Jurnal Pharmascience, Vol. 12, No.1, Maret 2025, hal: 143-156
ISSN-Print. 2355 – 5386
ISSN-Online. 2460-9560
http://dx.doi.org/10.20527/jps.v12i1.20428
Research Article

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Propolis Lebah Kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* terhadap Mencit *(Mus musculus L.)*

Syahrul Ramadhan, Paula Mariana Kustiawan*

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, Samarinda, Indonesia
Email: pmk195@umkt.ac.id

ABSTRAK

Propolis merupakan campuran senyawa resin, minyak esensial, dan lilin yang didapatkan dari tunas, daun dan eksudat pohon yang kemudian disekresikan oleh lebah kelulut jenis *Trigona sp.* Pemanfaatan propolis telah dilakukan secara luas untuk kosmetik dan farmasi, namun penelitian terkait toksisitasnya masih sedikit dieksplorasi. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji toksisitas dalam mengamankan mutu sediaan. Propolis dari dua jenis lebah kelulut asal Kalimantan Timur, yaitu *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* masih belum ada penelitian terkait uji toksisitasnya. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas akut dua propolis tersebut terhadap mencit *(Mus musculus L.).* Metode yang digunakan untuk uji toksisitas akut berdasarkan pedoman *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) 425: *Acute Oral Toxicity Up and Down Prosedure.* Dosis yang diberikan yaitu 2000–5000 mg/kgBB ekstrak propolis lebah kelulut *T. apicalis* dan *H. fimbriata* dan untuk nilai LD_{50} didapatkan dari data kuantitatif yang didapatkan pada pengujian toksisitas akut yang dilakukan. Semua kelompok hewan uji sampai hari ke-14 tidak memperlihatkan ada kematian karena faktor toksisitas dari kontrol. Hasil penelitian menunjukan ekstrak propolis lebah kelulut *T. apicalis* dan *H. fimbriata* mempunyai toksisitas akut (LD_{50}) > 5000 mg/kg BB. Kedua propolis tersebut menunjukan aktivitas tidak toksik terhadap hewan uji.

Kata Kunci: *Homotrigona fimbriata*, Propolis, *Tetrigona apicalis*, Toksisitas Akut, OECD

ABSTRACT

Propolis is a mixture of resin compounds, essential oils and wax obtained from shoots, leaves and tree exudates which are then secreted by Trigona sp bees. The use of propolis has been widely used for cosmetics and pharmaceuticals, but research related to its toxicity is still little explored. Therefore, it is necessary to conduct a toxicity test to secure the quality of the preparation. Propolis from two types of stingless bees from East Kalimantan, namely Tetrigona apicalis and Homotrigona fimbriata, has not been studied related to its toxicity test. The purpose of this study was to determine the acute toxicity of the two propolis

to mice (Mus musculus L.). The method used for acute toxicity testing is based on OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) guideline 425: Acute Oral Toxicity Up and Down Procedure. The dose given was 2000 – 5000 mg/kgBB kelulut bee propolis extract T. apicalis and H. fimbriata and the LD50 value was obtained from quantitative data obtained in the acute toxicity testing carried out. All groups of test animals up to day 14 did not show any deaths due to toxicity factors compared to the controls. The results of the research show that the kelulut bee propolis extract T. apicalis and H. fimbriata has acute toxicity (LD50) > 5000 mg/Kg BW. Both propolis showed non-toxic activity on animals test.

Keywords: Homotrigona fimbriata, Propolis, Tetrigona apicalis, Acute Toxicity, OECD

I. PENDAHULUAN

Di bidang biologi, lebah terbagi ke dalam 2 kelompok utama yakni genus *Apis* serta *Trigona sp.* Genus *Apis* merupakan jenis lebah yang memiliki sengat di sisi lain genus *Trigona sp.* adalah kelompok lebah madu tidak mempunyai sengat (Kerisna *et al., 2019)*. Lebah kelulut adalah satu dari sekian jenis lebah madu dalam famili *Meliponidae,* berukuran kecil dan penting. Kelompok lebah tersebut mempertahankan dirinya melalui gigitan apabila diganggu (Sanjaya *et al.*, 2019).

Kalimantan Timur memiliki jenis lebah yang masih sedikit dieksplorasi yaitu, *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata. Tetrigona apicalis* adalah lebah tidak bersengat yang berukuran sedang dengan sayap dua warna dan panjang tubuh dari 5,5–6 mm (Burgett *et al.*, 2019). Sedangkan *Homotrigona fimbriata* memiliki ukuran yang relatif besar, memiliki kepala cukup lebar dan lebih panjang 2,10-2,25 mm (rata-rata: 2,16 mm). Spesies ini memiliki warna tubuh yang sangat seragam, frons, mesoscutum tidak memiliki warna noda. Panjang tibia belakang spesies ini cukup panjang dibandingkan spesies lainnya *(Samsudin et al.,* 2018). Kelebihan lebah *Trigona sp.* yaitu hasil propolis yang besar dimana mencapai (3 kilogram/koloni/tahun) (Kustiawan *et al.*, 2023).

Propolis memiliki susunan dari senyawa resin, minyak esensial, serta lilin yang didapatkan dari tunas, daun dan eksudat pohon. Ini merupakan bahan penting yang terkait dengan keberhasilan konstruksi sarang dan kesehatan koloni (Araújo *et al.,* 2016; Campos *et al.,* 2015; Lavinas *et al.*, 2019). Selain itu, propolis juga memiliki kandungan asam amino, terpenoid, asam benzoat, ester, mineral, etanol, vitamin A, B, E, senyawa fenolik, dan flavonoid (Pujirahayu *et al.*, 2022).

Sudah sejak lama propolis dipakai dalam pengobatan. Propolis diketahui memiliki antimikroba (Pujirahayu *et al.*,

2015), antioksidan (Galeotti *et al*., 2018) serta anti tumor. Ekstrak propolis lebah tanpa sengat, termasuk ekstrak *Tetrigona apicalis* menunjukkan komponen flavonoid dan aktivitas antioksidan yang kuat (Asem *et al.,* 2020). Penelitian Awang *et al.*, (2018) menunjukkan ekstrak *Homotrigona fimbriata* dan *Tetrigona apicalis* memiliki kandungan fenolik yang tinggi (16,2 dan 13,9 mg/mL) (Salleh *et al.,* 2021). Sedangkan, ekstrak propolis lebah kelulut *Homotrigona fimbriata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin setelah dilakukan uji fitokimia menggunakan metode tabung reaksi (Yuliawan *et al.,* 2021).

Pengujian toksisitas sangat penting untuk menentukan tingkat kerusakan yang disebabkan oleh suatu senyawa terhadap bahan biologik dan nonbiologik (Kustiawan *et al.*, 2024). Suatu produk perlu dilakukan pengujian untuk memenuhi persyaratan edar dan perijinan. Hal ini sangat penting untuk pengembangan obat baru dan potensi terapinya. Pengujian toksisitas biasanya bertujuan untuk mengidentifikasi efek yang tidak dikehendaki (Sasmito *et al*., 2015; Mustapa *et al.*, 2018)

Uji toksisitas dapat dibedakan menjadi 3 bagian, yaitu pengujian toksisitas akut, subkronik, serta kronik (Jumain *et al.,* 2018). Pengujian toksisitas akut dilaksanakan untuk mengetahui kandungan toksik yang terlihat dalam waktu singkat setelah diberi sediaan uji lewat oral dalam bentuk kadar tunggal ataupun diulang selama 24 jam selama 14 hari untuk mendapatkan dosis letal median (LD50) serta klasifikasi ketoksikan (Melisa *et al.,* 2022; Bhawanti & Asritya, 2022; Ramadani *et al.,* 2022).

Ekstrak propolis lebah kelulut dapat dikatakan aman setelah melalui uji toksisitas. Sedangkan tingkat keamaan dan efek samping ekstrak propolis lebah kelulut masih kurang diketahui sehingga informasi ilmiah mengenai efek toksik yang akan ditimbulkan dari ekstrak propolis lebah kelulut masih perlu ditelaah. Oleh karena itu, tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* terhadap mencit *(Mus musculus* L.*).*

II. METODE

A. Bahan

Bahan pengujian ekstrak propolis *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata.* Bahan yang dipakai yaitu ekstrak propolis *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata,* mencit putih *(Mus musculus L.).*, aquadest, etanol 70%, Na. CMC.

B. Teknik Pengumpulan Data

Penelitian yang dilakukan menggunakan data hewan uji coba kategori perlakuan, data yang didapat berbentuk data kuantitatif serta kualitatif. Data kuantitatif yang hendak didapatkan adalah total hewan uji coba yang mati, di sisi lain data kualitatif yang didapatkan adalah gejala efek toksik dari suatu senyawa yang terkandung dalam ekstrak propolis *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* terhadap hewan uji coba yaitu, mencit *(Mus musculus L.).*

C. Pengolahan Bahan Uji

Propolis yang telah diambil, dibersihkan atau dipisahkan dulu dari sisa kotoran dan polen yang masih ada, lalu diekstraksi menggunakan etanol 70%.

D. Prosedur Uji Toksisitas Akut Pada Mencit

Pengujian toksisitas akut dilaksanakan menurut OECD *(Organization for Economic Co-operation and Development) 425: Acute Oral Toxicity Up and Down Prosedure.*

1. Pembuatan larutan Kontrol Na. CMC 1% b/v sebanyak 50 mL

Ditimbang serbuk Na. CMC sebanyak 500 mg, lalu panaskan air sejumlah 50 mL sehingga mendidih, kemudian masukkan serbuk Na-CMC dan aduklah sampai membentuk larutan koloid jernih memakai batang pengaduk.

2. Pemberian sediaan uji

Pemberian sediaan uji berbentuk suspensi. *Suspending agent* yang dipakai merupakan Na. CMC 1%. Sebelum diberikan perlakuan, hewan tidak diberi makan selama satu malam. Hewan ditimbang serta jumlah pemberian dilakukan penyesuaian terhadap berat badan dan dosis.

3. Pemilihan dan penyiapan sampel

Pada penelitian ini menggunakan populasi mencit sehat memiliki berat minimal 20 gram. Di sisi lain menentukan jumlah sampel sesuai dengan pedoman WHO, adalah minimum sampel yaitu 5 untuk setiap kelompok perlakuan. Adapun total mencit yang dipakai yaitu 30 ekor (15 jantan dan 15 betina) yang dibagikan dalam 5 kategori yang meliputi 6 ekor (3 jantan dan 3 betina). Sebelum mencit *(Mus musculus)* diberi perlakuan, dilakukan adaptasi dan diberikan ransum pakan standar serta minuman dalam waktu seminggu. Setelah masa adaptasi selesai, yang dilakukan sebelum diberi perlakuan, hewan uji tidak diberi makan semalam. Hewan ditimbang serta jumlah pemberian dilakukan penyesuaian terhadap berat badan dan dosis.

4. *Main test* dan *limit test*

Pada tes utama dilakukan perlakuan pada 6 ekor mencit (3 jantan dan 3 betina)

untuk dosis startnya dari 2000mg/KgBB, yang masing-masingnya diberikan satu kali ke tiap ekor hewan uji, lalu diamati kondisi hewan ujinya, serta diamati secara intensif di 4 jam pertama, kemudian dilihat selama 24 jam apakah ada menunjukkan tanda kematian hewan uji. Sesudah keenam hewan uji coba diberi dosis serta tidak terdapat tanda kematian yang terjadi, lalu amati seluruh hewan uji coba selama 2 minggu untuk melihat efek toksik yang tertunda. Selain itu, jika sekitar 3 sampai lebih hewan uji coba hidup, LD_{50} dari sampel >2000 mg/KgBB. *Limit test* 5000 mg/KgBB dimaksudkan menunjukkan LD_{50} sampel ada di rentangan 2000 sampai 5000 mg/KgBB ataupun > 5000 mg/KgBB. Panduan uji dilaksanakan melalui cara yang serupa terhadap *limit test* 2000 mg/KgBB. Namun, pada *limit test* 5000 mg/KgBB jika ada 3 hewan uji tidak memperlihatkan tanda kematian, LD_{50} ada > 5000mg/KgBB. Jika ada 3 hewan uji memperlihatkan tanda kematian, bisa dilaksanakan *main test* melalui dosis tertinggi 5000 mg/KgBB.

5. Perlakuan sampel

Untuk studi yang dilakukan, 30 mencit dikelompokkan 5 kategori perlakuan dimana masing-masing meliputi 6 mencit yag dipilih random. Mencit ditimbang sebelum diberikan perlakuan. 5 kategori perlakuan yang dimaksud diantaranya:

1) Kelompok I : kontrol (Na. CMC 1%)
2) Kelompok II : diberikan ekstrak propolis *Tetrigona apicalis* menggunakan dosis 2000mg/KgBB.
3) Kelompok III : diberikan ekstrak propolis *Homotrigona fimbriata* menggunakan dosis 2000mg/KgBB.
4) Kelompok IV : diberikan ekstrak propolis *Tetrigona apicalis* menggunakan dosis 5000mg/KgBB.
5) Kelompok V : diberikan ekstrak propolis *Homotrigona fimbriata* menggunakan dosis 5000mg/KgBB.

Ekstrak propolis *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* diberikan pada mencit secara oral serta hanya diberi 1 kali yakni di hari pertama.

6. Penentuan LD_{50} serta pengamatan gejala toksik yang menyertai

Dilakukan pengamatan sampel terlebih dahulu sebelum sampel diberikan perlakuan. Tujuannya adalah mengamati adanya gejala yang berubah sesudah diberikan perlakuan menggunakan cara melakukan perbandingan ciri ataupun gejala sebelum dan sesudah diberikan perlakuan. Dilakukan pengamatan selama 14 hari pada hewan uji yang tidak menunjukkan tanda kematian untuk melihat efek toksik yang tertunda dan nilai LD_{50} dihitung dengan menghitung jumlah kematian sampel yang terjadi ketika sediaan uji tunggal diberikan pada kelompok mencit dengan dosis 2000-5000

mg/KgBB. Hewan uji dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor (3 ekor jantan dan 3 ekor betina). Setiap kelompok menerima perlakuan oral dengan suspensi ektrak propolis *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* dengan dosis 2000-5000 mg/KgBB. Pengamatan tanda gejala toksisitas yang diamati berupa perubahan aktivitas otonom hewan uji seperti piloereksi (bulu berdiri tegak), kejang, tremor (gemetar), hipersalivasi (air liur yang berlebihan), lakrimasi (air mata berwarna merah), diare dan mati. Selain itu, diamati juga aktivitas motorik (lokomosi, sosial dan diam) serta sikap tubuh (normal dan tidak normal) dari hewan uji.

E. Analisis Data

Nilai LD_{50} didapatkan dari data kuantitatif yang diperoleh pada uji toksisitas akut ini. Dengan menentukan jumlah mortalitas yang terjadi ketika sampel sediaan uji tunggal diberikan pada kelompok mencit dengan dosis 2000-5000 mg/KgBB yang diamati hingga 14 hari. Karena LD_{50} dari senyawa uji ditentukan dari dosis yang memberikan 50% kematian pada hewan uji. Selanjutnya, data mortalitas hewan uji dianalisis menggunakan program "AOT425" untuk mendapatkan nilai LD_{50}.

F. Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman dengan nomor kode etik (No.105/KEPK-FFUNMUL/EC/EXE/08/2024).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji toksisitas akut dilakukan terhadap ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* dengan menggunakan hewan uji mencit *(Mus musculus L.).* Hewan uji dipuasakan selama satu malam, sebelum pengujian sediaan dilakukan *(*Caturizani *et al.*, 2016). Hewan yang diuji ditimbang dan volume pemberian disesuaikan dengan berat badan serta dosis hewan. Adapun tanda gejala toksisitas yang diamati berupa perubahan aktivitas otonom hewan uji seperti piloereksi (bulu berdiri tegak), kejang, tremor (gemetar), hipersalivasi (air liur yang berlebihan), lakrimasi (air mata berwarna merah), diare dan kematian. Selain itu, aktivitas motorik dan sikap tubuh dari hewan uji juga diamati.

Pada kelompok kontrol Na-CMC didapatkan hasil pengujian terhadap 6 ekor mencit (3 ekor jantan dan 3 ekor betina) mulai dari 4 jam pertama, 24 jam hingga pengamatan selama 14 hari tidak memperlihatkan adanya mortalitas terhadap hewan uji, sehingga didapatkan

nilai LD50 > 1%. Diamati bahwa mencit melakukan hal yang sama seperti saat sebelum diberikan larutan Na. CMC (menit ke-0). Setelah 24 jam, mencit yang diberi dosis 1% tidak memperlihatkan tanda-tanda gejala ketoksikan ataupun tanda-tanda kematian (Tabel I). Dengan demikian, dosis 1% larutan Na. CMC tidak menyebabkan tanda-tanda gejala ketoksikan ataupun kematian terhadap mencit jantan dan betina.

Tabel I. Hasil pengamatan jumlah mencit yang mati setelah pemberian Na. CMC 1% serta ekstrak propolis lebah kelulut *T. apicalis* dan *H. fimbriata*.

Kelompok	Jumlah Mencit	Dosis	Jumlah kematian
I	6	1% b/v	0
II	6	2000 mg/kgBB	1
III	6	2000 mg/kgBB	0
IV	6	5000 mg/kgBB	0
V	6	5000 mg/kgBB	0

Tabel II. Hasil pengamatan gejala toksik setelah pemberian Na-CMC 1% serta ekstrak propolis lebah kelulut *T. apicalis* dan *H. fimbriata*.

Kelompok	Jumlah Mencit	Dosis	Efek yang diamati
I	6	Kontrol Na-CMC 1%	-
II	6	Ekstrak propolis *T. apicalis* dosis 2000mg/KgBB	Kematian pada 1 ekor mencit jantan di hari ke 7
III	6	Ekstrak propolis *H. fimbriata* dosis 2000mg/KgBB	-
IV	6	Ekstrak propolis *T. apicalis* dosis 5000mg/KgBB	-
V	6	Ekstrak propolis *H. fimbriata* dosis 5000mg/KgBB	-

Pada kelompok dua yang menggunakan ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dengan dosis 2000 mg/KgBB didapatkan hasil pengujian terhadap 6 ekor mencit (3 ekor jantan dan 3 ekor betina) mulai dari 4 jam pertama, 24 jam hingga pengamatan selama 14 hari. Hasilnya memperlihatkan ada satu hewan uji (mencit jantan) yang menunjukkan mortalitas di hari ke-7 (Tabel II), maka didapatkan nilai LD50 >2000mg/KgBB mencit. Setelah diamati menunjukkan bahwa mencit melakukan hal yang sama seperti saat sebelum diberikan ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* (menit ke-0). Setelah 24 jam, mencit yang diberi dosis 2000 mg/KgBB tidak memperlihatkan tanda-tanda gejala toksisitas ataupun tanda-tanda kematian (Tabel III). Dengan demikian, baik mencit jantan maupun betina yang diberi dosis 2000 mg/KgBB ekstrak propolis lebah

kelulut *Tetrigona apicalis* tidak menunjukkan tanda-tanda gejala ketoksikan atau kematian pada mencit yang lainnya.

Tabel III. Perhitungan LD_{50} dosis 2000mg/KgBB ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis*.

Test Seq.	*Animal ID*	*Dose mg/kg*	*Short-term Outcome*	*Long-term Outcome*
1	1	2000	0	0
2	2	2000	0	0
3	3	2000	X	X
4	4	2000	0	0
5	5	2000	0	0

The limit test is complete
The LD50 is greater than 2000 mg/kg.

Tabel IV. Perhitungan LD_{50} dosis 2000mg/KgBB esktrak propolis lebah kelulut *Homotrigona fimbriata.*

Test Seq.	*Animal ID*	*Dose mg/kg*	*Short-term Outcome*	*Long-term Outcome*
1	1	2000	0	0
2	2	2000	0	0
3	3	2000	0	0
4	4	2000	0	0
5	5	2000	0	0

The limit test is complete
The LD50 is greater than 2000 mg/kg.

Pada kelompok tiga yang menggunakan ekstrak propolis lebah kelulut *Homotrigona fimbriata* dengan dosis 2000 mg/KgBB didapatkan hasil pengujian terhadap 6 ekor mencit (3 ekor jantan dan 3 ekor betina) diuji mulai dari 4 jam pertama, 24 jam hingga pengamatan selama 14 hari. Hasilnya didapatkan nilai LD50 > 2000mg/KgBB mencit, karena tidak ada hewan uji yang memperlihatkan mortalitas. Setelah diamati menunjukkan bahwa mencit melakukan hal yang sama seperti saat sebelum diberikan ekstrak propolis lebah kelulut *Homotrigona fimbriata* (menit ke-0). Setelah 24 jam, mencit yang diberi dosis 2000 mg/KgBB tidak menunjukkan tanda-tanda gejala ketoksikan ataupun tanda-tanda kematian (Tabel IV). Dengan demikian, menunjukkan dosis 2000mg/KgBB ekstrak propolis lebah kelulut *Homotrigona fimbriata* tidak menimbulkan tanda-tanda gejala ketoksikan ataupun tanda-tanda kematian, baik terhadap mencit jantan maupun betina.

Tabel V. Perhitungan LD50 dosis 5000mg/KgBB ekstrak peopolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis*.

Test Seq.	*Animal ID*	*Dose mg/kg*	*Short-term Outcome*	*Long-term Outcome*
1	1	5000	0	0
2	2	5000	0	0
3	3	5000	0	0
4	4	5000	0	0
5	5	5000	0	0

The limit test is complete
The LD50 is greater than 5000 mg/kg.

Tabel VI. Perhitungan LD50 dosis 5000mg/KgBB ekstrak propolis lebah kelulut *Homotrigona fimbriata*.

Test Seq.	*Animal ID*	*Dose mg/kg*	*Short-term Outcome*	*Long-term Outcome*
1	1	5000	0	0
2	2	5000	0	0
3	3	5000	0	0
4	4	5000	0	0
5	5	5000	0	0

The limit test is complete
The LD50 is greater than 5000 mg/kg.

Perhitungan LD50 dosis 5000mg/KgBB ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* dapat dilihat pada Tabel V dan VI. Pada kelompok empat dan lima yang menggunakan ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* dengan dosis 5000 mg/KgBB didapatkan hasil pengujian terhadap 6 ekor mencit (3 ekor jantan dan 3 ekor betina) mulai dari 4 jam pertama, 24 jam hingga hari ke-14 tidak ada hewan uji yang memperlihatkan mortalitas sehingga didapatkan nilai LD_{50} ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* adalah > 5000mg/KgBB mencit. Setelah diamati menunjukkan mencit melakukan hal yang sama seperti saat sebelum diberikan ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* (menit ke-0). Setelah 24 jam, mencit yang diberi dosis 5000 mg/KgBB tidak menimbulkan tanda gejala toksik dan tanda adanya mortalitas. Dengan demikian, menunjukkan dosis 5000mg/KgBB ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* tidak memperlihatkan tanda-tanda gejala ketoksikan ataupun kematian terhadap mencit betina dan jantan.

Berdasarkan hasil seluruh kelompok hewan uji sampai hari ke empat belas tidak ada kematian yang terjadi karena faktor toksisitas dari kontrol Na-CMC, ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* dengan dosis volume pemberian yang telah disesuaikan dengan dosis hewan dan berat badan hewan uji. Namun, kematian terjadi pada satu ekor mencit jantan kelompok dua dihari ke-7 yang diberikan ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dengan dosis 2000 mg/KgBB. Dapat diketahui bahwa ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* tergolong dalam kelompok praktis tidak toksik. Namun, menurut Sulastra *et al.,* (2020) dosis bahan uji yang lebih tinggi tidak perlu digunakan karena tidak menimbulkan kematian hingga dosis 5000mg/KgBB. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* praktis tidak toksik (>15g/KgBB) dengan LD_{50} 250g/KgBB, karena dosis tertinggi yang diberikan adalah 5000mg/20g BB yaitu setara dengan 250g/KgBB. Menurut TR *et al*., (2016) pengujian toksisitas akut tidak menyebabkan mortalitas hewan uji setelah dilakukan pemberian dosis tunggal bahan uji. Oleh karena itu, dosis tertinggi hewan uji digunakan untuk menentukan nilai LD_{50} ekstrak. Adapun dalam penelitian lain, yang dilaporkan oleh Caturizani *et al.,* (2016) menggunakan ekstrak etanol daun pasir-pasir yang dilakukan uji toksisitas

selama 14 hari juga tidak menunjukkan gejala ketoksikan atau kematian pada dosis 2000mg/KgBB atau 5000mg/KgBB karena memiliki LD_{50}>5000mg/KgBB, yaitu praktis tidak toksik.

Sebuah penelitian melaporkan bahwa penguji toksisitas ekstrak propolis lebah *Trigona insica* dengan larva udang, didapatkan hasil fraksi etanol yang paling aktif mencapai konsentrasi 50% kematian (LC50) sebesar 249,6079 ppm (Erwin *et al*., 2016). Menurut Yuwono, (2023) setelah diberikan kepada sel fibroblast BHK-21 dalam konsentrasi 10 sampai 90%, ekstrak propolis lebah kelulut *Trigona laeviceps* tidak menyebabkan efek toksik pada semua kelompok perlakuan. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan Maysyaroh *et al.,* (2019), untuk 60 tikus jantan dan betina, ekstak etanol 70% propolis lebah *Trigona sp*. diberikan secara oral sebanyak 1 ml, dengan 10 tikus sebagai kontrol. Selama lima kali seminggu, ekstrak diberikan dalam dosis 0,3 mg/KgBB, 2,1mg/KgBB, 14,7 mg/KgBB, 102,9 mg/KgBB, dan 720,3 mg/KgBB. Hasil menunjukkan bahwa tikus jantan dan betina yang diberi propolis selama 28 hari mengalami peningkatan kadar hemoglobin, tetapi masih dalam batas normal. Peningkatan juga terjadi pada nilai hematocrit yang melebihi batas normal. Namun, pada hari ke 28 nilai trombosit mengalami penurunan.

Pada penelitian lain, yang dilakukan Ramadan *et al.,* (2012) ekstrak propolis tidak menyebabkan kematian atau efek toksisitas pada tikus ketika diberikan secara oral dengan dosis hingga 5000mg/KgBB. Dalam studi subkronis, ekstrak yang diuji tidak berdampak signifikan pada fungsi ginjal dan hati tikus setelah dilakukan pemberian secara oral selama delapan minggu berturut-turut dengan dosis 500mg/KgBB. Pada konsentrasi 40-100mg/ml, propolis menunjukkan aktivitas antioksidan yang luar biasa. Hasil *screening* pada propolis *Trigona sp.* telah dilakukan oleh Yanti & Kustiawan, (2023) menyatakan adanya senyawa flavonoid dan fenolik memiliki kemampuan untuk berfungsi sebagai antioksidan (Demiati et al., 2024; Kustiawan et al., 2022). Senyawa-senyawa ini juga memainkan peran penting dalam menyerap radikal bebas dan memiliki kemungkinan untuk menghasilkan produk baru.

Bioaktivitas produk lebah tanpa sengat sangat beragam dan memiliki potensi besar untuk berfungsi sebagai antimikroba atau mengobati berbagai penyakit seperti kardiovaskular, diabetes, kanker dan masalah mulut. Karena sifat antimikroba dan antiseptiknya, madu lebah tanpa sengat dapat digunakan sebagai bahan antibakteri dalam sediaan farmasi (Goh *et al.*, 2023).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang dosis yang tepat untuk ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* saat membuat sediaan, dan juga dapat mengidentifikasi tanda-tanda toksik bila terjadi kedepannya.

IV. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* dengan dosis 2000-5000 mg/KgBB tidak menyebabkan kematian hingga pengamatan selama 14 hari. Ekstrak propolis lebah kelulut *Tetrigona apicalis* dan *Homotrigona fimbriata* memiliki nilai toksisitas akut (LD_{50}) >5000mg/KgBB, sehingga tergolong dalam kelompok praktis tidak toksik.

KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan bahwa mereka tidak memiliki kepentingan yang bertentangan dengan penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan apresiasi kepada Rendri Arista Avimaro atas penyiapan bahan propolis. Penghargaan juga kami sampaikan atas skema Riset Tugas Akhir, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur.

DAFTAR PUSTAKA

Araújo, K. S. da S., dos Santos Júnior, J. F., Sato, M. O., Finco, F. D. B. A., Soares, I. M., Barbosa, R. dos S., Alvim, T. D. C., Ascêncio, S. D., & Mariano, S. M. B. (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and apis from two regions of Tocantins, Brazil. *Acta Amazonica*, *46*(1), 61–68. https://doi.org/10.1590/1809-4392201501045

Asem, N., Abdul Gapar, N. A., Abd Hapit, N. H., & Omar, E. A. (2020). Correlation between total phenolic and flavonoid contents with antioxidant activity of Malaysian stingless bee propolis extract. *Journal of Apicultural Research*, *59*(4), 437–442. https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1684050

Awang, N., Ali, N., Majid, F. A. A., Hamzah, S., & Razak, S. B. A. (2018). Total flavonoids and phenolic contents of sticky and hard propolis from 10 species of Indo-Malayan stingless bees. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, *22*(5), 877–884. https://doi.org/10.17576/mjas-2018-2205-15

Bhawanti, & Asritya, N. M. P. (2022). *Uji Toksisitas Akut Dan Alergi Ekstrak Batang Serai Wangi (Cymbopogon nardus L.) Pada Mencit (Mus musculus L)*. Universitas Mahasaraswati Denpasar.

Burgett, M., Sangjaroen, P., Yavilat, J., & Chuttong, B. (2019). First report of hovering guard bees of the Paleotropical stingless bee Tetrigona apicalis (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Apidologie*, *51*(1), 88–93. https://doi.org/10.1007/s13592-019-00717-5

Campos, J. F., Santos, U. P. dos, Rocha, P. dos S. da, Damião, M. J., Balestieri, J. B. P., Cardoso, C. A. L., Paredes-Gamero, E. J., Estevinho, L. M., Souza, K. de P., & Santos, E. L. dos. (2015). Antimicrobial, Antioxidant,

Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee Tetragonisca fiebrigi (Jataí) Jaqueline. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2015/296186

Caturizani, D. S., Fajriaty, I., & Sari, R. (2016). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 96% Daun Pasir Pasir (ilex cymosa BLUME) Pada Tikus Betina Galur Wistar*. Universitas Tangjungpura Pontianak.

Demiati, R., Avimaro, R. A., & Kustiawan, P. M. (2024). Antioxidant Activity of Homotrigona fimbriata Propolis Extract. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *9*(1), 41–48.

Erwin, Thamrin, A., & Syafrizal. (2016). Uji Fitokimia, Toksisitas Serta Antioksidan Ekstrak Propolis Pembungkus Madu Lebah Trigona Incisa Dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman*, *14*(1), 54–60.

Galeotti, F., Maccari, F., Fachini, A., & Volpi, N. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of propolis prepared in different forms and in different solvents useful for finished products. *Foods*, *7*(3). https://doi.org/10.3390/foods7030041

Goh, L. P. W., Jawan, R., Faik, A. A. M., & Gansau, J. A. (2023). A review of stingless bees' bioactivity in different parts of the world. *Journal of Medicine and Life*, *16*(1), 16–21. https://doi.org/10.25122/jml-2022-0160

Jumain, J., Syahruni, S., & Farid, F. (2018). Uji Toksisitas Akut dan LD50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (Euphatorium odoratum Linn) Pada Mencit (Mus musculus). *Media Farmasi*, *14*(1), 28. https://doi.org/10.32382/mf.v14i1.82

Kerisna, V., Diba, F., & Wulandari, R. S. (2019). Veronika Kerisna, Farah Diba, Reine Suci Wulandari. *Jurnal Tengkawang*, *9*(2), 82–91.

Kustiawan, P. M., Aziz, A., & Yuliawan, V. N. (2022). Antioxidant and Antibacterial Activity of Various Fractions of Heterotrigona itama Propolis Found in Kutai Kartanegara. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *10*(A), 531–534.

Kustiawan, P. M., Hanifa, D. N. C., Nugraha, A. S. D., Suwandi, A., Monica, A., & Agustinur, A. (2023). 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: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, *8*(1), 21–26.

Kustiawan, P. M., Syaifie, P. H., Al Khairy Siregar, K. A., Ibadillah, D., & Mardliyati, E. (2024). New insights of propolis nanoformulation and its therapeutic potential in human diseases. *ADMET and DMPK*, *12*(1), 1–26. https://doi.org/https://doi.org/10.5599/admet.2128

Lavinas, F. C., Macedo, E. H. B. C., Sá, G. B. L., Amaral, A. C. F., Silva, J. R. A., Azevedo, M. M. B., Vieira, B. A., Domingos, T. F. S., Vermelho, A. B., Carneiro, C. S., & Rodrigues, I. A. (2019). Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: promising sources of biologically active compounds. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *29*(3), 389–399. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.11.007

Maysyaroh, I. A., Hasan, A. E. Z., Husnawati, & Setiyono, A. (2019). *Gambaran Hematologi Tikus Sprague Dawley pada Uji Toksisitas Akut dan Subkronis Ekstrak Etanol 70% Propolis Lebah Trigona spp.* Bogor Agricultural University.

Melisa, E., Muhaimin, Yuliawati, & K, F. S. (2022). Acute toxicity of Sungkai

leaf ethanol extract (Peronema cenescens jack) on kidney function. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, *26*(April), 32–37. https://doi.org/10.20956/mff.v26i1.19447

Mustapa, M. A., Tutoli, T. S., & Mooduto, A. M. (2018). Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan Ld50 Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (Syzygium Aromaticum L.) Terhadap Mencit (Mus Musculus) Menggunakan Metode Thompson-Weil. *Frontiers: Jurnal Sains Dan Teknologi*, *1*(April), 105–117. https://doi.org/10.36412/frontiers/001035e1/april201801.10

Pujirahayu, N., Hardianto, F., Mando, L. O. A. S., Uslinawaty, Z., Rosmarlinasiah, R., & Basruddin, B. (2022). Karakteristik Sarang dan Tumbuhan Sumber Getah Propolis Lebah Tak Bersengat (Stingless Bee) dari Buton Utara. *Makila*, *16*(1), 69–79. https://doi.org/10.30598/makila.v16i1.5574

Pujirahayu, N., Ritonga, H., Satya Agustina, L., & Uslinawaty, Z. (2015). Antibacterial activity of oil extract of Trigona propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *7*(6), 419–422.

Ramadan, A., Soliman, G., Mahmoud, S. S., Nofal, S. M., & Abdel-Rahman, R. F. (2012). Evaluation of the safety and antioxidant activities of Crocus sativus and Propolis ethanolic extracts. *Journal of Saudi Chemical Society*, *16*(1), 13–21. https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.10.012

Ramadani, A. P., Syukri, Y., Hakim, S. N. P., & Fitria, A. (2022). Profil Ketoksikan Akut SNEDDS Propolis. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, *9*(2), 105. https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.105-110.2022

Salleh, S. N. A. S., Hanapiah, N. A. M., Johari, W. L. W., Ahmad, H., & Osman, N. H. (2021). Analysis of bioactive compounds and chemical composition of Malaysian stingless bee propolis water extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(12), 6705–6710. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.049

Samsudin, S. F., Mamat, M. R., & Hazmi, I. R. (2018). Taxonomic Study On Selected Species Of Stingless Bee (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) In Peninsular Malaysia. *Serangga*, *23*(2), 203–258.

Sanjaya, V., Astiani, D., & Sisillia, L. (2019). Studi Habitat Dan Sumber Pakan Lebah Kelulut Di Kawasan Cagar Alam Gunung Nyiut Desa Pisak Kabupaten Bengkayang. *Jurnal Hutan Lestari*, *7*(2), 786–798. https://doi.org/10.26418/jhl.v7i2.34072

Sasmito, W. A., Wijayanti, A. D., Fitriana, I., & Sari, P. W. (2015). Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). *Jurnal Sain Veteriner*, *33*(2), 234–239. https://doi.org/10.22146/jsv.17924

Sulastra, C. S., Khaerati, K., & Ihwan. (2020). Toksisitas Akut dan Lethal Dosis (LD50) Ekstrak Etanol Uwi Banggai Ungu (Dioscorea alata L.) Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, *6*(1), 10–14. https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i1.715

TR, T. A., Indriany, S., Sutriana, A., Rosmaidar, Asmilia, N., Panjaitan, B., Aliza, D., & Hamdan. (2016). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Malaka (Phyllantus emblica) Terhadap Mencit (Mus musculus). *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, *10*(2), 192–194. https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.

v10i2.5137

Yanti, E. N., & Kustiawan, P. M. (2023). Study of Indonesian Stingless Bee Propolis Potential As Antioxidant: a Review. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, *9*(3), 261–269. https://doi.org/10.31603/pharmacy.v9i3.7105

Yuliawan, V. N., Aziz, A., & Kustiawan, P. M. (2021). *Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Dari Propolis Lebah Kelulut Heterotrigona Itama Asal Kutai Kartanegara Pengumpulan sampel*. *2*(2), 131–137.

Yuwono, A. R. N. R. (2023). *Uji Sitotoksisitas Ekstrak Propolis Lebah Kelulut (Trigona Laeviceps) Terhadap Sel Fibroblas Bhk-21 (Studi In Vitro dengan Metode MTT Assay)*. Repo Mhs ULM.