas. Hewan uji tetap menunjukkan aktivitas normal dan perilaku yang wajar setelah menerima perlakuan. Selama 14 hari masa observasi setelah pemberian ekstrak etanol batang talas dengan dosis 2000 mg/KgBB, tidak ditemukan gejala toksik pada tikus jantan. Hewan uji tetap aktif dan menunjukkan perilaku normal pasca pemberian sediaan uji. Berdasarkan klasifikasi tingkat toksisitas pada hewan uji, ekstrak tersebut termasuk dalam kategori 5 atau "*unclassified*" yang mengindikasikan bahwa ekstrak etanol bunga telang pada dosis tersebut memiliki toksisitas akut yang relatif rendah (BPOM, 2022).

### **Penentuan LD<sub>50</sub>**

Pengujian potensi toksisitas akut dermal ekstrak batang talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dan dosis mematikan akut dermal dilakukan berdasarkan metode OECD Test No. 402. Metode ini dipilih karena menawarkan kemudahan dalam pelaksanaan serta efisiensi penggunaan hewan uji, sesuai

dengan prinsip kesejahteraan hewan. Metode ini juga diakui secara global dan telah dievaluasi terkait prosedurnya (Stallard et al., 2004).

Penentuan LD<sub>50</sub> dalam penelitian ini dilakukan dengan mengamati dan mencatat jumlah hewan uji yang mati selama 14 hari setelah pemberian perlakuan. Hasil pengamatan kematian hewan uji disajikan dalam tabel 9. Tabel 9 dan tabel 10 menyajikan hasil pengamatan kematian hewan pada uji utama. Uji pendahuluan, atau uji utama, dilakukan dengan dosis awal yaitu 200 mg/KgBB, menggunakan dua hewan uji baru untuk kelompok kontrol dan perlakuan. Selama pengamatan hingga hari ke-14, tidak ditemukan kematian pada hewan uji, sehingga tidak dapat nilai LD<sub>50</sub>.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tangkai talas dengan dosis 200, 1000 dan 2000 mg/KgBB. Tidak ditemukan kematian hewan uji sampai dosis 2000 mg/KgBB. Akibatnya tidak menyebabkan toksisitas akut, dengan nilai LD<sub>50</sub> lebih besar dari 2000 mg/KgBB. Berdasarkan pedoman BPOM (2020), jika pada uji pendahuluan dengan dosis 2000 mg/KgBB tidak ditemukan kematian, dan pada uji utama dengan dosis yang sama hanya satu atau tidak ada hewan yang mati, maka tidak diperlukan pengujian dengan dosis di atas 2000 mg/KgBB.

Berdasarkan klasifikasi toksisitas akut sistemik yang direkomendasikan oleh OECD 402, ekstrak ini masuk dalam kategori *unclassified* (tidak terklasifikasi) atau kelas 5. Kategori ini sesuai dengan "*General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*," yang menyatakan bahwa LD<sub>50</sub> > 5000 mg/KgBB termasuk dalam tingkat toksisitas terendah. Kategori 5 memungkinkan identifikasi zat dengan risiko toksisitas akut yang rendah, namun dalam kondisi tertentu dapat menimbulkan risiko bagi kelompok rentan. Zat dalam kategori ini diperkirakan memiliki LD<sub>50</sub> oral atau dermal antara 2000–5000 mg/KgBB (GHS, 2023).

Dalam penelitian ini, uji batas dengan dosis 5000 mg/KgBB tidak dilakukan karena pertimbangan kesejahteraan hewan. Pengujian dalam rentang GHS kategori 5 (2000–5000 mg/KgBB) tidak direkomendasikan kecuali ada bukti kuat bahwa hasil pengujian tersebut relevan untuk melindungi kesehatan manusia, hewan, atau lingkungan (OECD 423, dalam Yuliana, 2023). Hasil ini konsisten dengan penelitian Asaduddin ((Asaduddin, 2018)), yang mengevaluasi toksisitas dan aktivitas gastroprotektif ekstrak tangkai talas menggunakan metode BSLT dan *acute oral toxicity* (OECD 423). Berdasarkan pengamatan *acute oral toxicity*, ekstrak tangkai talas tidak menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas atau mortalitas, baik melalui perilaku abnormal, penyakit, maupun kematian, dalam rentang dosis 300–5000 mg/KgBB. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak tangkai talas aman untuk sediaan topikal.

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis yang menunjukkan skor indeks iritasi sebesar 0, dapat disimpulkan bahwa ekstrak batang talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) tidak menimbulkan iritasi kulit seperti kemerahan (eritema) maupun pembengkakan (edema). Selain itu, hasil pengamatan

terhadap hewan uji menunjukkan bahwa nilai LD<sub>50</sub> dari ekstrak batang talas melebihi 2000 mg/kgBB, yang mengindikasikan bahwa ekstrak ini termasuk dalam kategori 5 (*unclassified*) dengan tingkat toksisitas yang rendah, sehingga dinyatakan aman untuk penggunaan topikal.

## SARAN

Sebagai perbandingan terhadap hasil penelitian uji toksisitas batang talas, pengujian toksisitas akut secara dermal dapat dilakukan menggunakan metode lain. Setelah diketahui kandungan senyawa dan nilai LD<sub>50</sub> dari ekstrak batang talas melalui uji toksisitas akut dermal, maka disarankan untuk melanjutkan dengan uji toksisitas subkronik dan kronik guna mengevaluasi potensi toksisitas akibat penggunaan jangka panjang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfonsius Wijaya, B., Citraningtyas, G., Wehantouw, F., 2014. Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* [L]) Sebagai Alternatif Obat Luka Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT.
- Anderson, S.E., Meade, B.J., 2014. Potential Health Effects Associated with Dermal Exposure to Occupational Chemicals. *Environ Health Insights*. <https://doi.org/10.4137/EHI.S15258>
- Asaduddin, A.H., 2018. Toksisitas dan Aktivitas Gastroprotektif Ekstrak Tangkai Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott): Pengujian Aktivitas Toksik dan Gastroprotektif Ekstrak Tangkai Talas Terhadap Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aspirin. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia* 6, 1–10.
- BPOM, 2022. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 tentang Pedoman Uji Toksisitas Praktikum secara In Vivo, Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- BPOM, 2017. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 24 Tahun 2017 tentang Kriteria dan Tata Laksana Registrasi Obat, Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Dewangga, A., Fatimah Meirani, S., Apriliany, R., Afrinurfadhilah Darojati, U., Awan Indra Yudha, dan, 2017. Formulasi Tablet Effervecent Dari Ekstrak Etanol Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.) Sebagai Antiseptik Topikal Effervescent Tablets Formulation Of Talas (*Colocasia esculenta* L.) Leaves Ethanol Extract Of As A Topical Antiseptic. *Biomedika* 9, 1–5.
- Ernst, E., 2000. Adverse effects of herbal drugs in dermatology, *British Journal of Dermatology*.
- Gede Adi Surya Saputra, M., Wayan Sudira, I., Made Merdana, I., Agung Gde Oka Dharmayudha, A., Gusti Ngurah Sudisma, I., 2023. Evaluation of Acute Dermal Toxicity of Hibiscus Leaves as Simplicial Ointment on Albino Rats. *J Med Vet* 6, 216–229. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol6.iss2.2023.216-229>
- GHS, 2023. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS).

- Merdana, I.M., Azizati, S.K.N., Arjana, A.A.G., Adi, A.A.A.M., Sudira, I.W., 2020. Penilaian Potensi Toksisitas Akut Dermal Obat Hewan Alami Minyak Rajas pada Tikus Wistar. *Buletin Veteriner Udayana* 205. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2020.v12.i02.p16>
- Najmi, A., Javed, S.A., Al Bratty, M., Alhazmi, H.A., 2022. Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules27020349>
- OECD, 2017a. OECD/OCDE 402 OECD Guideline For The Testing Of Chemicals Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure.
- OECD, 2017b. OECD 402 (2017) acute dermal toxicity. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects 1–13.
- Siahaan, S., Aryastami, N.K., 2018. Studi Kebijakan Pengembangan Tanaman Obat di Indonesia. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan* 28, 157–166. <https://doi.org/10.22435/mpk.v28i3.119>
- Stallard, N., Whitehead, A., Indans, I., 2004. Statistical evaluation of an acute dermal toxicity test using the dermal fixed dose procedure. *Hum Exp Toxicol* 23, 405–412. <https://doi.org/10.1191/0960327104ht465oa>
- Zhang, J., Onakpoya, I.J., Posadzki, P., Eddouks, M., 2015. The safety of herbal medicine: From prejudice to evidence. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2015/316706>