



UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK PROPOLIS LEBAH KELULUT *Geniotrigona thoracica* DAN *Heterotrigona itama* TERHADAP MENCIT (*Mus musculus L.*)

Submitted : 4 September 2024

Edited : 16 Desember 2024

Accepted : 23 Desember 2024

Nindya Ila Syafira Ramelan¹, Paula Mariana Kustiawan^{2*}

^{1,2}Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, Samarinda, Indonesia

Email: pmk195@umkt.ac.id

ABSTRAK

Propolis merupakan produk yang dihasilkan oleh lebah yang memiliki berbagai macam khasiat. Sebagai bahan alam yang dapat digunakan untuk pengobatan, propolis perlu dilakukan uji toksisitas akut untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaannya serta memperkirakan derajat kerusakan yang dapat terjadi. Studi ini bertujuan membandingkan potensi toksisitas akut ekstrak propolis dari dua spesies lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* berdasarkan LD₅₀ serta menilai gejala toksik. Pengujian ini dilaksanakan dengan metode *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) No 425: *Acute Oral Toxicity* (UDP). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak propolis lebah kelulut *G. thoracica* dan *H. itama* mempunyai kadar zat metabolit sekunder yang selaras yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan fenolik. Berdasarkan hasil uji toksisitas akut dapat disimpulkan bahwa ekstrak propolis lebah kelulut *G. thoracica* dan *H. itama* memiliki nilai LD₅₀ yang selaras ialah melampaui 5000 mg/kgBB tergolong tidak toksik.

Kata Kunci: Uji Toksisitas Akut, Propolis, Lebah Kelulut

ABSTRACT

*Propolis is a product produced by bees that has various benefits. As a natural substance that can be used for medicinal purposes, propolis needs to undergo acute toxicity testing to determine the safety of its use and to estimate the degree of damage that may occur. This study aims to compare the acute toxicity potential of propolis extracts from two species of stingless bees, *Geniotrigona thoracica* and *Heterotrigona itama*, based on LD₅₀ and to assess toxic symptoms. The testing was conducted using the *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) No. 425 method: *Acute Oral Toxicity* (UDP). Phytochemical test results showed that propolis extracts from *Geniotrigona thoracica* and *Heterotrigona itama* have consistent levels of secondary metabolites, namely flavonoids, alkaloids, tanins, and phenolics. Based on the acute toxicity test results, it can be concluded that the propolis extracts from *Geniotrigona thoracica* and *Heterotrigona itama* have consistent LD₅₀ values, exceeding 5000 mg/kg body weight, and are classified as non-toxic.*

Keywords: Acute Toxicity Test, Propolis, Kelulut Bees

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang kaya akan keanekaragaman fauna dan flora. Salah satu fauna yang memberikan banyak

manfaat bagi manusia adalah lebah madu. Di Indonesia, terdapat berbagai macam jenis lebah, mulai dari lebah yang memiliki sengat hingga lebah yang tidak menyengat. Masing-



masing jenis lebah ini memiliki peran penting dalam ekosistem serta memberikan berbagai manfaat, baik dari segi kesehatan, pertanian, maupun ekonomi ⁽¹⁾. Lebah kelulut (*Trigona* spp.) adalah jenis lebah yang tidak menyengat. Lebah ini memiliki berbagai julukan lokal di berbagai daerah di Indonesia, seperti galogalo dalam bahasa Minang, lanceng dalam bahasa Jawa, keledan dalam bahasa Lombok, teuweul dalam bahasa Sunda, dan ketape dalam bahasa Sulawesi. Meskipun namanya berbeda-beda di setiap daerah, lebah kelulut tetap dikenal karena manfaatnya yang beragam, terutama dalam produksi madu dan propolis yang memiliki nilai kesehatan dan ekonomi tinggi ⁽²⁾. Lebah kelulut mempunyai beberapa jenis lebah, dua diantaranya adalah *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama*.

Geniotrigona thoracica merupakan jenis lebah yang tidak bersengat, memiliki warna keemasan serta kakinya yang hitam ⁽³⁾. Lebah ini berukuran \pm 8 mm dan memproduksi madu lebih tinggi daripada lebah lain yang tidak menyengat. Sedangkan lebah *Heterotrigona itama* memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan dengan *Geniotrigona thoracica* yaitu 4,00-4,88 mm serta tubuhnya berwarna gelap.

Produk yang dihasilkan oleh lebah kelulut antara lain seperti pollen, madu, propolis, royal jelly, *bee wax*, *bee venom*, madu granulasi dan *bee bread* ⁽⁴⁾. Sebuah produk lebah yang telah banyak digunakan ialah propolis ⁽⁵⁾. Propolis ialah produk yang dikumpulkan lebah yang bersumber melalui getah pohon serta biasanya warnanya coklat kehitaman, produknya dipakai lebah diluar sarang guna mencegah serangan predator. Propolis mempunyai beragam kegunaan misalnya mencakup antiinflamasi, antibakteri, anastesi, penyembuhan luka, antiijamur, antioksidan dan antikariogenik ⁽⁶⁾.

Pengujian toksisitas adalah salah satu pengujian yang digunakan guna mengulras keamanan zat kimia ⁽⁷⁾. Pengujian toksisitas dibagi menjadi tiga macam, yaitu pengujian toksisitas akut, toksisitas subkronik, dan toksisitas kronik. Uji toksisitas akut dilakukan untuk menentukan dosis mematikan (*lethal dose*, LD₅₀) dari suatu senyawa. Pengujian ini

penting untuk memahami tingkat keamanan dan potensi risiko yang mungkin ditimbulkan oleh senyawa tersebut ketika dikonsumsi atau terpapar dalam jumlah tertentu. Pengujian dilakukan secara satu kali atau beberapa kali pemberian bahan uji hingga 24 jam. Pengujian ini termasuk praklinis yang dibentuk guna mengamati taraf dampak toksik sebuah zat pada suatu periode sesudah pemberian dosis tunggal. Bahan alam yang akan digunakan sebagai obat perlu melewati berbagai tahap pengujian keamanan, salah satunya adalah uji toksisitas akut. Uji ini bertujuan untuk memastikan bahwa bahan alam tersebut tidak menimbulkan efek berbahaya dalam jangka pendek dan untuk menentukan dosis mematikan (LD₅₀) dari senyawa tersebut ⁽⁸⁾. Sehingga harus dilaksanakan pengujian ini guna mengetahui derajat kerusakan yang dikarenakan sebuah zat pada material nonbiologik dan biologik ⁽⁹⁾.

Penelitian ini bertujuan agar dapat diketahui perbandingan potensi toksisitas akut ekstrak propolis dari dua spesies lebah kelulut yaitu *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* berdasarkan nilai LD₅₀ serta gejala toksik. Diharapkan perolehan hasil penelitian ini bisa memberikan data untuk pengkajian lebih lanjut tentang keamanan propolis lebah kelulut.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama*, Mencit putih jantan, aquadest, Natrium carboxymethyl cellulose (Na-CMC), ethanol 96%, makanan dan minuman mencit.

Prosedur Penelitian

Skrining Fitokimia

Hal ini merupakan awalan tahap guna mengamati secara kualitatif kategori zat bioaktif dari ekstrak propolis lebah kelulut *Heterotrigona itama* dan *Geniotrigona thoracica* secara memakai beragam pereaksi. Terdapat pengujian yang dilakukan mencakup pengecekan flavonoid, alkaloid, fenolik, tannin, dan saponin ⁽¹⁰⁾. Pengujian ini

kadar alkaloid melibatkan penggunaan beberapa reagen khusus. Pertama, reagen Wagner, yang mengandung iodin dikalium iodida, digunakan untuk mendeteksi keberadaan alkaloid. Selanjutnya, reagen Mayer, yang terdiri dari kalium tetraiodomerurat (II), juga digunakan dalam proses ini. Terakhir, pengujian dilengkapi dengan penggunaan reagen Dragendorff, yang terdiri dari bismut nitrat dikalium iodida, untuk memastikan akurasi dan keandalan hasil pengujian alkaloid tersebut. Sampel yang terdapat kadar alkaloidnya ditandai dengan endapan jingga-kecoklatan. Pengujian kadar saponin dilakukan dengan melalui beberapa langkah. Pertama, sampel dilarutkan dalam aquadest, kemudian larutan tersebut dipanaskan selama sekitar 15 menit. Setelah itu, larutan yang telah dipanaskan tersebut digojok selama 10 detik. Apabila terdapat buih yang seimbang kisaran 10 menit dan diberikan beberapa tetesan HCl 2N, maka sampel positif terdapat kadar saponin⁽¹¹⁾.

Pengujian kandungan flavonoid dengan pereaksi NaOH 10% dilakukan melalui beberapa tahapan. Langkah pertama adalah memasukkan sampel ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, tambahkan 2-4 tetes reagen NaOH 10% ke dalam tabung tersebut. Jika sampel tersebut mengandung flavonoid, maka akan terjadi perubahan warna yang jelas, mulai dari warna kuning hingga kuning kecoklatan. Perubahan warna ini menjadi indikator yang menunjukkan adanya flavonoid dalam sampel yang diuji⁽¹²⁾. Pengujian kandungan tanin dilakukan dengan pereaksi $FeCl_3$ ditambahkan ke dalam sampel yang akan diuji. Apabila sampel tersebut mengandung tanin, terjadi perubahan warna yang mencolok menjadi biru atau hijau kecoklatan. Perubahan warna ini berfungsi sebagai indikator keberadaan tanin dalam sampel yang diuji, memberikan bukti visual yang mudah diamati⁽¹³⁾. Pengujian fenolik dilakukan dengan cara sampel ekstrak direaksikan dengan $FeCl_3$ 1%. Sampel yang memiliki kandungan zat Fenolik akan berubah warnanya menjadi merah, ungu, hijau, biru hingga biru tua atau kehitaman, serta hijau hingga kehitaman⁽¹⁴⁾.

Prosedur uji toksisitas akut pada mencit

Pengujian ini menggunakan pedoman OECD 425 UPD/Up-and-Down Procedure mencakup limit test. Untuk limit test digunakan dosis 2000 mg/kgBB serta 5000 mg/kgBB. Dalam pengujian limit test dengan dosis 2000 mg/kgBB, 1 hewan uji diberikan dosis pertama. Jika setelah pengamatan selama 48 jam tidak ditemukan tanda-tanda kematian terhadap hewan tersebut, dosis yang selaras diberikan untuk 1 hewan berikutnya. Proses ini mengulang sampai lima hewan telah menerima dosis yang sama. Jika tidak ada kematian yang terjadi setelah lima hewan menerima dosis, dihentikannya pemberian dosis serta seluruh hewan dipantau hingga 14 hari. Jika lebih dari 3 dari 5 hewannya mati, dilaksanakan uji tambahan. Namun, bila diatas 3 hewan bertahan hidup setelah penghentian pemberian dosis, itu menunjukkan bahwa nilai LD_{50} sampel tersebut diatas 2000 mg/kgBB.

Limit test 5000 memiliki tujuan guna mengevaluasi apakah nilai LD_{50} sampel ada dalam kisaran 2000 hingga 5000 mg/kgbb atau melebihi 5000 mg/kgbb. Proses uji yang dilaksanakan serupa dengan limit test 2000, dengan pengecualian bahwa jika 3 hewan tidak menampilkan tanda-tanda kematian, dosis tidak akan diteruskan dan LD_{50} dianggap lebih tinggi dari 5000 mg/kgbb. Namun, jika 3 hewan menampilkan tanda-tanda kematian, proses akan dilanjutkan dengan melakukan uji lanjutan menggunakan dosis tertinggi 5000 mg/kgbb untuk menentukan nilai LD_{50} secara lebih spesifik⁽¹⁵⁾.

Pada penelitian ini, pengelompokan mencit ditentukan secara acak. Pemberian ekstrak propolis untuk mencit dilaksanakan dengan sonde oral serta diberikan satu kali saja, ialah sejak hari ke-8. Setiap mencit ditimbang sebelum diberikan perlakuan untuk menentukan dosis dan volume pemberian. Pengelompokan hewan uji tersebut antara lain:

- 1) Kelompok I: Kontrol negatif Na-CMC 1%
- 2) Kelompok II: Ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* berdosis 2000 mg/kgBB
- 3) Kelompok III: Ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* berdosis 5000 mg/kgBB
- 4) Kelompok IV: Ekstrak propolis lebah kelulut *Heterotrigona itama* berdosis 2000 mg/

- kgBB
- 5) Kelompok V: Ekstrak propolis lebah kelulut *Heterotrigona itama* berdosis 5000 mg/kgBB

Kemudian dilakukan pemantauan sebagai berikut :

- a. Penetapan Nilai LD₅₀ serta Pemantauan Gejala Toksik Yang Menyertai

Sebelum diberikan perlakuan, hewan uji diamati terlebih dahulu untuk mengetahui gejala atau perilaku yang berubah yang dialami sesudah diberikan sediaan uji. Nilai LD₅₀ ditetapkan berdasarkan jumlah keseluruhan

kematian pada mencit setelah pemberian dosis tunggal dari sediaan pengujian kepada kelompok mencit. Perubahan perilaku dan gejala toksik dipantau dalam waktu 4 jam pertama setelah perlakuan kemudian dilanjutkan selama 24 jam dan diteruskan setiap hari hingga 14 hari.

- b. Kriteria toksisitas sediaan uji

Setelah dilakukan pemantauan tersebut, kemudian diklasifikasikan tingkatan toksisitasnya berdasarkan Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria toksisitas menurut ⁽¹⁶⁾

Tingkat toksisitas	LD ₅₀ oral (mg/kgBB)	Klasifikasi
1	<5 mg/kgBB	Super Toksik
2	5-50 mg/kgBB	Sangat Toksik
3	>50-500 mg/kgBB	Toksik
4	>500-2000 mg/kgBB	Toksik Sedang
5	>2000-5000	Toksik Ringan
6	>5000	Tidak Toksik

Analisis data

Penelitian ini memperoleh data melalui pengamatan terhadap kelompok hewan uji. Data yang diperoleh berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Untuk data kuantitatifnya ialah nilai LD₅₀ yang didapatkan dengan menghitung hewan uji yang mengalami kematian maupun masih hidup pada tiap kelompok. Untuk data kualitatifnya mencakup perubahan tingkah laku atau efek toksik yang terjadi pada hewan uji setelah mendapatkan perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bermetode eksperimental dengan cara in vivo yang dilakukan untuk mengamati keamanan dari ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* dalam penggunaannya. Mengetahui dosis yang tepat dan potensi toksisitas merupakan aspek penting dalam penggunaan obat herbal secara aman. Hal ini dapat dilakukan melalui penelitian ilmiah yang menyeluruh untuk menetapkan standar dosis yang aman serta untuk mengevaluasi potensi efek samping atau

toksisitas dari bahan-bahan herbal tersebut. Penilaian toksisitas dan keamanan sebelum pemakaian manusia juga memungkinkan untuk identifikasi potensi interaksi obat, kontraindikasi, atau efek samping yang perlu diperhatikan. Dengan demikian, penggunaan obat herbal dapat dilakukan dengan lebih terinformasi dan lebih aman ⁽¹⁷⁾. Pengkajian ini dilaksanakan guna mengetahui kisaran nilai LD₅₀ serta perubahan tingkah laku atau gejala efek toksik dari ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* dalam penggunaannya.

Hasil skrining fitokimia

Sebelum dilakukan uji toksisitas akut, dilakukan terlebih dahulu skrining fitokimia pada ekstrak propolis guna mengamati zat yang ada pada ekstrak tersebut. Skrining fitokimia memiliki tujuan untuk mengetahui kategori zat metabolit sekunder yang terkandung. Pada penelitian ini terdapat sebagian pengujian untuk kategori zat metabolit sekunder, mencakup uji flavonoid, alkaloid, fenolik, tanin, serta saponin.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia

Pengujian	Hasil Uji Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Geniotrigona thoracica</i>	Hasil Uji Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Heterotrigona itama</i>
Alkaloid	(+) Ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kuning keruh pada reagen mayer, terbentuk endapan merah bata pada reagen dragendorf, terbentuk endapan coklat kemerahan	(+) Ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kuning keruh pada reagen mayer, terbentuk endapan merah bata pada reagen dragendorf, terbentuk endapan coklat kemerahan
Flavonoid	(+) Ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning hingga kecoklatan	(+) Ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning hingga kecoklatan
Tanin	(+) Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman	(+) Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman
Fenolik	(+) Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman	(+) Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman
Saponin	(-) Tidak terbentuk buih yang stabil	(-) Tidak terbentuk buih yang stabil

Keterangan:

(+) : Mengandung senyawa yang diujikan

(-) : Tidak mengandung senyawa yang diujikan

Melalui uji yang sudah dilaksanakan menggunakan reagen spesifik yang dijabarkan pada Tabel 2, ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* memiliki hasil yang selaras yaitu terdapat kandungan zat alkaloid, flavonoid, tanin dan fenolik. Hasil pengujian sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid ⁽¹⁸⁾, dan pada ekstrak propolis lebah kelulut *Heterotrigona itama* mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid ⁽¹⁹⁾.

Ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona*

itama memiliki kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid. Senyawa tersebut terbukti toksik terhadap sel kanker ⁽²⁰⁾. Alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat fungsi sistem saraf. Alkaloid ini mempengaruhi kerja sistem saraf, sehingga memicu timbulnya gejala toksik yang terjadi pada hewan uji ⁽²¹⁾.

Hasil pengamatan perubahan tingkah laku atau gejala toksik

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan gejala toksik guna mengamati dampak toksik yang terjadi sesudah pemberian ekstrak, hasil pengamatan tersebut bisa diamati pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil pengamatan perubahan tingkah laku atau gejala toksik yang menyertai

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Perubahan Perilaku Atau Gejala Toksik Yang Menyertai
I	Kontrol negatif (Na-CMC 1%)	Aktivitas hewan uji normal
II	Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Geniotrigona thoracica</i> dosis 2000 mg/kgBB	Aktivitas menurun, piloereksi, grooming, writhing
III	Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Geniotrigona thoracica</i> dosis 5000 mg/kgBB	Aktivitas menurun, piloereksi, grooming, writhing
IV	Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Heterotrigona itama</i> dosis 2000 mg/kgBB	Aktivitas menurun, piloereksi, grooming, writhing, kejang
V	Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Heterotrigona itama</i> dosis 5000 mg/kgBB	Aktivitas menurun, piloereksi, grooming, writhing, kejang

Hasil pengamatan pada gejala toksik dalam Tabel 3 menunjukkan respons yang beragam di antara kelompok, tergantung pada dosis ekstrak yang diberikan. Gejala toksik yang teramati bervariasi secara signifikan, di mana beberapa hewan menunjukkan gejala setelah pemberian ekstrak, sementara yang lain mengalami pemulihan bertahap setelah perlakuan tersebut.

Pemberian ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* secara oral menyebabkan zat aktif diserap melalui saluran cerna kemudian didistribusikan ke seluruh tubuh, dan metabolisme. Selama proses metabolisme, produk metabolit yang bersifat toksik terbentuk dan bertindak sebagai inhibitor enzim, menghambat tahap metabolisme berikutnya. Interaksi antara zat aktif dengan reseptor pada organ efektor mengakibatkan timbulnya gejala efek toksik. Variasi tingkat sensitivitas masing-masing hewan uji menyebabkan perbedaan respons terhadap dosis tertentu, sehingga beberapa hewan mungkin menunjukkan gejala keracunan lebih cepat atau lebih parah dibandingkan yang lain, sementara beberapa hewan lainnya mungkin lebih tahan terhadap dosis yang sama⁽²²⁾.

Piloereksi merujuk pada tegaknya bulu pada bagian tubuh mencit, yang terjadi

sebagai respons terhadap sensitivitas terhadap sentuhan. Fenomena ini dikendalikan oleh saraf simpatik, terutama melalui *arrector pili musculus* (APM), yang berfungsi sebagai regulator suhu tubuh mencit. Ketika saraf simpatik teraktivasi, APM berkontraksi, menyebabkan bulu berdiri tegak, yang membantu dalam menjaga suhu tubuh dengan menciptakan lapisan isolasi tambahan⁽²³⁾. Piloereksi yang diamati pada mencit uji dalam penelitian ini disebabkan oleh efek toksik dari ekstrak uji, yang mengganggu sistem saraf dan menyebabkan ketidakseimbangan dalam pengaturan suhu tubuh atau *thermoregulasi*⁽²⁴⁾.

Grooming adalah kegiatan membersihkan diri yang dilakukan oleh mencit, biasanya terlihat saat mereka menjilati tubuhnya, termasuk wajah. Jika frekuensi grooming meningkat dari biasanya, ini bisa menandakan adanya stimulasi pada sistem saraf pusat atau saraf simpatik. Namun, peningkatan frekuensi grooming yang tidak lazim juga dapat mengindikasikan bahwa mencit mengalami peningkatan rasa nyeri. Grooming yang tidak normal ini kemungkinan disebabkan oleh gangguan pada sistem saraf pusat, seperti depresi⁽²⁵⁾. Selain itu, grooming bisa terjadi karena mencit beradaptasi terhadap zat yang masuk ke tubuh mereka⁽²⁶⁾.

Writhing adalah tanda toksisitas di mana mencit menunjukkan gerakan menggeliat yang tidak biasa. Gerakan ini menunjukkan adanya rasa nyeri yang dialami oleh hewan uji. Nyeri yang dialami mencit merupakan mekanisme perlindungan tubuh terhadap gangguan yang berpotensi menyebabkan kerusakan. Nyeri ini umumnya dipicu oleh trauma fisik, mekanik, kimia, atau jenis trauma lainnya yang merangsang nosiseptor (reseptor nyeri). Dalam penelitian ini, nyeri terjadi akibat trauma kimia karena ekstrak uji yang diberikan pada mencit menyebabkan efek toksik di dalam tubuh mereka ^(27,28).

Tabel 4. Hasil pengamatan mortalitas uji toksisitas akut

Kelompok	Jumlah Mencit	Dosis Pemberian	Jumlah Kematian
I (Kontrol negatif Na-CMC)	5	0	0
II (Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Geniotrigona thoracica</i>)	5	2000 mg/kg BB	1
III (Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Geniotrigona thoracica</i>)	5	5000 mg/kg BB	2
IV (Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Heterotrigona itama</i>)	5	2000 mg/kg BB	1
V (Ekstrak Propolis Lebah Kelulut <i>Heterotrigona itama</i>)	5	5000 mg/kg BB	1

Dari hasil data mortalitas hewan uji tersebut dapat diketahui bahwa pada kelompok uji pemberian dosis limit 2000 mg/kgBB serta 5000 mg/kgBB ekstrak Propolis Lebah Kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* tidak menunjukkan mortalitas hewan uji yang melebihi 3 ekor, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak Propolis Lebah Kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* memiliki nilai LD₅₀ yang selaras yaitu berada diatas 5000 mg/kgBB. Dan menurut kriteria toksisitas, kedua ekstrak tersebut memiliki klasifikasi yang sama yaitu tidak toksik. Hal ini selaras dengan penelitian ⁽³⁰⁾ yang menyebutkan bahwa ekstrak propolis

Kejang pada mencit ditandai dengan fluktuasi kontraksi dan peregangan otot tubuh yang sangat cepat, yang mengakibatkan gerakan mencit menjadi tidak terkendali. Kejadian ini disebabkan oleh efek toksik dari ekstrak uji yang diberikan kepada mencit, yang mempengaruhi sistem saraf dan menyebabkan gangguan pada fungsi otot ⁽²⁹⁾.

Hasil pengamatan mortalitas uji toksisitas akut

Dalam penelitian yang telah dilakukan, data mortalitas hewan uji telah dikumpulkan dan dapat dilihat pada Tabel 4 berikut:

telah menjalani uji toksisitas subkronik pada tikus Wistar untuk mengevaluasi dampaknya terhadap organ ginjal dan hati, dan dengan demikian, hasil studi menunjukkan bahwa ekstrak propolis tidak menimbulkan efek toksik yang signifikan pada organ-organ tersebut, sehingga dapat direkomendasikan untuk digunakan dalam konsumsi manusia dengan keyakinan akan keamanannya.

Berbeda dengan produk lebah lainnya seperti serbuk sari (*bee pollen*) dari lebah *Trigona* spp, pada penelitian ⁽³¹⁾ telah dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), berdasarkan hasil penelitian itu diketahui bahwa ekstrak tersebut memiliki nilai LC₅₀ yaitu 355,46 ppm

dengan kategori toksik. Nilai LC₅₀ tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi itu ekstrak sampel mampu membunuh larva udang hingga 50% populasi. Hal tersebut mungkin disebabkan karena ekstrak bee pollen tersebut memiliki kadar senyawa alkaloid dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama*, karena pada penelitian ⁽³²⁾ disebutkan bahwa senyawa-senyawa tersebut diperkirakan dapat bersifat toksik jika mencapai konsentrasi tertentu. Dengan kata lain, pada tingkat kadar yang spesifik, senyawa-senyawa ini mungkin memiliki efek toksik yang perlu diwaspada.

SIMPULAN

Ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* mempunyai kadar metabolit sekunder yang selaras, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan fenolik. Pengujian toksisitas akut menunjukkan ekstrak propolis lebah kelulut *Geniotrigona thoracica* dan *Heterotrigona itama* memiliki nilai LD₅₀ yang juga selaras yaitu diatas 5000 mg/kgBB dan tergolong praktis tidak toksik. Hasil tersebut bisa menjadi referensi dalam pengembangan produk dari kedua propolis tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rasmussen C, Gonzalez VH. The neotropical stingless bee genus *Nannotrigona* Cockerell (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): An illustrated key, notes on the types, and designation of lectotypes. *Zootaxa*. 2017;4299(2):191–220.
2. Riendriasari SD, Krisnawati K. Produksi Propolis Mentah (Raw Propolis) Lebah Madu Trigona Spp Di Pulau Lombok. *ULIN J Hutan Trop*. 2017;1(1):71–5.
3. Engel MS, Rasmussen C, Ayala R, Oliveira FF de. Stingless bee classification and biology (Hymenoptera, Apidae): a review, with an updated key to genera and subgenera [Internet]. *ZooKeys*. ncbi.nlm.nih.gov; 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10401200/>
4. Yanti E., Kustiawan PM. Study of Indonesian Stingless Bee Propolis Potential as Antioxidant: A Review. *J Farm Sains dan Prakt*. 2023;261–9.
5. Kustiawan PM, Hanifa DNC, Nugraha ASD, Suwandi A, Monica A, Agustinur A. Edukasi dan Pelatihan Pembuatan Turunan Hasil Olahan dari Produk Lebah Kelulut pada Kelompok Peternak Lebah di Samarinda: Education and Training on Making Derivatives from Kelulut Bee Products for Beekeepers in Samarinda. *PengabdianMu J Ilm Pengabdii Kpd Masy*. 2023;8(1):21–6.
6. Hidalgo HA, Nicolas AR, Cedon R. Development barriers of stingless bee honey industry in Bicol, Philippines [Internet]. *International Journal on* researchgate.net; 2020. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Amelia-Nicolas-2/publication/342577164_Development_Barriers_of_Stingless_Bee_Honey_Industry_in_Bicol_Philippines/links/5f058d71a6fdcc4ca455da9a/Development-Barriers-of-Stingless-Bee-Honey-Industry-in-Bicol-Philippines.
7. Julfitriyani, Runtuwenw MR, Wewengkang D. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Foki Sabarati (*Solanum Torvum*). *PHARMACON J Ilm Farm*. 2016;5(3):94–101.
8. Matos WB, Santos ACC, Lima APS, of ecofriendly insecticides: Essential oil induces avoidance and cause lower impairment on the activity of a stingless bee than organosynthetic insecticides, in ... [Internet]. *Ecotoxicology and* Elsevier; 2021. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651320316006>

9. Rumyati, Idiawati N, Destiarti L. Uji Aktivitas Antioksidan, Total Fenol dan Toksisitas dari Ekstrak Daun dan Batang Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin). *J Kim Khatulistiwa*. 2014;3(3):30–5.
10. Kustiawan PM, Arbainsyah A, Setiawan IM. Antioxidant and Antibacterial Activity of Yellow Wood (*Coscinium fenestratum*) Fruits Peel from East Kalimantan. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy)(e-Journal)*. 2021;7(2):191–200.
11. Kustiawan PM, Manullang L, Arbainsyah A, Setiawan IM. Secondary Metabolites Identification and Antioxidant Activity of Rukam (*Flacourtie rukam* Zoll. & Mor.) Shoots from East Kalimantan. *Pharmauho J Farm Sains, dan Kesehat*. 2021;7(2):6–10.
12. Batistuta MA, Zulfa AF, Kustiawan PM. Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Propolis Lebah Kelulut (*Geniotrigona thoracica*). *Med Sains J Ilm Kefarmasian*. 2022;7(2):63–70.
13. Zulfa AF, Batistuta MA, Kustiawan PM. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Dari Propolis Lebah Kelulut *Geniotrigona thoracica* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Ilmu Kefarmasian*. 2022;3(2).
14. Aziz A, Yuliawan VN, Kustiawan PM. Identification of Secondary Metabolites and Antibacterial Activity of Non Polar Fraction from *Heterotrigona itama* Propolis. *J Fundam Appl Pharm Sci*. 2021;2(1):23–33.
15. Sunggono BW, Indri K, Siti NN. Acute Toxicity Evaluation Of *Impatiens balsamina* Linn. Stem And Leaf N-Hexane Fraction Using OECD 425 Guideline Uji Toksisitas Akut Fraksi N-Heksan Ekstrak Metanol Daun Dan Batang *Impatiens balsamina* Linn. Dengan Pedoman OECD 425. *Tradit Med J*. 2014;19(3):118–26.
16. BPOM. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo. 2022;
17. Raina AP, Abraham Z, Sivaraj N. Diversity analysis of *Kaempferia galanga* L. germplasm from South India using DIVA-GIS approach. *Ind Crop Prod*. 69:433–9.
18. Kustiawan PM, Zulfa AF, Batistuta MA, Hanifa DNC, Setiawan IM. Comparative Analysis of Phytochemical, Total Phenolic Content, Antioxidant and Antibacterial Activity of Two Species Stingless Bee Propolis from East Kalimantan. *Malaysian J Med Heal Sci*. 2022;18(7):50–5.
19. Yusuf DPM, Kawareng AT, Indriyanti N. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Kelulut (*Heterotrigona itama*). Proceeding Mulawarman Pharm Conf. 2021;14:237–41.
20. Nuraini N, Ilyas A, Novianty I. Identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif antikanker dari ekstrak etanol kulit batang kayu bitti (*Vitex cofassus*). *Al-Kimia*. 2015;3(2):15–27.
21. Aseptianova, Tutik FW, Nita N. Efektifitas Pemanfaatan Tanaman Sebagai Insektisida Elektrik Untuk Mengendalikan Nyamuk Penular Penyakit DBD. *Bioeksperimen*. 2017;3(2).
22. Jumain J, Syahruni S, Farid F. Uji toksisitas akut dan LD50 ekstrak etanol daun kirinyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) pada mencit (*Mus musculus*). *Media Farm*. 2018;14(1):28–34.
23. Calhoun CA, Lattouf C, Lewis V, Barrientos H, Donaldson ST. Chronic mild stress induces differential depression-like symptoms and c-Fos and 5HT1A protein levels in high-anxiety female Long Evans rats. *Behav Brain Res*. 2023;438.
24. Pascalau R, Kuruvilla R. A Hairy End to a Chilling Event. *Cell*. 2020;182(3):539–41.
25. Ubang F, Vita OS, Herman. Efek Toksik Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mekai (*Albertisia papuana* Becc.) Terhadap Mencit. In: Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 2022. p. 16:49–57.

26. Majid GA, Yane DK, Hery MA. Toksisitas Akut Minyak Atsiri Biji Pala pada Mencit Jantan Acute Toxicity of Nutmeg Essential Oil on Male Mice. *J Farm Indones.* 2023;20(2):149–63.
27. Amilia R, Angelica K, Ana KF. Uji Aktivitas Analgesik Minyak Ikan pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan Galur BALB/c dengan Metode Writhing Test Analgesic Activity of Fish Oil in BALB/c Male Mice (*Mus musculus*) with Writhing Test Method. *Pharm J Farm Indones* (*Pharmaceutical J Indones.* 2020;17(1):13–21.
28. Ilyas M, Firdayanti, Wahyuni. Peningkatan Imunitas Non Spesifik (Innate Immunity) Mencit Balb/C Yang diberik ekstrak etanol Tumbuhan Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin). *Med Sains Jurnal Ilm Kefarmasian.* 2019;3(2):83–92.
29. Mustapa MA, Tuloli TS, Mooduto AM. Uji toksisitas akut yang diukur dengan penentuan $ld50$ ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* l.) terhadap mencit (*Mus musculus*) menggunakan metode thompson-weil. *Front J Sains dan Teknol.* 2018;1(1).
30. Kusnul Z, Suryono S, Tamsuri A. Ekstrak propolis memperbaiki profil berat badan tikus model kanker payudara yang diinduksi dengan 7, 12-dimethylbenz (a) antracene (DMBA). *Media Penelit dan Pengemb Kesehat.* 2019;29(2):135–142.
31. Syafrizal S, Hariani N, Budiman B. Analisis Fitokimia, Toksisitas dan Antioksidan Ekstrak Serbuk Sari (Bee pollen) Lebah *Trigona* spp. In: Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 2016. p. 408–14.
32. Puspa OE, Intan S, Muhamad AW. Uji Fitokimia Dan Toksisitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragans* Houtt) Dari Pulau Lemukutan. *J Kim Khatulistiwa.* 2017;6(2):1–6.