



## **TIM PENYUSUN**

Pembina : Dr. Penny K. Lukito, MCP

Pengarah : Dra. Reri Indriani, Apt, M.Si

Ketua : Dra. Dwiana Andayani, Apt

Anggota :  
1. Dra. Sri Pujiati, Apt, M.Epid  
2. Dra. Kristiana Hayati MKM  
3. Ideasanti, S.Si., Apt  
4. Elin Novia Sembiring, S.Si, Apt, M.Si  
5. Lia Ardiana KN, S.Si, Apt, M.Si  
6. Nurfitri S.Si Apt, M.Biomed  
7. Lucky Argasetya Apt, M.Farm.Klin  
8. Laurentia Venita Kusumaningrum S.Si,  
Apt, M.Si  
9. Suci Damayanti S.Si, Apt, M.Farm.Ind  
10. drh. Khonsa

Sekretariat :  
1. Dra. Farida Anwar, Apt  
2. Noviati Panca Sari, SF, M.Si.,Apt  
3. Frida Musyarofah, A.Md

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, atas tersusunnya buku Panduan Penyusunan Protokol Uji Pra Klinik (Uji Toksisitas Akut), yang ditujukan untuk membantu peneliti dalam mengembangkan protokol penelitian.

Dengan diterbitkannya panduan ini, diharapkan dapat meningkatkan pemahaman peneliti terhadap aspek atau elemen yang harus tercakup di dalam protokol penelitian, sehingga dapat meminimalkan kegagalan dalam pelaksanaan uji pra klinik.


Pada edisi pertama ini, panduan difokuskan terhadap penelitian uji pra klinik toksisitas akut, mengingat uji ini merupakan persyaratan dalam pemastian keamanan pada jangka pendek untuk semua kategori produk baik yang ditujukan untuk penggunaan jangka pendek maupun jangka panjang.

Kami menyadari bahwa dalam penyusunan buku panduan edisi pertama ini tentunya masih belum dapat memenuhi kebutuhan semua pihak, untuk itu kami membuka diri terhadap saran masukan untuk penyempurnaan pada edisi berikutnya.

Terima kasih dan penghargaan kami sampaikan kepada semua pihak yang telah berkontribusi hingga tersusunnya buku ini.

Akhir kata, semoga buku Panduan Penyusunan Protokol Uji Pra Klinik (Uji Toksisitas Akut) bermanfaat bagi pelaku usaha, peneliti maupun pihak pihak yang terkait dalam mendukung pengembangan obat bahan alam di Indonesia.

Jakarta, Oktober 2022

A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of loops and a long vertical stroke, positioned centrally below the date.

Dr. Penny K. Lukito, MCP

## DAFTAR ISI

<b>TIM PENYUSUN</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>BAB II PERMOHONAN PENGAJUAN PERSETUJUAN PELAKSANAAN UJI PRA KLINIK (PPUPK)</b> .....	5
<b>BAB III TEMPLATE PROTOKOL UJI TOKSISITAS AKUT</b> ....	7
<b>A. INFORMASI UMUM</b> .....	7
<b>B. INFORMASI PRODUK DAN IZIN EDAR</b> .....	11
<b>C. TUJUAN DAN MAKSUD UJI TOKSISITAS AKUT</b> .....	14
<b>D. BAHAN DAN ALAT</b> .....	14
<b>E. PEMILIHAN DAN PERSIAPAN HEWAN UJI</b> .....	15
<b>F. BAHAN UJI</b> .....	16
<b>G. METODE UJI</b> .....	18
<b>H. PENGAMATAN</b> .....	19

<b>I. DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>22</b>
<b>J. LAMPIRAN .....</b>	<b>22</b>
<b>BAB IV TEMPLATE PELAPORAN HASIL UJI TOKSISITAS AKUT .....</b>	<b>23</b>
<b>A. INFORMASI UMUM.....</b>	<b>23</b>
<b>B. INFORMASI PRODUK DAN IZIN EDAR.....</b>	<b>23</b>
<b>C. TUJUAN DAN MAKSUD UJI TOKSISITAS AKUT .....</b>	<b>25</b>
<b>D. BAHAN DAN ALAT .....</b>	<b>25</b>
<b>E. PEMILIHAN DAN PERSIAPAN HEWAN UJI.....</b>	<b>25</b>
<b>F. BAHAN UJI.....</b>	<b>26</b>
<b>G. METODE UJI.....</b>	<b>26</b>
<b>H. PENGAMATAN .....</b>	<b>27</b>
<b>I. HASIL .....</b>	<b>27</b>
<b>J. PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
<b>K. KESIMPULAN .....</b>	<b>29</b>
<b>L. DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>29</b>
<b>BAB V .....</b>	<b>30</b>
<b>PENUTUP.....</b>	<b>30</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>vi</b>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam.

Prinsip uji toksisitas akut oral, sediaan uji umumnya dalam beberapa tingkatan dosis yang diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang dikorbankan karena sekarat (menunjukkan indikasi rasa nyeri, sakit dan distres) dihitung sebagai hewan mati yang berkaitan dengan pemberian sediaan uji. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan dikorupsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas.

Tujuan uji toksisitas akut adalah:

1. Untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, dan kepekaan spesies;
2. Memperoleh informasi bahaya setelah paparan suatu zat secara akut;
3. Memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis;
4. Merancang uji toksisitas selanjutnya;
5. Memperoleh nilai LD50 suatu bahan/ sediaan, serta
6. Untuk mendukung penentuan penggolongan bahan/sediaan dan pelabelan.

Uji toksisitas akut dapat diajukan ke Badan POM dalam rangka:

1. Data dukung registrasi Obat Herbal Terstandar (OHT);
2. Dasar keamanan sebelum pelaksanaan uji klinik;
3. Data keamanan untuk bahan baku baru yang belum diketahui keamanannya;
4. Data keamanan untuk kombinasi baru yang belum diketahui keamanannya; atau
5. Data keamanan untuk kombinasi baru yang memiliki potensi efek yang tidak diinginkan.



## Persyaratan Laboratorium

Terkait dengan persyaratan tempat pengujian, hingga saat ini belum ada ketentuan dalam peraturan untuk syarat laboratorium. Namun hasil uji sangat dipengaruhi oleh kondisi laboratorium, kandang, penanganan hewan, maupun pelaksanaannya, maka disarankan untuk memilih laboratorium yang memadai. Laboratorium harus memiliki sistem mutu, untuk memastikan bahwa terdapat penanggungjawab dan personal yang kompeten, peralatan atau alat ukur yang tervalidasi dan terkalibrasi, ruangan dan peralatan terpelihara dan terawat, dan hasil uji tervalidasi. Sarana fisik dan lingkungan laboratorium hewan uji dapat merujuk pada Bab II poin lampiran PerBPOM No 20 Tahun 2023 atau Peraturan Menteri Pertanian No. 44/Permentan/OT.140/5/2007 Tahun 2007.

Pelaksanaan uji toksisitas akut dapat mengacu ke Peraturan Badan POM Nomor 10 Tahun 2022 tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo atau pedoman lain yang diterima secara internasional, misal *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD Guidelines). Uji

toksisitas dilakukan setelah mendapatkan Persetujuan Pelaksanaan Uji Pra Klinik (PPUPK) yang diterbitkan oleh Kepala Badan POM.

Panduan penyusunan protokol uji toksisitas akut ini diharapkan dapat memberikan gambaran umum elemen protokol uji toksisitas akut. Isi protokol uji toksisitas akut dapat dikembangkan sesuai dengan teknis pelaksanaan di tempat penelitian.

## BAB II

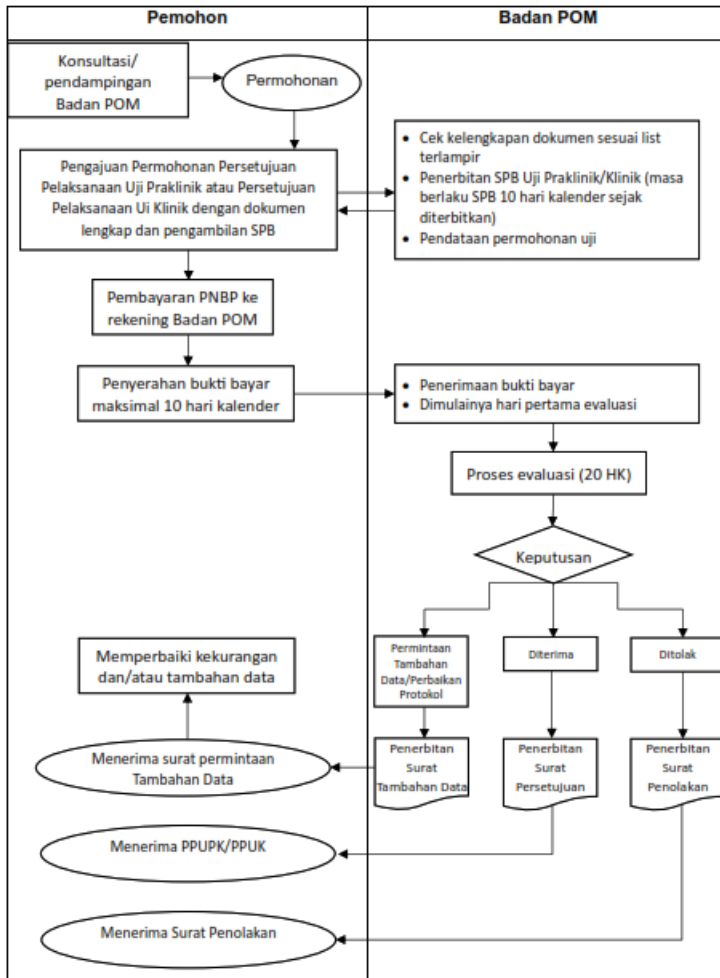
### PERMOHONAN PENGAJUAN PERSETUJUAN PELAKSANAAN UJI PRA KLINIK (PPUPK)

Persetujuan Pelaksanaan Uji Pra Klinik (PPUPK) adalah bentuk persetujuan pelaksanaan uji pra klinik yang diterbitkan oleh Kepala Badan.

Pemohonan Persetujuan Pelaksanaan Uji Praktlinik dapat diajukan oleh industri, lembaga pendidikan atau lembaga penelitian/riset milik pemerintah atau swasta, dengan kelengkapan sebagai berikut:

1. Surat permohonan persetujuan pelaksanaan uji praktlinik;
2. Protokol uji toksisitas akut beserta kelengkapan sesuai *checklist*;
3. Melakukan pembayaran PNBP sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Alur permohonan PPUPK sebagai berikut:



# **BAB III**

## **TEMPLATE PROTOKOL**

### **UJI TOKSISITAS AKUT**

#### **A. INFORMASI UMUM**

##### **1. Judul protokol**

Diisi dengan judul protokol.

Judul protokol minimal memuat informasi mengenai: jenis pengujian toksisitas, produk/bahan uji, dan hewan uji yang digunakan.

##### **2. Nomor/versi protokol dan tanggal**

Diisi dengan nomor/versi protokol dan tanggal.

Peneliti harus membuat nomor identifikasi protokol uji toksisitas yang spesifik untuk tiap pengajuan dan memudahkan penelusuran dokumen disertai dengan tanggal pembuatan protokol uji toksisitas tersebut. Setiap perubahan protokol uji toksisitas akut harus disertai dengan perubahan nomor protokol dan tanggalnya.

### **3. Pemohon PPUPK**

Diisi dengan pihak yang mengajukan PPUPK, dapat berupa industri/lembaga penelitian disertai alamat pemohon.

### **4. Tujuan Pengajuan**

Diisi dengan tujuan pengajuan PPUPK, seperti:

- a. Pendaftaran Obat Herbal Terstandar (OHT), atau
- b. Pendaftaran Variasi, atau
- c. Data keamanan pendaftaran baru

### **5. Mitra**

- a. Diisi dengan nama industri yang terlibat dalam penelitian apabila pemohon PPUPK adalah lembaga penelitian.

Peneliti dapat berkolaborasi dengan industri yang akan melakukan komersialisasi produk, dengan memperhatikan kemampuan/kelayakan industri tersebut untuk memproduksi Obat Herbal Terstandar (OHT) dan Fitofarmaka (FF).

Produk OHT dan FF, harus diproduksi di fasilitas industri yang sudah memiliki sertifikat CPOTB paripurna, sesuai bentuk sediaan yang akan diproduksi. Namun demikian, pada tahap pengembangan produk, mitra industri setidaknya telah memiliki sertifikat CPOTB tahap 3.

- b. Diisi dengan nama peneliti apabila pemohon PPUPK adalah industri.

Industri dapat berkolaborasi dengan peneliti yang akan melakukan penelitian dengan memperhatikan kredibilitas tim peneliti dan kualifikasi fasilitas yang dimiliki. Tim peneliti berjumlah sekurang-kurangnya 2 (dua) orang, terdiri dari ketua dan anggota. Tim peneliti harus memiliki kualifikasi pendidikan, pelatihan dan pengalaman yang memadai untuk dapat melakukan uji toksisitas akut dengan benar.

Mengingat bahwa keberhasilan uji toksisitas akut sangat dipengaruhi oleh mutu produk/bahan uji, pengujian harus dilakukan oleh personel yang mempunyai kapasitas dan kompetensi dalam untuk melakukan pengujian Obat Bahan Alam.

**6. Tim peneliti**

Diisi dengan nama tim peneliti yang terlibat dalam penelitian.

**7. Tempat penelitian**

Diisi dengan laboratorium tempat pelaksanaan uji toksisitas.

Pengujian toksisitas akut dilakukan pada laboratorium yang memadai termasuk pemeliharaan hewan uji, peralatan atau alat ukur tervalidasi dan terkalibrasi, ruangan dan peralatan terpelihara dan terawat, dan hasil uji tervalidasi.

**8. Pemberi dana / sponsor**

Diisi dengan nama lembaga/institusi/industry/perorangan yang mendanai penelitian.



### **9. Lama penelitian**

Diisi dengan durasi penelitian untuk toksisitas akut, yaitu 14 (empat belas) hari.

### **10. Persetujuan komite etik hewan (jika ada)**

Diisi dengan melampirkan dokumen persetujuan etik dari komite etik hewan.

## **B. INFORMASI PRODUK DAN IZIN EDAR**

Diisi dengan informasi izin edar produk/bahan uji.

1. Apabila produk yang akan diuji sudah terdaftar, uraian produk meliputi:
  - a. Nama produk
  - b. Bentuk sediaan
  - c. Kemasan
  - d. Nomor Izin Edar
  - e. Formula (per takaran sediaan/dosis)

- f. Data mutu (dengan melampirkan sertifikat analisa bahan baku dan produk jadi)
  - g. Klaim khasiat yang disetujui
  - h. Aturan pakai yang disetujui
  - i. Klaim khasiat yang diajukan
  - j. Aturan pakai yang diajukan
2. Apabila produk yang akan diuji belum terdaftar, uraian produk meliputi:
- a. Bagian tanaman  
Diisi dengan informasi bagian tanaman yang digunakan dan dituliskan secara lengkap bersama nama tanaman beserta pelarut ekstraksinya.  
Misalnya:  
Ekstrak etanol 70 % *Phyllanthus niruri* herba  
Ekstrak etanol 50 % *Andrographis paniculata* folium

- b. Asal perolehan bahan uji  
Jika bahan uji diperoleh dari IEBA agar mencantumkan nama IEBA. Namun jika bahan uji diekstraksi sendiri agar mencantumkan tempat tumbuh tanaman yang digunakan.
- c. Formula (per takaran sediaan/dosis)
- d. Cara pembuatan produk uji  
Diisi dengan:
- Metode, pelarut dan lama ekstraksi dilengkapi dengan bagan/alur ekstraksi  
Misalnya: menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 24 jam
  - Metode dan proses pengeringan (jika ada)
  - Proses penambahan bahan tambahan (jika ada)
- e. Bentuk sediaan
- f. Standarisasi (bahan baku dan produk jadi) dilengkapi dokumen spesifikasi, metode penetapan kadar dan sertifikat analisa

### **C. TUJUAN DAN MAKSUD UJI TOKSISITAS AKUT**

Diisi dengan uraian rinci mengenai tujuan dan maksud uji toksisitas akut, antara lain:

1. Untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies;
2. Memperoleh informasi bahaya setelah paparan suatu zat secara akut;
3. Memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis;
4. Merancang uji toksisitas selanjutnya;
5. Memperoleh nilai LD50 suatu bahan/ sediaan, serta
6. Sebagai pendukung dalam penentuan penggolongan bahan/sediaan.

### **D. BAHAN DAN ALAT**

Diisi dengan suatu uraian rinci mengenai bahan dan alat yang digunakan untuk penelitian.

## E. PEMILIHAN DAN PERSIAPAN HEWAN UJI

Diisi dengan informasi mengenai hal-hal sebagai berikut:

1. Jenis hewan (mencit/tikus/kelinci/monyet) beserta alasan pemilihannya
2. Galur
3. Jenis kelamin
4. Usia dan berat badan
5. Sumber perolehan hewan uji (nama *supplier* atau informasi *breeding*)
6. Status kesehatan (misalnya: aktivitas normal, kondisi bulu, mata)  
Apabila terdapat surat monitoring kesehatan hewan uji dari *supplier* terkait dapat disertakan.
7. Jumlah hewan yang digunakan dan alasan penetapan jumlah
8. Kondisi pemeliharaan meliputi: suhu, kelembaban, pencahayaan, ukuran kandang, jumlah hewan per kandang, bahan pembuat kandang, jenis dan periode penggantian *bedding*, pakan dan minuman.

9. Lama aklimatisasi
10. Randomisasi hewan uji

## **F. BAHAN UJI**

Diisi dengan informasi sebagai berikut :

1. Cara pemberian bahan uji

Diisi dengan cara pemberian sediaan uji meliputi:

- a. Frekuensi pemberian: tunggal secara oral dengan menggunakan sonde atau diberikan beberapa kali dalam jangka waktu pemberian zat tidak boleh melampaui 24 jam
- b. Perlakuan hewan sebelum dan setelah diberi bahan uji: lama puasa pakan dan minum, penimbangan hewan, pemberian pakan setelah perlakuan

2. Penyiapan bahan uji

Diisi dengan bahan pembawa yang sesuai (misalnya: aqua destilata, minyak nabati) atau penambahan

*suspending agent* (misalnya: CMC-Na) tergantung dari formulasi bahan uji.

3. Volume pemberian bahan uji

Diisi dengan volume cairan maksimal yang dapat diberikan tergantung pada ukuran (berat badan) setiap hewan uji.

Misalnya: pada rodensia, jumlah normalnya tidak melampaui 1 mL/100 g berat badan, namun bila pelarutnya air (aqueous) dapat diberikan hingga 2 mL/100 g berat badan. Umumnya sediaan uji diberikan dalam volume yang tetap selama pengujian (konsentrasi berbeda), akan tetapi jika bahan uji berupa cairan atau campuran cairan, sebaiknya digunakan dalam bentuk tidak diencerkan (konsentrasi tetap).

4. Dosis uji

Diisi dengan dosis uji sesuai dengan metode uji yang dipilih.

## G. METODE UJI

Metode uji toksisitas akut yang digunakan seperti:

1. *Fixed Dose Procedure*

Metode ini digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif/korosif.

2. *Acute Toxic Class Method*

Metode ini tidak ditujukan untuk menghitung nilai pasti LD50 tetapi untuk penentuan rentang paparan dimana kematian diperkirakan terjadi karena proporsi kematian hewan masih merupakan endpoint utama dari penelitian ini. Metode ini memungkinkan penentuan nilai LD50 hanya ketika setidaknya dua dosis mengakibatkan kematian lebih tinggi dari 0% dan lebih rendah dari 100%.

3. *Up and Down Procedure*

Metode ini umumnya digunakan untuk bahan uji yang dapat menyebabkan kematian dalam waktu satu atau



dua hari. Metode ini tidak direkomendasikan digunakan pada sediaan uji dengan ekspektasi kejadian kematian 5 hari atau lebih.

Metode uji dapat mengacu ke Peraturan Badan POM Nomor 10 Tahun 2022 tentang Pedoman Uji Toksisitas Pratinik Secara In Vivo atau pedoman lain yang diterima secara internasional, misal *Organization for Economic Co-operation and Development (OECD Guidelines)*.

## **H. PENGAMATAN**

Diisi dengan uraian rinci mengenai pengamatan setelah perlakuan, antara lain:

### **1. Lama pengamatan**

Hewan uji diobservasi secara individual untuk mengamati adanya gejala toksisitas pada 30 menit, 1 jam, 2 jam dan 4 jam setelah pemberian produk uji lalu dilakukan pengamatan setelah 24 jam dan dilanjutkan setiap hari selama 14 hari.

## 2. Gejala toksisitas

Waktu timbul dan hilangnya gejala toksisitas (khususnya jika ada kecenderungan tanda-tanda toksik yang tertunda) harus dicatat secara sistematis dalam catatan individual yang dilakukan untuk setiap hewan. Pengamatan tambahan perlu dilakukan jika hewan menunjukkan gejala toksisitas secara terus-menerus. Gejala toksisitas meliputi: tingkah laku, kondisi fisik (kulit, bulu, mata, membran mukosa), sistem pernapasan, sistem saraf otonom, sistem saraf pusat dan aktivitas somatomotor.

## 3. Kematian

Hewan dalam kondisi sekarat dan hewan yang menunjukkan gejala nyeri yang berat atau tampak menderita harus dikorbankan. Hewan uji yang dikorbankan atau ditemukan mati, waktu kematiannya harus dicatat.

#### 4. Parameter pengamatan lainnya

Parameter pengamatan lainnya yang diamati adalah berat badan dan pemeriksaan patologi yang dilakukan pada seluruh hewan dengan mengamati:

- a. Perubahan *gross* patologi, dan
- b. Pemeriksaan mikroskopik (histopatologi) dari organ yang menunjukkan adanya perubahan secara *gross* patologi.

Ditambahkan dengan uraian rinci cara pengorbanan hewan (euthanasia atau teknik pengorbanan lainnya).

Untuk uji toksisitas akut pengamatan histopatologi tidak hanya sebatas 5 organ utama (jantung, paru, hati, ginjal dan limfa), namun seluruh organ yang mengalami perubahan secara *gross* patologi maka harus dilanjutkan dengan pemeriksaan secara mikroskopik (histopatologi).

## **I. DAFTAR PUSTAKA**

Diisi dengan daftar pustaka dari pedoman/acuan yang digunakan dalam pengujian.

## **J. LAMPIRAN**

Diisi dengan dokumen yang digunakan.

## **BAB IV**

### **TEMPLATE PELAPORAN HASIL UJI TOKSISITAS AKUT**

Laporan hasil uji toksisitas akut berisi informasi sebagai berikut:

#### **A. INFORMASI UMUM**

1. Judul protokol
2. Nomor/versi protokol dan tanggal
3. Pemohon PPUPK
4. Tujuan Pengajuan
5. Mitra
6. Tim peneliti
7. Tempat penelitian
8. Pemberi dana / sponsor
9. Lama penelitian
10. Persetujuan komite etik hewan (jika ada)

#### **B. INFORMASI PRODUK DAN IZIN EDAR**

1. Apabila produk sudah terdaftar, uraian produk meliputi:

- a. Nama produk
  - b. Bentuk sediaan
  - c. Kemasan
  - d. Nomor Izin Edar
  - e. Formula
  - f. Data mutu
  - g. Klaim khasiat yang disetujui
  - h. Aturan pakai yang disetujui
  - i. Klaim khasiat yang diajukan
  - j. Aturan pakai yang diajukan
2. Apabila produk belum terdaftar, uraian produk meliputi:
- a. Bagian tanaman
  - b. Asal perolehan bahan uji
  - c. Formula
  - d. Cara pembuatan produk uji
  - e. Bentuk sediaan
  - f. Standarisasi (bahan baku dan produk jadi)  
dilengkapi dokumen spesifikasi, metode penetapan kadar dan sertifikat analisa

### **C. TUJUAN DAN MAKSUD UJI TOKSISITAS AKUT**

Suatu uraian rinci mengenai tujuan dan maksud uji toksisitas akut.

### **D. BAHAN DAN ALAT**

Suatu uraian rinci mengenai bahan dan alat yang digunakan untuk penelitian.

### **E. PEMILIHAN DAN PERSIAPAN HEWAN UJI**

1. Jenis hewan (mencit/tikus/kelinci/monyet) dan alasan pemilihan
2. Galur
3. Jenis kelamin
4. Usia dan berat badan
5. Sumber perolehan hewan uji (nama supplier atau informasi *breeding*)
6. Status kesehatan (misalnya: aktivitas normal, kondisi bulu, mata)

7. Jumlah hewan yang digunakan dan alasan penetapan jumlah
8. Kondisi pemeliharaan meliputi: suhu, kelembaban, pencahayaan, ukuran kandang, jumlah hewan per kandang, bahan pembuat kandang, jenis dan periode penggantian bedding, pakan dan minuman.
9. Lama aklimatisasi
10. Randomisasi hewan uji

#### **F. BAHAN UJI**

1. Cara pemberian bahan uji
2. Penyiapan bahan uji
3. Volume pemberian bahan uji
4. Dosis uji

#### **G. METODE UJI**

Metode uji toksisitas akut yang digunakan seperti:

1. *Fixed Dose Procedure*, atau



2. *Acute Toxic Class Method*, atau
3. *Up and Down Procedure*, atau
4. Metode dari pedoman lain yang diterima secara internasional, misal *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD Guidelines).

## **H. PENGAMATAN**

Uraian rinci mengenai pengamatan setelah perlakuan, antara lain:

1. Lama pengamatan
2. Gejala toksisitas
3. Kematian
4. Parameter pengamatan lainnya
5. Cara pengorbanan hewan

## **I. HASIL**

1. Data pengamatan;
2. Efek toksik yang terjadi untuk setiap dosis dan jenis kelamin;



Efek yang diamati		Kelompok Dosis dan Waktu Pengamatan (jam)																	
		Kelompok dosis 1 (... g/kg bb)								Kelompok dosis 2 (... g/kg bb)									
		0	1/2	4	8	12	16	20	24	dst tiap hari hingga hari ke-14	0	1/2	4	8	12	16	20	24	dst tiap hari hingga hari ke-14
Vokalisasi	(%)																		
Tremor	(%)																		
Kejang	(%)																		
Writhing	(%)																		

## J. PEMBAHASAN

Uraian mengenai hasil sesuai poin I.1 – I.6.

## K. KESIMPULAN

Diisi dengan kesimpulan peneliti terkait hasil uji toksisitas akut, terutama nilai LD50.

## L. DAFTAR PUSTAKA

Uraian daftar pustaka dari pedoman/acuan yang digunakan dalam pengujian.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

Panduan penyusunan protokol uji toksisitas akut ini memuat informasi yang diperlukan untuk merancang, melaksanakan, menganalisis kualitas laporan hasil penelitian yang akan dijadikan bukti dalam mendukung permohonan klaim keamanan.

Diharapkan panduan penyusunan protokol uji toksisitas akut ini dapat bermanfaat bagi para peneliti, akademisi dan industri, khususnya industri obat tradisional yang ingin melakukan uji toksisitas akut sehingga menghasilkan data yang sah, akurat dan dapat dipercaya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. OECD Guideline For Testing Of Chemical No. 420, 2001. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure
2. OECD Guideline For Testing Of Chemical No. 423, 2001. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method
3. OECD Guideline For Testing Of Chemical No. 425, 2022. Acute Oral Toxicity – Up and Down Procedure
4. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik secara In Vivo