

**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL ISOLAT ANDROGRAFOLID  
TERHADAP TIKUS UJI BETINA DENGAN  
METODE OECD 425 *UP AND DOWN PROCEDURE***

**SKRIPSI**

**AURI SUBARTA  
A191008**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2023**

**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL ISOLAT ANDROGRAFOLID  
TERHADAP TIKUS UJI BETINA DENGAN  
METODE OECD 425 *UP AND DOWN PROCEDURE***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**AURI SUBARTA  
A191008**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2023**

**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL ISOLAT ANDROGRAFOLID TERHADAP  
TIKUS UJI BETINA DENGAN METODE OECD 425  
*UP AND DOWN PROCEDURE***

**AURI SUBARTA  
A191008**

**Juli 2023**

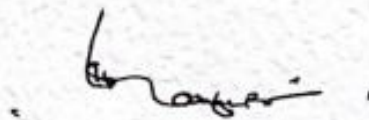
**Disetujui oleh:**

**Pembimbing**



**apt. Maria Ulfah, M.Si.**

**Pembimbing**



**Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah Ws.**

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

*Skripsi ini penulis persembahkan kepada Ibu (Rosmayeni), Ayah (Subarto), Adek-adek (Aurha dan Aurelya), Nenek (Rozizon), keluarga besar dan selaku Teman Hidup (Sevtia Andriana) yang telah memberikan dukungan dan semangat hingga skripsi ini dapat diselesaikan dalam waktu tepat.*

## ABSTRAK

Pemanfaatan obat bahan alam Indonesia yang terjamin mutu, khasiat, dan keamanannya untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat semakin tumbuh dan berkembang saat ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas akut oral isolat andrografolid terhadap tikus uji betina menggunakan metode *OECD 425 Up and Down Procedure*. Tikus uji betina yang sehat dan dewasa dibagi menjadi dua kelompok dengan dosis yang sama dari isolat andrografolid dengan dosis 2000 mg/kgBB yang diberikan secara oral. Metode *OECD 425 Up and Down Procedure* digunakan untuk menentukan LD<sub>50</sub> dan efek toksik akut pada tikus uji. Dosis awal ditentukan berdasarkan perhitungan dan tinjauan literatur sebelumnya. Setelah pemberian dosis awal, pengamatan dilakukan terhadap tikus uji selama periode waktu yang ditentukan, dengan pemantauan gejala klinis, berat badan, dan tingkat mortalitas, serta pengamatan yang terjadi pada organ lambung, hati, ginjal dan limpa. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan software AOT425StatPgm (*Acute Oral Toxicity Guideline 425 Statistical Programme*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat andrografolid tidak menunjukkan efek toksisitas akut pada tikus uji betina. Hasil skoring pada histopatologi organ menunjukkan adanya erosi mukosa pada lambung, degenerasi dan nekrosis pada hati serta ginjal. Berdasarkan data dan pengamatan yang diperoleh termasuk dalam kategori tidak toksik berdasarkan nilai dosis terbatas pada dosis 2000 mg/kgBB, namun demikian harus tetap mempertimbangkan gejala kelainan pada organ lambung, hati, ginjal dan limpa. Studi lanjut diperlukan untuk lebih memahami mekanisme dan dampak toksisitas andrografolid pada organisme lain serta untuk mengevaluasi risiko penggunaannya pada manusia.

**Kata Kunci:** Andrografolid, dosis, letal dose 50, OECD-425, toksisitas

## **ABSTRACT**

*Currently, the use of Indonesian natural medicine with guaranteed quality, efficacy, and safety to improve public health status is growing and developing. This study aims to evaluate the acute oral toxicity of andrographolide isolate in female rats using the OECD 425 Up and Down Procedure. Healthy and adult female test rats were divided into two groups and with the same dose of andrographolide isolate at a dose of 2000 mg/kg BW given orally. The OECD 425 Up and Down Procedure method was used to determine the dose of LD<sub>50</sub> and acute toxic effects in test rats. The initial dose was determined based on previous calculations and literature review. After administration of the initial dose, observations were made on the test rats for a specified period of time by monitoring clinical symptoms, body weight, and mortality rates, as well as observations that occurred in the organs of the stomach, liver, kidneys, and spleen. The data obtained were analyzed using AOT425StatPgm software (Acute Oral Toxicity Guideline 425 Statistical Program). The results showed that andrographolide isolates did not show acute toxicity effects on female rats. The results of the observations showed that the scoring results on the histopathology of the organs showed mucosal erosion in the stomach, degeneration, and necrosis in the liver and kidneys. Based on the data and observations obtained, andrographolide isolate is included in the non-toxic category based on the limit dose value at a dose of 2000 mg/kg BW, however, symptoms of abnormalities in the stomach, liver, kidney, and spleen must still be considered. It is recommended for its use in the pharmaceutical field. Further studies are needed to better understand the mechanisms and effects of andrographolide toxicity in other organisms, as well as to evaluate the risks of its use in humans.*

**Keywords:** *andrographolide, dose, lethal dose 50, OECD-425, toxicity*

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim,*

Alhamdulillah rabbil ‘alamin, puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala nikmat, rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Uji Toksisitas Akut Oral Isolat Andrografolid terhadap Tikus Uji Betina dengan Metode OECD 425 Up And Down Procedure”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing apt. Maria Ulfah, M.Si dan Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah Ws. atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si, selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo Wibowo, M.Si, selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si, selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
4. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si.,selaku Dosen Wali yang selalu memberikan bimbingan, dukungan serta motivasi,
5. Seluruh staf dosen, staf administasi, asisten laboratorium serta seluruh karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Orangtua yang sudah memberikan do’a dan selalu mendukung baik secara material maupun moril selama perkuliahan,
7. Serta kepada teman-teman terdekat dan mahasiswa/i angkatan 2019 yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang sangat membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, memberikan semangat dan kegembiraan selama kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Juli 2023  
Penulis



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	i
KUTIPAN.....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
<i>ABSTRACT</i> .....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I     PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian.....	2
BAB II     TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1 Sambiloto .....	3
2.2 Andrografolid .....	5
2.3 Uji Toksisitas.....	6
2.4 Hewan Percobaan.....	11
2.5 Skoring Pemeriksaan Makropatologi dan Histopatologi Organ ..	12
BAB III    TATA KERJA .....	15
3.1 Alat .....	15
3.2 Bahan.....	15
3.3 Metode Penelitian.....	15
3.3.1 Penyiapan Hewan Uji.....	15
3.3.2 Persiapan Bahan Uji.....	15
3.3.3 Prosedur Uji Toksisitas Akut.....	16
3.3.4 Pengambilan Organ .....	17
3.3.5 Pemeriksaan Organ .....	17
3.4 Pengolahan Data.....	17
BAB IV     HASIL DAN PEMBAHASAN .....	18
4.1 Hasil Persiapan Hewan Uji .....	18
4.2 Hasil Persiapan Larutan Uji .....	18
4.3 Hasil Uji Toksisitas Akut Oral.....	18
4.4 Hasil Penentuan Nilai LD <sub>50</sub> .....	21
4.5 Hasil pengamatan makropatologi.....	21
4.6 Hasil pengamatan histopatologi .....	23
BAB V     SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	29
5.1 Simpulan.....	29

5.2 Alur Penelitian Selanjutnya.....	29
DAFTAR PUSTAKA .....	30
LAMPIRAN .....	33

## DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
2.1	Aktivitas biologi beberapa senyawa aktif dari sambiloto .....	4
2.2	Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD .....	11
2.3	Kriteria penggolongan sediaan uji .....	11
4.1	Pengamatan Tanda-Tanda Toksisitas .....	19
4.2	Nilai LD <sub>50</sub> Isolat Andrografolid .....	21
4.3	Hasil Skoring Makropatologi Organ .....	23
4.4	Hasil Skoring Histopatologi Lambung .....	25
4.5	Hasil Skoring Histopatologi Hati.....	26
4.6	Hasil Skoring Histopatologi Limpa .....	26
4.7	Hasil Skoring Histopatologi Ginjal.....	28

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
2.1 Struktur kimia andrografolid .....	6
2.2 Tikus Putih .....	12
4.1 Grafik Bobot Badan Setelah Pemberian Dosis 2000 mg/kgBB.....	20
4.2 Maksroskopik.....	22
4.3 Grafik Bobot Organ Sasaran .....	22
4.4 Histopatologi Lambung .....	24
4.5 Histopatologi Hati.....	25
4.6 Histopatologi Limpa .....	26
4.7 Histopatologi Ginjal .....	27

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Surat Keterangan Persetujuan Etik .....	33
2. <i>Certificate Of Analysis</i> Andrografolid .....	34
3. Perhitungan Dosis Pemberian .....	35
4. Alur Kerja Penelitian .....	36
5. Berat Badan Tikus Selama Aklimatisasi .....	40
6. Berat Badan Tikus Setelah Pemberian Dosis 2000 mg/kgBB .....	41
7. Gambar Kegiatan Penelitian .....	42
8. Data Nilai LD <sub>50</sub> .....	43
9. Berat Badan Organ .....	44
10. Makropatologi Organ .....	45
11. Histopatologi Organ .....	46

## DAFTAR PUSTAKA

- Al Batran, R., Al-Bayat, F., Al-Obaidi, M.M.J., Abdulla, M.A. (2013) 'Acute toxicity and the effect of andrographolide on Porphyromonas gingivalis-induced hyperlipidemia in rats', *Biomed. Res. Int.* 594012
- Azlan, A., Younis, L., Mahmud, N.H. & Dardiri, N.A. (2013) 'Mechanism of Action of Andrographis paniculata as Antiatherosclerotic Agent', *European International Journal of Science and Technology*, Vol. 2(2) : 1-6
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 32. (2019) 'Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional', Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 39. (2013) 'Standar Pelayanan Publik di Lingkungan Badan Pengawas Obat dan Makanan', Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). (2020) 'Draft Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo', Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Berata IK, Winaya IBO, Adi AAAM, Adnyana IBW. (2021) 'Patologi Veteriner Umum', Denpasar: Swasta Nulus.
- Chao, W. dan Lin, B. (2013) 'Isolation and Identification of Bioactive Compounds in Andrographis paniculata', *Chinese Medicine*, Vol. 5(17) : 1-15
- Depkes RI. (2008) 'Farmakope Herbal Indonesia', Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. P.126-127.
- Geng, J., Liu, W., Xiong, Y., Ding, H., Jiang, C., Yang, X., Li, X.; Elgehama, A., Sun, Y., Xu, Q., et al. (2018) 'Andrographolide sulfonate improves Alzheimer-associated phenotypes and mitochondrial dysfunction in APP/PS1 transgenic mice', *Biomed. Pharmacother*, 97, 1032–1039.
- Gupta, S., Saneja, A., & Sharma, A. (2017) 'An overview on natural coumarins: an emerging class of anti-inflammatory agents', *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 17(14), 1165-1188.
- Hossain, M.S., Urbi, Z., Sule, A., dan Rahman, K.M.H. (2014) 'Andrographis paniculata (Burm. f.) Wall. ex Nees: A Review of Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology', *The Scientific World Journal*: 1–28.
- Hossen, M. J., Reza, M. A., Lam, I. S., Uddin, M. J., Chowdhury, M. H., Rahman, M. M., & Das, A. K. (2017) 'Andrographolide induces apoptosis in B-cell acute lymphoblastic leukemia cells via the ERK/MAPK signaling pathway', *Journal of Natural Medicines*, 71(2), 450-464.
- Lin, F.L., Wu, S.J. & Lee, S.C. (2019) 'Antioxidant, Antioedema and Analgesic Activities of Andrographis paniculata extracts and their active constituent andrographolide', *Phytother Res*, Vol. 23(7) : 958-64
- Lukas, R. (1998) 'Rahasia Herbalis Cina, Ramuan Tanaman Obat Cina', *Pustaka Delapratasa*. Jakarta.

- Lv, J., Li, C., Wei, W., Zhang, L., Xu, Y., Zhao, J., & Zhang, X. (2014) 'Subchronic toxicity study of andrographolide capsule from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees in rodents', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 70(2), 594-601.
- Mishra, S. K., & Sangwan, N. S. (2016) 'Andrographis paniculata (Kalmegh): A review', *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 66-73.
- Nugroho, A. E., Andrie, M., Warditiani, N. K., Siswanto, E., Pramono, S., & Lukitaningsih, E. (2014) 'Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and andrographolide in high-fructose-fat-fed rats', *Indian journal of pharmacology*, 44(3), 377-381.
- OECD. (2001) 'OECD Guideline For Testing Of Chemicals Acute Oral Toxicity– Fixed Dose Procedure', Paris: OECD.
- OECD. (2020) 'OECD Guideline for Testing of Chemicals 425 Acute Oral Toxicity Up and Down Procedure', Paris: OECD Environment Directorate, Environment, Health and safety Division.
- Paemane, A., Hitakarun, A., Wintachai, P., Roytrakul, S., Smith, D.R. (2019) 'A proteomic analysis of the anti-dengue virus activity of andrographolide', *Biomed. Pharmacother*, 109, 322–332.
- Prapanza, E. Dan Marianto, L.M. (2013) 'Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit', AgroMedia Pustaka. Hal: 3–9.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. (2015) 'Situasi Penyakit Kanker di Indonesia.
- Roy, D.N., Sen, G., Chowdhury, K.D., Biswas, T. (2021) 'Combination therapy with andrographolide and d-penicillamine enhanced therapeutic advantage over monotherapy with d-penicillamine in attenuating fibrogenic response and cell death in the periportal zone of liver in rats during copper toxicosis. Toxicol. Appl', *Pharmacol.*, 250, 54–68
- Royani, J., Hardianto, D dan Wahyuni, S. (2014) 'Analisa Kandungan Andrographolide pada Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculate* (Burm.f.) Ness) dari 12 lokasi dipulau jawa', Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat.
- Su, Z., Hu, L., Cheng, J., Klein, J., Kussie, P., & Klippel, A. (2017) 'Toxicity evaluation of andrographolide-loaded nanoparticles in rats after intravenous administration', *Drug and Chemical Toxicology*, 40(3), 306-311.
- Umadevi U, Kamalam M. (2014) 'Phytochemical and Antioxidant studies on an important indigenous medicinal plant- *Andrographis paniculata* Nees', *International Journal of Pharmateutical Sciences and Research*. Vol(12): 5240-5244.
- Wahyuningrum, R., Wahyono, D., Mustofa, M., dan Prabandari, Y.S.. (2017) 'A Qualitative Study Discovering the Common Medication-Therapy Problems in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in Indonesia', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10: 246

- Warditiani, N.K., Widjaja, I.N.K. & Noviyanti, N.W.R. (2014) 'Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan Metode Purifikasi dan Kristalisasi', *Jurnal Farmasi Udayana*, Vol.III(1)
- Wei, W., Li, B., Heng, Y., Wang, G., Yang, J., & Huang, X. (2016) 'Acute and subchronic oral toxicities of andrographolide salt', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 78, 92-99.
- Xiong, J., Feng, J., Yuan, Y., Wang, M., Chen, X., & Liu, Y. (2016) 'Safety evaluation of andrographolide-loaded nanostructured lipid carriers', *Food and Chemical Toxicology*, 89, 44-51.
- Yu, B., Ruan, M., Yang, Y., Zhu, L., Xu, Y., Huang, S., & Zhang, X. (2017) 'Acute and subchronic toxicity as well as evaluation of safety pharmacology of andrographolide analogue AL-1', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 87, 90-98.
- Zhang, X., Zhang, X., Zhang, Q., Wu, T., & Guo, X. (2019) 'Isolation and characterization of andrographolide derivatives with immunosuppressive activity from *Andrographis paniculata*', *Phytochemistry Letters*, 34, 60-63.