

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Salak

1. Tanaman salak

Salak adalah satu anggota family *Arecaceae*. Bagian dari salak yang digunakan masyarakat Indonesia sebagai pengobatan tradisional adalah kulit salak (Balai Informasi Pertanian 1992). Indonesia merupakan negara tropis dimana berbagai jenis tanaman dapat tumbuh dengan mudah, maka terdapat banyak varietas salak yang dapat tumbuh subur disana. Terdapat lima jenis salak pondoh yang berbeda salak pondoh kuning, salak pondoh hitam, dan salak pondoh kemerahan. Salah satu varietas buah yang paling banyak tersebar, salak pondoh paling diminati masyarakat Indonesia karena rasanya buahnya yang sangat manis. Pada tahun 1980-an salak pondoh ditemukan dan ditanam di Yogyakarta, khususnya di Kabupaten Sleman (Sahputra, 2008).

2. Klasifikasi tanaman salak

Divisi	: Spermatophyta
Sub kelas	: Angiospermae
Kelompok	: Monokotil
Ordo	: Principes
Famili	: Palmae
Marga	: Salacca
Spesie	: <i>Salacca zalacca</i>



Gambar 1. Tanaman salak (*Salacca zalacca*)

3. Nama lain salak

Daerah dimana salak tumbuh biasanya menjadi dasar untuk berbagai varietas salak. Masyarakat Sunda, Bali menyebutnya salak,

sedangkan Kalimantan menyebutnya hakam atau tusum. Amerika Serikat menyebut salak sebagai buah ular karena kulit nya yang mirip seperti kulit ular, Thailand menyebutnya sebagai pohon palem. Di Indonesia ada 22 kultivar yang paling banyak ditanam di Indonesia, antara lain salak pondoh, dan salak bungkok (Depkes RI, 1985).

4. Morfologi tanaman salak

Nama ilmiah tanaman salak adalah (*Salacca zalacca*). Salak merupakan buah tropis tumbuh sebagai tanaman holtikutura hingga ketinggian 800 meter diatas permukaan laut didataran rendah (Sutoyo dan Suproto, 2010). Tanaman salak memiliki daun maajemuk berbentuk menyirip dan berukuran panjang, tangkai daun pelepah daun berduri panjang, dan daun lanset dengan ujung meruncing berukuran 8x85 cm (Fatimah, 2013). Buah salak termasuk jenis buah yang mempunyai ukuran kurang lebih 3-7 meter. Buah biasanya memiliki panjang antara 2,5 dan 10 cm. Buah salak memiliki rasa yang sangat manis dan biji bewarna coklat dari satu buah (Zaed, 2015).

Tanaman salak memiliki akar serabut, batang pendek lurus. Tinggi tanaman salak berkisar antara 1,5-7 meter, tergantung jenisnya. Pengembangan salak pondoh, Swaru, Nglumut, Enrekang, Gula batu dan salak varietas unggul lainnya yang dapat ditanam di Indonesia Salak pondoh merupakan tanaman salak yang buahnya sangat manis yang paling banyak diminati konsumen (Sisca, 2008).

Salak pondoh merupakan tanaman perdu yang tumbuh, batang menyilinder berbentuk menyilinder dan bewberumpun dua atau tiga tanaman memiliki tinggi 4-6 meter, batang bewarna hijau tua hingga kecoklatan duri meruncing panjang 5-10 cm, daun bewarna coklat seperti pita, pangkaldaun runcing, anak daun dengan panjang 47 hingga 62 sentimeter dan tandan yang lebarnya 2-4 cm. Permukaan atas daun bewarna hijau tua, sedangkan permukaan bawah bewarna hijau keabu-abuan, dan ujung anak daun meruncing. Bunga jantan dan betina memiliki ciri yang mirip dengan kultivar salak pondoh. Dagingnya bening dan bewarna putih kekuningan. Setiap satu tandan berisi 45 buah, yang disukai konsumen karena rasanya yang manis. Bijinya bewarna coklat tua elips dan dapat mencapai jarak 1,9 cm.

5. Kandungan senyawa kimia dan manfaat salak

Buah salak memiliki banyak manfaat untuk kesehatan yang baik, seperti menjadi sumber serat yang baik, penghasilbanyak karbohidrat, menurunkan kadar kolestrol dan gula darah, menjaga kelembaban kulit,

dan menjaga tulang tetap kuat, dan meningkatkan kemampuan tubuh untuk melawan penyakit. 100 gram buah salak mengandung 77 kalori, 0,5 gram protein, 20,9 gram karbohidrat, 28 mg kalsium, 18 miligram fosfor, 4,2 mg zat besi, 0,04 mg vitamin B1 dan 2 mg vitamin C (Anonim, 1995).

Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit dan daging buah salak mengandung tanin, flavonoid dan sedikit alkaloid. Flavonoid adalah bagian penting dari makanan manusia karena banyak manfaat yang diberikan untuk kesehatan. Sebagian besar flavonoid dalam tubuh manusia merupakan penguat sel yang sangat baik untuk menangkal kanker. Flavonoid berifat antiradang, mencegah pengeroposan tulang, bekerja sama dengan vitamin untuk meningkatkan efektivitasnya, melindungi struktur sel, dan dapat digunakan sebagai antibiotik (Barnes, 1996: 313). Penelitian Kanon *et al.*, (2015) mengatakan bahwa flavonoid menurunkan kadar gula darah pada tikus dengan merangsang sel β -pankreas untuk memproduksi lebih banyak insulin. Sel pankreas yang rusak diperbaiki oleh alkaloid.

B. Simplisia

1. Definisi simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang belum diolah yang digunakan dalam pengobatan. Sebagai obat alami, simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan di dalam oven atau di bawah sinar matahari langsung. Simplisia menurut FHI (2017) ada tiga macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican. Simplisia nabati berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan yang memancar darinya, atau gabungan dari ketiganya. Suatu zat bermanfaat yang dihasilkan oleh hewan yang belum merupakan zat kimia dalam bentuknya yang paling dasar, simplisia hewan adalah hewan secara keseluruhan, bagian dari hewan, atau gabungan dari keduanya. Pelican disebut juga mineral simplisia, yaitu bahan mineral yang belum diolah secara langsung dan bukan merupakan bahan kimia murni (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

2. Pengeringan

Proses pengeringan bahan penting untuk dilakukan karena dapat mempengaruhi mutu dari bahan. Bahan dapat dikeringkan dibawah sinar matahari, diudara, atau oven dengan menggunakan suhu tidak lebih dari 60°. Karena dapat mengurangi kadar air dalam jumlah banyak dan cepat,

menggunakan oven untuk mengeringkan dianggap lebih menguntungkan. Tujuan dari pengeringan yaitu untuk pengurangan jumlah air dalam bahan, memperlambat pertumbuhan mikroorganisme berbahaya dan mencegah kerusakan bahan. Kulit bahan dapat dipengaruhi oleh pengeringan yang terlalu lama dan pada suhu diatas 60° C, karena suhu yang berlebihan dapat merusak komponen bahan (Hernani dan Nurdjanah, 2009).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik yang didasarkan pada perbedaan kelarutan yang ada antara dua cairan yang tidak saling larut. Biasanya, ekstraksi digunakan untuk memisahkan beberapa komponen campuran. Pelarut harus merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi dan harus dipisahkan segera setelah pengocokan sebelum dapat digunakan pada proses selanjutnya. Untuk mengurangi reaktivitas dan biaya pengoperasian, toksisitas pelarut, ketersediaan, biaya, sifatnya tidak mudah terbakar, suhu kritis rendah, dan tekanan kritis semuanya harus dipertimbangkan. Durasi ekstraksi dapat dipengaruhi dengan berbagai cara, baik dalam kondisi panas maupun dingin. Pelarut harus cukup kuat untuk melarutkan senyawa yang perlu dihilangkan. Ada banyak cara berbeda untuk mengekstraksi bahan, termasuk metode dingin dan panas. Metode ekstraksi dingin meliputi perkolasi dan maserasi. Cara panas infus, rebusan, refluks panas, dan soxhletation (Amiarsi, 2006).

1.1. Maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi langsung. Maserasi di mana serbuk direndam dalam pelarut yang sesuai dan disimpan pada suhu kamar dalam bejana inert tanpa pemanasan, metode ekstraksi sederhana yang paling umum. Maserasi proses pencampuran pelarut dan serbuk simplisia dalam wadah tertutup rapat yang disimpan pada suhu ruang tanpa dipanaskan. Cairan penyaring menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga yang mengandung zat aktif karena adanya tekanan antara bagian luar dan dalam sel. Cairan filter memasuki rongga yang mengandung zat aktif setelah menembus dinding sel. Metabolit sekunder di dalam sitoplasma akan terurai dan larut oleh pelarut organik. Metode maserasi ini memiliki banyak kendala, antara lain membutuhkan waktu yang lama, membutuhkan banyak pelarut, dan

dapat menyebabkan gagalnya ekstraksi beberapa senyawa (Novitasari dan Putri, 2016).

1.2. Perkolasi. Pelarut baru digunakan dalam perkolasi, metode ekstraksi. Perkolasi dipergunakan untuk mengekstrak serbuk kering, terutama simplisia keras seperti kulit kayu, kulit biji buah, kayu, dan akar. Penggunaan pelarut organik dalam sampel didasarkan pada anggapan bahwa senyawa organik yang serupa akan terbawa oleh pelarut tersebut. Ada kemungkinan serbuk sampel menetes perlahan karena dilapisi dengan pelarut. Metode ini memiliki keuntungan dalam membuat sampel baru. Karena sampel dan perkolator tidak homogen, maka pelarutannya sulit dan memakan waktu lama, dan metode perkolasi membutuhkan banyak pelarut. Serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah berbentuk silinder dengan dasar berpori mengikuti prinsip perkolasi (Hanani, 2015, h.11).

1.3. Soxhletasi. Soxhletasi adalah strategi ekstraksi yang memanfaatkan pemanasan dan menggunakan pelarut organik. Umumnya dengan menggunakan bantuan alat khusus sehingga dengan pendinginan balik terjadi proses ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarutan relatif konstan. Uap memasuki labu pendingin dan pelarut menguap saat dipanaskan. Proses sokletasi menggunakan prinsip penyaringan berulang untuk memastikan hasil yang diperoleh sempurna dan pengenceran yang digunakan relatif kecil dan sesuai, dengan demikian ekstraksi dengan metode sokletasi akan menghasilkan sampel yang terekstraksi dengan sempurna (Hanani, 2015, h.11).

1.4. Reflux. Senyawa tahan panas dapat diekstraksi menggunakan metode refluks, teknik ekstraksi dengan bantuan pemanasan. Metode ini melibatkan penggabungan sampel dengan pelarut dalam labu yang terhubung dengan kondensor. Labu adalah bejana ekstraksi dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Metode ini memiliki kelebihan yaitu dapat digunakan untuk menangani sampel bertekstur kasar dan dapat menahan pemanasan langsung. Kekurangan dari metode ini yaitu penggunaan pelarut dengan jumlah besar dan energi dalam pemanasan (Hanani, 2015, h.11).

1.5. Infusa. Infusa merupakan ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut polar. Pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama lebih mudah menarik senyawa dengan kepolaran yang sama. Cara yang umum dilakukan dalam penyiapan bahan dengan pertimbangan praktis adalah dengan merebusnya menggunakan air sebagai pelarut. Proses infusa

dapat dipercepat dengan mengekstraksi simplisia dengan cara melarutkan air, prinsipnya sama dengan perebusan (Depkes RI, 2000).

1.6. Dekok. Dekok adalah metode ekstraksi yang mirip dengan metode infus tetapi berbeda karena membutuhkan waktu lebih lama untuk diproses pada suhu di atas 30 derajat Celcius, hingga titik didih (Hanani, 2015, h.13).

1.7. Digesti. Digesti metode merupakan cara ekstraksi maserasi yang terjadi pada suhu diatas suhu kamar, biasanya antara suhu 40°C sampai 50°C hingga mencapai titik didih air (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

2. Ekstrak

Proses ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai menghasilkan ekstrak yang biasanya berbentuk cairan atau sediaan kental karena proses pelarutan yang lebih awal dan penguapan dan pembentukan massa yang tidak perlu. (Dirjen POM, 2000).

3. Pelarut

Pelarut harus dapat melarutkan zat yang dimaksud, memiliki titik didih yang rendah, murah, tidak beracun atau mudah terbakar, dan memiliki kepolaran yang sama dengan senyawa yang perlu diidentifikasi (Arifin *et al.*, 2006). Karena kepolarannya yang tinggi, etanol dengan mudah melarutkan berbagai senyawa antara lain karbohidrat, lemak, minyak, resin, dan lain-lain (Munawaroh dkk., 2010).

D. Kromatografi Lapis Tipis

1. Pengertian Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis memiliki keuntungan antara lain dapat menganalisis banyak sampel secara bersamaan menggunakan atau menggunakan sejumlah kecil fase gerak. Metode kromatografi lapis tipis adalah pengujian yang memanfaatkan berbagai eluen dengan derajat kepolaran yang berbeda-beda untuk menghasilkan pelarut yang mampu menghasilkan noda yang baik. Metode ini memiliki kelebihan yaitu sederhana dalam menyiapkan sampel, memiliki biaya operasional yang rendah karena clume kecil pelarut yang digunakan, tepat dan akurat, sensitif dan memungkinkan pengamatan langsung dari kromatogram (Wulandari, 2011).

1.1. Alat dan bahan. Metode Kromatografi lapis tipis menggunakan alat dan bahan antara lain lempeng kromatografi yang sesuai dan seragam, biasanya 20 x 20 cm. Diperlukan lempeng silika

atau selulosa “pralapis” kecuali dinyatakan lain. Rak untuk penyimpanan yang digunakan untuk menempatkan lempeng selama pengeringan. Untuk pengamatan, lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm atau 254 nm sudah cukup untuk digunakan (FHI, 2017).

1.2. Prosedur Kromatografi lapis tipis. Teknik kromatografi lapis tipis diatur sesuai petunjuk setiap monografi. Jarak antar lempeng adalah 1,5 sampai 2 sentimeter dari tepi bawah masing-masing lempeng. Fase gerak bejana harus mencapai tepi bawah lapisan adsorben. Fase gerak harus dibiarkan menempuh jarak propagasi maksimumnya saat bejana tertutup. Setelah dikeringkan dengan udara dan melewati batas jarak rambat, bercak dapat dilihat dengan sinar tampak dan ultraviolet masing-masing pada 254 nm dan 366 nm. Penting untuk mengukur dan mencatat frekuensi setiap titik dalam kaitannya dengan titik bercak. Terapkan reagen yang diamati ke tempat, bandingkan dengan referensi, dan kemudian tentukan nilai R_f (FHI, 2017).

E. Uji Toksisitas

1. Definisi toksisitas

Dalam toksikologi, istilah "toksisitas" mengacu pada kapasitas suatu zat untuk membahayakan dan menyebabkan bahaya. Uji toksisitas menggunakan data respons dosis dari sediaan uji untuk menentukan efek toksik suatu zat pada sistem biologis. Dalam toksikologi, toksisitas adalah kapasitas suatu senyawa untuk merusak melalui suatu sediaan. Toksisitas adalah kapasitas suatu senyawa untuk menyebabkan kerusakan melalui persiapan dalam toksikologi. Dalam jumlah banyak, zat beracun akan membunuh tubuh. Data dari uji toksisitas digunakan untuk menentukan tingkat risiko yang ditimbulkan oleh sediaan uji jika terjadi paparan pada manusia guna menetapkan batas dosis yang aman bagi manusia (Lu, 1995).

Uji toksisitas tidak dapat menjamin secara definitif keamanan sediaan bagi manusia sebaliknya hanya dapat memberikan indikasi toksisitas relatif dan membantu pencegahan jika manusia terpapar suatu sediaan. Validitas hasil uji toksisitas *in vivo* dipengaruhi oleh spesies, jumlah, dan pemilihan hewan uji. Petunjuk tentang cara menangani hewan. Akut, subkronis, dan kronis adalah contoh uji toksisitas umum sedangkan uji toksisitas mutagenik, teratogenik, dan karsinogenik (Depkes RI, 2000).

2. Uji toksisitas akut

Potensi efek toksik dari suatu senyawa pada hewan dapat ditentukan melalui penggunaan uji toksisitas akut dan jenis uji praklinis lainnya. Dalam 24 jam pertama setelah mengonsumsi sediaan oral, keracunan parah dapat terjadi, yang merupakan efek samping yang berbahaya. Bagian mematikan 50 (LD₅₀) adalah ukuran faktual yang digunakan untuk mengukur bagian beracun setelah satu bagian diatur. Titik di mana satu dosis uji yang diinginkan diharapkan menghasilkan 50% kematian dikenal sebagai LD₅₀ sediaan (Jenova, 2009).

Tujuan uji toksisitas digunakan untuk mengetahui apakah suatu zat dapat menjadi racun dalam waktu singkat setelah diberikan dosis tertentu. Jika pemberian dilakukan berulang kali, interval antar dosis tidak boleh kurang dari 3 jam. Gejala-gejala toksik dinilai beberapa saat setelah hewan uji diberi perlakuan. Penurunan aktivitas motorik, starub, piloereksi, ptosis, haffner, midriasis, diuresis, defekasi, lakrimasi, salivasi, grooming, dan mekanisme kematian pada hewan uji merupakan beberapa gejala toksik yang diamati (Putjiastuti dan Nugroho, 2009).

Pemberian zat secara oral ke beberapa kelompok hewan uji pada berbagai tingkat dosis adalah prinsip dasar toksisitas akut. Kematian hewan uji berfungsi sebagai parameter terakhir untuk menentukan toksisitas akut. Korban keracunan yang menunjukkan tanda-tanda kesakitan atau kesusahan sesuai dengan prinsip kesejahteraan hewan (titik akhir yang manusiawi) dapat dikorbankan lebih awal daripada menunggu sampai mati. Jika tes persiapan diberikan kepada hewan dalam keadaan ini, maka hewan dianggap mati. Hewan yang mati selama percobaan dilakukan pemeriksaan nescopic untuk memeriksa tanda-tanda toksisitas setelah pemeriksaan makropatologi masing-masing organ (BPOM, RI).

Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji

Tingkat toksisitas	LD ₅₀ oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤ 5 mg/kg	Super toksik
2	5-50 mg/kg	Sangat toksik
3	>50-500 mg/kg	Toksik
4	>500-2000 mg/kg	Toksik sedang
5	>2000-5000 mg/kg	Toksik ringan
6	>5000 mg/ kg	Tidak toksik

(Hodge dan Sterner, 1995).

2.1 Metode uji toksisitas akut. Metode toksisitas konvensional digunakan dalam metode pengujian toksisitas akut, namun memiliki beberapa kelemahan, seperti perlunya banyak pengujian pada hewan untuk mengetahui parameter akhir yang merugikan hewan. Pada tahun

1984, alternatif dengan jumlah hewan yang lebih sedikit ini dikembangkan. Metode OECD yang direvisi diadopsi pada tahun 1984 sebagai hasil kesepakatan untuk memiliki jalan pintas untuk klasifikasi senyawa kimia. Hewan uji hanya digunakan pada satu jenis kelamin dengan metode yang berbeda. Hal ini karena literatur menunjukkan bahwa nilai LD₅₀ tidak berbeda secara signifikan antara hewan jantan dan betina. Namun, karena nilai LD₅₀ betina biasanya lebih sensitif, pengujian hewan alternatif mempekerjakan lebih sedikit hewan daripada metode konvensional (BPOM RI, 2014).

2.1.1 Fixed Dose Method. Untuk bahan uji yang sangat beracun, digunakan metode dosis tetap. Dosis yang akan diuji tidak boleh menyebabkan hal-hal berikut: kematian, penyakit serius, atau efek iritatif atau korosif.

2.1.2 Prinsip. Hewan uji berjenis kelamin sama harus diberi dosis 5, 50, 300, 2000 mg/kg berat badan untuk uji ini. Pada dosis pertama dipilih karena dapat menimbulkan gejala keracunan ringan tanpa mengakibatkan kematian atau keracunan berat. Prosedur ini diulang sampai dosis terendah membunuh atau menyebabkan efek toksik pada dosis tertinggi (BPOM, RI, 2014).

2.1.3 Penyiapan hewan uji. Menggunakan tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c) digunakan. Jika dibandingkan dengan hewan berjenis kelamin jantan, hewan betina lebih sensitif. Namun, laki-laki dapat digunakan untuk pengujian jika literatur toksikologi atau toksikokinetik berfokus pada laki-laki yang lebih sensitif. Setelah 5-7 hari aklimatisasi dan ditandai untuk bantuan dari masing-masing hewan, hewan yang dipilih secara acak disiapkan untuk pengujian. Prinsipnya, jika menggunakan hewan jantan harus ada alasan yang sah, seperti hewan harus sehat dan dewasa, betina harus berumur 8-12 minggu, tidak bunting, dan berat badan rata-rata tidak boleh melebihi 20% (BPOM RI, 2014).

2.1.4 Persiapan sediaan uji. Sebelum pengujian, sediaan uji diencerkan dengan pelarut yang sesuai seperti minyak nabati dan air sebelum pengujian. Pemilihan cairan yang larut dalam air untuk suspensi atau emulsi lebih diinginkan dari pada pelarut yang larut dalam minyak jagung untuk suspensi atau emulsi, dan bila menggunakan pelarut tidak berair, karakteristik toksisitas dari cairan pembawa harus diketahui (BPOM RI, 2014).

2.1.5 Pemberian sediaan uji dan volume pemberian. Periode jam jika dosis tunggal tidak layak. Pakan tikus dapat diberikan kepada hewan uji sekali lagi tiga sampai empat jam setelah diberi perlakuan. Beberapa pemberian makan dapat diberikan, tergantung pada berapa lama persiapan tes diberikan. Jumlah maksimum cairan yang dapat diberikan kepada setiap hewan uji ditentukan berdasarkan beratnya. Jika pelarutnya udara dan berat tikus lebih dari 250 gram, maka volume maksimum yang dapat diberikan adalah 5 ml. Konsentrasi yang dianjurkan untuk hewan pengerat adalah 1 ml per 100 gram berat badan. Lebih baik menggunakan zat dalam bentuk paling murni jika berupa cairan atau campuran cairan. Selama pengujian, konsentrasi sediaan uji yang biasanya diberikan dalam volume yang sama akan bervariasi (BPOM RI, 2014)

2.1.6 Uji pendahuluan. Karena diduga memiliki efek toksik dipilih dari tingkat dosis tetap 5, 50, 300, dan 2000 mg/kg berat badan yang tercantum pada Bab IV huruf A dan B dapat dipilih sebagai dosis awal. Gunakan dosis 5000 mg /kg berat badan hanya jika benar-benar diperlukan. Informasi tambahan diperlukan dalam bentuk data toksisitas in vivo dan in vitro untuk zat dengan sifat kimia dan struktural yang sebanding. Dengan tidak adanya informasi ini, dosis awal adalah 300 mg/kg berat badan. Dibutuhkan setidaknya 14 hari untuk menyelesaikan pengamatan. Dianggap GHS 1 jika dosis 5 mg/kg berat badan menyebabkan kematian, menghasilkan nilai LD₅₀ sebesar 5 mg/kg berat badan, akibatnya penelitian harus dihentikan tanpa perlu tes primer. Namun, nilai LD₅₀ dikonfirmasi dengan penambahan berikut, dan prosedur tambahan dapat dilakukan sebagai berikut: setelah 3 percobaan, dosis tambahan 5 mg/kg berat badan diberikan pada percobaan kedua. Pemberian zat uji dihentikan dan tidak diteruskan ke hewan ke 4 sampai ke 5 jika hewan ke 3 mati sejak awal karena kematian kedua hewan uji tersebut. Menurut bagan pendahuluan, tes berisi dosis awal 300 mg/kg berat badan. Metode dengan prosedur dosis tetap tergolong dosis 5 mg/kg berat badan. Kategori 1 jika dua atau lebih hewan uji mati, atau kategori 2 jika hanya satu hewan uji yang mati (BPOM RI, 2014).

2.1.7 Uji utama. Fokus uji coba utama adalah pada tingkat dosis di mana mortalitas uji coba percontohan terjadi. Biasanya ada tiga pilihan, seperti yang disebutkan di bagian pengujian utama, sampai ditentukan apakah dia hidup atau mati, hentikan pengujian, pertahankan pengujian dengan dosis yang lebih tinggi, atau pertahankan pengujian

dengan dosis yang lebih rendah. Klasifikasi zat uji seringkali dapat ditetapkan pada dosis pertama, meniadakan persyaratan untuk uji tambahan. Pada dosis pertama klasifikasi bahan uji seringkali dapat ditentukan, meniadakan kebutuhan akan uji tambahan. Waktu antara dosis uji ditentukan dengan menggunakan Onset, durasi, toksisitas. Oleh karena itu pemberian zat uji tidak boleh diberikan pada tahap dosis selanjutnya sampai bukti menunjukkan bahwa hewan harus bertahan hidup. Waktu peralihan selama 3 hingga 4 hari, tetapi bisa lebih lama jika hasilnya tampak dipertanyakan. Hanya jika benar-benar diperlukan dosis 5000 mg/kg berat badan diberikan selama pemeriksaan. Kaitannya dengan kesejahteraan hewan, jika hendak menggunakan dosis yang lebih tinggi dari 5000 mg/kg berat badan, diperkirakan dosis tersebut akan sangat penting untuk melindungi manusia, hewan atau lingkungan (BPOM, RI, 2014).

2.1.8 Uji batas. Baik pada uji utama maupun uji pendahuluan, berjumlah satu hewan atau tidak ada hewan yang mati pada dosis 2000 mg/kg bobot badan. Audit bahan yang digunakan di luar apa yang dianggap banyak orang sebagai tes yang mungkin. Uji limit pada dosis 5000 mg/kg berat badan dan dosis 2000 mg/kg berat badan dapat dilakukan dalam uji coba pengobatan tradisional jika produk dan komponennya dapat diperiksa untuk mendukungnya.

2.1.9 Pengamatan. Hewan uji diamati 30 menit pertama setelah menerima sediaan, kemudian setiap 4 jam selama 24 jam dan sekali sehari selama 14 hari. Namun, tergantung pada reaksi toksik, waktu onset, dan lamanya waktu sampai aman, periode pengamatan dapat diperpanjang atau dikurangi. Setiap catatan individu hewan harus diatur untuk mencatat baik onset dan durasi gejala toksisitas, terutama jika tanda-tanda toksik lebih mungkin muncul kemudian. Jika terus menerus menunjukkan tanda-tanda toksisitas, diperlukan pemantauan tambahan. Sistem pernapasan, sistem saraf otonom, sistem saraf pusat, aktivitas dan perilaku somatomotor, kulit, bulu, mata, dan selaput lendir semuanya diamati. Selain itu, berfokus pada keadaan gemetar, kejang, air liur, buang air besar, kelemahan, penurunan aktivitas, dan koma juga penting. Hewan yang sudah mati atau menunjukkan tanda-tanda kesakitan atau penderitaan yang luar biasa harus dikorbankan. Waktu kematian harus dicatat untuk uji coba hewan di mana hewan dibunuh atau ditemukan mati. Selama periode pengamatan, pertimbangan-pertimbangan berikut harus dibuat: Sebelum dan setidaknya seminggu setelah persiapan ujian,

perilaku hewan seperti berjalan tengkurap, berjalan berlawanan arah, dan berat badan harus dipantau. Analisis perubahan berat badan sangat diperlukan. Hewan yang tersisa ditimbang dan kemudian dikorbkan pada akhir

2.2 Acute toxic class method. Metode ini bukan dipergunakan untuk menetapkan nilai LD_{50} . Karena proporsi kematian hewan terdiri dari endpoint yang unik untuk penelitian ini, metode yang dimaksud tidak mencapai ambang batas LD_{50} . Namun hal itu dilakukan untuk mengurangi paparan karena kematian. Dalam metode ini LD_{50} dinaikkan ketika salah satu dari dua dosis kurang dari atau sama dengan nol dan lebih dari atau sama dengan 100% (BPOM RI, 2014).

2.2.1 Prinsip. Jumlah minimal hewan yang dibutuhkan pada setiap tahap adalah prinsip panduan dari prosedur pengujian ini. Hewan uji diberi dosis oral khusus dari sediaan uji. Sediaan uji digunakan dengan metode bertahap dengan menggunakan tiga ekor hewan uji betina pada setiap tahapan. Ada atau tidaknya kematian hewan yang terkait dengan bahan uji akan menentukan tahap berikutnya, tidak diperlukan pengujian lebih lanjut, tiga hewan dengan porsi bahan uji yang sama dengan yang sebelumnya ditambahkan, tiga hewan dengan bagian berurutan dari bahan uji ditambahkan. sebelumnya. Zat uji dikategorikan menurut klasifikasi toksisitas yang ditetapkan oleh nilai batas LD_{50} tetap menggunakan metode ini sebagai dasar.

2.3 Metode Up And-Down Procedure. Metode yang dapat digunakan untuk mencari zat yang dapat membunuh atau menyakiti hewan dalam satu atau dua hari. Sepertinya metode ini seharusnya tidak akan efektif untuk harapan kematian hewan uji lima hari atau lebih.

2.3.1 Prinsip. Pada pengujian pemberian dosis tunggal pada hewan pertama satu persatu, setidaknya 48 jam terpisah dari hewan berikutnya. Dosis yang satu langkah lebih rendah dari perkiraan LD_{50} digunakan dalam tes awal. Dosis untuk selanjutnya dinaikkan dari dosis awal jika hewan bertahan hidup. Jika hewan mengalami kematian hewan berikutnya menerima pengurangan dosis. Setiap hewan harus dipantau secara ketat selama 48 jam dari semua hewan menjadi dasar pemilihan dosis. Status dari semua peryasatan saat penghentian digunakan untuk menghitung perkiraan LD_{50} dan selang kepercayaan. Dosis dilarang ketika salah satu kriteria studi penghentian tes utama telah terpenuhi. Setelah perubahan dosis pertama, penelitian besar dengan 4 hewan uji diselesaikan pada saat itu. Metode kemungkinan maksimum digunakan untuk menentukan LD_{50} .

3. Uji toksisitas subkronis oral

Uji toksisitas oral subkronis adalah suatu pengujian untuk melihat apakah hewan uji memiliki toksisitas oral setidaknya selama 10% dari hidup hewan. Sebelum menambahkan kelompok satelit untuk melihat apakah ada efek tertunda atau reversibel, uji toksisitas subkronis oral memberikan dosis tunggal bahan uji ke beberapa kelompok hewan uji setiap tujuh hari selama 14, 28, atau 90 hari. Untuk memeriksa tanda-tanda toksisitas, hewan harus diamati setiap hari saat persiapan uji diberikan. Necroscopy harus segera dilakukan jika hewan tidak dapat bertahan hidup pada periode rigor martis (kaku) sebelum pemberian sediaan uji. pemeriksaan makropatologis dan histologis organ dan jaringan. Pada akhir periode pengujian, dilakukan pemeriksaan makropatologi setiap jaringan organ pada setiap hewan mati yang telah dinekropsi (Barile, 2005).

Tujuan dari pengujian ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah suatu zat memiliki efek toksik yang tidak ditemukan pada uji toksisitas akut, apakah memiliki efek toksik setelah terpapar pada sediaan berulang kali uji selama waktu yang telah ditentukan, dan jika ada dosis yang tidak memiliki efek berbahaya dikenal sebagai (NOAEL). Dengan menggunakan informasi ini akan menyelidiki efek kumulatif dan reversibel dari paparan berulang terhadap bahan uji untuk jangka waktu yang telah ditentukan (Barile F. 2005).

3.1. Jenis uji toksisitas subkronis

3.1.1. Uji toksisitas subkronis singkat oral 14 hari pada rodensia. Pengujian bertujuan untuk mengetahui apakah suatu zat memiliki efek toksik yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, apakah memiliki efek toksik setelah berulang kali terpapar pada sediaan uji selama waktu yang telah ditentukan, dan apakah ada dosisnya. yang tidak menimbulkan efek berbahaya (No Observed-Adserve Effect Level/NOAEL). Kehadiran efek kumulatif dan efek reversibilitas setelah paparan berulang akan diselidiki menggunakan data ini (BPOM RI, 2014).

3.1.2. Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari pada rodensia. Uji toksisitas subkronis oral singkat 28 hari pasien digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis dalam bentuk sekali pakai atau berulang dalam waktu singkat.

3.1.3. Uji toksisitas subkronis oral 90 hari. Pada pengujian ini digunakan untuk keperluan dalam mengevaluasi sediaan uji yang penerapan secara klinisnya diulangi dalam 1-4 minggu.

4. Uji toksisitas kronis oral

Tujuan pengujian toksisitas oral kronis untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji beberapa kali dalam waktu yang ditentukan. Dalam proses pengembangan obat herbal tersandar atau fitofarmaka misalnya, sediaan yang secara umum diketahui aman dilakukan uji sediaan minimal 9 bulan, sedangkan senyawa atau sediaan murni dikenai uji selama 12 bulan. Uji toksisitas kronis bertujuan untuk menentukan profil efek toksik dan tingkat dosis efek tidak beracun (NOAEL) setelah pemberian sediaan uji yang berkepanjangan (BPOM RI, 2014).

Pengujian toksisitas kronis dirancang untuk memudahkan mendapatkan informasi umum tentang toksisitas, seperti pengaruhnya terhadap efek neurologis, fisiologis, hematologis, biokimia klinis, dan histologis. Sesuai dengan protokol yang dirujuk dalam OECD TG 453 (2018), uji toksisitas oral kronis dan uji karsinogenisitas pada hewan yang sama dapat dilakukan secara bersamaan jika diperlukan. Obat-obatan, obat tradisional, dan bahan lain yang sering digunakan selama lebih dari empat minggu dikenai uji toksisitas kronis (BPOM RI, 2014).

4.1 Prinsip. Selama sembilan atau dua belas bulan, sediaan uji diberikan kepada kelompok hewan uji yang berbeda setiap hari dengan berbagai tingkat dosis. Sediaan uji yang digunakan dalam pengembangan obat herbal menjadi obat herbal standar atau fitofarmaka umumnya dianggap aman selama sembilan bulan uji toksisitas oral kronis. Untuk senyawa murni atau sediaan uji dengan potensi toksik, uji toksisitas oral kronis berlangsung selama 12 bulan. Contohnya meliputi sediaan uji yang mengandung bahan baru, bahan kimia tertentu seperti kandungan alkaloid tinggi, atau produk fraksinasi yang profil keamanannya tidak diketahui. Selama persiapan rencana pengujian, makhluk hidup harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya bahaya. Jika hewan tidak mati secara rigor mortis (kaku), segera dilakukan nekrosis, dan dilakukan pemeriksaan organ dan jaringan pada tingkat makropatologis dan hispatologis. Pengamatan makropatologi

4.2 dilakukan pada masing-masing organ dan jaringan, serta pemeriksaan hematologi, biokimia klinik, dan hispatologi, pada akhir masa persiapan uji. mengandung bahan baru, bahan kimia tertentu seperti kandungan alkaloid tinggi, atau produk fraksinasi yang belum diketahui profil keamanannya. Selama persiapan rencana pengujian, makhluk hidup harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya

bahaya. Jika hewan tidak mati secara rigor mortis (kaku), segera dilakukan nekrosis, dan dilakukan pemeriksaan organ dan jaringan pada tingkat makropatologis dan hispatologis. Pengamatan makropatologi dilakukan pada masing-masing organ dan jaringan, serta pemeriksaan hematologi, biokimia klinik, dan hispatologi, pada akhir masa persiapan uji (BPOM RI, 2014).

4.3 Tujuan. karakterisasi toksisitas suatu sediaan uji untuk mendapatkan informasi tentang adanya efek toksik dari zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas subkronis. Informasi ini diperoleh dengan berulang kali memaparkan sediaan pada zat tersebut. untuk menjamin NOAEL, atau dosis yang tidak menimbulkan efek samping yang bersifat racun. Sesuai dengan referensi protokol OECD TG 453, jika uji toksisitas kronis oral diperlukan, dapat dilakukan bersamaan dengan uji karsinogenisitas pada hewan yang sama OECD TG 453 (2018).

4.4 Hewan uji dan jumlah. Tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) adalah hewan yang disarankan. Hewan uji harus memenuhi kriteria sebagai berikut: sehat, berumur enam sampai delapan minggu (sesegera mungkin setelah dipakai dan terbiasa). Hewan betina tidak boleh sedang hamil atau belum pernah melahirkan. Hewan-hewan tersebut menjalani masa aklimatisasi selama 5-7 hari sebelum percobaan dimulai. Hewan uji dibuat kelompok secara acak sehingga distribusi bobot badan merata pada semua kelompok, dengan perbedaan bobot badan tidak boleh lebih dari 20% dari rata-rata (BPOM RI, 2014).

4.5 Pengelompokan hewan uji. Kelompok perlakuan memiliki setidaknya tiga tingkat dosis untuk masing-masing minimal 10 hewan, dengan 5 hewan jantan dan 5 hewan betina di setiap kelompok. Kelompok kontrol memiliki sedikitnya 40 ekor, dengan 20 ekor jantan dan 20 ekor betina. Ada dua grup satelit dalam grup: grup satelit kontrol dan grup satelit dosis tinggi, masing-masing dengan setidaknya 10 hewan, 5 jantan dan 5 betina. Tambahkan kelompok sementara yang terdiri dari 10 hewan jantan dan 10 hewan betina ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dengan sedikitnya 10 hewan jantan dan 10 hewan betina per kelompok, jika perlu. Grup sementara tidak diperlukan untuk persiapan tes obat tradisional. Kelompok sentinel, yang terdiri dari lima hewan jantan dan lima hewan betina per kelompok untuk kelompok kontrol dan semua kelompok dosis, dapat ditambahkan jika perlu untuk memantau status penyakit (BPOM RI, 2014).

4.6 Dosis uji. Setidaknya ada tiga kelompok dosis berbeda yang digunakan. Untuk setiap jenis kelamin, terdapat satu kelompok kontrol dan dua kelompok satelit (kontrol dan dosis tertinggi), dan satu kelompok interim (kontrol dan semua dosis). Kelompok interim diperlukan, misalnya, untuk mengendalikan toksisitas yang terjadi selama periode interim. Sementara itu, kelompok sentinel dapat dimasukkan jika diperlukan. untuk memantau kondisi penyakit. Tingkat efek toksik harus dilihat pada dosis tertinggi, sedangkan gejala toksik NOAEL tidak terlihat pada dosis terendah. Salah satu kelompok dosis uji rendah atau sedang harus mengandung dosis efektif atau dosis biasa (BPOM RI, 2014)

4.7 Batas uji. Bila tidak ada efek toksik pada dosis 1000 mg/kg berat badan, dosis tidak perlu dinaikan lagi. Dosis dihitung dengan mempertimbangkan berat jenis produk jadi, dengan pengecualian bentuk sediaan cair

4.8 Penyiapan sediaan uji. Dalam penyiapan sediaan uji dengan cara dilarutkan dalam pembawa yang sesuai seperti aquadestilata, minyak nabati hingga dosis dosis yang diinginkan.

4.9 Cara pemberian dan volume pemberian. Volume uji satu mililiter per seratus gram berat badan hewan biasanya digunakan untuk memberikan paparan atau paparan pada manusia secara oral. Di sisi lain, ketika pembawa berair digunakan, pengiriman volume kadangkala dapat mencapai uji dua mililiter sediaan untuk setiap 100 gram berat badan yang diinginkan.

4.10 Pengamatan. Perubahan gaya berjalan, perilaku aneh seperti berjalan mundur, kram, dan hal-hal lain yang dilakukan setiap hari selama masa pengujian, serta gejala toksik dan klinis seperti perubahan pada kulit, rambut, mata, selaput lendir, sekresi, ekskresi, aktivitas otonom seperti lakrimasi, piloereksi, kondisi pupil, dan pola pernapasan yang tidak biasa, harus diperhatikan. Sebaliknya, kelompok satelit melanjutkan pengamatannya selama 28 hari tambahan tanpa memberikan persiapan uji untuk mengamati proses pemulihan dari efek toksik. Ia diperlukan pemeriksaan oftalmologi dengan menggunakan oftalmoskop atau peralatan setara yang sesuai sebaiknya dilakukan pada semua hewan sebelum pemberian sediaan uji dan pada akhir pengujian. Pemeriksaan setidaknya dilakukan pada kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol. Jika terdapat perubahan pada mata maka pemeriksaan dilakukan pada semua hewan. Apabila terdapat hasil uji toksisitas oral

subkronis 28 hari atau 90 hari sebelumnya menunjukkan potensi menyebabkan efek neurotoksik maka reaktivitas sensorik terhadap rangsangan dari berbagai jenis misalnya tangsangan pendenagaran, visual dan proprioseptif, pemeriksaan kekuatan cengkraman (grip) dan pemeriksaan aktivitas motorik secara optional dapat dilakukan sebelum dimulainya pengujian dan pada bulan ke 3 hingga akhir pengujian.

4.11 Monitoring berat badan dan konsumsi makanan.

Semua hewan ditimbang setidaknya setiap minggu. Volume sediaan uji ditentukan mengacu pada berat badan hewan yang terkini. Dalam pelaporan untuk pembuatan kurva berat badan biasanya data berat badan diplotkan 1 titik tiap minggu selama 13 minggu (3 bulan) pertama dan setelahnya setidaknya data berat badan diplotkan 1 titik setiap bulannya. Pengukuran konsumsi pakan harus dilakukan setidaknya setiap minggu selama 13 minggu (3 bulan) pertama dan setidaknya setiap bulan setelahnya. Jika bahan uji diberikan melalui air minum, konsumsi air juga harus diukur setidaknya setiap minggu selama 13 minggu (3 bulan) pertama dan setidaknya setiap bulan setelahnya.

F. Hewan Uji

1. Hewan uji

Perlu diperhatikan kepekaan hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas, kemiripan metabolisme sediaan uji dengan manusia, pertumbuhannya yang cepat, dan kemudahan penanganannya. Karena mampu mengekspresikan kondisi yang mirip dengan yang dialami manusia, seperti kemampuan merasakan sakit. Mogil (2010) mengklaim bahwa tikus adalah jenis hewan yang paling sering digunakan dalam uji toksisitas. Hewan yang akan digunakan dalam penelitian harus masih muda dan sehat, memiliki asal usul, jenis dan galur yang jelas, serta berat badan. Disarankan hewan yang digunakan untuk pengujian yang muda dan tidak bunting. Kesejahteraan yang diperlukan digunakan untuk perawatan umum dan penanganan selama prosedur. Prinsip-prinsip kesejahteraan hewan harus diterapkan secara konsisten diseluruh penelitian untuk memastikan bahwa kebutuhan hewan percobaan terpenuhi (Prescott dan Lidster,2017).

2. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Pengujian yang digunakan untuk seleksi harus memenuhi persyaratan suhu, kelembaban, cahaya, dan kebisingan semuanya harus ada dalam pengujian yang digunakan untuk seleksi dan ruangan tempat

hewan uji harus memenuhi tempat kebutuhan hewan uji. Kesalahan suhu dan kelembaban dapat berdampak pada tingkat stress hewan uji. Kelembaban relatif 30 hingga 70% dan 12 jam terang 12 jam gelap, bersihkan ruangan secara teratur. Hewan diberi makan sesuai dengan standar laboratorium (BPOM RI, 2014).

3. Klasifikasi tikus putih

Menurut Krinke (2000) tikus putih (*Rattus norvegicus*) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesie	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2. Tikus putih galur wistar

Tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan anggota famili rodentia sering digunakan sebagai model karena memiliki sistem fisiologisnya yang sebanding dengan manusia, waktu respon yang cepat, dan kepekaan yang tinggi. Hewan percobaan yang sering dijadikan model dalam penelitian adalah hewan pengerat wistar. Tikus putih memiliki banyak keunggulan antara lain kecepatan bereproduksi, ukurannya yang lebih besar, dan kemudahan pemeliharaan dalam jumlah besar. Tikus putih memiliki albino, kepala kecil, ekor lebih panjang dari panjang tubuh, pertumbuhan yang cepat, kemampuan laktasi tinggi dan tempramennya menyenangkan (Johnson, 2012).

G. Landasan Teori

Menurut hasil penelitian (Kanon et al., 2015) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam kulit salak dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus, memiliki banyak manfaat pengobatan tradisional. Kadar gula darah tikus meningkat akibat sel pankreas dirangsang oleh senyawa fenolik untuk memproduksi lebih banyak insulin. Kulit buah salak memiliki sifat anti kanker, antibakteri, anti diare, dan anti kolesterol.

Hasil skrinning fitokimia menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder dalam kulit salak yang terdapat dalam ekstrak etanol 96% kulit buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaert). Voss) adalah flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. (Andi Nafisah et al., 2012). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit salak mengandung senyawa-senyawa aktif flavonoid, tanin, sedikit alkaloid. Menurut Sahputra (2008) hasil uji fitokimia menunjukan kulit buah salak mengandung senyawa flavonoid, dan tanin, serta sedikit alkaloid. Senyawa saponin, steroid serta triterpenoid tidak terdeteksi pada kulit buah salak.

Penelitian mengenai toksisitas akut dari kulit salak belum ada sehingga diperlukan penelitian terkait uji toksisitas akut untuk dari ekstrak kulit salak pondoh guna mengetahui toksisitas dari ekstrak kulit salak pondoh terhadap tikus putih. Maka diperlukan penelitian tentang toksisitas akut pada ekstrak kulit salak dengan melihat gambaran perubahan organ tubuh, seperti jantung, paru-paru, hati, ginjal, limfa dan usus. Pemeriksaan makropatologi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya kelainan pada organ tikus. Selain itu pengamatan dilakukan dengan mengamati penurunan berat badan, gelagat serta kematian pada tikus. Pada dosis tertentu suatu senyawa tetap memiliki probabilitas toksisitas dalam tubuh.

Pengujian toksisitas yang intens berarti mengidentifikasi efek berbahaya yang mungkin terjadi setelah pemberian sediaan secara oral dan di amati dalam waktu singkat yaitu selama 24 jam. Setelah pemberian dosis tunggal, Lethal Dose 50, atau LD₅₀, berfungsi sebagai standar statistik untuk menyatakan tingkat dosis toksik secara kuantitatif (BPOM RI, 2014).

Pada penelitian ini prinsip uji toksisitas akut adalah, ekstrak etanol kulit salak diberikan pada tikus dengan berbagai tingkatan dosis

dan diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok, pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap adanya efek toksik berupa penurunan berat badan, gelagat, perubahan makropatologi dan kematian pada tikus. Untuk mengidentifikasi kategori toksisitas akut uji sediaan ekstrak kulit salak, data yang dikumpulkan dari kematian tikus dinyatakan sebagai nilai LD₅₀ (Jenova, 2009).

H. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh tidak menimbulkan efek toksik terhadap tikus putih.

Kedua, nilai LD₅₀ ekstrak etanol kulit salak pondoh termasuk dalam kategori praktisi tidak toksik

Ketiga, pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh tidak berpengaruh terhadap penurunan berat badan, gelagat, dan perubahan pada organ tikus putih.