

Uji Toksisitas Akut *Limit Test* Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Listya Nor Hidayati¹, Karunita Ika Astuti² dan Gusti Rizaldi¹

¹ Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru, 70714, Indonesia

² Program Studi Diploma Tiga Farmasi, Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru, 70714, Indonesia

Korespondensi: Karunita Ika Astuti

Email: karunitaika@gmail.com

Submitted : 06-03-2024, Revised : 27-05-2024, Accepted : 30-05-2024

ABSTRAK: Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dapat digunakan untuk berbagai pengobatan penyakit, salah satunya sebagai antidiabetes. Pengujian keamanan dari bunga telang masih terbatas untuk pengembangan obat baru. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui gejala toksisitas serta nilai LD₅₀ dari uji toksisitas akut. Metode OECD menggunakan hewan uji tikus betina galur wistar, yang dibagi menjadi kelompok kontrol negatif (Na-CMC) dan kelompok perlakuan (ekstrak etanol 70% bunga telang dengan dosis 5000 mg/kgBB). Hewan uji diamati gejala-gejala toksisitas dan berat badannya selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi kulit dan bulu, mata, tremor (gemetar), konvulsi (kejang), letargi (lesu), diare, dan mati. Hasil menunjukkan ekstrak mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Positif flavonoid dipertegas dengan identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis. Eluen yang digunakan n-heksan:etil asetat (4:2) dengan penampak bercak AlCl₃ 5%, nilai Rf yang didapat yaitu 0,77 dan 0,92. Berdasarkan hasil pengamatan, hewan uji tidak mengalami gejala-gejala toksisitas dan tidak mengalami perubahan bermakna pada berat badan hewan uji kontrol negatif dan perlakuan dengan nilai sig (2-tailed) pada Independent T-Test lebih dari 0,05. Hasil uji toksisitas akut menunjukkan nilai LD₅₀ ekstrak etanol 70% bunga telang adalah >5000 mg/kgBB. Berdasarkan klasifikasi BPOM, nilai tersebut termasuk dalam kategori 5 yaitu praktis tidak toksik.

Kata kunci: bunga telang (*Clitoria ternatea* L.); OECD 425; toksisitas akut

ABSTRACT: Telang Flower (*Clitoria ternatea* L.) can be used for various treatments of diseases, like antidiabetic. Telang flower needs to be carried about the level of safety for the development of new drugs. This study aimed to determine the symptoms and LD₅₀ value of the acute toxicity with OECD 425 method. The test animals were female Wistar rats divided into controls (Na-CMC) and group with 70% ethanolic extract of telang flower at a doses of 5000 mg/kgBW. The test animals were observed for the symptoms of toxicity and body weight for 14 days. Observations were included skin, eyes, tremors, convulsions, lethargy, diarrhea, and death. The result obtained on alkaloids, phenols, flavonoids, saponins, tannins and triterpenoids. The flavonoids was confirmed by identification using thin layer chromatography with n-hexane: ethyl acetate (4:2) on AlCl₃ 5% spots, and the RF values obtained were 0.77 and 0.92. The result showed not experience significant changes in the body weight of controls (Na-CMC) and group at a doses of 5000 mg/kgBW with a sig (2-tailed) value on the Independent T-Test of more than 0.05. LD₅₀ value showed of the 70% ethanolic extract of telang flower was > 5000 mg/kgBW. Based on BPOM classification, it is include in category 5, practically non toxic.

Keywords: telang flower (*Clitoria ternatea* L.); OECD 425; acute toxicity



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

1. Pendahuluan

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan salah satu tanaman yang sangat digemari di masyarakat karena memiliki segudang manfaat yang secara turun temurun banyak digunakan untuk mengatasi penyakit, seperti mata merah [1]. Kandungan flavonoid yang terdapat pada bunga telang berperan untuk menurunkan reaksi inflamasi. Manfaat bunga telang yaitu sebagai antidiabetes, antimikroorganisme, antiobesitas, antihiperlidemia, antikanker, antioksidan, antiinflamasi, analgesik, antiasma, dan hepatoprotektif [2].

Ekstrak bunga telang memiliki aktivitas anti-diabetes dinyatakan pada penelitian terdahulu. Penelitian secara *in vitro* dengan dosis 0,25-1,00 mg/ml ekstrak air bunga telang dapat menghambat terjadinya *advanced glycation-end products* (AGEs) sehingga dapat menghindari risiko komplikasi diabetes [3]. Penelitian berikutnya dengan dosis 400 mg/kgBB ekstrak etanol bunga telang memiliki efek penurunan signifikan pada kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan [4,5].

Informasi tentang keamanan obat herbal sangat diperlukan untuk menghindari efek berbahaya. Maka dari itu, diperlukan penelitian untuk memastikan keamanan dari ekstrak etanol bunga telang. Pengujian yang digunakan untuk mendeteksi gejala toksik setelah diberikan sediaan dalam bentuk oral merupakan uji toksisitas akut [6]. Metode *Acute Toxicity Up and Down Procedure* (OECD 425) merupakan metode yang ideal ditinjau berdasarkan penggunaan hewan uji dan penentuan nilai *lethal dose* [7]. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) termasuk ke dalam kategori 4 yaitu toksik ringan dengan nilai $LD_{50} > 2000$ mg/kgBB, namun belum dilakukan uji *limit test* pada dosis yang lebih besar [8]. Sehingga tujuan pada penelitian ini sebagai tolok ukur dalam pengembangan obat tradisional baru untuk mencegah toksisitas dan dapat digunakan sebagai sumber informasi untuk pengembangan obat tradisional lebih lanjut dengan mengetahui tingkat atau kategori ketoksikan dengan *limit test* yang lebih tinggi yaitu 5000 mg/kgBB.

2. Metode

2.1. Desain penelitian

2.1.1. Pembuatan ekstrak bunga telang

Bunga telang diambil sebanyak 1700 g sebagai bunga segar, dilakukan sortasi basah, dan setelah itu dilakukan pengeringan [10]. Pengeringan dilakukan menggunakan *oven* pada suhu 50° selama kurang lebih 2 hari [11]. Selanjutnya dilakukan penghalusan dengan blender lalu diayak menggunakan ayakan nomor 40 [11]. Selanjutnya dilakukan perendaman dengan etanol 70% sebanyak 750 ml ke dalam bejana maserasi selama 3 hari dengan pelarut yang sama [12]. Maserat yang didapatkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C lalu dimasukkan ke dalam *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental [13].

2.1.2. Skrining fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak kental dilarutkan dalam 5 ml *aqua-dest* dan HCl 2N di tabung reaksi, dipanaskan selama 2 menit, lalu didinginkan. Filtrat ditambahkan reagen *Mayer* dan *Wagner* serta *Dragendorff*. Hasil positif jika terbentuk endapan putih pada reagen *mayer*, endapan cokelat pada reagen *wagner* dan endapan jingga merah pada reagen *dragendorff* [14].

b. Fenol

Ekstrak kental dilarutkan dalam 5 ml *aqua-dest*, lalu ditambahkan sebanyak 3 tetes $FeCl_3$ 1%. Hasil positif jika larutan berwarna hijau kehitaman atau keunguan [15].

c. Flavonoid

Ekstrak kental dilarutkan dalam 5 ml *aquadest* di dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan HCl pekat sebanyak 1 ml, logam magnesium 0,1 g, serta amil alkohol 3 ml, dan dikocok. Selanjutnya larutan direaksikan dengan *Bate Smite-Metcalf*, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat, lalu dipanaskan. Larutan yang dihasilkan berwarna merah jika sampel positif flavonoid [15].

d. Saponin

Ekstrak kental dilarutkan dalam 9 ml *aqua-dest* di tabung reaksi. Larutan dipanaskan selama

3-5 menit, kemudian didinginkan, dikocok kuat, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 2N hingga terbentuk busa yang tidak hilang selama 7 menit. Busa ini menandakan positif saponin [14].

e. Steroid/triterpenoid

Ekstrak kental dilarutkan dengan 5 ml kloroform di tabung reaksi, lalu ditambahkan pereaksi *Liebarmann-Burchard*. Jika sampel berwarna hijau menandakan positif steroid dan ungu/merah menandakan positif triterpenoid [14].

f. Tanin

Ekstrak kental dilarutkan dengan 5 ml pelarut, dan ditambahkan 2-3 tetes larutan gelatin 1% dalam NaCl. Endapan putih dihasilkan jika senyawa mengandung tanin [16].

2.1.3. Identifikasi kromatografi lapis tipis

Identifikasi KLT melalui pemanasan oven dengan suhu 105°C selama 5 menit menggunakan *Silica gel GF₂₅₄* sebagai fase diam dan n-heksan:etil asetat sebagai fase gerak. Setelah itu dilakukan pengamatan dibawah sinar UV254 nm, dan UV366 nm, serta diberikan pereaksi semprot AlCl₃ 5% dan sampel positif flavonoid jika terdapat bercak berwarna kuning atau hijau kekuningan. Selanjutnya diamati Rf pada plat KLT dengan membagi jarak yang ditempuh analit dengan eluen [17].

2.1.4. Uji toksisitas

Uji toksisitas akut menggunakan metode OECD 425, yang terdiri dari *limit test* dan *main test*. Pertama-tama hewan uji harus diaklimatisasi minimal 5 hari dan dipuaskan selama 14-18 jam sebelum perlakuan. Hewan tersebut dibagi menjadi 2 kelompok masing-masing berjumlah 3 ekor, yaitu kelompok kontrol negatif (Na CMC 2 ml/200gBB) dan kelompok perlakuan dengan dosis limit test 5000 mg/kgBB secara oral [6].

Pengujian *limit test* terdiri dari 3 termin. Pada termin pertama menggunakan satu hewan uji untuk diberikan dosis 5000 mg/kgBB. *Main test* dilakukan apabila hewan uji yang pertama mati. Sementara itu, apabila hewan uji masih hidup maka dilakukan *limit test* menggunakan 2 hewan uji lainnya dengan dosis yang sama untuk termin kedua. Apabila tidak terdapat kematian maka

pengujian *limit test* dihentikan dan dilakukan pengamatan selama 14 hari. Jika salah satu atau kedua hewan percobaan mati pada termin ke-2, maka *limit test* dilanjutkan pada termin ke-3 menggunakan 2 hewan yang lain. Jika terdapat kematian hanya 2 ekor tikus pada ketiga termin *limit test*, maka *limit test* dihentikan. Pengujian dilanjutkan ke *main test* apabila terdapat lebih dari 2 tikus yang mati [17,18].

2.1.5. Pengolahan dan analisis data

Data bobot badan secara kumulatif dianalisis menggunakan SPSS dengan taraf kepercayaan 95%. Sementara nilai LD₅₀ dianalisis menggunakan *software* AOT425 StatPgm.

2.2. Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Labu ukur (Pyrex®), labu alas bulat (Duran®), gelas beker (Pyrex®), erlenmayer (Pyrex®), sonde oral (Medica), spuit oral (One med®), stopwatch, timbangan analitik (Fujitsu®), hot plate (IKA®), rotary evaporator (IKA®), waterbath (Memmert®), blender (Maspion), oven (Parid Fanel Power®), ayakan nomor 40 (Pharmalab®), kertas saring, batang pengaduk, cawan penguap, chamber, pipa kapiler, sonikator (Vevor®), pipet tetes, tabung reaksi (Pyrex®), lampu UV 254 nm dan 366 nm, sonikator (Vevor®) saringan, mortar dan stamper, penjepit tabung, sendok tanduk, timbangan hewan, kandang tikus, alat tulis dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang diperoleh dari Kota Banjarbaru Kalimantan Selatan dan telah mendapatkan sertifikat hasil uji tanaman bunga telang pada tanggal 13 Desember 2022 dengan nomor surat 233a/LB.LABDASAR/XII/2022, tikus betina galur wistar yang telah mendapatkan kelayakan etik No. 13/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2023, pakan tikus, Na-CMC (Teknis), plat KLT silica gel GF254 (Merck®), aluminium foil (Alta wrap), etanol 70% (Onemed®), pereaksi Dragendorff (Teknis), pereaksi Mayer (Teknis), pereaksi Wagner (Teknis), pereaksi Liebarmann-Burchard (Teknis), FeCl₃ (Brataco®), serbuk mag-

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% bunga telang

No	Jenis uji	Pereaksi	Perlakuan	Hasil (%)
1.	Alkaloid	Pereaksi <i>Dragendorff</i> Pereaksi <i>Mayer</i> Pereaksi <i>Wagner</i>	+ + +	Terbentuknya endapan kemerahan Terbentuknya endapan putih Terbentuknya endapan coklat
2.	Fenol	FeCl ₃ 1%	+	Larutan berwarna hitam pekat
3.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat + Amil alkohol HCl pekat, dipanaskan	+ +	Larutan berwarna jingga pada lapisan amil alkohol Larutan berwarna merah
4.	Saponin	Air panas + HCl	+	Terbentuknya busa yang stabil setinggi 1 cm
5.	Steroid Triterpenoid	Pereaksi <i>Liebermann-Buchard</i>	- +	Tidak terjadinya perubahan warna Larutan berwarna merah
6.	Tanin	Gelatin 1%	+	Terbentuk endapan berwarna putih

Keterangan:

(+) Mengandung senyawa uji

(-) Tidak mengandung senyawa uji

Tabel 2. Nilai Rf identifikasi flavonoid ekstrak etanol 70% bunga telang dengan kromatografi lapis tipis

Noda ke-	Rf	Hasil pengamatan					
		Visual	UV 254 nm	UV 366 nm	Visual setelah disemprot AlCl ₃ 5%	UV 254 nm setelah disemprot AlCl ₃ 5%	UV 366 nm setelah disemprot AlCl ₃ 5%
1	0,77	Coklat pudar	Hitam	Ungu	Hijau kekuningan	Biru pudar	Biru muda
2	0,92	Coklat pudar	Hitam	Merah	Hijau kekuningan	Biru pudar	Merah pudar

nesium (Teknis), HCl pekat (Brataco®), HCl 2N (Brataco®), kloroform (Emsure®), gelatin (Merck®), NaCl (Teknis), amil alkohol (Emsure®), AlCl₃ (Nitra kimia), n-butanol (Emsure®), asam asetat glacial (Emsure®), aquadest (Waterone®).

3. Hasil dan pembahasan

Ekstrak etanol 70% bunga telang dibuat dengan metode maserasi. Filtrat yang diperoleh dipisahkan hingga didapat ekstrak kental dan bobot tetap. Ekstak kental yang diperoleh sebesar 50,087 gram dengan rendemen ekstrak 33,391%.

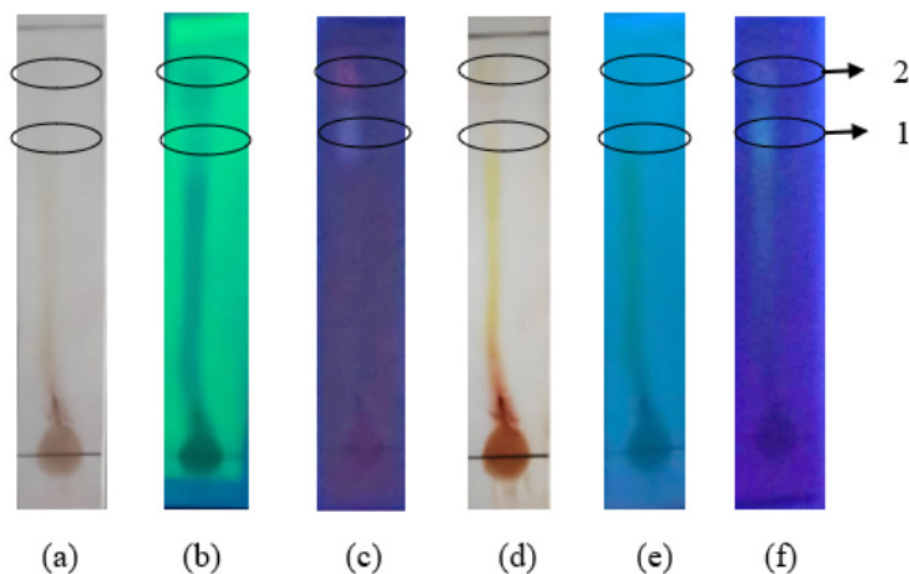
3.1. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% bunga telang dilakukan terhadap senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid dan tanin. Hasil pengujian skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

3.2. Identifikasi flavonoid ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan kromatografi lapis tipis

Identifikasi kromatografi lapis tipis ekstrak etanol 70% bunga telang menunjukkan bercak noda berwarna kuning setelah disemprot dengan penampak bercak AlCl₃ yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid. Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2.

Nilai Rf 0,77 dan 0,92 berwarna hijau kekuningan pada pengamatan secara visual dan pengamatan di bawah sinar UV 254 nm berwarna biru (setelah disemprot dengan AlCl₃ 5%) [19,20]. Pada pengamatan dibawah sinar UV 366 nilai Rf 0,77 berwarna ungu dan nilai Rf 0,92 berwarna merah. Setelah dilakukan penyemprotan masing-masing noda menjadi warna biru muda dan juga merah pudar, dimana hal ini menandakan warna noda tersebut positif flavonoid seperti terlihat pada Gambar 1 [21,22].



Gambar 1. Hasil identifikasi senyawa flavonoid (a) Pengamatan secara visual; (b) Pengamatan pada sinar UV 254 nm; (c) Pengamatan pada sinar UV 366 nm; (d) Pengamatan secara visual setelah disemprot AlCl_3 5%; (e) Pengamatan pada sinar UV 254 nm setelah disemprot AlCl_3 5%; (f) Pengamatan pada sinar UV 366 nm setelah disemprot AlCl_3 5%; pada ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan kromatografi lapis tipis

3.3. Uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)

3.3.1. Pengamatan gejala toksisitas

Pengamatan gejala toksisitas pada hewan uji bertujuan untuk melihat adanya gejala klinis yang menandakan terjadinya efek toksik pada hewan uji. Hasil pengamatan selama 14 hari tidak menunjukkan gejala ketoksikan akibat pemberian ekstrak etanol 70% bunga telang yang dapat dilihat pada Tabel 3.

3.3.2. Hasil bobot hewan uji

Parameter yang diamati selain gejala-gejala toksisitas, termasuk juga pengamatan terhadap berat badan tikus. Hasil rata-rata pengamatan berat badan tikus pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4, Tabel 5 dan Gambar 2. Pengamatan berat badan tikus dari hari ke-0 sampai hari ke-14 tidak menunjukkan penurunan yang signifikan pada berat badan tikus sebelum diberikan perlakuan dan setelah diberikan perlakuan selama 14 hari.

Data berat badan tikus dianalisis menggunakan SPSS. Tahap pertama yaitu dengan diuji normalitas, lalu didapatkan nilai signifikansi sebe-

sar 0,463 untuk kelompok kontrol negatif dan 0,726 untuk kelompok perlakuan, yang artinya data tersebut terdistribusi normal dikarenakan nilai sig $>0,05$. Tahap kedua yaitu uji homogenitas dengan nilai signifikansi sebesar 0,338 dimana data tersebut terdistribusi homogen dikarenakan nilai sig $>0,05$. Data yang terdistribusi normal dan homogen selanjutnya dilanjutkan ke uji parametrik yaitu Independent T-Test [23]. Nilai sig (2-tailed) yang didapatkan senilai 0,812, dimana nilai sig $>0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada berat badan tikus antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan setelah diamati selama 14 hari.

3.3.3. Penetapan nilai LD_{50} ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)

Data uji toksisitas dan data nilai LD_{50} diperlukan untuk obat herbal yang teruji secara klinis. Penentuan nilai LD_{50} ekstrak etanol 70% bunga telang didapat dari data toksik. Secara umum, semakin rendah nilai LD_{50} , maka semakin toksik senyawa tersebut, dan semakin tinggi nilai LD_{50} , maka semakin rendah toksisitasnya [24]. Semua hewan dalam penelitian ini diuji toksisitas akut-

Tabel 3. Pengamatan gejala-gejala toksisitas selama 14 hari

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

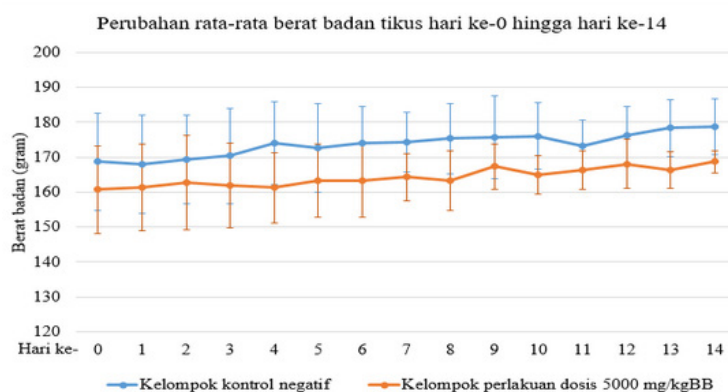
Keterangan: K: Kelompok kontrol negatif; P: Kelompok perlakuan; N: Normal; (-): Tidak terjadi; (√): Terjadi

Tabel 4. Rata-rata berat badan tikus kelompok kontrol negatif selama 14 hari pada uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% bunga telang

Tikus	Berat badan tikus (gram) pada hari Ke-			
	0	1	7	14
K1	155	154	165	170
K2	168	168	176	180
K3	183	182	182	186
Rerata ± SD	168,67 ± 14,01	168 ± 14	174,33 ± 8,62	178,67 ± 8,08

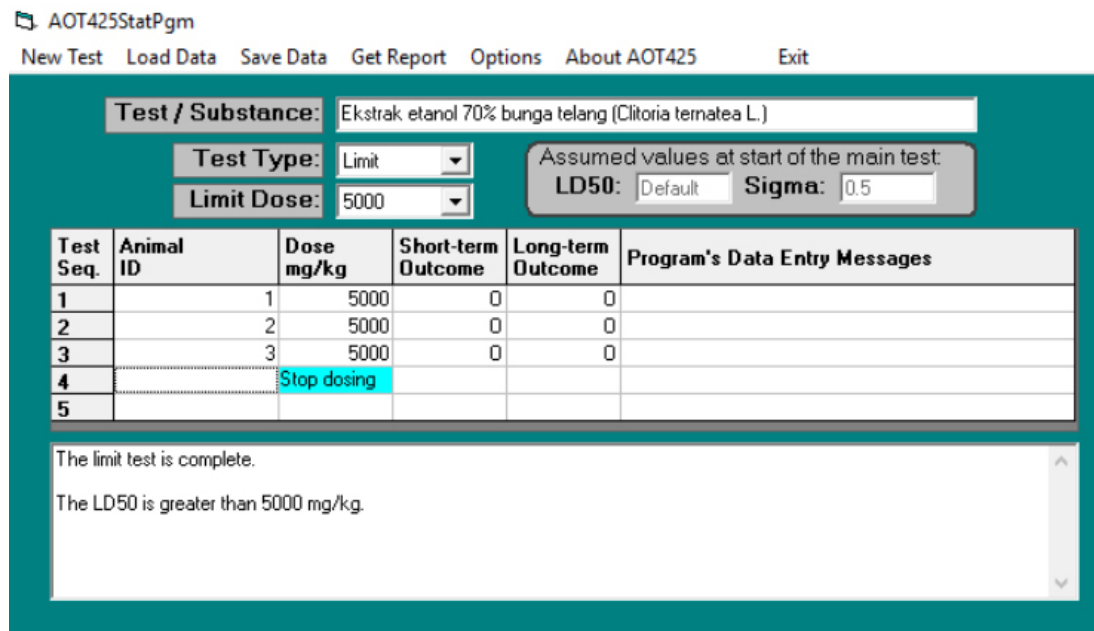
Tabel 5. Rata-rata berat badan tikus kelompok uji yang diberikan ekstrak etanol 70% bunga telang dosis 5000 mg/kgBB selama 14 hari pada uji toksisitas akut

Tikus	Berat badan tikus (gram) pada hari ke-			
	0	1	7	14
Tikus uji 1	149	149	159	170
Tikus uji 2	174	174	172	171
Tikus uji 3	159	161	162	165
Rerata ± SD	160,67 ± 12,58	161,33 ± 12,50	164,33 ± 6,80	168,67 ± 3,21

**Gambar 2.** Grafik perubahan rata-rata bobot hewan uji setelah diberikan perlakuan selama 14 hari

nya dengan metode OECD 425 menggunakan dosis 5000 mg/kgBB. Penetapan nilai LD_{50} menggunakan software AOT425 StatPgm dengan nilai

$LD_{50} > 5000$ mg/kgBB seperti terlihat pada Gambar 3. Menurut kriteria, nilai tersebut termasuk klasifikasi tingkat toksik kategori 5 yang artinya



Gambar 3. Hasil pengamatan LD₅₀ dengan software AOT425 StatPgm

“praktis tidak toksik” dengan rentang nilai LD₅₀ 5-15 g/kgBB [6]. Sifat toksik dari suatu tanaman berkaitan dengan kandungan senyawa aktif di dalamnya. Alkaloid dan saponin dapat merusak sel hepatosit pada tikus [25]. Senyawa flavonoid dapat menyebabkan atrofi syaraf yang menyebabkan tikus menjadi tidak dapat bernapas dan akhirnya mati. Senyawa fenol dapat mengakibatkan hewan uji tidak mampu mengenali makanan sehingga mengakibatkan kematian [26]. Pada penelitian ini semua hewan uji tidak mengalami gejala toksik dan kematian yang artinya golongan senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid yang terkandung dalam sampel memiliki kadar yang tidak menyebabkan gejala toksik.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap tikus betina galur wistar dengan metode OECD 425, dapat disimpulkan bahwa kandungan metabolit yang terkandung dalam ekstrak meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin dan triterpernoid.

Nilai LD₅₀ dari ekstrak etanol 70% bunga telang yang diuji pada tikus betina galur wistar secara oral lebih dari 5000 mg/kgBB, yang masuk ke dalam kategori 5 dengan klasifikasi praktis tidak toksik.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Borneo lestari yang telah memberi dukungan sebagai tempat penelitian ini dan dukungan dari semua rekan yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan penelitian ini.

Daftar pustaka

1. Teguh MA, Andyra VU, Ignatio IE, Junedi S. Formulasi dan bioaktivitas tetes mata dari ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) untuk iritasi mata. *Gunung Djati Conference Series*. 2023;18(1):165-177.
2. Marpaung AM. Tinjauan manfaat bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) bagi kesehatan manusia.

- Journal of Functional Food and Nutraceutical*. 2020;1(2):63-85.
3. Chayaratanasin P, Adisakwattana S, Thilavech T. Protective role of *Clitoria ternatea* L. flower extract on methylglyoxal-induced protein glycation and oxidative damage to DNA. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021;21(1):1-11.
 4. Ginting EE, Rumanti RR, Savira D, Ginting P, Marbun N, Leny. In vivo study of antidiabetic activity from ethanol extract of *Clitoria ternatea* L. flower. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2022;12(6):4-9.
 5. Verma PR, Itankar PR, Arora SK. Evaluation of antidiabetic antihyperlipidemic and pancreatic regeneration, potential of aerial parts of *Clitoria ternatea*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2013;23(5):819-829.
 6. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Peraturan kepala badan pengawas obat dan makanan republik indonesia nomor 7 tahun 2014 tentang pedoman uji toksisitas nonklinik secara in vivo. Jakarta: Badan POM RI; 2014.
 7. Setzer R, Woodrow, Kimmel CA. Use of NOAEL, benchmark dose, and other models for human risk assessment of hormonally active substances. *Pure and Applied Chemistry*. 2023;75(11-12):2151-2158.
 8. Dewi S, Astuti KI, Rusida ER. Uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap tikus betina galur wistar dengan metode OECD 425. *JIF Farmasyifa*. 2023;6(1):60-66.
 9. Wardania W, Asnawati A, Listiawati A. Pengaruh abu sekam padi dan pupuk magnesium terhadap pertumbuhan dan hasil kubis bunga pada tanah gambut. *Jurnal Sains Pertanian Equator*. 2023;12(3):382-390.
 10. Sandi DAD, Putri AN, Muthia R, Akbar DO, Kurniawan G, Vebruati. Pemberdayaan pembuatan simplisia dan celupan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) pada kelompok wanita tani (KWT) Sri Rezeki di Banjarbaru. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan*. 2022;6(1):225-30.
 11. Waisnawi PAG, Puspawati GAKD, Wrasiasi LP. Pengaruh penambahan jeruk nipis terhadap pH, total antosianin, dan aktivitas antioksidan pada minuman bunga telang. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian*. 2022;7(1):89-95.
 12. Andriani D, Murtisiwi L. Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan spektrofotometri Uv Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*. 2018;2(1):32-38.
 13. Puspitasari C. Preparasi dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan variasi konsentrasi kitosan dan tripolifosfat. Skripsi. Surakarta: Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta; 2020. Dikutip dari <http://librepo.stikesnas.ac.id/338/>
 14. Pertiwi FD, Rezaldi F, Puspitasari R. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 2022;7(2):57-68.
 15. Safrudin N, Nurfitasari F. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) dari ekstrak daun bidara (*Ziziphus spinachristi* L.). *Jurnal Itekimia*. 2018;4(2),11-20.
 16. Safitri I, Aritonang AB, Warsidah W, Helena S. Kandungan total fenol dalam ekstrak metanol dan etil asetat *Caulerpa racemosa*. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2022;5(2),96-10.
 17. Apriani I, Ressi S, Nera UP. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur wistar. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. 2022;8(2),8-14.
 18. Organization for Economic Co-operation and Development. Test Guideline 425: Acute Oral Toxicity - Up-and-Down Procedure; 2020.
 19. Nunung SL, Apridamayanti P. Identifikasi senyawa flavonoid ekstrak daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 2019;4(1),1-7.
 20. Sopiah B, Muliarsi H, Yuanita E. Skrining fitokimia dan potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun hijau dan daun merah kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2019;17(1),27-33.
 21. Nurmalasari EY, Luliana S, Wahdaningsih S. Iden-

- tifikasi senyawa fenol dan flavonoid dari berbagai bagian tanaman senggani (*Melastoma malabathricum* L.) menggunakan metode kromatografi lapis tipis. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 2019;4(1).
22. Hadi S, Subekti A, Khairunnisa A. Uji antioksidan dan penetapan flavonoid tuber pakis kinca (*Nephrolepis cordifolia* (L) C. Presl). *Indonesian Journal of Chemical Analysis*. 2018;6(1):1-9.
23. Wati H, Muthia R, Kartini K, Setiawan F. Acute toxicity study of the ethanolic extract of *Eleutherine bulbosa* Urb in Wistar rats. *Pharmacy Education*. 2021;21(2):143-147.
24. Yunedi A. Uji toksisitas akut fraksi daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) serta penentuan nilai LD50 pada mencit putih jantan. Skripsi. Padang; Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Andalas, Padang: 2022. Dikutip dari <http://scholar.unand.ac.id/108362/>
25. Nurqolbiah E, Kusharyanti I, Nurbaeti SN. Uji toksisitas fraksi air *Impatiens balsamina* pada tikus betina galur sprague dawley. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014;1(1):16-29.
26. Yustisia D, Ismail I. Efek beberapa ekstrak tanaman terhadap hama tikus sawah (*Rattus argiventer*). *Agrominansia*. 2017;2(1):36-43.