

**UJI TOKSISITAS AKUT LD₅₀ EKSTRAK CANGKANG LANDAK LAUT
(*Diadema setosum*) TERHADAP TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

***ACUTE TOXICITY TEST OF LD₅₀ EXTRACT OF SEA URGENT SHELL
(*Diadema setosum*) AGAINST RATS (*Rattus norvegicus*)***

Syachriyani¹
Universitas Pancasakti
Makassar¹
email:
aniani110497@gmail.com

Farid Fani Temarwut²
Universitas Pancasakti
Makassar²
email:
farifarnitemarwut@gmail.com

***Sustrin Abasa³**
Universitas Pancasakti
Makassar³
email:
sustrin.abasa@unpacti.ac.id

Abstrak: Penelitian ini bertujuan menentukan nilai LD₅₀ Ekstrak Cangkang Landak Laut dan mengamati gejala toksik yang terjadi serta untuk mengetahui kategori toksisitas Ekstrak Cangkang Landak Laut (*Diadema setosum*) terhadap tikus (*Rattus norvegicus*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih yang dibagi menjadi 6 kelompok terdiri atas kelompok kontrol yang diberi Na.CMC 1% b/v dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) dengan konsentrasi masing-masing 10 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL, 300 mg/mL dan 700 mg/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak cangkang landak laut tidak menunjukkan gejala efek toksik dan tidak menimbulkan kematian tikus dengan durasi pengamatan 24 jam dan selama 7 hari dan digolongkan pada kriteria "Relatif Tidak Membahayakan."

Kata Kunci: Cangkang Landak Laut, Ekstrak, Tosisitas Akut LD₅₀, Tikus.

Abstract: This study aims to determine the LD₅₀ value of sea urchin shell extract and observe the toxic symptoms that occur and to determine the toxicity category of sea urchin shell extract (*Diadema setosum*) against rats (*Rattus norvegicus*). The method used in this research is experimental. This study used 24 white rats divided into 6 groups consisting of a control group given 1% w/v Na.CMC and a treatment group given sea urchin shell extract (*Diadema setosum*) with concentrations of 10 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL, 300 mg/mL and 700 mg/mL, respectively. The results showed that the sea urchin shell extract showed no symptoms of toxic effects and did not cause the death of rats with a duration of observation of 24 hours and for 7 days and was classified under the criteria "Relatively Harmless."

Keywords: Sea urchin shell, extract, LD₅₀ acute toxicity, rats.

PENDAHULUAN

Obat tradisional sudah dimanfaatkan sejak lama namun tidak sepenuhnya aman, karena obat tradisional merupakan senyawa asing bagi tubuh, sehingga sangatlah penting mengetahui potensi ketoksikannya dan keamanan penggunaan obat herbal tersebut. Efek toksik pada makhluk hidup dapat terlihat dan dapat juga tidak bila dosis yang diserap relatif kecil kerusakannya dapat terbatas pada sel saja (Eriadi, A., Dkk, 2016). Philippus Aureolus Theophrastus Bombast von Hohenheim (1493-1541) menyatakan semua yang berkhasiat sebagai obat adalah racun, hanya dosis yang menjadikannya menjadi tidak beracun (Wirasuta, 2016).

Uji toksisitas dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik. Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan Lethal dose atau disingkat LD₅₀ suatu zat. Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali, atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam. Uji toksisitas akut merupakan uji pra klinik yang bertujuan mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam waktu tertentu setelah pemberian dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut adalah LD₅₀. Tanaman obat harus melalui berbagai proses uji untuk

keamanan konsumsinya, salah satunya uji toksisitas akut (Syamsul, E.S., Dkk., 2015).

Metabolit sekunder dari biota laut memiliki potensi sebagai antikanker, antivirus dan antiinflamasi. Toksin yang dihasilkan oleh organisme laut juga memiliki senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan atau farmasi. Salah satu hewan yang memiliki potensi metabolit sekunder adalah hewan Echinodermata. Echinodermata banyak memproduksi beberapa senyawa metabolit sekunder meskipun tidak secara langsung bersangkutan dalam fungsi fisiologis namun mempunyai peranan yang penting dalam kelangsungan hidup. Organisme ini memproduksi senyawa beracun untuk mempertahankan dirinya dari serangan predator, dan racun yang berasal dari biota laut lebih mematikan daripada racun biota yang ada di daratan (Venugopal, 2009). Diadema setosum merupakan salah satu jenis landak laut yang penyebarannya di seluruh zona terumbu karang antara lain pada zona pasir, zona pertumbuhan alga, zona lamun sampai daerah tubir (Zakaria 2013). Racun dari Diadema setosum yang sebagian besar menyebabkan pembengkakan dan rasa sakit, dan secara bertahap berdifusi selama beberapa jam. Duri landak laut ini sangat rapuh dan seperti jarum. Duri landak laut dengan mudah masuk didalam daging. Cangkang dan duri landak laut memiliki kandungan senyawa aktif yang

bersifat toksik. Kandungan dalam cangkang dan duri landak laut telah diketahui sampai saat ini adalah polihidroksi dan apolasterosida A dan B (Angka dan Suhartono, 2000). Diperkirakan racun yang ada dalam cangkang dan duri tersebut dapat juga digunakan sebagai bahan obat. Menurut Evi,dkk (2015) ekstrak cangkang landak laut mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, triterpenoid, saponin dan polifenol. Pada penelitian Evi, dkk (2015) menjelaskan bahwa fraksi etanol, etil asetat dan kloroform pada konsentrasi 100 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. Albicans* dan berpotensi sebagai antibiotik sensitif.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK CANGKANG LANDAK LAUT (*Diadema setosum*) TERHADAP TIKUS (*Rattus norvegicus*).”

METODE

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk ekstraksi dan pengujian adalah batang pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, gunting, hot plate, kandang tikus, kain flanel, kaki tiga, lakban, labu ukur, pipet tetes, rotary vacuum evaporator, spuit dan kanula untuk

pemberian ekstrak secara oral, timbangan analitik, wadah maserasi.

2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi dan pengujian adalah aluminium foil, aquadest, cangkang landak laut, etil asetat, Na CMC 1%, pakan tikus (pelet), dan 24 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang berumur 2-3 bulan dan kisaran berat badan \pm 150-200 gram.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan, berat badan kisaran \pm 150-200 gram. Digunakan sebanyak 24 ekor.

3. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*).

C. Teknik Pengumpulan Data

1. Cara pengambilan bahan uji

Bahan uji berupa cangkang landak laut (*Diadema setosum*) diambil pada pagi hari sekitar pukul 09.00-10.00 WITA dengan menggunakan penjepit.

2. Pengolahan sampel

Bahan uji yang digunakan adalah cangkang landak laut (*Diadema setosum*) yang

diperoleh dari Pulau Bokori di Kendari, Sulawesi Tenggara. Landak laut di ambil menggunakan penjepit, bagian duri dan isi landak laut di buang, diambil cangkang kemudian dibebaskan garamkan dengan cara direndam dengan air tawar \pm 15 menit dan di potong kecil-kecil, kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian disortasi kering.

3. Pembuatan Ekstrak

Ditimbang sebanyak 2.000 gram simplisia lalu masukkan ke dalam maserator, selanjutnya ditambahkan 20.000 mL etil asetat. Ditutup dan direndam selama 6 jam pertama terlindungi dari cahaya sambil diaduk sesekali. Kemudian didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara filtrasi (maserat 1). Diulangi proses tersebut sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama (maserat 2). Dikumpulkan semua maserat, lalu diuapkan dengan vacum evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

Analisis Rendemen yang diperoleh ditimbang beratnya untuk mengetahui rendemen ekstrak tersebut. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu presentase bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan.

4. Pembuatan Na CMC 1% mL

Timbang Na CMC sebanyak 1 gram kemudian dipanaskan air sebanyak 100 mL hingga mendidih lalu dimasukkan serbuk Na.CMC, diaduk hingga terbentuk larutan koloid jernih dengan menggunakan pengaduk.

5. Uji Toksisitas Akut

a) Aklimatisasi Hewan Coba

Sebelum penelitian tikus diaklimatisasi (hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan sekitar penelitian untuk menghindari stres yang dapat mempengaruhi metabolisme tubuh hewan coba) selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan, dan diberi makan standar.

b) Perlakuan Pada Tikus

Sebelum dilakukan perlakuan, hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 14 jam dengan tetap diberi minum secukupnya. Setelah dipuaskan, hewan ditimbang terlebih dahulu dan dihitung volume untuk masing-masing hewan uji.

Hewan coba dibagi dalam 6 kelompok yaitu tiap kelompok terdiri dari kelompok kontrol (-), kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, kelompok perlakuan 3, kelompok perlakuan 4 dan kelompok perlakuan 5 sehingga diperoleh sebagai berikut :

Kelompok kontrol (-) : diberi Na CMC 1 %
b/v

Kelompok perlakuan 1 : diberi ekstrak
cangkang landak laut 10 mg/mL

Kelompok perlakuan 2 : diberi ekstrak
cangkang landak laut 100 mg/mL

Kelompok perlakuan 3 : diberi ekstrak
cangkang landak laut 200 mg/mL

Kelompok perlakuan 4 : diberi ekstrak
cangkang landak laut 300 mg/mL

Kelompok perlakuan 5 : diberi ekstrak
cangkang landak laut 700 mg/mL

Sediaan uji diberikan dalam dosis tunggal
dengan menggunakan sonde lambung pada
hari ke 8 aklimatisasi.

c) Penentuan nilai LD₅₀ dan pengamatan
gejala toksik yang menyertai

Sampel terlebih dahulu diamati sebelum
dilakukan pengamatan dan diberi
perlakuan. Hal ini bertujuan untuk
mengetahui perubahan gejala yang terjadi
setelah diberi perlakuan dengan
membandingkan gejala atau perilaku
sebelum perlakuan. Nilai LD₅₀ ditentukan
dengan menghitung jumlah kematian
sampel sejak pemberian konsentrasi bahan
uji selama 24 jam pertama dan dilanjutkan
selama 7 hari. Pengamatan gejala toksik
dilakukan setelah pemberian konsentrasi
bahan uji selama 24 jam pertama dan sehari
sekali selama 7 hari (Jumain dkk, 2018).

Pengamatan gejala-gejala toksik yang
menyertai meliputi:

Uji urinasi, dihitung pengeluaran urin tikus
yang telah diberi ekstrak cangkang landak
laut dan dibandingkan dengan kontrol Na.
CMC.

Uji diare, pengujian yang dilakukan dengan
mengamati konsistensi tinja tikus yang
telah diberi ekstrak cangkang landak laut
dan dibandingkan dengan kontrol
Na.CMC. Skor untuk konsistensi padat : 0,
semi padat :1, dan cair : 2.

Uji peningkatan/perlambatan laju
pernapasan, diamati apakah terjadi
peningkatan atau perlambatan laju
pernafasan pada tikus yang telah diberikan
ekstrak cangkang landak laut dan
dibandingkan dengan kontrol Na.CMC.

Uji convulsion, tikus yang telah di beri
ekstrak cangkang landak laut kemudian
diamati tikus tersebut mengalami kejang
atau tidak yang dibandingkan dengan
kontrol Na.CMC.

Uji tremor, tikus setelah diberi ekstrak
cangkang landak laut kemudian diamati
apakah tikus tersebut gemetar atau tidak
yang dibandingkan dengan kontrol Na
CMC.

Uji paralisis, tikus diberi ekstrak cangkang
landak laut kemudian diamati apakah tikus
tersebut mengalami kelumpuhan atau tidak

yang dibandingkan dengan kontrol Na CMC.

D. Teknik Analisis

1. Teknik Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer dari hasil pengamatan hewan coba kelompok perlakuan. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif yang akan diperoleh yaitu jumlah hewan coba yang mati, sedangkan data kualitatif yang akan diperoleh berupa gejala efek toksik suatu senyawa (ekstrak cangkang landak laut) terhadap hewan coba.

2. Analisis Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer dari hasil pengamatan hewan coba, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif yang akan diperoleh yaitu jumlah hewan coba yang mati. Data LD₅₀ diambil dari jumlah tikus yang mati dan yang masih hidup pada setiap kelompok. Selanjutnya dihitung nilai LD₅₀ menggunakan metode perhitungan menurut Thomson dan Weill.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil penelitian setelah pemberian ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) pada tikus yang diberikan secara oral

dengan variasi dosis 1%, 10%, 20%, 30% dan 70% adalah sebagai berikut.

Dari hasil yang didapat, tidak terdapat satu pun tikus yang mati, dari seluruh kelompok. Sedangkan hasil pengamatan uji kualitatif berupa gejala toksik yang muncul dengan parameter uji urinasi, diare, peningkatan laju pernafasan, convulsion, tremor, dan paralisis mengemukakan bahwa hasil pengamatan uji kualitatif, tidak ada gejala toksik yang signifikan pada semua tikus di seluruh kelompok.

Tabel 1. Jumlah kematian hewan coba setelah pemberian oral sediaan uji ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*)

Dosis Ekstrak Cangkang Landak Laut (<i>Diadema setosum</i>) (mg/mL)	Jumlah Hewan Uji Perkelompok	Jumlah Hewan Mati	Jumlah Hewan Hidup	Persentase Hewan Yang Mati (%)
10	4	0	4	0
100	4	0	4	0
200	4	0	4	0
300	4	0	4	0
700	4	0	4	0
Kontrol (Na.CMC 1% b/v)	4	0	4	0

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM, 2014). Uji toksisitas akut merupakan

uji yang dilakukan untuk memperoleh LD₅₀. Nilai LD₅₀ merupakan suatu nilai yang menyatakan dosis yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan percobaan. Nilai ini dapat menunjukkan keamanan terhadap penggunaan suatu zat.

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2020 bertempat di Laboratorium Farmakologi Universitas Pancasakti, Makassar. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan nilai LD₅₀ dan untuk mengetahui kategori toksisitas serta mengamati gejala-gejala toksik yang terjadi setelah pemberian ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) terhadap tikus (*Rattus norvegicus*).

Pada penelitian ini digunakan ekstrak cangkang landak laut sebagai bahan uji yang diperoleh dengan ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada tanaman. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat terlarut ke dalam pelarut yang sesuai berdasarkan sifat like dissolves like, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar pelarut dan zat terlarut yaitu zat terlarut akan berdifusi masuk ke dalam pelarut. Ekstraksi berakhir ketika tercapainya kesetimbangan antara konsentrasi metabolit dalam pelarut dengan bahan yang digunakan.

Sebelum dilakukan maserasi cangkang landak laut dipisahkan dari duri dan gonadnya,

dicuci, dipotong-potong kecil, dan dikeringkan. Proses pencucian bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya. Sebelum dikeringkan cangkang landak laut yang sudah bersih dipotong kecil-kecil untuk mempermudah proses penguapan kandungan air selama proses pengeringan. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam cangkang landak laut. Kemudian cangkang landak laut dimaserasi dengan pelarut etil asetat. Pemilihan etil asetat karena pada penelitian Akerina dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan menghasilkan ekstrak landak laut dengan presentasi tertinggi yaitu 16,25% dan dikatakan bahwa etil asetat mampu menarik senyawa-senyawa yang berasal dari golongan alkaloid dan aglikon (fenol, steroid, flavonoid dan saponin) serta pada penelitian yang dilakukan Evi,dkk didapatkan hasil bahwa fraksi etil asetat berpotensi sebagai antibiotik karena dapat membunuh jamur *C. Albicans*.

Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruang. Pada proses perendaman sampel akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organik (Handayani, 2015). Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia kering cangkang landak

laut dengan pelarut etil asetat selama 6 jam pertama terlindungi dari cahaya sambil diaduk sesekali. Kemudian didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara filtrasi (maserat 1). Kemudian diulangi proses tersebut sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama (maserat 2). Dikumpulkan semua maserat kemudian dikentalkan dengan rotary evaporator untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental cangkang landak laut. Dari hasil maserasi didapat ekstrak kental cangkang landak laut sebanyak 95 g dengan persentase rendemen sebesar 4,75 %.

Sebelum melakukan pengujian toksisitas akut (LD_{50}) tikus terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu yang bertujuan untuk mengkondisikan hewan dengan suasana laboratorium dan untuk menghilangkan stress akibat transportasi. Hewan uji harus dipuaskan sebelum diberikan perlakuan selama 14 jam dengan tetap diberi minum secukupnya. Setelah dipuaskan, hewan ditimbang untuk menentukan volume pemberian dan diberikan sediaan uji. Sediaan uji diberikan dalam dosis tunggal dengan menggunakan sonde. Setelah diberikan perlakuan, pakan boleh diberikan kembali setelah 3-4 jam.

Pemberian ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) pada tikus dilakukan secara oral dengan volume pemberian

maksimal 3 mL dan hanya diberikan satu kali pada hari pertama setelah aklimatisasi. Diberi bahan uji sesuai dengan dosis tiap kelompok yaitu ekstrak cangkang landak laut 10 mg/mL (kelompok 1), ekstrak cangkang landak laut sebanyak 100 mg/mL (kelompok 2), ekstrak cangkang landak laut 200 mg/mL (kelompok 3), ekstrak cangkang landak laut 300 mg/mL (kelompok 4), ekstrak cangkang landak laut 700 mg/mL (kelompok 5) dan Na.CMC 1% (kelompok kontrol). Kemudian diamati tikus yang mati dan gejala toksik yang terjadi setelah pemberian sediaan uji selama 24 jam sampai 7 hari.

Dari hasil yang didapat, tidak terdapat satu pun tikus yang mati, dari seluruh kelompok. Dan dilakukan uji kualitatif berupa gejala toksik yang muncul dengan beberapa parameter yaitu urinasi, diare, laju pernapasan, konvulsi, tremor dan paralisis. Uji urinasi yaitu diamati volume urine pada tikus setelah perlakuan yang bertujuan untuk menentukan adanya gangguan faal ginjal dan kelainan dalam keseimbangan cairan tubuh yang disebabkan oleh pemberian ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*). Diare diamati dengan cara melihat konsistensi feses yang bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak cangkang landak laut dapat menurunkan konsistensi feses dengan menurunkan pengeluaran cairan tubuh dimana konsistensi feses yang normal yaitu padat, laju pernafasan

diamati untuk melihat adanya efek terhadap sistem saraf otonom, dimana laju pernafasan normal pada tikus yaitu 70–115/menit sedangkan convulsion dan termor diamati apakah terjadi kejang dan gemetar pada tikus setelah pemberian ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) yang disebabkan adanya efek terhadap sistem saraf pusat. Dari hasil pengamatan uji kualitatif, tidak ada gejala toksik yang signifikan pada seluruh tikus di seluruh kelompok. Sehingga nilai LD₅₀ dari dosis tunggal tidak dapat dihitung, karena untuk menghitung LD₅₀ harus ada hewan uji yang mati. Berdasarkan hasil tersebut dinyatakan ekstrak cangkang landak laut “Relatif Tidak Membahayakan” (BPOM, 2014).

Pengujian LD₅₀ bukan satu-satunya pengujian yang digunakan untuk menilai toksisitas suatu bahan obat atau zat. Penelitian masih perlu dieksplorasi lebih lanjut dengan penelitian potensi toksisitas untuk tingkat sub kronis dan kronis untuk mengetahui potensi ketoksikan yang sesungguhnya dari ekstrak cangkang landak laut untuk memperkuat analisa keracunan dan toksisitas suatu zat atau bahan obat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan setelah dilakukan penelitian dan pengamatan maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak cangkang landak laut (*Diadema*

setosum) 10 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL, 300 mg/mL dan 700 mg/mL tidak menunjukkan kematian terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) dalam waktu 24 jam. Ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) 10 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL, 300 mg/mL dan 700 mg/mL tidak menunjukkan gejala efek toksik setelah 7 hari dan kriteria toksisitas ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) adalah “Relatif Tidak Membahayakan”. Kedepannya kami akan meneliti lebih lanjut mengenai uji toksisitas dengan menggunakan metode yang berbeda dan perlu dilakukan pengujian toksisitas subkronik dan kronik untuk mengetahui dampak yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak cangkang landak laut (*Diadema setosum*) agar didapatkan informasi lebih mendalam sehingga dapat dijadikan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya dan sebagai referensi untuk mempertimbangkan penggunaan landak laut sebagai bahan berkhasiat obat.

REFERENSI

- Angka SL., Suhartono TS. 2000. *Bioteknologi Hasil Laut*. Institut Pertanian Bogor.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo
- Eriadi, A., Dkk., 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh

- (*Chromolaenodorata (L) R.M.King & H. Rob*) Pada Mencit Putih Jantan. Jurnal Farmasi Higea, Vol. 8, No. 2. Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.
- Evi, M., Alimuddin, A.H., dan Destiarti, L. 2015. Pemanfaatan Ekstrak Landak Laut (*Diadema setosum*) Dari Pulau Lemukutan Sebagai Antijamur *Candida albicans*. Universitas Tanjungpura.
- Jumain., Syahrini., dan Farid F.T. 2018. Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum Linn*) Pada Mencit (*Mus Musculus*). Jurnal Farmasi Vol XIV, No 1. Jurusan Farmasi Poltekkes Makassar dan Univ. Pancasakti Makassar.
- Syamsul, E.S., Dkk., 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia Lam.*) Terhadap Mencit Putih. Jurnal Imiah Manuntung. Akademi Farmasi Samarinda.
- Wirasuta I Made Agus G dan Niruri Rasmaya, (2016). Toksikologi Umum.
- Venugopal, V. 2009. *Marine Products for Healthcare :Functional and Bioactive Nutraceutical Compounds from the Ocean*, 1st edition, Volume 1, CRC Press, Florida.
- Zakaria, I.J. 2013. Komunitas bulu babi (*Echinoidea*) di Pulau Cingkuak, Pulau Sikuai dan Pulau Setan Sumatera Barat. Prosiding SEMIRATA. Universitas Lampung