

Acute Toxicity Test of Jalembi Probiotic Beverages on Mice ddY

(Uji Toksisitas Akut Minuman Probiotik Jalembi
(Jambu Merah, Lemon, Melon, Bit) Pada Mencit ddY)

Reza Anandita^{1*}, Afrinia Ekasari²

¹Prodi S-1 Farmasi, STIKes Mitra Keluarga, Jl. Pengasinan, Rw. Semut, Bekasi, Jawa Barat, Indonesia

²Prodi S-1 Gizi, STIKes Mitra Keluarga, Jl. Pengasinan, Rw. Semut, Bekasi, Jawa Barat, Indonesia

ABSTRACT

An acute toxicity test is one of the pre-clinical tests needed to determine the safety of the consumption of a product before clinical trials are carried out on humans. The purpose of this study was to confirm whether or not there was a toxic effect of jalembi juice probiotic drink (red guava, lemon, melon, beetroot) on male and female mice observed for 14 days. This research design is experimental. The samples in this study were jalembi probiotic juice drinks with *Lactobacillus plantarum* starter and 40 male and female ddY mice. This research procedure was carried out by giving jalembi juice as a test preparation with doses of 124, 640, 3200, and 16000 mg/kg BW as much as 0.59 ml in males and females mice. Data analysis was carried out with One-Way ANOVA. This study showed that the administration of probiotic drink jalembi juice with doses of 124, 640, 3200, and 16000 mg/KgBW as much as 0.59 ml did not cause death, changes in body weight, and clinical symptoms in all test animals. It can be concluded that the probiotic drink jalembi juice is categorized as practically non-toxic (> 15 g/KgBW) or passes pre-clinical testing as a safe drink for consumption.

Uji toksisitas akut merupakan salah satu uji pra-klinis yang diperlukan untuk mengetahui keamanan konsumsi suatu produk sebelum dilakukan uji secara klinis ke manusia. Tujuan penelitian ini untuk mengkonfirmasi ada atau tidaknya efek toksik minuman probiotik jus jalembi (jambu merah, lemon, melon, bit) pada mencit jantan dan betina yang diamati selama 14 hari. Desain penelitian ini adalah eksperimental. Sampel pada penelitian ini adalah minuman jus probiotik jalembi dengan starter *Lactobacillus plantarum* dan mencit jantan dan betina genus ddY berjumlah 40 ekor. Prosedur penelitian ini dilakukan dengan pemberian jus jalembi sebagai sediaan uji dengan dosis 124, 640, 3200, dan 16000 mg/KgBB sebanyak 0,50 ml pada mencit jantan dan betina. Analisis data bobot badan sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan dengan One Sample t-test. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian minuman probiotik jus jalembi dengan dosis 124, 640, 3200, dan 16000 mg/KgBB sebanyak 0.50 ml tidak menyebabkan kematian dan gejala toksisitas pada semua hewan uji. Hal ini dapat disimpulkan bahwa minuman probiotik jus jalembi termasuk kategori praktis tidak toksik (> 15000 mg/KgBB) atau lolos uji pra-klinis sebagai minuman yang aman dikonsumsi.

Keywords: Toxicity, Probiotics, Mice, Clinical.

*Corresponding author:

Reza Anandita

E-mail: rezaanindita@gmail.com

PENDAHULUAN

Menurut WHO [1] suatu bahan atau zat yang akan dikonsumsi sebagai suplemen kesehatan sebelum melalui tahap klinik harus lolos tahap uji pra-klinik. Salah satu uji pra-klinik yang bertujuan untuk mengetahui keamanan suatu produk adalah uji toksisitas. Uji ini digunakan untuk menemukan tingkat ketoksikan suatu bahan yang akan digunakan sebagai suplemen kesehatan. Hasil uji toksisitas dapat dijadikan sebagai sumber informasi ilmiah mengenai

keamanan konsumsi suatu bahan pada hewan uji sebelum dilakukan uji klinik pada manusia.

Menurut BPOM [2] uji toksisitas merupakan tahap pra-klinis yang harus dilakukan oleh pengembang atau innovator produk minuman kesehatan. Hal ini disebabkan hasil uji toksisitas suatu sediaan pada hewan uji dapat memberikan bukti dukung yang memperkirakan efek berbahaya atau tidaknya suatu bahan pada manusia yang meliputi efek kumulatif, efek dosis yang dapat menimbulkan toksik pada manusia, efek karsinogenik, teratogenik, dan mutagenik.

Mengacu pentingnya melakukan uji toksisitas dalam meminimalisir efek toksik dari suatu produk kesehatan maka perlu dilakukan uji toksisitas akut suatu bahan, yaitu minuman probiotik Jalembi (Jambu Merah, Lemon, Melon, Bit). Minuman ini merupakan produk inovasi jus buah kaya zat besi (Fe) dengan starter *Lactobacillus plantarum* yang dibuat sebagai solusi alternatif suplemen tambah darah antianemia bagi ibu hamil berpotensi stunting. Komposisi Formula minuman probiotik jus jalembi pada penelitian ini terdiri dari Jambu merah, lemon, Melon, dan bit dengan perbedaan variasi konsentrasi pada penambahan gula sebanyak 10%, 20%, dan 30% tanpa menggunakan pengawet.

Beberapa penelitian sebelumnya yang menjadi rujukan keabsahan dalam melakukan uji toksisitas akut minuman probiotik jalembi pada hewan uji antara lain Sasmito, dkk [3] yang melakukan uji toksisitas akut obat herbal pada mencit berdasarkan *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) ; Sutjiatmo, dkk [4] yang menguji toksisitas akut ekstrak air herba pecut kuda pada mencit *Swiss webster*; Sujana, dkk [5] yang memberikan perlakuan mencit *Swiss webster* dengan pakis tangkur ; Nurfaat dan Indriyati [6] yang memberikan dosis kelipatan dua yaitu 4, 8, 16, 32, 64 g/kg BB ekstrak etanol benalu mangga pada mencit *Swiss webster*.

Penelitian lain dilakukan Sihombing [7] ; Syam [8] yang menguji toksisitas ekstrak etanol daun puguntano dan kayu hitam pada mencit menggunakan metode *fixed doses* dengan pelarut sediaan berupa Na-CMC 0.5% ; mayang dkk [9] yang melakukan uji toksisitas akut infusa daun sirsak pada mencit menggunakan aqua destilata sebagai pelarut sediaan uji dan rumus *Thompson and Weil* dihasilkan nilai LD₅₀ sebesar 49.82 mg/kg BB (< 5 - 50 mg/Kg BB) atau memiliki kategori sangat toksik.

Berdasarkan penelitian sebelumnya belum pernah ada penelitian mengenai uji toksisitas akut minuman probiotik jus Jalembi dengan starter *L. plantarum* menggunakan dosis kelipatan lima, yaitu 128, 640, 3200, 16000 mg/Kg/BB pada mencit galur *ddY* jantan dan betina. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkonfirmasi ada atau tidaknya efek toksik minuman probiotik jus jalembi pada mencit jantan dan betina yang diamati selama 14 hari. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi yang valid mengenai keamanan atau toksisitas dari

minuman jus jalembi sebelum dilakukan uji klinis dan organoleptik pada manusia.

METODE

Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan desain penelitian menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2022 di laboratorium farmakologi STIKes Mitra Keluarga, Bekasi Timur. Adapun penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka (KEPKK-UHAMKA) dengan No. 03/22.07/01763.

Sampel penelitian

Populasi sekaligus Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mencit galur *ddY* dengan jenis kelamin jantan dan betina dengan kriteria hewan dewasa, sehat, berumur 8 minggu dengan variasi berat badan tidak melebihi 20% rata-rata berat badan. Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok mencit (baik jantan maupun betina) yang terdiri dari kelompok 1 (kontrol) diberi perlakuan dosis CMC-Na 1 %, kelompok 2 diberi perlakuan 128mg/kgBB, kelompok 3 diberi perlakuan 640mg/kgBB, kelompok 4 diberi perlakuan 1200mg/kgBB, kelompok 5 diberi perlakuan 16000mg/kgBB . Setiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 5x, sehingga diperoleh total sampel untuk tiap mencit sebanyak 5 perlakuan x 5 ulangan = 25 mencit, karena perlakuan dilakukan pada mencit jantan dan betina maka jumlah keseluruhan mencit sebanyak 25 x 2 (jantan dan betina) = 50 mencit. Adapun Rancangan kelompok hewan uji dan perlakuan yang diberikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan uji toksisitas akut

Kelompok Hewan Uji	Perlakuan
Kelompok 1 (kontrol)	CMC-Na 1%
Kelompok 2	Diberi suspensi 128 mg/Kg BB
Kelompok 3	Diberi suspensi 640 mg/Kg BB
Kelompok 4	Diberi suspensi 3200 mg/Kg BB
Kelompok 5	Diberi suspensi 16000 mg/Kg BB

Penyiapan sediaan Uji

Prosedur penelitian ini meliputi penyiapan sediaan uji, pemberian sediaan uji, dan uji toksisitas, analisis data. Penyiapan sediaan uji dilakukan dengan membuat minuman probiotik jalembi menggunakan

formula 200 ml air, 50 gram bit, 20 gram melon, 20 gram jambu biji, 10 gram lemon, gula 30 gram. Semua bahan diblender dengan penambahan air 200 ml. Selanjutnya ditambahkan suspensi *Lactobacillus plantarum* sebanyak 2% dari sediaan uji dan diinkubasi selama 18 jam. Adapun penentuan dosis bertingkat minuman probiotik jus jalembi berdasarkan metode *fixed doses*, antara lain : 128 mg/kgBB, 640 mg/kgBB, 3200 mg/kgBB, dan 16000 mg/kgBB.

Perlakuan Hewan Uji

Sebelum diberikan perlakuan, hewan uji diaklimatisasi (diadaptasikan) dengan cara dipuaskan setiap hari 4 jam selama 7 hari, namun air minum boleh diberikan. Setelah diaklimatisasi dilakukan pemberian sediaan uji secara oral menggunakan jarum *gavage* 1 ml. Semua mencit dimasukkan pada kandang individual (satu mencit satu kandang) dengan ukuran 80 cm x 15 cm dengan kondisi suhu 23-35 °C, kelembaban 65-70%, dan penerangan 12 jam gelap, 12 jam terang.

Jus probiotik jalembi diberikan dalam dosis tunggal (1x pemberian) dengan menggunakan jarum *gavage* 1 ml. Volume jus jalembi yang dapat diberikan pada hewan uji sebanyak 0,5 ml. Hewan uji kemudian diamati secara individual pada 30 menit pertama setelah pemberian jus probiotik jalembi, kemudian setiap 4 jam selama 24 jam pertama, setelah itu sehari

sekali selama 14 hari. Selama perlakuan hewan uji tetap diberikan pakan dan minum.

Pengamatan gejala Toksisitas Akut

Pengamatan ada/tidaknya gejala toksisitas dilakukan selama 14 hari. Adapun Parameter pengamatan gejala toksisitas, antara lain : perilaku, nafsu makan dan minum, keadaan kulit dan rambut, napas, mata, konsistensi feses, adanya tremor, mortalitas, dan bobot organ (hati dan ginjal).

Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian diolah dalam bentuk tabel dan dianalisis dengan statistik deskriptif dengan cara menginterpretasikan data dalam bentuk tabel untuk melihat gambaran mengenai efek pemberian probiotik jus jalembi terhadap mencit jantan dan betina

HASIL DAN PEMBAHASAN

Beberapa parameter yang diamati selama 14 hari pada penelitian ini antara lain bobot badan, jumlah kematian, dan gejala toksisitas akut. Adapun jumlah kematian pada mencit jantan dan betina yang diberi sediaan larutan probiotik jalembi 0.50 ml/Kg BB yang diamati selama 14 hari dapat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah kematian mencit yang diamati selama 14 hari setelah diberi sediaan larutan probiotik jus jalembi 0.50 ml/gramBB

Kelompok	Perlakuan	Jumlah kematian mencit		LD ₅₀	Kriteria
		Jantan	Betina		
I	CMC-Na 1 % (kontrol)	0	0		
II	Sediaan uji dosis 128 mg/KgBB	0	0		
III	Sediaan uji dosis 640 mg/KgBB	0	0	> 1500 mg/KgBB	Praktis Tidak Toksik
IV	Sediaan uji dosis 3200 mg/KgBB	0	0		
V	Sediaan uji dosis 16000 mg/KgBB	0	0		

Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian sediaan uji berupa probiotik jus jalembi dengan konsentrasi 128, 640, 3200, dan 16000 mg/Kg BB selama 14 hari tidak menyebabkan kematian baik pada mencit jantan maupun betina. Hal ini mengindikasikan bahwa produk probiotik jus jalembi dengan starter *L. plantarum* lolos uji keamanan konsumsi pada tahap praklinik menggunakan mencit sebagai hewan uji. Sesuai dengan kriteria dosis toksisitas akut dari Casarett and Doull's [10] dalam penelitian Ayun dkk [11] yang menyatakan bahwa suatu sediaan uji yang tidak

menimbulkan kematian dan gejala toksisitas apabila diintervensikan pada dosis > 15000 mg/Kg BB selama 14 hari maka sediaan tersebut termasuk ke dalam kriteria sediaan praktis tidak toksik.

Mengingat tidak ditemukan adanya kematian pada hewan uji maka nilai LD₅₀ sediaan uji tidak bisa dihitung. Hasil penelitian Baroroh dan Rachmi [12] melaporkan bahwa pengamatan selama 24 jam pada pemberian dosis oral ekstrak etanol daun jarak pagar hingga dosis 5734 mg/KgBB tidak menyebabkan kematian pada mencit, artinya nilai LD₅₀ sediaan uji

tidak dapat dihitung atau ditentukan dengan pasti. Menurut Abrori dkk. [13] LD₅₀ atau (*lethal dose 50*) merupakan nilai dosis tunggal yang dapat membunuh 50% dari hewan uji. Nilai tersebut umumnya digunakan untuk menentukan dosis toksisitas akut yang dilakukan dengan memberikan sediaan uji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam, kemudian diamati selama 14 hari [14].

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk melihat efek toksik suatu senyawa dalam durasi waktu yang singkat setelah pemberian dengan dosis tertentu. Adapun minimal terdapat empat dosis bertingkat yang direkomendasikan saat melakukan uji toksisitas akut mulai dari dosis terendah yang tidak atau hampir membunuh seluruh hewan uji sampai dosis tertinggi yang mampu membunuh seluruh atau hampir seluruh hewan uji [15]. Pada penelitian ini dosis yang digunakan merupakan kelipatan 5 yang dimulai dari dosis 128, 640, 3200, dan 16000 mg/KgBB. Semua dosis dipilih sesuai dengan kriteria dosis toksisitas akut sesuai dengan Panduan BPOM [2]

Mutiarahmi dkk. [16] menambahkan uji toksisitas akut suatu sediaan juga digunakan untuk menetapkan nilai LD₅₀, gejala toksik, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian hewan uji. Mengacu pada perdana dkk uji toksisitas akut obat tradisional perlu dilakukan minimal dengan satu spesies hewan pengerat berupa mencit atau tikus. Pada penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit *ddY* dengan alasan yang merujuk pada hasil literature review Mutiarahmi dkk [16] yang menjelaskan bahwa Mencit (*Mus musculus*) termasuk hewan uji yang sering digunakan dalam percobaan desain eksperimen *in-vivo* pada berbagai penelitian toksisitas pra-klinis. Kelebihan menggunakan mencit sebagai hewan uji antara lain : mudah penanganan, mampu bereproduksi secara cepat, aktif pada malam hari (*nocturnal*), dan hidup berkelompok.

Adapun hasil pengamatan 14 hari dari bobot badan mencit jantan dan betina sebelum dan sesudah diberi perlakuan minuman probiotik jus jalembi pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengamatan bobot badan mencit jantan dan betina yang diberi probiotik jalembi selama 14 hari dengan 5x pengulangan

Dosis(mg/KgBB)	Bobot badan (gram)			
	Jantan		Betina	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
CMC Na 1 %	25,1	25,2	22,8	23
128	30,3	31	23,3	23,4
640	27,8	28,2	23,2	23,4
3200	25,4	25,8	26	26
16000	25	25,2	25,1	25,2

Tabel 4. Hasil uji *one sample t-test* bobot badan mencit jantan dan betina

Jenis kelamin mencit	Rata-rata	Standard deviasi	Signifikansi
Jantan			
Sebelum	26,72	2,30	0,025
Sesudah	27,08	2,51	
Betina			
Sebelum	24,08	1,39	0,033
Sesudah	24,20	1,31	

Berdasarkan Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan uji *one sample t-test* untuk bobot badan mencit jantan dan betina menghasilkan nilai signifikansi (sig.) masing-masing sebesar 0,025 (sig. < 0,05) dan 0,033 (sig. < 0,05) atau pemberian minuman probiotik jus jalembi mampu memberikan perubahan terhadap bobot badan mencit dan betina secara signifikan, artinya pemberian minuman probiotik jus jalembi dengan dosis bertingkat tidak menyebabkan gangguan

pertumbuhan pada mencit jantan dan betina. Pengambilan data bobot badan pada uji toksisitas akut penelitian ini mengacu pada penelitian Sitasiwi [17] yang menjelaskan bahwa bobot badan merupakan salah satu indikator penting yang harus diamati ketika melakukan eksperimen mengenai suatu sediaan yang diduga bersifat racun atau toksik. Sitasiwi [17] mengemukakan bahwa apabila bahan uji bersifat toksik maka dapat mempengaruhi nafsu makan dan

metabolisme yang berdampak pada penurunan konsumsi dan bobot badan pada mencit.

Bukti lain ditunjukkan dari hasil pengamatan gejala toksisitas baik pada mencit jantan maupun betina yang tidak memperlihatkan gejala klinis sakit. Baik mencit jantan maupun betina memiliki perilaku yang tenang,

nafsu makan dan minum normal, kondisi kulit dan rambut normal, mata berwarna merah bening, konsistensi feses padat normal, tidak ditemukan gejala tremor, dan napas yang normal. Hasil pengamatan gejala klinis selama 14 hari pada mencit jantan dan betina ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 5. Hasil pengamatan gejala toksisitas selama 14 hari pada mencit jantan dan betina setelah dilakukan pemberian probiotik jalembi

Kelompok	Perlakuan (mg/KgBB)	Jumlah ulangan mencit	Gejala toksisitas						
			Perilaku	Nafsu makan dan minum	Kulit dan rambut	Nafas	Mata	Tremor	Konsistensi feses
I	CMC-Na 1 %	5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Tidak ada	Normal
II	128	5	normal	Normal	Normal	normal	Normal	Tidak ada	Normal
III	640	5	normal	Normal	Normal	normal	Normal	Tidak ada	normal
IV	3200	5	normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Tidak ada	normal
V	16000	5	normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Tidak ada	normal

Hasil pada Tabel 5 sesuai dengan penelitian Ayun dkk [11] yang melaporkan bahwa pemberian infusa benalu teh tidak menyebabkan kematian dan timbulnya gejala klinis pada mencit jantan dan betina. Menurut Jumain dkk [18] pengamatan gejala klinis pada uji toksisitas akut merupakan salah satu prinsip untuk mengevaluasi efek klinis dari bahan yang dianggap toksik ketika dikonsumsi oleh hewan uji. Pada penelitian ini pengamatan gejala klinis hewan uji mengacu pada BPOM [2] yang menyebutkan bahwa observasi hewan uji secara individual dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji dan dan sehari sekali selama 14 hari. Namun menurut Susanti dan Aryantini [18] durasi observasi dapat bervariasi dan diperpanjang tergantung dari reaksi toksik. Waktu muncul dan hilang dari gejala klinis (khususnya gejala toksik yang tertunda) harus dicatat secara sistematis dan jelas.

Kurniawidjaja dkk. [19] mengemukakan bahwa apabila hewan uji menunjukkan gejala toksik berkepanjangan maka perlu dilakukan pengamatan tambahan yang meliputi : kulit, bulu, mata, membran mukosa, sistem pernafasan, sistem saraf otonom, sistem saraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Selain itu Nugroho [20] menambahkan bahwa pengamatan juga perlu dilakukan pada kondisi: gemetar, kejang, salivasi, diare, lemas, tidur dan koma. Lestari dan Andriantoro [21] menyebutkan apabila didapati hewan uji dalam kondisi kritis dan

menunjukkan gejala nyeri yang berat atau terlihat tersiksa maka harus segera dimatikan dan waktu kematiannya harus dicatat.

Witadnyana [22] mengemukakan terdapat beberapa hal yang harus diobservasi selama waktu pengamatan hewan uji antara lain perilaku jalan, berat badan hewan uji sebelum diberi perlakuan sediaan uji. [23] menambahkan pada akhir perlakuan hewan uji yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dimatikan. Seluruh hewan uji yang menunjukkan gejala klinis abnormal dan mati selama penelitian harus dibedah dan dilakukan pemeriksaan struktur mikroskopis pada organ hati dan ginjal untuk mendapatkan informasi ada atau tidaknya kerusakan pada organ tersebut.

Adapun kelebihan penelitian ini adalah penggunaan dosis bertingkat dan sediaan uji yang belum pernah diuji pada penelitian sebelumnya. Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu belum dilakukan pengamatan struktur mikroskopis organ ginjal dan hati menggunakan pewarnaan hematoksilin dan eosin.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian minuman jus probiotik dosis 128, 640, 3200, dan 16000 mg/KgBB tidak menyebabkan kematian pada mencit ddY , sehingga minuman probiotik dari jus

jalembi dengan starter *L. plantarum* termasuk kategori praktis tidak toksik atau aman dan lolos konsumsi dari uji pra-klinis serta dapat dilanjutkan pada tahap uji klinis ke manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kemendikbud-Ristek, khususnya LLDIKTI Wilayah III atas program hibah yang diadakan. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam kelancaran penelitian ini yang tidak dapat kami sebutkan seluruhnya, kami mengucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. "Principles for the testing of drugs for teratogenicity," *nld blth org. techn. rep.ser.*, vol. 364. pp. 5-18, 1967. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?t=js&page=reference&d=emcl1&news=n&an=0008457477>
- [2] Badan Pengawas Obat dan Makanan. "Peraturan badan pengawas obat dan makanan tentang pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 21-25, 2020
- [3] W. A. Ssasmitho, A. D. Wijayanti, I. Fitriana, and P. W. Sari, "Pengujian toksisitas akut obat herbal pada mencit berdasarkan organization for economic co-operation and development (oecd)," *J. Sain Vet.*, vol. 33, no. 2, pp. 182-187, 2017.
- [4] A. B. Sutjiatmo, E. Y. Sukandar, C. Candra, and S. N. Vikasari, "Uji toksisitas akut ekstrak cair air herba pecut kuda (*stachytarpheta jamaicensis* (l) vahl) pada mencit *swiss webster*," *Kartika J. Ilm. Farm.*, vol. 3, no. 2, pp. 32-37, 2015.
- [5] D. sujana, S. D. Winda, T. Rusdiani, and A. Subarnas, "Uji toksisitas akut ekstrak etanol akar pakis tangkur (*polypodium feei*) dari gunung talaga bodas pada mencit *swiss webster*," *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, vol 11, no. 2 pp. 167-179, juli 2020.
- [6] D. I. Nurfaat, and W. L. Indriyati, "Uji toksisitas akut ekstrak etanol benalu mangga (*dendrophthoe petandra*) terhadap mencit *swiss webster*," *indones J Pharm Sci Technol*, vol. 3, no. 2, pp. 53-65. 2016
- [7] S. Sihombing, "Uji toksisitas in vivo akut ekstrak etanol daun puguntano (*picria fel-terrae lour*) pada mencit jantan," in *skripsi*. Fakultas Farmasi: Universitas Sumatera Utara, 2017.
- [8] K. A. Syam. "Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kayu hitam (*diospyros celebica* b.) terhadap mencit (*mus musculus*). in *skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar: Samata-gowa, 2016.
- [9] A. Mayang, A. Abdul, and R. Ariastuti, "Uji toksisitas akut infusa daun sirsak (*Annona muricata* l.) pada hewan uji mencit," *J. Farmasetis*, vol. 10, no. 1, pp. 37-44, 2021.
- [10] Casarett and Doull's, toxicology : The Basic Science Of Poisons, New York: Seventh Ed. Mcgraw-Hill Medical Publishing Division, 2008.
- [11] A. Q. Ayun, D. N. Faridah, N. D. Yuliana, and A. Andriyanto, "Pengujian toksisitas akut ld50 infusa benalu teh (*Scurrula* sp.) dengan menggunakan mencit (*Mus musculus*)," *Acta Vet. Indones.*, vol. 9, no. 1, pp. 53-63, 2021.
- [12] H. N. Baroroh and E. P. Nur Rachmani, "Ketoksikan akut dari ekstrak etanolik daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) pada mencit jantan galur balb/c," *j. natur indones.*, vol. 15, no. 1, p. 52, 2014.
- [13] C. Abrori, K. Nurfadhila, and E. N. Sakinah, "uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kemangi (*ocimumsanctum*) diukur dari nilai LD₅₀ dan histopatologi ginjal," *J. Agromedicine Med. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 13-19, 2019.
- [14] A. D. P. Sri Oktavia, and Ifora, "uji toksisitas akut ekstrak daun waru (*hibiscus tiliaceus* l.) pada mencit putih jantan," *j. farm.*, vol. 10, no. 1, pp. 41-48, 2018.
- [15] M. Rahayu and F. M. Solihat, *toksikologi klinik*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018.
- [16] C. N. Mutiarahmi, T. Hartady, and R. Lesmana, "Kajian pustaka : penggunaan mencit sebagai hewan coba di laboratorium yang mengacu pada prinsip kesejahteraan hewan," *Veterinus, Indones. Med.*, vol. 10, no. 1, pp. 134-145, 2021.
- [17] A. J. Sitaswi, "Bobot badan mencit (*Mus musculus* l.) setelah pemberian ekstrak ethanol daun nimba (*Azadirachta indica*) secara oral selama 21 hari (*Mus musculus* l.) ," vol. 3, 2018.
- [18] Jumain, Syahrini, and F. T. Farid, "Uji toksisitas akut dan ld₅₀ ekstrak kirinyu (*Eupatorium odoratum* linn) pada mencit (*Mus musculus*)," pp. 65-72, 2017.
- [19] I. M. Kurniawidjaja, F. Lestari, M. Tejamaya, and D. H. Ramdhan, *Konsep dasar toksikologi industri*. 2021.
- [20] A. R. Nugroho, *mengenal mencit sebagai hewan laboratorium*. Samarinda: Mulawarman University Press, 2018.
- [21] R. Puji Lestari and A. Andriantoro, "Pengaruh penggunaan hewan uji yang sama secara berulang pada pengujian korosi dermal," *J. Ecolab*, vol. 12, no. 1, pp. 42-52, 2018.
- [22] W. D. Y. Witadnyana, S. G. Giri, A. M. I. Anata, H. F. M. Salim, W. N. Karmiani, D. P. N. Agustina, W. R. G. P. Perdana, and D. A. P. N. Wijayanti, "Uji aktivitas analgesik gel bulung (*gracilaria* sp.) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*)," *IPTEKMA J. Mbs. Univ. Udayana*, vol. 8, no. 2, pp. 95-100, 2019.

- [23] M. Yusuf, R. M. Al-Gizar, A. Y. Y. Rorrong, R. D. Badaring, H. Aswanti, M. S. Ayu, Nurazizah, Dzalsabila, A. Ahyar, M. Wulan, W. Putri, M. Jelita, and F. W. Arisma, *Memahami Perawatan Dan Kesejahteraan Hewan Percobaan* (Mu'nisa, O. Jumadi, M. Junda, W. Caronge, & H. Hamjaya (Eds.). Jurusan Biologi FMIPA UNM, 2022.