

Laporan Penelitian

Uji toksisitas akut *disclosing solutions* buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) freeze dry: studi eksperimental

Euis Reni Yuslianti^{1*},
Zwista Yulia Dewi²,
Dimas Mohamad Al-wasi¹

Korespondensi:
ery.unjani@yahoo.co.id

Submisi: 28 Januari 2024
Revisi : 13 Februari 2024
Penerimaan: 23 Februari 2024
Publikasi Online: 29 Februari 2024
DOI: [10.24198/pjdrs.v8i1.52967](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v8i1.52967)

¹Departemen Biologi Oral dan Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

²Departemen Dental Material, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Buah naga super merah memiliki kandungan zat besi, vitamin C, Vitamin B1, B2, B12, dan pigmen warna betasianin serta karoten. Betasianin dan karoten berpotensi untuk digunakan sebagai zat pewarna plak alami (*disclosing solution*), namun penggunaan *disclosing solution* buah naga super merah belum terbukti aman. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui keamanan *disclosing solution* alami buah naga super merah freeze dry melalui uji toksisitas akut. **Metode:** Metode penelitian ini adalah laboratorium eksperimental dengan menggunakan subjek penelitian hewan coba 48 ekor mencit jantan dan betina. Terdapat empat kelompok perlakuan yaitu kelompok negatif, kelompok pemberian dosis 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB. Uji toksisitas akut ini mengamati kematian, perubahan berat badan, perubahan perilaku, dan berat organ relatif pada mencit. Data dianalisis dengan menggunakan uji one way ANOVA apabila ($p > 0,05$) dan uji *Kruskal Wallis* untuk data ($p < 0,05$). **Hasil:** *Disclosing solution* buah naga super merah tidak menyebabkan kematian dan efek toksik pada mencit, tidak terdapat perbedaan bermakna pada perubahan berat badan dan perilaku mencit, serta terdapat perbedaan yang bermakna pada indeks organ jantan meliputi organ jantung, paru, ginjal dan limfa. **Simpulan:** Penggunaan bahan *disclosing solution* buah naga super merah freeze dry pada mencit aman dan tidak toksik berdasarkan hasil uji toksisitas akut.

KATA KUNCI: *Disclosing solutions*, buah naga super merah, uji toksisitas akut.

Acute toxicity test of freeze dry super red dragon fruit (*Hylocereus costaricensis*) disclosing solutions: study experimental

ABSTRACT

Introduction: Super red dragon fruit contains iron, vitamin C, Vitamin B1, B2, B12, and the color pigments betasianin and carotene. Betasianin and carotene have potential as natural plaque coloring agents (*disclosing solution*). The safety of the disclosing solutions made of super red dragon fruit has not been proven yet. The purpose of this study was to determine the safety of disclosing solutions agents made of freeze dried super red dragon fruit, through acute toxicity tests. **Methods:** This research method is an experimental laboratory using animals, with 48 male and female mice each. There are four treatment groups, namely the negative group, the group giving doses of 1250 mg/kgBW, 2500 mg/kgBW, and 5000 mg/kgBW. This acute toxicity test observed mortality, weight change, behavior change, and relative organ weight in mice. Data were analyzed using one way ANOVA test if ($p > 0.05$) and *Kruskal Wallis* test for data ($p < 0.05$). **Results:** The disclosing solution of super red dragon fruit did not cause death and toxic effects on mice, there were no significant differences in changes in body weight and behavior of mice, and there were significant differences in male organ indices including heart, lung, kidney and lymph organs. **Conclusion:** The administration of the disclosing solutions made of super red dragon fruit freeze dried in mice is safe and non-toxic based on acute toxicity tests.

KEY WORDS: *Disclosing solutions*, super red dragon fruit, acute toxicity test.

PENDAHULUAN

Prevalensi masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia pada tahun 2018 mencapai 57,6%, dengan karies gigi sebagai penyakit paling umum (88,80%) diikuti oleh periodontitis (74,10%), disebabkan oleh plak yang mengandung mikroorganisme seperti bakteri *Streptococcus* yang meningkatkan keasaman di dalam mulut.¹⁻³ Bakteri ini berperan dalam proses terjadinya karies gigi karena meningkatkan keasaman (pH) di dalam rongga mulut.^{4,5} Karies gigi sangat mudah terjadi pada anak-anak dan orang dewasa, tentunya kita harus merawat kesehatan rongga mulut kita untuk terhindar dari karies, salah satunya pengontrolan plak dengan cara menggosok gigi, berkumur-kumur dengan obat kumur atau cairan antiseptik, dan rutin ke dokter gigi setiap 6 bulan sekali, tetapi hal tersebut memiliki keterbatasan dan kekurangan efektivitas dalam menjaga kesehatan gigi dan mulut, dikarenakan ada beberapa area pada gigi yang sulit dijangkau untuk dibersihkan, karena plak tidak memiliki warna yang mencolok akan tetapi berwarna transparan sehingga ketika plak sudah melekat pada gigi kadang kita sulit untuk bisa membedakan antara gigi dan plak oleh karena itu kita membutuhkan pewarna yang bisa membantu melihat adanya plak pada gigi yaitu disebut dengan *disclosing solution*.^{3,6}

Disclosing solution merupakan zat warna yang akan mewarnai plak gigi, sehingga akan terlihat berbeda antara warna gigi dan warna plak yang melekat pada gigi. *Disclosing solution* sudah banyak beredar di pasaran, tetapi produk yang beredar biasanya mengandung zat kimia sintetis berbahaya, yang bersifat karsinogen dan akan membahayakan tubuh.⁷ Oleh karena itu diperlukan bahan yang tidak berbahaya dan tidak mengandung zat kimia sintetis berbahaya untuk mendeteksi plak agar tetap aman untuk tubuh, seperti bahan yang dihasilkan dari bahan alami atau herbal. Bahan alami ini bisa dimanfaatkan oleh penduduk Indonesia karena tersedia berlimpah. Bahan alami yang mampu mendeteksi plak harus mengandung antosianin dan betasianin, karena antosianin ini dalam pH asam berwarna merah, sedangkan dalam pH basa berwarna biru/ungu, sedangkan untuk betasianin pigmen berwarna merah-ungu dan biasa ditemukan pada buah-buahan.^{8,9}

Buah naga super merah merupakan buah yang memiliki banyak khasiat. Buah naga merah mengandung zat karoten yang menghasilkan warna alami, yaitu pigmen berwarna merah dan dapat dijadikan sebagai bahan zat pewarna alami dan bisa sebagai alternatif untuk menggantikan zat pewarna kimia sintetis untuk mendeteksi plak. Pembuatan *disclosing solution freeze dry* dapat diperoleh dari bahan alam kulit buah naga merah yang dibekukan dan dikeringkan (sublimasi) menggunakan alat *lyophilizer*.¹⁰⁻¹² Penggunaan alternatif disclosing solution ini pada manusia perlu didahului dengan uji praklinik untuk keamanannya, yaitu uji toksisitas akut.

Uji toksisitas akut dapat dilakukan pada hewan coba seperti mencit untuk mengetahui tingkat toksisitas serta tingkat keamanan pada suatu zat/bahan. Uji toksisitas ada beberapa jenis, diantaranya uji toksisitas akut untuk menguji toksisitas pada hewan coba dengan pemberian dosis hanya sekali pada hewan coba dan setelah diberikan bahan uji langsung dilakukan pengamatan tidak lebih dari 24 jam untuk melihat apakah muncul gejala keracunan atau tidak atau bahkan menyebabkan kematian. Uji toksisitas subkronis menguji toksisitas pada hewan coba dengan pemberian dosis secara berulang dalam kurun waktu 14-90 hari dan pada uji ini diperlukan dua spesies hewan berbeda yang nantinya semua hewan akan di korbakan melalui otopsi dan akan dilakukan pengamatan pada organ dalam hewan coba. Uji toksisitas kronis menguji toksisitas pada hewan coba dengan pemberian dosis secara berulang seumur hidup hewan coba. Uji toksisitas khusus untuk menguji adanya efek khusus yang dapat menyebabkan efek teratogenik atau efek terhadap reproduksi pada hewan coba akibat paparan zat tertentu ada hewan coba.^{13,14}

Uji toksisitas akut akan menghasilkan data potensi toksisitas yang memberikan dampak 50% terjadi kematian, atau disebut dengan *Lethal Dose* (LD50). Hewan coba akan diamati perubahan perilaku, berat badan, berat organ relatif, hingga menimbulkan kematian pada pemberian sediaan dalam dosis tertentu. Pengamatan saat uji toksisitas akut-dilakukan sejak diberikan sediaan hingga hari ke-14. Pengukuran tersebut dilakukan setiap hari dengan tujuan melihat apakah ada perubahan terhadap berat badan mencit sebagai hewan coba setelah diberikan sediaan uji. Selain mengamati perubahan berat badan, dilakukan juga pengamatan kematian pada mencit setelah diberikan sediaan uji hingga hari ke-14, hal ini ditujukan untuk

melihat dan mencatat kelompok hewan uji yang mati selama waktu tersebut.^{15,16} Uji toksisitas akut pada *disclosing solution* buah naga super merah adalah sebuah penelitian yang cukup baru. *Disclosing solution* adalah larutan yang digunakan untuk mewarnai plak gigi yang biasanya sulit terlihat. Namun demikian, buah naga super merah saat ini lebih dikenal karena kandungan antioksidan dan nutrisinya yang tinggi. Penggunaan *disclosing solution* dari bahan alami dalam buah naga super merah yang terbukti aman, diharapkan selain dapat mewarnai plak gigi, juga mendapatkan manfaat nutrisinya bagi jaringan rongga mulut.^{16,17}

Mencit digunakan dalam penelitian ini karena memiliki sifat mudah mendapatkan keturunan yang relatif banyak saat melahirkan, masa hidup yang cukup singkat, jinak, mudah ditangani, mudah ditemukan, dan relatif murah. Sebagai hewan coba, ada beberapa standar yang harus dipatuhi sesuai dengan pedoman dari *National Research Council*, yaitu panduan perawatan dan penggunaan hewan coba untuk penelitian kesehatan. Standar yang dipertimbangkan mencakup, pemeliharaan fasilitas penangkaran mencit, karakteristik biologis mencit, dan standar pengelolaan kandang mencit. Standar lain yang perlu dipertimbangkan adalah kondisi biologis mencit yang harus sudah diketahui seperti, gambaran umum, alat indera, nilai parameter fisiologis normal, pola makan, dan perilaku mencit sehingga perubahan dapat diamati terkait dengan pemberian sediaan yang diujikan.^{18,19}

Mengevaluasi potensi toksisitas akut dari *disclosing solution* yang mengandung buah naga super merah pada mencit, karena berpotensi dapat tertelan saat penggunaannya, berdasarkan pengamatan pada perubahan perilaku, berat badan, dan berat organ relatif, serta kejadian kematian belum pernah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui keamanan *disclosing solution* alami buah naga super merah *freeze dry* melalui uji toksisitas akut.

METODE

Jenis penelitian adalah studi eksperimental dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL). Subjek penelitian adalah 48 ekor mencit terdiri dari 24 mencit jantan dan 24 mencit betina dengan kriteria inklusi yaitu berumur 2-3 minggu, berat badan 20-40 gram, sehat ditandai dengan gerakan mencit aktif, tidak ada masalah makan dan minum, tidak ada kelainan anatomi, dari tempat berkembang biak yang sama, serta dengan pemberian pakan dan perawatan yang sama. Mencit diletakkan di kandang dan diberi makan sehari-hari berupa pelet standar serta air minum hingga akhir penelitian.

Objek dalam penelitian ini adalah buah naga super merah yang didapatkan di Perkebunan Geulis Subang lalu dilakukan pengeringan dengan metode *freeze dry* di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani. Penentuan jumlah sampel menggunakan rumus Federer yaitu $(n-1)(t-1) \geq 15$, diperoleh total sampel 24 ekor terdiri dari 6 ekor mencit untuk setiap kelompok eksperimen.

Kelompok pada penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok pertama hewan uji tidak diberikan *disclosing solution freeze dry* buah naga super merah (kelompok kontrol). Kelompok kedua hewan uji diberikan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* dosis 1250 mg/kgBB, kelompok ketiga hewan uji diberikan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* dosis 2500 mg/kgBB, kelompok keempat hewan uji diberikan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* dosis 5000 mg/kgBB.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah naga super merah *freeze dry*, air distilasi, dan inhalasi CO₂. Sedangkan alat yang digunakan adalah kandang mencit, tempat makan, tempat minum mencit, *hand glove*, timbangan digital, alat bedah minor, *disposable syringe* 3 ml, kapas, pinset, batang pengaduk, pipet, gelas ukur, *beaker glass*, dan pot urine.

Pembuatan *disclosing solution* dari buah naga super merah, sampel buah naga super merah dihaluskan menggunakan blender lalu dikeringkan dengan alat *freeze dryer*. Setelah kering disimpan pada wadah kedap udara atau dapat disimpan pada suhu 4° - 8°C. Prosedur *freeze dry*, melewati tiga tahap dan enam fenomena yaitu tahap sublimasi, pengeringan primer, dan pengeringan sekunder. Sedangkan enam fenomena meliputi transisi air menjadi es, transisi es menjadi uap, desorpsi molekul air, mendapatkan tekanan cukup rendah, sublimasi uap air, serta penghapusan lapisan es.²⁰ Hasil pembuatan sampel buah naga merah dengan metode prosedur *freeze dry* kemudian ditimbang. Sampel tersebut kemudian dilarutkan dengan akuades sesuai dosis per kelompok perlakuan sehingga berbentuk sediaan larutan yang dapat langsung diberikan ke hewan uji.

Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) menyatakan bahwa dosis maksimal yang digunakan pada uji toksisitas akut yaitu 5000 mg/kgBB pada kelompok eksperimen. Pada penelitian ini dosis yang digunakan yaitu dosis tertinggi sesuai dengan pedoman BPOM tersebut,²¹ yaitu 5000 mg/kgBB, dosis $\frac{1}{2}$ dari dosis maksimal yaitu 2500 mg/kgBB, dosis $\frac{1}{4}$ dari dosis maksimal yaitu 1250 mg/kgBB, dan dosis 0 mg/kgBB sebagai kelompok kontrol negatif.²¹

Uji toksisitas akut, hewan uji diperlakukan dan dipelihara dengan memenuhi prinsip 3R yaitu *Replacement*, *Reduce*, dan *Refinement*. Selain itu juga harus mematuhi 5 prinsip *animal welfare* yaitu *freedom from hunger and thirst*, *freedom from discomfort*, *freedom from pain*, *freedom from injury and disease*, *freedom to express normal behaviour*, dan *freedom from fear and distress*.²² Mencit ditempatkan di kandang yang berukuran 30 x 20 cm dan tinggi 30 cm yang disesuaikan dengan kebutuhan gerak bebas pada mencit, kandang diberi alas sekam dan mendapat ventilasi yang cukup, agar mencit selalu dalam keadaan nyaman ketika di dalam kandang. Mencit diberi pakan berupa pelet standar dan diberi minum dalam wadah. Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi atau diadaptasi di laboratorium selama 7 hari.

Uji toksisitas akut dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Penelitian ini menggunakan hewan uji coba berupa mencit *Swiss webster* sebanyak 24 mencit jantan dan 24 mencit betina. Setiap kelompok terdiri dari 6 mencit (berdasarkan hasil dari perhitungan dengan menggunakan rumus Federer) dan pada penelitian ini terdiri dari 4 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol (tidak diberikan bahan uji), kelompok 2 diberikan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* dengan dosis 1250 mg/kgBB, kelompok 3 dengan dosis *disclosing solution* 2500 mg/kgBB, dan kelompok 4 dengan dosis *disclosing solution* 5000 mg/kgBB.

Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Pengamatan perubahan perilaku yang menggambarkan gejala toksisitas dianalisis dengan pengamatan pada 2 menit sebelum diberikan sediaan, meliputi jumlah aktivitas motorik, fenomena *straub*, piloereksi, refleks kornea, ptosis, refleks pineal, fleksi, haffner, regangan, *grooming*, vasodilatasi, katalepsi, lakrimasi, gelantung, *reestablishment*, fleksi, saliva, urinasi, vokalisasi, sikap tubuh, dan defekasi. Lalu dilakukan pengamatan dan pencatatan kembali setelah diberikan sediaan uji, dengan rincian waktu pada menit ke-0, 30, 60, 120, dan 240.

Pengamatan juga dilakukan untuk melihat efek yang timbul akibat pemberian sediaan, meliputi pengamatan farmakologis pada saraf pusat, saraf otonom, pencernaan, pernapasan dan juga sistem ekskresi.^{16,17} Mencit ditimbang sejak hari pertama sebelum pemberian *disclosing solution* sampai hari ke-14 setelah pemberian *disclosing solution* untuk mengetahui perubahan berat badan mencit. Kematian diamati mulai dari 24 jam setelah perlakuan sampai hari ke-14.

Prosedur euthanasia dilakukan pada hari ke-15 dengan inhalasi CO₂, kemudian dilakukan pembedahan dan autopsi. Organ mencit ditimbang untuk menghitung berat organ relatif (BOR). Organ yang ditimbang adalah jantung, paru-paru, hati, limpa dan ginjal. Setelah dilakukan pengamatan, bangkai autopsi dan organnya yang ditimbang dihancurkan dengan cara dibakar di insinerator. Rumus menghitung berat organ relatif sebagai berikut.^{21,23} Berat Organ Relatif (BOR) = Berat absolut(g) X 100 per Berat badan mencit sebelum autopsi. Pengukuran BOR dilakukan untuk mengetahui apakah ada efek toksik yang dihasilkan dari bahan *disclosing solution* pada organ hewan coba.

Perhitungan berat organ relatif kelompok uji akan dibandingkan dengan berat organ relatif dari kelompok kontrol. Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis secara statistik menggunakan *software Statistical Product and Service Solution (SPSS)*. Uji analisis yang digunakan yaitu uji *ANOVA* apabila ($p > 0,05$) dan uji *Kruskal Wallis* apabila ($p < 0,05$), dilanjutkan uji *post hoc* menggunakan uji LSD

HASIL

Penelitian uji toksisitas akut *disclosing solution* buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) *freeze dry* terhadap mencit telah dilakukan pada bulan Oktober sampai November 2023. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berusia rerata 2-3 bulan, berat badan rerata 20-40 gram, dan sehat ditandai dengan mencit bergerak aktif. Hasil pengamatan kematian hewan uji menunjukkan tidak terdapat kematian pada semua

kelompok mencit yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan kematian terhadap mencit jantan dan betina selama 14 hari

Kelompok	Hari													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Mencit Jantan														
Jantan 0 mg/kgBB (kontrol)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jantan 1250 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jantan 2500 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jantan 5000 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mencit Betina														
Betina 0 mg/kgBB (kontrol)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Betina 1250 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Betina 2500 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Betina 5000 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Penimbangan berat badan mencit dilakukan sejak hari ke-1 sampai hari ke-14 setelah diberikan sediaan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* dan diukur rerata pada masing-masing kelompok seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata berat badan mencit jantan dan betina

Kelompok	Rerata ± SD	Median	Min - Max
Mencit Jantan			
Jantan 0 mg/kgBB (kontrol)	36,14±2,530	36,54	32,50-38,79
Jantan 1250 mg/kgBB	35,49±1,842	35,89	32,29-37,29
Jantan 2500 mg/kgBB	33,24±2,944	33,36	28,64-37,50
Jantan 5000 mg/kgBB	34,42±2,306	34,00	31,50-38,07
Mencit Betina			
Betina 0 mg/kgBB (kontrol)	28,01±1,302	27,68	26,50-29,79
Betina 1250 mg/kgBB	29,26±1,717	29,29	27,36-31,64
Betina 2500 mg/kgBB	29,12±1,801	28,96	26,64-31,29
Betina 5000 mg/kgBB	30,24±2,194	29,18	28,57-33,93

Berdasarkan data yang terdapat pada tabel di atas menunjukkan bahwa pada kelompok mencit jantan rerata berat badan tertinggi terdapat pada kelompok kontrol yaitu sebesar 36,14 g dan berat rerata badan terendah pada kelompok pemberian sediaan 1250 mg/kgBB yaitu 33,24 g. Rerata berat badan tertinggi pada kelompok mencit betina terdapat pada kelompok dosis 5000 mg/kgBB yaitu sebesar 30,24 g, sedangkan rerata berat badan terendah terdapat pada kelompok kontrol yaitu sebesar 28,01 g. Lalu dilakukan uji perbandingan antar kelompok terkait berat badan mencit untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna, seperti pada Tabel 3.

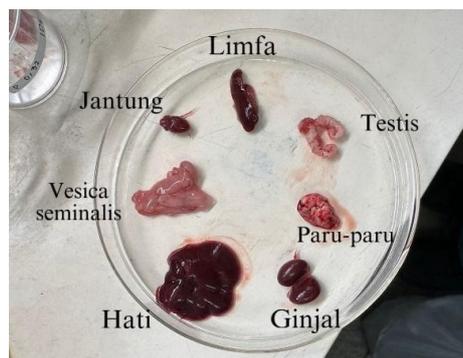
Tabel 3. Perbandingan berat badan mencit jantan dan betina antar kelompok

Perbandingan Berat Badan Mencit Jantan Antar Kelompok	Nilai p	Interpretasi
Jantan 0 mg/kgBB (kontrol) vs 1250 mg/kgBB	0,647	Tidak ada perbedaan
Jantan 0 mg/kgBB (kontrol) vs 2500 mg/kgBB	0,052	Tidak ada perbedaan
Jantan 0 mg/kgBB (kontrol) vs 5000 mg/kgBB	0,234	Tidak ada perbedaan
Jantan 1250 mg/kgBB vs 2500 mg/kgBB	0,126	Tidak ada perbedaan
Jantan 1250 mg/kgBB vs 5000 mg/kgBB	0,455	Tidak ada perbedaan
Jantan 2500 mg/kgBB vs 5000 mg/kgBB	0,412	Tidak ada perbedaan
Betina 0 mg/kgBB (kontrol) vs 1250 mg/kgBB	0,238	Tidak Ada perbedaan
Betina 0 mg/kgBB (kontrol) vs 2500 mg/kgBB	0,295	Tidak ada perbedaan
Betina 0 mg/kgBB (kontrol) vs 5000 mg/kgBB	0,043*	Ada perbedaan
Betina 1250 mg/kgBB vs 2500 mg/kgBB	0,891	Tidak ada perbedaan
Betina 1250 mg/kgBB vs 5000 mg/kgBB	0,354	Tidak Ada perbedaan
Betina 2500 mg/kgBB vs 5000 mg/kgBB	0,290	Tidak ada perbedaan

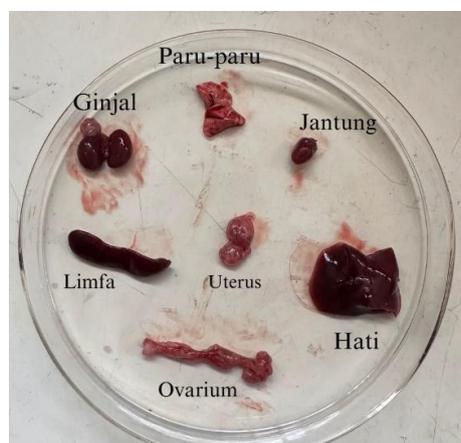
Keterangan : Uji *LSD*, *p < 0,05 bermakna

Berdasarkan hasil data pada Tabel 3 diatas menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol vs 5000 mg/kgBB terdapat perbedaan, tetapi pada kelompok lainnya tidak ada perbedaan antar kelompok pada mencit jantan dan betina. Uji statistik pada perbandingan berat badan mencit menggunakan uji *ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji post hoc yaitu *LSD*. Setelah mencit

melewati hari ke-14 pada hari ke-15 mencit dilakukan pembedahan untuk mengamati perubahan berat organ relatif seperti pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Organ mencit jantan yang sudah ditimbang terdiri dari organ hati, ginjal, paru, testis, limfa, jantung, dan vesika seminalis



Gambar 2. Organ mencit betina yang sudah ditimbang terdiri dari organ hati, ginjal, paru, ovarium, limfa, jantung, dan uterus

Setelah ditimbang berat organ dilakukan perhitungan rerata pada masing-masing kelompok mencit jantan maupun betina dilihat pengaruh sediaan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh buah naga super merah terhadap indeks organ mencit jantan.

Indeks Organ	Kontrol	1250mg/kgBB	2500mg/kgBB	5000 mg/kgBB	Nilai p
Jantung	0,81±0,154	0,62±0,101	0,56±0,069	0,64±0,057	0,002*a
Paru	1,15±1,145	0,95±0,235	0,80±0,131	0,85±0,145	0,008*a
Hati	6,62±1,138	6,03±0,842	5,22±1,101	6,67±0,999	0,079a
Ginjal	2,10±0,245	1,96±0,117	1,55±0,388	1,96±0,409	0,033*a
Limfa	2,09±0,558	1,43±0,163	1,21±0,205	1,54±0,522	0,008*a
Vesica Seminalis	0,92±0,257	0,96±0,369	1,02±0,201	0,90±0,378	0,703b
Testis	2,25±0,454	2,87±0,439	2,18±0,876	2,31±0,570	0,214a

Keterangan: a=Uji ANOVA b=Kruskal Wallis, *p < 0,05 bermakna

Kelompok jantan terdapat data indeks organ mencit jantan yaitu hati, vesika seminalis dan testis diperoleh nilai $p > 0,05$, sehingga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan indeks organ mencit yang bermakna untuk organ hati, vesika seminalis dan testis pada kelompok mencit jantan. Ini menunjukkan bahwa uji toksisitas akut *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* terhadap mencit tidak mempengaruhi indeks organ hati, vesika seminalis dan testis pada mencit jantan, sedangkan data indeks organ mencit jantan yaitu jantung, paru, ginjal dan limfa diperoleh nilai $p < 0,05$, sehingga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan indeks organ mencit yang bermakna untuk organ jantung, paru, ginjal dan limfa pada kelompok mencit jantan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa uji toksisitas akut *disclosing*

solution buah naga super merah *freeze dry* terhadap mencit mempengaruhi indeks organ jantung, paru, ginjal dan limfa pada mencit jantan. Uji statistik pada pengaruh buah naga super merah terhadap organ mencit jantan menggunakan uji *ANOVA* kecuali pada organ vesica seminalis menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena berdistribusi tidak normal.

Tabel 5. Pengaruh buah naga super merah terhadap indeks organ mencit betina.

Indeks Organ	Kelompok Betina				Nilai p
	Kontrol	1250mg/kgBB	2500mg/kgBB	5000mg/kgBB	
Jantung	0,71±0,135	0,57±0,163	0,65±0,077	0,70±0,122	0,217
Paru	1,05±0,300	0,81±0,339	0,98±0,138	1,03±0,307	0,464
Hati	6,68±0,680	5,98±1,152	6,01±0,113	6,32±1,188	0,267
Ginjal	2,09±1,595	1,49±0,422	1,48±0,278	1,71±0,481	0,771
Limfa	1,72±0,216	1,46±0,536	1,59±1,393	1,72±0,231	0,118
Uterus	1,42±0,756	1,11±0,602	1,24±0,387	1,45±0,806	0,785
Ovarium	0,82±0,194	0,86±0,610	0,55±0,135	0,51±0,156	0,083

Keterangan : Uji *ANOVA* *p<0,05 bermakna

Kelompok betina data pada Tabel 5 semua data indeks organ mencit betina yaitu jantung, paru, limfa, hati, ginjal, ovarium, dan uterus diperoleh nilai nilai p > 0,05, yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan indeks organ mencit betina yang bermakna untuk seluruh kelompok. Bahwa uji toksisitas akut *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* terhadap mencit tidak mempengaruhi indeks organ pada kelompok mencit betina. Uji statistik pada pengaruh buah naga super merah terhadap organ mencit betina menggunakan uji *ANOVA* seperti pada Tabel 5.

Peneliti juga melakukan pengamatan farmakologi terhadap perubahan perilaku mencit pada kelompok mencit jantan (Tabel 6) dan betina (Tabel 7), setelah diberikan sediaan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* pada menit ke-0, 30, 60, 120, dan 240.

Tabel 6. Pengamatan farmakologi mencit jantan.

Efek yang diamati	Kontrol	Dosis		
		1250mg/kgBB	2500mg/kgBB	5000mg/kgBB
Aktivitas lokomotor	0	0		
Straub	0	0		
Piloereksi	0	0		
Ptosis	0	0		
Vasodilatasi	0	0		0,3333
Refleks kornea	0	0		
Refleks pineal	0	0,3333		
Lakrimasi	0	0		
Katalepsi	0	0		
menggantung	0,3333	0,6666		0,6666
Reestablishment	0	0	0,6666	
Fleksi	0	0		
Haffner	0,3333	0,1	0,6666	0,3333
Regangan	0	0		
Grooming	0	0		
Tremor	0	0		
Vokalisasi	0	0		
Salivasi	0	0		
Defekasi	0	0		
Urinasi	0	0		

Tabel 7. Pengamatan farmakologi mencit betina

Efek yang diamati	Pengamatan Farmakologi kelompok betina			
	Kontrol	Dosis 1250 mg/kgBB	Dosis 2500 mg/kgBB	Dosis 5000 mg/kgBB
aktivitas lokomotor	0	0	0	0
straub	0	0	0	0
piloereksi	0	0	0	0
ptosis	0	0	0	0
vasodilatasi	0	0	0	0,3333

refleks kornea	0	0	0	0
refleks pineal	0	0	0,3333	0,1
lakrimasi	0	0	0	0
katalepsi	0	0	0	0
menggantung	0,3333	0,3333	0	0,1
reestablishment	0	0,6666	0	0
fleksi	0	0	0	0
haffner	0,3333	0,3333	0,1	0
regangan	0	0	0	0
grooming	0	0	0	0
tremor	0	0	0	0
vokalisasi	0	0	0	0
salivasi	0	0	0	0
defekasi	0	0	0	0
urinasi	0	0	0	0

Pengamatan ini dapat dilihat pada perubahan pada aktivitas lokomotor, fenomena *straub*, *ptosis*, piloereksi, refleks kornea, *reestablishment*, refleks pineal, menggantung, lakrimasi, vasodilatasi, katalepsi, fleksi, haffner, regangan, *grooming*, tremor, vokalisasi, saliva, defekasi, dan urinasi, seperti tampak pada Gambar 3. Hasil pengamatan tersebut mencerminkan respons fisik dan perilaku mencit terhadap paparan *disclosing solution* buah naga super merah dalam uji toksisitas akut. Aktivitas lokomotor yang berubah, fenomena *straub* (kemungkinan kekakuan otot), *ptosis* (kelopak mata turun), piloereksi (menegaknya bulu), dan refleks kornea yang terganggu dapat menjadi tanda-tanda efek toksis pada sistem saraf pusat.

Reestablishment merujuk pada kemungkinan pemulihan fungsi tertentu setelah terganggu oleh paparan zat beracun. Refleks pineal (reaksi terhadap rangsangan cahaya), menggantung (perilaku tidak aktif), lakrimasi (produksi air mata yang berlebihan), dan vasodilatasi (pembuluh darah melebar) bisa menjadi indikasi reaksi fisiologis terhadap paparan toksin. Katalepsi adalah kondisi kekakuan otot yang ekstrem, sedangkan fleksi adalah refleks otot yang menunjukkan kontraksi otot. Haffner mungkin merujuk pada refleks gerakan mencit yang disebabkan oleh rangsangan tertentu. Regangan, *grooming* (membersihkan diri), tremor (getaran), vokalisasi (bunyi yang dihasilkan), saliva (produksi air liur), defekasi (pengeluaran tinja), dan urinasi (pengeluaran urine) adalah respon fisiologis dan perilaku lain yang dapat terpengaruh oleh paparan zat beracun pada uji toksisitas akut.





Gambar 3. Pengamatan farmakologi mencit : (1) menggantung, (2) *grooming*, (3) *reestablishment*, (4) *haffner*, (5) refleks pineal, (6) refleks kornea

PEMBAHASAN

Buah naga merupakan buah yang sering dikonsumsi dan memiliki banyak khasiat. Buah naga merah memiliki kandungan betasianin yang merupakan golongan senyawa yang berperan sebagai antioksidan, dalam buah naga merah juga terdapat zat karoten yang merupakan zat pewarna alami, zat besi, vitamin C, Vitamin B1, B2, B12 serta rendah kalori.^{10,11} Plak dalam rongga mulut dapat dideteksi dengan menggunakan *disclosing solution*, pada umumnya *disclosing solution* yang digunakan mengandung zat pewarna berupa erythrosine. Erythrosine sendiri memiliki sifat kariogenik dan bahkan dapat menimbulkan reaksi alergi. Berdasarkan hal tersebut maka alternatif yang dapat dipilih adalah membuat *disclosing solution* dengan menggunakan bahan pewarna alami, seperti buah naga super merah.^{3,6}

Meskipun buah naga dikatakan aman dan sering dikonsumsi, tetap perlu dilakukan uji toksisitas karena syarat suatu bahan untuk dapat diaplikasikan pada rongga mulut harus memiliki sifat tidak toksik. Seperti penelitian yang dilakukan oleh HOR *et al.*,²⁴ melakukan penelitian mengenai uji toksisitas ekstrak metanol buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) studi toksisitas akut dan subkronis, dengan cara menentukan nilai LD₅₀.

Berdasarkan hasil penelitian, pengamatan terhadap kematian mencit mulai dari diberikan sediaan hingga hari ke-14, *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* yang diberikan secara oral hingga dosis maksimum yaitu 5000 mg/kgBB menunjukkan tidak adanya kematian baik pada mencit jantan dan betina pada kelompok kontrol maupun kelompok uji. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bahan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* tidak menimbulkan toksik dan aman digunakan sesuai dengan pedoman uji toksisitas Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan termasuk kedalam klasifikasi praktis tidak toksik berdasarkan klasifikasi GRAS (*Generally Recognize As Safe*).^{16,21,24}

Lalu dilakukan juga penimbangan berat badan mencit mulai dari hari ke-1 setelah diberikan sediaan hingga hari ke-14, data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada perubahan berat badan namun tidak bermakna baik dalam kelompok jantan maupun betina. Penelitian Nouioura *et al.*,²⁵ tidak terdapat perubahan yang signifikan antar kelompok karena perubahan berat badan pada mencit yang menurun dapat diakibatkan oleh faktor stres yang mempengaruhi mencit dalam konsumsi pakan, sedangkan untuk perubahan berat badan mencit yang meningkat dapat diakibatkan karena konsumsi pakan yang meningkat.

Penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap perubahan perilaku pada mencit, pengamatan ini dilakukan sejak pemberian sediaan lalu diamati pada menit ke-0, 30, 60, 120, dan 240. Perubahan perilaku yang diamati meliputi aktivitas lokomotor, *straub*, piloereksi, ptosis, vasodilatasi, *reestablishment*, refleks kornea, refleks pineal, lakrimasi, katalepsi, menggantung, *grooming*, fleksi, *haffner*, regangan, tremor, vokalisasi, salivasi, defekasi, dan urinasi. Berdasarkan penelitian, terdapat beberapa mencit mengalami perubahan perilaku pada refleks pineal, menggantung, *reestablishment* dan *haffner* pada kelompok mencit jantan dan betina. Pada kelompok mencit jantan dan betina tidak terdapat gangguan pada aktivitas lokomotor, lalu tidak mengalami fenomena *straub* sehingga dapat dikatakan bahwa mencit tidak mengalami gangguan fungsi neuromuskular dan motorik.²³

Hari ke-15 dilakukan autopsi pada seluruh kelompok mencit untuk melakukan penimbangan berat organ mencit yang akan digunakan untuk menghitung berat organ relatif. Kelompok jantan yang dilakukan penimbangan adalah jantung, paru-paru, hati, ginjal, limfa, vesica seminalis dan testis. Sedangkan untuk kelompok betina organ yang ditimbang adalah jantung, paru-paru, hati, ginjal, limfa, uterus dan ovarium. Berdasarkan hasil penelitian, pada rerata berat organ relatif pada mencit jantan, didapatkan bahwa dari kelompok jantan terdapat perbedaan yang bermakna pada organ jantung, paru-paru, ginjal dan limfa, namun tidak terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok uji pada organ hati, vesica seminalis, dan testis. Sedangkan pada kelompok betina tidak memperlihatkan adanya perbedaan antar kelompok dari setiap organ yang diukur.

Hal tersebut diatas dapat terjadikarena pemberian *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* kemungkinan mempengaruhi perubahan berat organ relatif pada organ jantung, paru-paru, ginjal dan limfa pada mencit jantan tetapi tidak pada organ mencit betina. Namun demikian, belum dapat dianalisis secara mudah bahwa buah naga super merah mempengaruhi organ mencit, karena hal tersebut dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor dan belum tentu disebabkan langsung oleh buah naga super merah. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Nouioura *et al.*,²⁵ yang melakukan penelitian histopatologi untuk mengetahui penyebab perubahan pada berat organ relatif. Penggunaan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* yang diberikan pada mencit hingga dosis tertinggi (5000 mg/kgBB) tidak menimbulkan kematian dan keracunan pada mencit baik pada kelompok jantan maupun kelompok betina.^{24,25}

Penelitian ini hanya mencakup periode observasi selama 14 hari setelah pemberian *disclosing solution*. Uji toksisitas akut biasanya fokus pada efek jangka pendek, sehingga tidak memberikan informasi tentang potensi efek toksisitas jangka panjang atau kumulatif dari penggunaan berulang. Meskipun telah diuji hingga dosis maksimum (5000 mg/kgBB), penelitian ini tidak mencakup variasi dosis yang lebih luas, oleh karena itu, tidak mungkin untuk menentukan ambang batas aman atau mendeteksi efek toksisitas yang mungkin terjadi pada dosis di atas atau di bawah dosis yang diuji. Meskipun parameter pengamatan mencakup kematian, perubahan berat badan, perubahan perilaku dan berat organ relatif, beberapa aspek lain yang relevan dengan uji toksisitas mungkin tidak tercakup. Contohnya, tidak ada analisis histopatologi organ, yang dapat memberikan informasi lebih lanjut tentang efek toksisitas.²⁵

Hasil penelitian menyebutkan bahwa *disclosing solution* konvensional mengandung erythrosine, yang dapat menyebabkan efek kariogenik dan reaksi alergi. Namun, penelitian ini tidak secara khusus mengevaluasi efek ini pada *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry*. Meskipun terdapat perubahan berat organ dan perubahan perilaku pada beberapa refleksi dan tindakan tertentu. Penelitian ini tidak memberikan penjelasan mendalam mengenai mekanisme atau penyebab perubahan perilaku yang teramati. Penelitian ini tidak mencakup kelompok plasebo atau kelompok kontrol yang menerima *disclosing solution* konvensional. Hal ini dapat membuat sulit untuk menilai apakah *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* lebih aman atau memiliki keunggulan dibandingkan dengan *disclosing solution* konvensional.²⁶

Keterbatasan pada penelitian ini adalah pilihan mencit sebagai hewan uji memiliki keterbatasan dalam menggeneralisasi hasil ke manusia. Reaksi tubuh dan metabolisme mencit dapat berbeda dengan manusia, sehingga hasil penelitian perlu diinterpretasikan dengan hati-hati sebelum mengambil kesimpulan untuk aplikasi pada manusia. Studi ini tidak menyediakan informasi tentang toksisitas sub-akut atau kronis, yang penting digunakan dalam mengevaluasi risiko jangka panjang penggunaan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* pada manusia. Oleh sebab itu peneliti menyarankan penelitian lanjutan berupa uji toksisitas sub-akut dan uji toksisitas kronis diperlukan agar didapatkan informasi yang lebih mendalam sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya. Lalu disarankan juga penelitian analisis histopatologi atau dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis untuk melihat apakah terdapat perubahan struktur jaringan pada organ mencit yang dilakukan pengamatan setelah diberi *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry*, dan disarankan penelitian perbandingan dengan larutan *disclosing* lainnya untuk mendapatkan gambaran yang lebih lengkap tentang keamanan dan efek toksisitas *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry*.²⁵

SIMPULAN

Disclosing solution buah naga super merah tidak menyebabkan kematian dan efek toksik pada mencit, tidak terdapat perbedaan bermakna pada perubahan berat badan dan perilaku mencit, serta terdapat perbedaan yang bermakna pada indeks organ mencit jantan meliputi organ jantung, paru, ginjal dan limfa. Secara umum, pemberian bahan *disclosing solution* buah naga super merah *freeze dry* pada mencit aman dan tidak toksik. Implikasi hasil penelitian adalah *disclosing solution* buah naga merah *freeze dry* aman digunakan manusia dalam jangka pendek terbukti tidak ada reaksi toksik atau berbahaya akibat paparan singkat terhadap produk. Hasil uji toksisitas mencakup aspek toksisitas akut, sehingga penting untuk tetap mengikuti petunjuk penggunaan yang benar.

Kontribusi Penulis: "Konseptualisasi, Y.E.R. dan D.Z.Y.; metodologi, Y.E.R; perangkat lunak, A.D.M; validasi, Y.E.R; D.Z.Y.; and A.D.M; analisis formal, Y.E.R; investigasi, A.D.M; sumber daya, D.Z.Y.; kurasi data, Y.E.R; penulisan penyusunan draft awal, Y.E.R; penulisan-tinjauan dan penyuntingan, Y.E.R; visualisasi, Y.E.R; supervisi, Y.E.R; administrasi proyek, Y.E.R; perolehan pendanaan, Y.E.R; D.Z.Y.; dan A.D.M; Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Penelitian ini didanai oleh penulis secara mandiri.

Persetujuan Etik: Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Padjadjaran dengan nomor surat etik 1407/UN6.KEP/EC/2023.

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian akan diberikan seijin semua peneliti melalui email korespondensi dengan memperhatikan etika dalam penelitian

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Soni ZZZ, Kusniati R, Rakhmawati AK. Gambaran status kesehatan gigi dan mulut pada pasien prolans di puskesmas kedungmundu. *Medica Arteriana (Med-Art)*. 2020; 2(1): 43–52. DOI: [10.26714/medart.2.1.2020.43-52](https://doi.org/10.26714/medart.2.1.2020.43-52)
2. Listriana, Zainur RA, Hisata LS. Gambaran karies gigi molar pertama permanen pada siswa – siswi sekolah dasar negeri 13 Palembang tahun 2018. *J Kes Poltekkes Palembang (JPP)*. 2018;13(2):136–49. DOI: [10.36086/jpp.v13i2.238](https://doi.org/10.36086/jpp.v13i2.238)
3. Karyadi E, Kaswindiarti S, Roza MA, Larissa Syifa. Pengaruh mengunyah buah apel manalagi terhadap penurunan indeks plak usia 9-12 tahun. *J Ilmu Ked Gigi (JIKG)*. 2020;3(2):24–8. DOI: [10.23917/jikg.v3i2.12330](https://doi.org/10.23917/jikg.v3i2.12330)
4. Subekti A, Ningtyas EAE, Benyamin B. Hubungan plak gigi, laju aliran saliva, dan viskositas saliva pada anak usia 6-9 tahun. *J Kes Gigi*. 2019;6(1):72–5. DOI: [10.31983/jkg.v6i1.4448](https://doi.org/10.31983/jkg.v6i1.4448)
5. Melani I, Satari MH, Malinda Y. Perbedaan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada perokok kretek dan bukan perokok. *J Ked Gigi Univ Padjj*. 2018;30(2):95–101. DOI: [10.24198/jkg.v30i3.18510](https://doi.org/10.24198/jkg.v30i3.18510)
6. Prananta HI, Purwanto, Misrohmasari EAA, Probosari N, Dwiatmoko S. Perbedaan indeks plak setelah pengolesan ekstrak daging buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) dan larutan pengungkap. *Stomatognatic - Jurnal Kedokteran Gigi Unej*. 2019;16(1):21–4. DOI: [10.19184/stoma.v16i1.19957](https://doi.org/10.19184/stoma.v16i1.19957)
7. Mangiri BS, Yani S, Anitasari S. Sari buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) sebagai pewarna alami plak gigi. *J Mat Ked Gigi*. 2018;7(1):28–34. DOI: [10.32793/jmkg.v7i1.278](https://doi.org/10.32793/jmkg.v7i1.278)
8. Purwaniati P, Arif AR, Yuliantini A. Analisis kadar antosianin total pada sediaan bunga telang (*clitoria ternatea*) dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometri visible. *J Farmagazine*. 2020;7(1):18. DOI: [10.47653/farm.v7i1.157](https://doi.org/10.47653/farm.v7i1.157)
9. Sari Y, Santoni A, Elisabet. Comparative test of color stability between betalain pigments of red dragon fruits and anthocyanin pigments from tamarillo fruit at various pH. *J Kimia Sains Aplikasi*. 2018;21(3):107–12. DOI: [10.14710/jksa.21.3.107-112](https://doi.org/10.14710/jksa.21.3.107-112)
10. Sandy CSM, Ishak, Bahri S, Masrullita, Nurlaila R. Pengambilan zat betasianin dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna makanan alami dengan metode ekstraksi. *Chem Engine J Storage (CEJS)*. 2021;1(2):107–19. DOI: [10.29103/cejs.v1i2.4910](https://doi.org/10.29103/cejs.v1i2.4910)
11. Yolanda S. Gambaran berkumur dengan buah naga terhadap penurunan plak pada siswa/siswi kelas III madrasah ibtidaiyah negeri 3 deli serdang kecamatan beringin. *Poltekkes Medan*. 2020;21(1):1–9.
12. Suhesti I. Pengaruh metode pengeringan beku (*freeze drying*) terhadap nilai total fenol dan nilai sun protection factor (SPF) ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora pierr A. Froehner*). *J Farmasindo politeknik Indo surakarta*. 2019;3(2):19–25.
13. Asra R, Yetti RD, Rusdi, Audina S, Nessa. Studi fisikokimia betasianin dalam kulit buah naga dan aplikasinya sebagai pewarna merah alami sediaan farmasi. *J Farmi Galenika (Galenika J Pharm)*. 2019;5(2):140–6. DOI: [10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13498](https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13498)
14. Yuslianti, ER. Boy.M. Bachtiar, Dewi Fatma Suniarti, Afifah. B.Sutjiatmo. Standardisasi farmasitikal bahan alam menuju fitofarmaka untuk pengembangan obat tradisional Indonesia. *Dentika*. 2016. 19(2):179-185. DOI: [10.32734/dentika.v19i2.463](https://doi.org/10.32734/dentika.v19i2.463)
15. Ayun AQ, Faridah DN, Yuliana ND, Andriyanto. Pengujian toksisitas akut LD50 infusa benalu teh (*Scurrula sp.*) dengan menggunakan mencit (*Mus musculus*). *Acta Vet Indones*. 2021;9(1):53–63. DOI: [10.29244/avi.9.1.53-63](https://doi.org/10.29244/avi.9.1.53-63)
16. Gunanegara, Rimonta F, Euis Reni Yuslianti, Khoiruddin Anshori, Sunarti. Pengaruh pemberian kacang tanah bambaara (*Vigna subterranea*) terhadap mortalitas, bobot badan, gejala toksisitas, dan bobot organ mencit balb-c betina. *Kajian Uji Toksisitas Akut. Medika Kartika*: *J Ked Kes*. 2023. 6(3) : 295-306. DOI: [10.35990/mk.v6n3.p295-306](https://doi.org/10.35990/mk.v6n3.p295-306)
17. Melisa E, Muhaimin, Yuliawati, Sani K F, Kunci K. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens jack*) terhadap fungsi ginjal mencit putih betina (*Mus musculus linn.*). *Original Article MFF*. 2022; 26(1): 32–7. DOI: [10.20956/mff.v26i1.19447](https://doi.org/10.20956/mff.v26i1.19447)
18. Husna F, Suyatna FD, Arozal W, Purwaningsih EH. Model hewan coba pada penelitian diabetes animal model in diabetes research. *Pharmaceutical Sci Res (PSR)*. 2019;6(3):131–41. DOI: [10.7454/psr.v6i3.4531](https://doi.org/10.7454/psr.v6i3.4531)
19. Djohari M, Husnawati, Aryani F, Bendre BS. Pengaruh pemberian infusa daun katuk (*Sauropus androgynus (L) Merr*) terhadap kadar glukosa darah mencit putih (*Mus musculus L*) jantan yang diinduksi aloksan. *J Pen Farma Ind*. 30 Juni 2023; 12(1):1–6. DOI: [10.51887/jpfi.v12i1.1754](https://doi.org/10.51887/jpfi.v12i1.1754)

20. Nowak D, Jakubczyk E. The Freeze-Drying of Foods—The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. *Foods*. 2020; 9(10): 1488. DOI: [10.3390/foods9101488](https://doi.org/10.3390/foods9101488)
21. BPOM. Peraturan badan pengawas obat dan makanan nomor 10 tahun 2022 tentang pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2022; h. 1–220.
22. Cheluvappa R, Scowen P, Eri R. Ethics of animal research in human disease remediation, its institutional teaching; and alternatives to animal experimentation. *Pharmacol Res Perspect*. 2017; 5(4): e00332. DOI: [10.1002/prp2.332](https://doi.org/10.1002/prp2.332).
23. Yuslianti ER, Meliawaty F, Sutjiatmo AB, Pradita A. Acute toxicity test of rambutan honey adhesive cream against Swiss webster mice. *Journal of Health and Dental Sciences*. 2022; 133–44. DOI: [10.54052/jhds.sd22.p133-144](https://doi.org/10.54052/jhds.sd22.p133-144)
24. Hor SY, Ahmad M, Farsi E, Yam MF, Hashim MA, Lim CP, Sadikun A, Asmawi MZ. Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): acute and subchronic toxicity studies. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2012; 63(1): 106-14. DOI: [10.1016/j.yrtph.2012.03.006](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.03.006).
25. Nouioura G, Tourabi M, Tahraoui A, El-Yagoubi K, Maache S, Elfatemi H, Lyoussi B, Derwich EH. Assessment of the acute and subacute toxicity of the aqueous extract of Moroccan *Ferula communis* fruit in a mouse model. *Saudi Pharm J*. 2023; 31(8): 101701. DOI: [10.1016/j.jsps.2023.101701](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101701).
26. Utami NK, Amperawati M, Rizki MI. Uji in vivo terhadap ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*/biancaea sappan) sebagai disclosing agent. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2022; 9(2): 203–7. DOI: [10.31602/ann.v9i2.9031](https://doi.org/10.31602/ann.v9i2.9031)