

**ACUTE DERMAL IRRITATION TEST OF SIMPLISIA BUNGA GUMITIR
OINTMENT ON ALBINO RABBIT****Uji Iritasi Akut Dermal Salep Simplisia Bunga Gumitir pada Kelinci Albino****Wayan Sangi Vani^{1*}, I Made Merdana², I Wayan Gorda³**¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. P.B Sudirman Denpasar, Bali, 80234, Indonesia.²Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia.³Laboratorium Ilmu Bedah Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia.*Corresponding author email: sangivani@student.unud.ac.id

How to cite: Vani WS, Merdana IM, Gorda IW. 2025. Acute dermal irritation test of simplisia bunga gumitir ointment on albino rabbit. *Bul. Vet. Udayana*. 17(3): 876-881. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i03.p33>

Abstract

Marigold (*Tagetes erecta* L.) are widely cultivated for ornamental purposes and also as a natural food coloring. Gumitir flowers contain antioxidants, secondary metabolites such as terpenoids, essential oils, flavonoids, and carotenoids. This study aims to determine the results of the acute dermal irritation test of the simplicia flower gumitir ointment on albino rabbits, referring to The OECD Guideline for Testing of Chemicals - No. Test: 404, Acute Dermal Irritation/Corrosion (OECD) 2015. The test animals, consisting of three albino rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), were treated with the simplicia flower gumitir ointment, with a placebo (negative control) as a comparison, using the patch test technique and evaluation based on the Amended Draize test. The research results show that the application of gumitir flower simplicia ointment does not cause erythema and edema, both in the treatment and control groups, with a Mean Irritation Index of 0.16. Observation of reversibility effects showed the growth of fine and normal hair around the test area. It can be concluded that the gumitir flower simplicia ointment is non-irritating and therefore safe to use. It is recommended to conduct further tests as an effort to improve the salve made from gumitir flower simplicia, including salve formulation, stability testing, safety testing, and a review of previous test data.

Keywords: ointment, simplicia, gumitir flower, albino rabbit, OECD

Abstrak

Tumbuhan gumitir (*Tagetes erecta* L.) banyak dibudidayakan dengan tujuan sebagai tanaman hias dan juga sebagai pewarna makanan alami. Bunga gumitir mengandung antioksidan, metabolit sekunder seperti terpenoid, minyak atsiri, flavonoid dan karotenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji iritasi akut dermal salep simplisia bunga gumitir pada kelinci albino yang merujuk pada *The OECD Guideline for Testing of Chemical - No. Test: 404, Acute Dermal Irritation/Corrosion* (OECD) 2015. Hewan uji coba berupa tiga ekor kelinci

albino (*Oryctolagus cuniculus*) diberikan perlakuan salep simplisia bunga gemitir dengan pembanding placebo (Kontrol negatif) menggunakan teknik *patch test* dan evaluasi berdasarkan *Amended Draize test*. Hasil penelitian menunjukkan aplikasi salep simplisia bunga gemitir tidak menimbulkan eritema dan edema, baik pada perlakuan dan kontrol dengan Mean Indeks Iritasi = 0,16. Pengamatan efek reversibilitas menunjukkan pertumbuhan rambut halus dan normal disekitar area uji. Dapat disimpulkan salep simplisia bunga gemitir bersifat tidak mengiritasi (*non-irritation*) sehingga aman untuk digunakan. Dianjurkan untuk melaksanakan uji lanjutan sebagai upaya penyempurnaan salep berbahan simplisia bunga gemitir, meliputi formulasi salep, uji kestabilan, pengujian keamanan dan peninjauan ulang terhadap data hasil uji sebelumnya.

Kata kunci: salep, simplisia, bunga gemitir, kelinci, OECD

PENDAHULUAN

Tumbuhan gemitir banyak dibudidayakan dengan tujuan sebagai tanaman hias dan juga sebagai pewarna makanan alami (Moliner et al., 2018). Tumbuhan gemitir berasal dari famili *Asteraceae* yang tersebar luas di seluruh dunia dan memiliki variasi warna diantaranya kuning, jingga, dan kuning kecoklatan (Valyova & Stoyanov, 2012). Bunga gemitir mengandung antioksidan, metabolit sekunder seperti terpenoid, minyak atsiri, flavonoid dan karotenoid (Santi, 2021).

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Youssef et al., (2019) menggunakan metode DPPH juga menyebutkan ekstrak etil asetat bunga gemitir menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar $32,5 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$. Pemberian antioksidan dapat dilakukan secara topical maupun sistemik (Soejanto, 2017). Secara medis, penggunaan salep bersifat lokal umumnya digunakan pada kasus topical. Kandungan senyawa bioaktif dalam salep dapat menembus kulit dan mencapai jaringan yang rusak, sehingga dapat mempercepat proses regenerasi jaringan dan mengurangi nyeri (Lazuardi, 2019).

Uji iritasi akut dernal adalah pengujian yang dilakukan pada tahap awal uji praklinis. Uji iritasi akut dernal bertujuan untuk mengetahui toksisitas suatu zat kimia melalui kontak kulit. Uji toksisitas penting untuk dilakukan karena akan digunakan untuk menentukan dosis, lama pemberian, pengaplikasian serta untuk mengetahui efektivitas, keamanan dan potensi toksisitas suatu obat (Merdana et al., 2020)

METODE PENELITIAN

Kelaikan etik hewan coba

Semua prosedur penggunaan hewan coba telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, dengan Nomor Surat Keterangan Persetujuan Etik Hewan: 14/UN14.2.9/PT.01.04/2024.

Objek Penelitian

Objek penelitian menggunakan kelinci albino (*Oryctolagus cuniculus*) sehat dengan umur berkisar 8-9 bulan, dengan rerata berat 2 kg berjenis kelamin jantan sebanyak 3 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Farmasi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.

Alat dan Bahan Penelitian

Simplisia Bunga Gemitir, vaselinum album, kelinci albino (*Oryctolagus cuniculus*), pakan dan air minum kelinci, aquadest steril kemasan 500 ml sebagai placebo (USFA Indonesia), kain kasa, pembalut elastis, kapas, NaCl 0,9% dan pakan pellet (*Nova Rabbit Food – CP Prima*)

serta air minum. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, sarung tangan, penggaris, alat cukur, gunting, kandang kelinci individual dilengkapi dengan tempat pakan dan botol minum.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental.

Variabel Penelitian

Variabel yang terlibat dalam penelitian ini berupa variabel bebas, variabel terikat, dan variabel kendali. Variabel bebas pada penelitian ini adalah salep simplisia bunga gunitir. Variable terikat pada penelitian ini berupa eritema dan edema dan variable kendali pada penelitian ini adalah kelinci albino.

Metode Koleksi Data

Uji toksisitas akut dermal pada penelitian ini mengadopsi metode standar dari OECD, (2015). Derajat iritasi dinilai pada interval waktu tertentu yaitu pada jam ke 1, 4, 24, 48 dan 72 jam (3 hari) setelah tempelan dibuka. Untuk melihat reversibilitas, hewan harus diamati tidak kurang dari 14 hari setelah tempelan dibuka. Ketika muncul respons seperti alopecia, hiperkeratosis, hiperplasia, dan scaling, bertahan hingga akhir periode pengamatan 14 hari maka bahan kimia uji dianggap sebagai iritan. Observasi respon yang muncul dari paparan salep simplisia bunga gunitir meliputi parameter eritema dan edema. Penilaian/skoring iritasi kulit berdasarkan sistem penilaian Draize (OECD, 2015).

Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Penelitian dilakukan pada bulan April 2024.

Analisis data

Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel yang memperlihatkan keadaan secara individual, memuat skor iritasi untuk eritema dan edema tiap hewan pada jam ke 1, 24, 48, dan 72 setelah tempelan dibuka. Hasil uji dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari United Nations pada *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS) tahun 2019.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengamatan klinis dilakukan setelah pemaparan salep simplisia bunga gunitir, pada 5 menit pertama kelinci terlihat aktif berada di dalam kandang dan terlihat berusaha menjangkau tempelan pada punggung dengan cara menggigit. Pada pengamatan makropatologi ditemukan adanya eritema berupa kemerahan pada pori-pori kulit hewan uji coba. Hasil dari pengamatan efek reversibilitas menunjukkan pertumbuhan rambut halus yang sudah menutupi area pencukuran secara merata.

Pembahasan

Sebelum dipasarkan, obat wajib memenuhi standar keamanan, mutu, dan khasiat yang telah ditetapkan. Untuk memastikan hal ini, dilakukan evaluasi risiko-manfaat obat melalui serangkaian uji toksisitas pada hewan uji. Uji iritasi akut dermal dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya efek iritasi pada kulit serta untuk menilai dan mengevaluasi sifat zat yang bersentuhan dengan kulit (BPOM RI, 2014). Kulit mungkin hanya bereaksi sedikit atau tidak bereaksi sama sekali pada kontak awal dengan bahan tersebut. Namun respon ini dapat terjadi

setelah 12 sampai 48 jam terhadap iritan tertentu (Liu & Fan, 2018). Sebagai pelindung, kulit mempunyai fungsi penting untuk melindungi terhadap pengaruh lingkungan luar, baik fisik, kimia, dan biologis, serta berfungsi sebagai tempat homeostasis, termoregulasi, dan sintesis vitamin D (Paulsen & Waschke, 2011). Reaksi iritasi kulit positif ditandai dengan reaksi eritematosa (kemerahan) dan/atau edema pada area kulit yang dirawat (Irsan et al., 2013). Eritema adalah kemerahan pada kulit dan selaput lendir yang disebabkan oleh hiperemia kapiler superfisial. Edema, sebaliknya, adalah lesi yang disebabkan oleh penumpukan cairan di dalam jaringan tubuh (Gartner & Hiatt, 2013).

Berdasarkan hasil pengamatan makropatologi yang dilakukan secara visual dengan seksama terhadap munculnya iritasi kulit. Sebagai pelindung, kulit mempunyai fungsi penting untuk melindungi terhadap pengaruh lingkungan luar, baik fisik, kimia, dan biologis, serta berfungsi sebagai tempat homeostasis, termoregulasi, dan sintesis vitamin D (Paulsen & Waschke, 2011). Reaksi iritasi kulit positif ditandai dengan reaksi eritematosa (kemerahan) dan/atau edema pada area kulit yang dirawat (Irsan et al., 2013). Eritema adalah kemerahan pada kulit dan selaput lendir yang disebabkan oleh hiperemia kapiler superfisial. Edema, sebaliknya, adalah lesi yang disebabkan oleh penumpukan cairan di dalam jaringan tubuh (Gartner & Hiatt, 2013).

Sebelum memulai perlakuan, kulit hewan uji diamati secara visual. Semua hewan berfungsi sebagai kontrolnya sendiri pada kulit yang tidak dirawat. Pada awal uji pemaparan dengan tiga tempelan 0,5gram salep simplisia bunga gunitir selama 3 menit, 1 jam dan 4 jam, terdapat adanya iritasi pada waktu pemaparan 4 jam, sehingga berdasarkan penilaian GHS (2019) sediaan salep ini diklasifikasikan iritan sangat ringan (Kategori 1).

Setelah dilakukan pengamatan kulit pada uji konfirmasi 24 jam paparan, menunjukkan adanya lesi eritema fokal yang ditandai dengan munculnya bintik-bintik kemerahan pada pori-pori kulit pada dua dari tiga hewan uji yang dapat dikategorikan sebagai eritem ringan. Hasil perhitungan *Primary irritation indexes* sebesar 0,16 untuk bahan uji dan nol untuk placebo. Menurut klasifikasi amended draize test, salep simplisia bunga gunitir ditetapkan bersifat tidak mengiritasi serta aman digunakan pada kulit.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan evaluasi *Amended Draize Test*, aplikasi salep simplisia bunga gunitir pada kelinci albino tidak menimbulkan eritema dan edema dengan mean indeks iritasi sebesar 0,16. Dapat disimpulkan bahwa salep simplisia bunga gunitir bersifat tidak mengiritasi (*non-irritation*), sehingga aman untuk digunakan.

Saran

Perlu adanya uji lanjutan untuk penyempurnaan salep simplisia bunga gunitir, meliputi formulasi, uji kestabilan salep, dan uji keamanan lanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana serta seluruh staf dosen Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner atas dukungan, bantuan, dan fasilitas yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Penelitian ini didanai dan merupakan bagian dari Penelitian Unggulan Udayana Tahun 2024 dengan Nomor B/255.128/UN14.4.A/PT.01.03/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. (2014). *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. BPOM RI.
- Gartner, L., & Hiatt, J. (2013). *Color Atlas and Text of Histology*. (6th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Irsan, Manggau, M., Pakki, E., & Usmar. (2013). Uji Iritasi Krim Antioksidan Ekstrak Biji Lengken (Euphoria longana Stend) Pada Kulit Kelinci (Oryctolagus cuniculus). *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 17(2), 55–60.
- Lazuardi, M. (2019). *Bagian Khusus Ilmu Farmasi Veteriner* (1st ed.). Airlangga University Press.
- Liu, E., & Fan, J. (2018). Welfare of Laboratory Animal. In *Fundamentals of Laboratory Animal Science* (1st ed.). CRC Press.
- Merdana, I. M., Arjana, A. A. G., Widyastuti, S. K., Tetrania, T., Budiasa, K., Sudimartini, L. M., & Sudira, I. W. (2020). Assessment of the Dermal Acute Irritation Potential of Natural Veterinary Medicine Minyak Rajas in Albino Rabbits. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 17–24. <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i1030489>
- Moliner, C., Barros, L., Dias, M. I., López, V., Langa, E., Ferreira, I. C. F. R., & Gómez-Rincón, C. (2018). Edible Flowers of Tagetes erecta L. as Functional Ingredients: Phenolic Composition, Antioxidant and Protective Effects on Caenorhabditis elegans. *Nutrients*, 10(12), 2002. <https://doi.org/10.3390/nu10122002>
- OECD. (2015). Test No. 404: Acute dermal irritation/corrosion. In *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) Publishing.
- Paulsen, F., & Waschke, J. (2011). *Sobotta Atlas of human antomy: General antomy and Musculoskeletal system* (15th ed.). Elsevier.
- Santi, N. M. (2021). Review: aktivitas antioksidan ekstrak bunga gemitir (Tagetes erecta Linn.). *Jurnal Farmagazine*, 8(1), 25. <https://doi.org/10.47653/farm.v8i1.534>
- Soejanto, A. (n.d.). Pemberian Krim Ekstrak Metanolik Buah Delima Merah (Punica granatum) Menghambat Penurunan Jumlah Kolagen Dermis Kulit Mencit (Mus guscus) Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B. *Indonesian Journal of Anti Aging Medicine*, 1(1), 1–9. <http://ijaam-unud.org>
- Valyova, M., & Stoyanov, S. (2012). Evaluation of in vitro antioxidant activity and free radical scavenging potential of variety of Tagetes erecta L. Flowers growing in Bulgaria. In *Article in International Journal of Applied Research in Natural Products*. www.ijarnp.org
- Youssef, H., Ali, S., Sanad, M., & Dawood, D. (2019). Chemical Investigation of Flavonoid, Phenolic acids Composition and Antioxidant activity of Tagetes erecta Flowers. *Egyptian Journal of Chemistry*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.19839.2197>

Tabel

Tabel 1. Skoring iritasi berdasarkan sistem penilaian Draize

Kelinci 1	3 menit	1 jam	4 jam
Eritema	0	0	1
Edema	0	0	0
Total Skor	0	0	0

Keterangan: 0 = tidak ada eritema/edema; 1 = eritema/edema sangat ringan; 2 = eritema/edema ringan; 3 = eritema/edema tingkat menengah; 4 = eritema/edema yang parah.

Tabel 2. Skoring dan Klasifikasi Mean Iritasi Primer berdasarkan *Amended Draize Classification*

Observasi ke-		Minyak Rajas			Placebo		
		Eritema	Edema	Total skor	Eritema	Edema	Total skor
1 jam	Kelinci 1	1	0	1	0	0	0
	Kelinci 2	1	0	1	0	0	0
	Kelinci 3	0	0	0	0	0	0
24 jam	Kelinci 1	0	0	0	0	0	0
	Kelinci 2	0	0	0	0	0	0
	Kelinci 3	0	0	0	0	0	0
48 jam	Kelinci 1	0	0	0	0	0	0
	Kelinci 2	0	0	0	0	0	0
	Kelinci 3	0	0	0	0	0	0
72 jam	Kelinci 1	0	0	0	0	0	0
	Kelinci 2	0	0	0	0	0	0
	Kelinci 3	0	0	0	0	0	0
Total skor iritasi				2	0		
Mean Indeks Iritasi				0,16			
Hasil				Tidak mengiritasi			

Keterangan: Skor 0 = tidak ada eritema/edema; 1 = eritema/edema sangat ringan; 2 = eritema/edema ringan; 3 = eritema/edema tingkat menengah; 4 = eritema/edema yang parah.