



Toksisitas Akut Dermal Ekstrak Tanaman Sebagai Bagian dalam Aspek Keamanan Obat Herbal Terstandar Topikal

(Acute dermal toxicity of plant extracts as part in safety aspects of topical standardized herbal drug)

Tresnafuty Rasyiida Diina^{*1}, Indah Suasani Wahyuni², & Jutti Levita¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat

²Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat

ABSTRACT: Dermal inflammation, for example, acne (*acne vulgaris*), is traditionally treated using plants, therefore, many studies have explored various plant extracts by in vitro method. However, the use of plant extracts as topical drug must follow the Regulation of the Head of The Department of Drug and Food Supervisor (BPOM) No. 32/2019 concerning SAFETY AND QUALITY REQUIREMENTS OF TRADITIONAL DRUGS, which includes three aspects, such as safety, quality, and effectiveness. Furthermore, the safety of topical drugs is ensured through the Dermal Acute Toxicity Test, as stated in the Regulation of the Head of BPOM No. 7/2014 concerning GUIDELINES FOR IN VIVO NONCLINICAL TOXICITY TESTS. This literature review summarizes acute toxicity tests of plant extract dermal that have been carried out in various countries. The study was conducted using the keywords "Acute", "Dermal", "Toxicity", "Extract" in the PubMed database, and resulted in 15 articles. In these articles, all plant extracts tested in the fifteen articles were reported safe because they did not cause symptoms of toxicity or death at doses above 2000 mg/kg BW. It can be concluded that acute dermal toxicity tests of plant extracts are an important factor in the safety of developing a topical standardized herbal drug.

Keywords: standardized herbal medicine safety; acute dermal toxicity.

ABSTRAK: Inflamasi dermal, misalnya jerawat (*acne vulgaris*), secara tradisional, sering diobati menggunakan tanaman, sehingga beberapa riset mengeksplorasi ekstrak tanaman secara *in vitro*. Namun demikian, penggunaan ekstrak tanaman sebagai obat topikal tetap harus mengikuti Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 32/2019 tentang PERSYARATAN KEAMANAN DAN MUTU OBAT TRADISIONAL, yang meliputi tiga aspek yaitu keamanan (*safety*), mutu (*quality*), dan efektif (*efficacy*). Lebih lanjut lagi, keamanan obat topikal dipastikan melalui Uji Toksisitas Akut Dermal, seperti tercantum di dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 7/2014 tentang PEDOMAN UJI TOKSISITAS NONKLINIK SECARA IN VIVO. Kajian pustaka ini merangkum uji toksisitas akut dermal ekstrak tanaman yang telah dilakukan di berbagai negara. Kajian dilakukan menggunakan kata kunci "Acute", "Dermal", "Toxicity", "Extract" pada basis data PubMed, dan menghasilkan 15 artikel. Hasil kajian pustaka menunjukkan bahwa semua ekstrak tanaman yang diuji di dalam kelimabelas artikel tersebut dinyatakan aman karena tidak menimbulkan gejala toksisitas ataupun kematian pada dosis di atas 2000 mg/kg BB. Dapat disimpulkan bahwa uji toksisitas akut dermal ekstrak tanaman merupakan faktor penting dalam keamanan pengembangan suatu obat herbal terstandar topikal.

Kata kunci: keamanan obat herbal terstandar; toksisitas akut dermal.

Pendahuluan

Pada prinsipnya, suatu industri farmasi harus membuat obat yang sesuai dengan tujuan penggunaannya. Obat yang akan diedarkan harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam dokumen izin edar serta tidak mengakibatkan risiko berbahaya bagi penggunanya karena kurangnya keamanan, rendahnya mutu, atau ketidakefektifan suatu obat. Tiga aspek yang perlu dipenuhi agar suatu obat dapat diedarkan antara lain keamanan (*safety*), mutu (*quality*), dan efektif (*efficacy*) [1]. Berdasarkan Peraturan Kepala BPOM

Nomor 24 Tahun 2017 tentang Kriteria dan Tata Laksana Registrasi Obat, obat yang yang mendapat izin edar harus memenuhi beberapa kriteria. Obat harus memiliki khasiat yang meyakinkan dan keamanan yang memadai, dibuktikan melalui uji nonklinik dan uji klinik, atau bukti-bukti lain sesuai dengan status perkembangan ilmu pengetahuan. Obat harus memiliki mutu yang memenuhi syarat sesuai dengan standar yang ditetapkan, termasuk proses produksi sesuai

Article history

Received: 14 Juni 2022

Accepted: 27 Sept 2022

Published: 24 Okt 2022

Access this article



***Corresponding Author:** Tresnafuty Rasyiida Diina

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Hegarmanah, Kec. Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat 45363 | Email: tresnafuty19001@mail.unpad.ac.id

dengan CPOB dan dilengkapi dengan bukti yang sah. Obat juga harus memiliki informasi produk dan label berisi informasi lengkap, objektif, dan tidak menyesatkan yang dapat menjamin penggunaan obat secara tepat [2].

Bahaya akibat paparan suatu obat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek yang dinilai merugikan, seperti efek kumulatif, karsinogenik, teratogenik, mutagenik, dan lain-lain. Informasi tersebut dapat diperoleh dari percobaan menggunakan hewan uji sebagai model uji pada serangkaian uji toksisitas. Uji toksisitas pada umumnya dilakukan untuk mendeteksi adanya efek toksik suatu zat pada sistem biologi serta untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data hasil uji toksisitas dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam menentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia [3].

Serangkaian uji toksisitas nonklinis secara *in vivo* dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia meliputi uji toksisitas akut oral, uji toksisitas subkronik oral, uji toksisitas kronik oral, uji teratogenisitas, uji sensitisasi kulit, uji iritasi mata, uji iritasi akut dermal, uji iritasi mukosa vagina, uji iritasi akut dermal, dan uji toksisitas subkronik dermal. Faktor-faktor seperti pemilihan spesies hewan uji, galur, dan jumlah hewan, cara pemberian sediaan uji, pemilihan dosis uji, efek samping sediaan uji, teknik, dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan dapat menentukan hasil uji toksisitas dapat dipercaya atau tidak [3].

Sudah sejak lama, tanaman telah digunakan sebagai pengobatan alternatif terhadap berbagai macam penyakit. Produk alami dari tanaman merupakan sumber penting untuk senyawa pemandu dalam penelitian penemuan obat baru. Beberapa obat yang saat ini digunakan sebagai agen terapeutik merupakan hasil pengembangan dari produk alami tanaman [4]. Sekitar 35% dari pasar obat global tahunan berasal dari produk alami atau obat-obatan terkait; termasuk sumber dari tanaman (25%), diikuti oleh mikroorganisme (13%), dan hewan (3%) [5]. Secara tradisional, masyarakat telah menggunakan tanaman sebagai obat topikal baik dari bagian daun [6], kulit batang [7], kulit pohon [8], dan bunga [9]. Pengembangan obat herbal juga tidak lepas dari faktor efek samping berbahaya yang ditimbulkan oleh obat sintetik sehingga saat ini pengobatan komplementer dan alternatif, terutama obat herbal, telah mendapatkan lebih banyak perhatian dan juga menjadi populer [10]. Namun, penggunaan obat herbal, terutama obat herbal terstandar topikal, juga memungkinkan adanya risiko efek samping, misalnya reaksi alergi, fotosensitisasi, dermatitis atopik, timbulnya

jerawat [11,12], sehingga uji toksisitas akut dermal menjadi persyaratan dalam pengembangan obat herbal terstandar topikal. Oleh karena itu, review artikel ini bertujuan untuk membahas toksisitas akut dermal ekstrak tanaman sebagai bagian dalam aspek keamanan obat topikal.

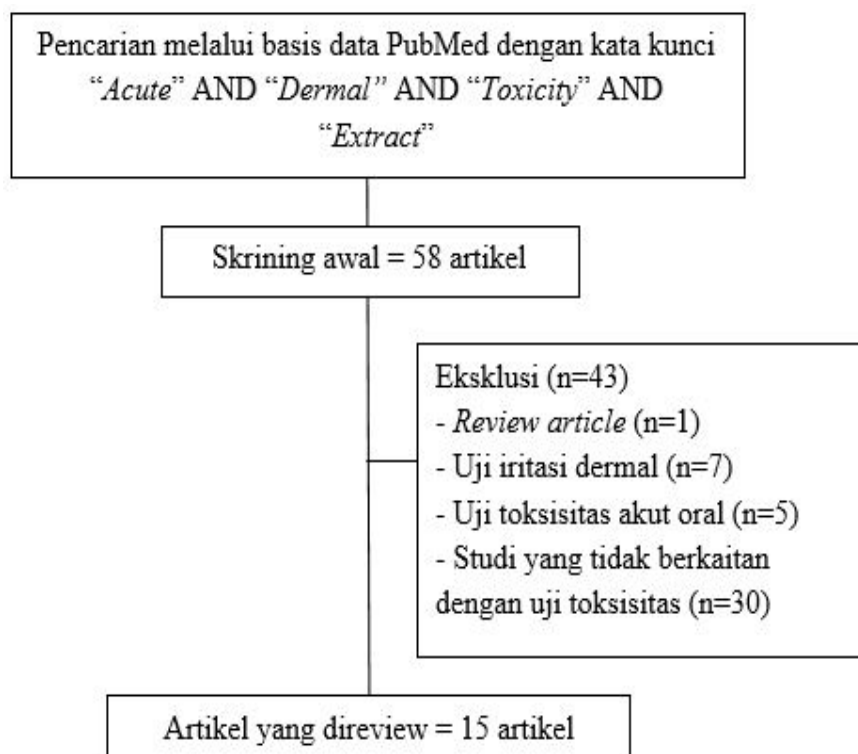
Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah dengan menelusuri artikel-artikel yang berkaitan dengan toksisitas akut dermal pada ekstrak tanaman pada basis data PubMed dengan memanfaatkan *advanced search* menggunakan kata kunci “Acute” AND “Dermal” AND “Toxicity” AND “Extract”. Sumber pustaka yang digunakan kemudian diseleksi melalui kriteria inklusi yang meliputi artikel yang menggunakan ekstrak tanaman, terpublikasi pada rentang tahun 2012-2022, *free access*, dan dalam Bahasa Inggris, sedangkan kriteria eksklusi yaitu *review article*, uji iritasi dermal, serta studi yang tidak berkaitan dengan uji toksisitas akut dermal. Artikel yang diperoleh saat skrining awal sebanyak 58 artikel kemudian setelah diseleksi berdasarkan kriteria, total 15 artikel digunakan dalam kajian pustaka ini. Diagram alir penelusuran pustaka dapat dilihat pada [Gambar 1](#).

Hasil dan Diskusi

Inflamasi

Peradangan atau inflamasi merupakan suatu respon biologis dari sistem imun tubuh yang dapat dipicu oleh berbagai faktor, seperti adanya patogen, kerusakan sel, dan senyawa-senyawa toksik [13]. Proses inflamasi distimulasi oleh mediator kimia yang dilepaskan oleh sel yang menjadi mediator inflamasi dalam sistem kekebalan tubuh [14]. Dengan adanya respons tersebut, jaringan tubuh dapat diperbaiki sekaligus terlindungi dari paparan benda asing, namun juga dapat merusak bahkan menyebabkan disfungsi organ di saat yang bersamaan [15]. Berdasarkan pengamatan secara visual, inflamasi ditandai dengan gejala seperti kemerahan (*rubor*), pembengkakan (*tumour*), sensasi panas (*calor*), nyeri (*dolor*), dan kehilangan fungsi (*function laesa*). 4 gejala pertama tersebut diberi nama oleh Celsus, sedangkan gejala terakhir diberi nama oleh Galen [16]. Meskipun proses respon inflamasi bergantung pada stimulus awal dan letaknya dalam tubuh, terdapat mekanisme yang umum terjadi. Mekanisme tersebut diawali dengan terdeteksinya stimulus yang merugikan oleh reseptor pada permukaan sel yang mengakibatkan jalur inflamasi teraktivasi. Dengan teraktivasinya jalur tersebut, mediator inflamasi dilepaskan kemudian sel-sel inflamasi dilibatkan [13]. Jalur inflamasi melibatkan mediator



Gambar 1. Diagram alir penyusunan kajian pustaka

inflamasi dan jalur regulasi. Stimulus akan mengaktifkan jalur pensinyalan intraseluler yang kemudian menyebabkan terjadinya inflamasi. Contoh stimulus inflamasi primer yaitu *interleukin-1 β* (IL-1 β), *interleukin-6* (IL-6), dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), yang memediasi inflamasi lewat interaksi dengan TLRs, IL-1 *receptor* (IL-1R), IL-6 *receptor* (IL-6R), dan TNF *receptor* (TNFR) [17]. Aktivasi reseptor memicu jalur pensinyalan intraseluler yang penting, termasuk *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *nuclear factor kappa-B* (NF- κ B), dan jalur Janus kinase (JAK)-signal transducer and activator of transcription (STAT) [18–20]. Salah satu penyakit peradangan pada kulit yang sering ditemukan di masyarakat adalah jerawat (*acne vulgaris*), sehingga hasil penelitian mengenai efek pengobatan ekstrak tanaman untuk jerawat akan menjadi perhatian dalam penulisan dan pembahasan telaah Pustaka ini.

Inflamasi pada Jerawat

Jerawat merupakan penyakit multifaktor dimana *onset* dan progresinya dapat dipicu oleh berbagai faktor termasuk stress, hormonal, dan perubahan nutrisi [21,22]. Secara patologis, jerawat merupakan penyakit yang mengenai unit pilosebacea dimana unit ini terdiri dari folikel, batang rambut, dan kelenjar sebacea [23]. Perspektif konvensional patogenesis jerawat menyatakan bahwa *Propionibacterium acnes* mengkolonisasi saluran folikel sebacea sehingga

menyebabkan respon imun bawaan dan progresi komedo noninflamasi menjadi papula inflamasi, pustula, atau nodul. Inflamasi dapat terjadi pada lesi jerawat tahap awal maupun akhir. Peran *P. acnes* dalam etiologi inflamasi jerawat telah diakui selama lebih dari satu abad. Studi biopsi pada pasien dengan *acne vulgaris* (jerawat) yang meradang secara klinis menegaskan adanya hubungan antara *P. acnes* dan jerawat inflamasi klinis [24].

P. acnes dapat memicu reaksi imun bawaan baik pada lesi jerawat yang sangat awal (mikrokomedogenik) dan tahap lanjut (inflamasi) melalui aktivasi *Toll-Like Receptors-2* (TLR2). TLR adalah komponen dari sistem imun bawaan yang berperan dalam pertahanan inang melawan serangan mikroorganisme [25]. *P. acnes* diketahui melepaskan berbagai protease eksogen, yang melalui aktivasi *protease-activated receptor-2* (PAR-2) pada keratinosit sehingga dapat meningkatkan transkripsi sitokin proinflamasi, termasuk IL-1a, IL-8, dan *tumor necrosis factor-a*, serta berbagai matriks metalloproteinase, dan IL-37 [26].

Metabolit Sekunder Tanaman Sebagai Anti-inflamasi dan Anti-jerawat

Penanganan jerawat saat ini melibatkan pengobatan secara topikal dan sistemik. Retinoid topikal seperti tretinoin dan eritromisin biasa diresepkan sebagai agen komedolitik dan anti-inflamasi. Antibiotik oral seperti

Tabel 1. Tanaman yang memiliki aktivitas anti-inflamasi serta senyawa bioaktif yang berperan

Famili	Tanaman	Bagian	Pelarut ekstrak	Kandungan senyawa	Referensi
Melastomataceae	<i>Melastoma malabathricum</i> Linn	Daun	Etanol	-	Reduan et al., 2020 [6]
Aizoaceae	<i>Galenia africana</i>	Semua	Etanol	Flavonoid khususnya (2S)-5,7,2'-trihidroksiflavanon, (E)-3,2',4' trihidrosikalkon, (E)-2',4'-dihidroksikalkon dan (E)-3,2',4'trihdaunidroksi-3'-metoksikalkon	Ng'uni et al., 2018 [36]
Clusiaceae	<i>Garcinia mangostana</i>	Kulit buah	etanol encer	Alfa-mangostin	Dodda et al., 2020 [38]
Lauraceae	<i>Cinnamomum tamala</i>	Daun		-	
Francoaceae	<i>Bersama abyssinica</i>	Daun	80% hidro-metanol	kumarin, terpenoid, saponin, polisterol, antrakuinon, triterpen, tanin, fenol, steroid, flavonoid, glikosida, dan alkaloid, anthraquinones, saponin, dan terpenoid	Taddese et al., 2021 [7]
Brassicaceae	<i>Brassica carinata</i>	Biji	Metanol 80%	Polifenol, flavonoid, sinigrin	Alemu et al., 2020 [44]
Malvaceae	<i>Hibiscus micranthus</i> Linn.	Daun	Metanol 80%	Asam fenolat, tanin, flavonoid, β sitosterol, alkane, karbohidrat, steroid, alkohol dan asam lemak	Begashaw et al., 2017 [9]
Burseraceae	<i>Boswellia serrata</i>	Resin gom	etanol encer	Asam boswellat khususnya 11-keto- β boswellic acid (KBA) dan 3-O-acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA)	Alluri et al., 2019 [39]
Rubiaceae	<i>Spermacoce princeae</i>	Daun			
Hypericaceae	<i>Psorospermum febrifugum</i>	Kulit batang	Diklorometan, etil asetat, metanol, air destilasi	-	Namukobe et al., 2021 [40]
Lamiaceae	<i>Plectranthus caespitosus</i>	Daun			
Asteraceae	<i>Erlangea tomentosa</i>	Daun			
Cucurbitaceae	<i>Zehneria scabra</i> (L.f) Sond	Daun	Metanol 80%	Tanin, flavonoid, sterol tidak jenuh, triterpenoid, alkaloid, saponin, senyawa fenolik lainnya	Tekleyes et al., 2021 [45]
Lythraceae	<i>Punica granatum</i>	Kulit buah	etanol encer	Tanin, flavonol, antosianin, asam organik dan fenolik	Madireddy et al., 2022 [41]
Malvaceae	<i>Theobroma cacao</i>	Biji		Polifenol	
Leguminosae	<i>Abrus cantoniensis</i> Hance	Semua	Etanol 95%	Triterpenoid, steroid, flavonoid, antrakuinon, asam fenolik, dan alkaloid	Zeng et al., 2016 [46]
Asteraceae	<i>Euryops arabicus</i>	Aerial	Kloroform : metanol	Minyak atsiri, terpenoid, flavonoid	Abdel-Lateff., 2021 [42]
Asteraceae	<i>Sphaeranthus indicus</i>	Kepala bunga	Etil asetat, metanol encer	-	Nestmann et al., 2018 [8]
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Kulit batang		Mangiferin, glukosil xanton	
Asteraceae	<i>Sphaeranthus indicus</i>	Kepala bunga	Metanol dan etil asetat	Sesquiterpenoid, eudesmenolid, flavonoid, glikosida, dan minyak atsiri	Saiyed et al., 2015 [37]
Clusiaceae	<i>Garcinia mangostana</i>	Kulit buah	Metanol dan air	-	
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Kulit Buah	Metanol	Flavonoid, mangiferin	Espinosa et al., 2022 [43]

minosiklin dan doksisisiklin juga biasa diresepkan untuk jerawat sedang-parah [27]. Perlu diketahui bahwa efek samping yang ditimbulkan dari obat-obatan tersebut dapat membuat pasien tidak nyaman yang mengakibatkan rendahnya kepatuhan pasien. Retinoid topikal dapat mengiritasi kulit dengan efek samping berupa sensasi terbakar, kering, gatal, dan kemerahan [28,29]. Oleh karena itu, diperlukan terapi yang baru, alami, dan aman sebagai alternatif pengobatan jerawat. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa 80% penduduk dunia mengkonsumsi obat tradisional untuk kebutuhan kesehatan primer dan sebagian besar terapi ini membutuhkan penggunaan ekstrak herbal dan zat aktifnya. Berbagai ekstrak bioaktif tanaman obat dan konstituen aktifnya yang teridentifikasi atau terisolasi telah menunjukkan berbagai khasiat farmakologis obat dalam mengatasi berbagai penyakit/gangguan akut dan kronis [30].

Saat ini, dampak dari stres oksidatif dan faktor-faktor terkait telah menjadi isu penting bagi kesehatan manusia. Ketika tubuh berada di bawah banyaknya stres, produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) seperti radikal hidroksil, radikal anion superoksida, dan hidrogen peroksida diperkuat. Hal ini menyebabkan adanya ketidakseimbangan ROS dalam tubuh yang menjadikan sel-sel menjadi rusak dan berujung pada masalah kesehatan. Kurangnya senyawa antioksidan dalam tubuh dapat menyebabkan penyakit degeneratif dan berbagai penyakit inflamasi lainnya [30]. Usaha alternatif untuk memenuhi kebutuhan antioksidan dapat diperoleh dari sumber tanaman. Antioksidan alami terkandung secara melimpah di beberapa sumber tanaman, serta biasanya bebas dari efek samping dan lebih murah dibandingkan suplemen antioksidan sintetik. Beberapa studi menyebutkan bahwa kandungan flavonoid dan fenolik pada tanaman berkontribusi sebagai antioksidan [31]. Selain aktivitas antioksidan, flavonoid dan senyawa fenolik juga berperan sebagai anti-inflamasi. Ekstrak bioaktif dan senyawa metabolit sekunder tanaman terbukti menunjukkan aktivitas anti-inflamasinya dengan memblokir 2 jalur pensinyalan utama seperti NF- κ B dan MAPKs yang memiliki peran utama dalam produksi berbagai mediator proinflamasi [30].

Tabel 1 merangkum sebanyak 15 penelitian mengenai ekstrak atau bagian tanaman yang diuji pada uji toksisitas akut dermal. Tabel tersebut menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman yang diuji merupakan hasil dari ekstraksi yang berasal dari bagian daun, biji, resin gom, kulit batang, kulit buah, aerial, kepala bunga, dan semua bagian tanaman. Senyawa yang terkandung pada tanaman-tanaman ini memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi dan beberapa

mencantumkan bukti aktivitasnya sebagai penyembuh luka (*wound healing*).

Uji Toksisitas Akut Dermal

Uji toksisitas akut dermal adalah suatu pengujian yang melibatkan hewan percobaan untuk mendeteksi adanya efek toksik yang ditimbulkan dalam waktu singkat (14 hari) setelah sediaan uji dipaparkan melalui rute dermal dalam sekali pemberian [3]. **Tabel 2** merangkum perbandingan uji toksisitas ekstrak tanaman dari berbagai negara yaitu Malaysia, Afrika Selatan, India, Etiopia, India, Uganda, Cina, Saudi Arabia, dan Mexico pada rentang tahun 2015 hingga 2022. Data tersebut menunjukkan bahwa uji toksisitas pada setiap penelitian sebagian besar mengacu pada pedoman OECD No. 402 tentang toksisitas akut dermal [32] dan sisanya mengacu pada pedoman OECD No. 404 [33], 434 [34], dan 425 [35] dengan sedikit modifikasi. OECD No. 402 bertujuan untuk menentukan dosis terendah yang menimbulkan gejala toksisitas dan kematian setelah paparan zat kimia pada rute dermal. OECD No. 404 bertujuan untuk menilai derajat iritasi atau kerosi suatu zat yang diaplikasikan pada rute dermal. OECD No. 434 bertujuan untuk mendapat informasi tentang kemungkinan bahaya suatu zat dan memungkinkan untuk diberi peringkat dan diklasifikasikan menurut Sistem Harmonisasi Global (GHS) untuk klasifikasi bahan kimia yang menyebabkan toksisitas akut. Sedangkan OECD No. 425 merupakan pengujian toksisitas secara oral namun pada penelitian Taddese *et al.*, pedoman ini digunakan dengan sedikit modifikasi.

Perbedaan pedoman uji menimbulkan adanya sedikit perbedaan pada metode pengujian baik antar pedoman yang sama maupun berbeda. Rancangan eksperimen dalam penelitian Reduan *et al.*, 2020 disebutkan bahwa tikus untuk pengujian toksisitas akut dermal terbagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol, kelompok pembawa (*soft paraffin*), serta kelompok uji (ekstrak konsentrasi 2,5%; 5,0%; dan 10%). Sedangkan pada penelitian lainnya hanya mengklasifikasikan kelompok hewan menjadi dua yaitu kelompok uji dan kontrol. Ada lima penelitian yang tidak menyebutkan jenis kelamin hewan uji sedangkan pada beberapa penelitian lainnya disebutkan bahwa menggunakan hewan uji dengan jenis kelamin jantan saja atau betina saja atau keduanya.

Hewan uji pada prinsipnya harus dipertimbangkan pemilihannya berdasarkan sensitivitas, mekanisme metabolisme tubuh, kecepatan tumbuh, serta kemudahan penanganan. Hewan yang dinilai memenuhi persyaratan tersebut adalah hewan pengerat sehingga banyak penelitian yang menggunakan mencit, tikus, atau marmot

Tabel 2. Tanaman-tanaman yang telah diuji toksikitas akut dermal

Ekstrak	Negara	Hewan Uji	Jumlah & Kriteria Hewan Uji	Pedoman	Keamanan	LD ₅₀	Referensi
Ekstrak etanol <i>Melastoma malabathricum</i> Linn	Malaysia	Tikus Sprague-Dawley	5 kelompok (n=6) tikus betina (180-220 g)	OECD No. 402	Aman, tidak ada reaksi alergi dan toksik sistemik	-	Reduan et al., 2020 [6]
Ekstrak etanol <i>Galenia africana</i>	Afrika selatan	Tikus Sprague-Dawley	5 jantan (291-301 g) dan 5 betina (182-190 g), umur rata-rata 8 minggu	OECD No. 402	Aman, tidak ada reaksi iritasi, gejala toksikitas dan kematian	> 2000 mg/kgBB	Ng'uni et al., 2018 [36]
Ekstrak air-etanol <i>Garcinia mangostana</i> dan <i>Cinnamomum tamala</i>	India	Tikus Wistar	5 jantan (239-264 g) dan 5 betina (219-235 g)	OECD No. 402	Aman, tidak ada reaksi efek samping farmakologis, gejala toksikitas, dan atau perubahan perilaku	> 2000 mg/kgBB	Dodda et al., 2020 [38]
Ekstrak hidrometanolik <i>Bersama abyssinica</i>	Etiopia	Mencit Swiss albino	10 betina (25-35 g) umur 6-8 minggu, 5 ekor untuk kontrol dan 5 ekor untuk uji	OECD No. 425 dengan sedikit modifikasi	Aman, tidak ada gejala toksikitas, edema, eritema, dan kematian	> 2000 mg/kgBB	Taddese et al., 2021 [7]
Ekstrak metanol <i>Brassica carinata</i>	Etiopia	Tikus Rattus albus	10 tikus betina (200-300 g) umur 8-12 minggu, 5 ekor untuk kontrol dan 5 ekor untuk uji	OECD No. 434	Tidak ada gejala reaksi pada kulit, inflamasi atau edema, dan tidak ada kematian	> 2000 mg/kgBB	Alemu et al., 2020 [44]
Ekstrak metanol <i>Hibiscus micranthus</i>	Etiopia	Tikus Wistar albino	5 tikus (160-220 g) umur 12 minggu	OECD No. 404	-	-	Begashaw et al., 2017 [9]
Serratriin dari ekstrak resin gom <i>B.serrata</i>	India	Tikus Wistar	5 tikus umur 9 minggu	OECD No. 402	Tidak ada gejala toksikitas	>2000 mg/kgBB	Alluri et al., 2019 [39]
Ekstrak <i>Spermacoce princeae</i> , <i>Psorospermum febrifugum</i> , <i>Plectranthus caespitosus</i> , dan <i>Erlangea tomentosa</i>	Uganda	Tikus Wistar albino	14 tikus (80-120 g), Kelompok uji terdiri dari 2 ekor sedangkan kelompok kontrol terdiri dari 1 ekor	OECD No. 402	Aman, tidak ada gejala toksikitas dan kematian	> 5000 mg/kgBB	Namukobe et al., 2021 [40]
Ekstrak metanol <i>Z.scabra</i>	Etiopia	Mencit albino	3 mencit betina (25-35 g) umur 6-8 minggu	OECD No. 404	Aman, tidak ada gejala toksikitas dan kematian	-	Tekleyes et al., 2021 [45]
Ekstrak etanol <i>Punica Granatum</i> dan <i>Theobroma cacao</i>	India	Tikus Wistar	1 tikus betina dan 1 tikus jantan (8-9 minggu)	OECD No. 402	Aman, tidak ada gejala toksikitas atau kematian, hewan tidak menunjukkan perubahan patologis	>2000-5000 mg/kgBB	Madireddy et al., 2022 [41]
Fraksi etil asetat <i>A.cantoniensis</i>	Cina	Mencit Swiss albino	15 mencit (18-22 g) umur 8-10 minggu	-	Aman. tidak ada gejala toksikitas	> 5000 mg/kgBB	Zeng et al., 2016 [46]
Ekstrak <i>Euryops arabicus</i>	Saudi Arabia	Tikus Wistar	5 tikus jantan (200-230 g) dan diulang dengan 5 tikus tambahan	OECD No. 434	Aman, tidak ada gejala toksikitas dan kematian	> 2000 mg/kgBB	Abdel-Lateff., 2021 [42]
Ekstrak <i>Sphaeranthus indicus</i> dan <i>Mangifera indica</i> (Suplemen LI12542F6)	India	Tikus Wistar	5 jantan dan 5 betina	OECD No. 402	Aman, tidak ada gejala toksikitas, kematian atau temuan patologis	> 2000 mg/kgBB	Nestmann et al., 2018 [8]
Ekstrak <i>Sphaeranthus indicus</i> dan <i>Garcinia mangostana</i> (Meratrim)	India	Tikus Sprague-Dawley	10 tikus (8-10 minggu)	-	Aman, tidak ada gejala toksikitas, iritasi dermal, efek samping, atau sikap abnormal	> 2000 mg/kgBB	Saayed et al., 2015 [37]
Ekstrak metanol <i>Mangifera indica</i>	Mexico	Tikus Wistar	9 tikus betina (200-220 g), dibagi 3 kelompok (n=3)	OECD No. 402	Aman, tidak ada gejala toksikitas, penurunan berat badan, atau kematian	> 2000 mg/kgBB	Espinosa et al., 2022 [43]

sebagai hewan uji [3]. Uji toksisitas beberapa penelitian dilakukan menggunakan hewan uji tikus Sprague-Dawley [6,36,37], tikus Wistar [8,9,38-43], dan tikus *Rattus albus* [44]. Penggunaan hewan uji ini selaras dengan pedoman OECD No. 402 yang menyatakan bahwa hewan uji berupa tikus dewasa lebih disukai untuk digunakan. Biasanya hanya sedikit perbedaan sensitivitas antara tikus jantan dengan tikus betina. Namun ketika suatu kasus dimana perbedaan itu diamati, diketahui bahwa tikus betina sedikit lebih sensitif [32]. Sementara itu, sebanyak 3 penelitian lain menggunakan mencit sebagai hewan ujinya [7,45,46].

Persyaratan hewan uji lainnya menurut OECD No. 402 adalah hewan berkulit sehat yang berumur sekitar 8 hingga 10 minggu dengan berat sekitar 200 hingga 300 g untuk tikus dan variasi berat badan tidak melebihi 20% dari rata-rata berat badan [32]. Sebanyak 12 penelitian yang menggunakan tikus sebagai hewan uji, 4 diantaranya tidak mengikuti syarat bobot hewan uji dan 4 diantaranya tidak menyebutkan rentang bobot hewan uji yang digunakan. Penelitian Reduan *et al.*, 2020 menggunakan tikus betina dengan bobot 180-220 g, Ng'uni *et al.*, 2018 menggunakan tikus betina dengan bobot 182-190 g, Begashaw *et al.*, 2017 menggunakan tikus dengan bobot 160-220 g, dan Namukobe *et al.*, 2021 menggunakan tikus dengan bobot 80-120 g. Sebanyak dua penelitian tidak mengikuti syarat umur hewan uji dan sebanyak empat penelitian tidak mencantumkan rentang umur hewan uji. Penelitian Alemu *et al.*, 2020 menggunakan tikus berumur 8-12 minggu dan Begashaw *et al.*, 2017 menggunakan tikus berumur 12 minggu.

Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji juga hendaknya diperhatikan sesuai dengan persyaratan suhu, kelembaban, cahaya, dan kebisingan yang sesuai. Berdasarkan OECD No. 402, suhu untuk ruangan hewan uji harus diatur menjadi 22°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). Kelembaban setidaknya 30% dan tidak melebihi 70% kecuali selama pembersihan ruang harus sekitar 50-60%. Pencahayaan harus buatan dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Untuk pemberian makan, pakan laboratorium konvensional dapat digunakan dengan persediaan air minum yang tidak terbatas [32].

Umumnya semua penelitian menggunakan prosedur uji yang sama yaitu mengoleskan ekstrak pada kulit hewan yang sudah dicukur pada hari pertama pengujian kemudian diamati selama sekitar 14 hari namun pada penelitian Reduan *et al.*, 2019 pengujian subakut (28 hari) dilakukan secara bersamaan. Beberapa jurnal tidak menyebutkan secara rinci prosedur pengujiannya namun beberapa menjelaskan secara rinci prosedur yang digunakan sampai hewan uji dikorbankan. Pengaplikasian topikal yang sudah dilakukan pada hewan uji selanjutnya ditutup oleh *patch*

semi-oklusif atau perban selama 24 jam. Setelah selama 24 jam paparan berlangsung, *patch* kemudian dibuka lalu kulit diseka dengan air untuk menghilangkan bekas sediaan uji pada kulit. Pengamatan uji toksisitas kemudian dilakukan selama 14 hari berturut-turut.

Selama pengujian berlangsung, semua hewan uji diamati perilaku, gejala toksisitas, dan kematian. Penelitian Reduan *et al.*, 2020 mengamati setiap hari terkait kematian hewan, perubahan pada bulu, mata, membran mukosa, salivasi, tremor, konvulsi, diare, lesu, dan pola pernapasan. Berbeda halnya dengan berat badan yang diamati dan dicatat setiap minggu. Penelitian ini juga menganalisis serum biokimia dengan beberapa parameter diantaranya urea, kreatinin, alanin transaminase (ALT), alkalin fosfatase (ALP), aspartate transaminase (AST), kreatinin kinase (CK), serta protein total. Darah berfungsi sebagai media transportasi dan merupakan pembawa utama banyak obat serta xenobiotik dalam tubuh. Selain indeks serum biokimia, hematologi juga bermanfaat dalam mengevaluasi toksisitas. Komponen darah yang diamati meliputi eritrosit, leukosit, dan platelet dimana komponen ini yang pertama terpapar oleh racun. Racun dapat secara langsung merusak sel-sel yang matang dalam sirkulasi darah atau secara tidak langsung merusak prekursor sel di sumsum tulang, yang mengakibatkan pengurangan jumlah sel dalam sistem hemopoietik [6].

Histopatologi dilakukan dengan mengamati jaringan pada preparat kulit, hati, dan ginjal dengan tujuan mendapat informasi mengenai tanda toksisitas. Pada tingkat sistemik, hati dan ginjal merupakan organ tubuh yang paling terpapar oleh zat beracun dikarenakan fungsi utamanya adalah menyaring racun dari darah dan dibuang dalam bentuk feses atau urin. Penampilan kasar dan bobot dari organ-organ tersebut merupakan ukuran penting dalam menilai efek toksik suatu obat. Hati merupakan organ vital tikus yang melakukan aktivitasnya dengan menggunakan energi berupa adenosin trifosfat (ATP). ATP menurun setiap kali ada kerusakan di hati. Penurunan kadar ATP merangsang pelepasan enzim dalam jaringan, dengan demikian, meningkatkan tingkat enzim dalam serum setiap terjadi kerusakan hati. Histopatologi ini dapat digunakan sebagai uji konfirmasi dalam diagnosis toksisitas sistemik [6].

Berdasarkan hasil telaah review pada penelitian uji toksisitas akut dermal, didapatkan bahwa semua ekstrak tanaman yang diuji bersifat aman, tidak ada gejala toksisitas ataupun kematian yang teramati. Beberapa penelitian tidak mencantumkan nilai LD₅₀. Pada uji toksisitas ekstrak etanol *Galenia africana*, ekstrak air-etanol *Garcinia mangostana* dan *Cinnamomum tamala*, ekstrak hidrometanolik

Bersama abyssinica, ekstrak metanol *Brassica carinata*, ekstrak etanol *Punica granatum* dan *Theobroma cacao*, ekstrak *Euryops arabicus*, ekstrak *Sphaeranthus indicus* dan *Mangifera indica* (Suplemen LI12542F6), ekstrak resin *gom B.serrata*, ekstrak *Sphaeranthus Indicus* dan *Garcinia mangostana* (Meratrim), serta ekstrak metanol *Mangifera indica* dihasilkan nilai $LD_{50} > 2000$ mg/kgBB. Dengan nilai LD_{50} tersebut maka ekstrak-ekstrak tersebut tergolong kategori 5 GHS [35]. Sedangkan pada ekstrak *Spermaceae princeae*, *Psorospermum febrifugum*, *Plectranthus caespitosus*, dan *Erlangea tomentosa*, serta fraksi etil asetat *A. cantoniensis* yang memiliki nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kgBB tidak tergolong pada kategori 5 GHS

Kesimpulan

Uji toksisitas akut dermal adalah suatu pengujian yang melibatkan hewan percobaan untuk mendeteksi adanya efek toksik yang ditimbulkan dalam waktu singkat pada rute dermal. Data yang diperoleh dari uji tersebut dapat dijadikan salah satu aspek keamanan suatu obat. Indikator keamanan suatu obat dapat diukur dari nilai LD_{50} dan diketahui bahwa semua senyawa uji ekstrak tanaman dari beberapa penelitian aman digunakan dan dapat dijadikan sebagai dasar pengembangan obat baru.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Rektor Universitas Padjadjaran melalui Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat telah mendanai biaya publikasi artikel ini melalui Hibah Academic-Leadership Grant a.n. Prof. Dr. apt. Jutti Levita, M.Si.

Referensi

- BPOM. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Formulir Registrasi Obat Dan Produk Biologi. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2018 Tentang Perubahan Atas Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor HK.03.1.33.12.12.8195 Tahun 2012 Tentang Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik. 2018.
- BPOM. Tata Laksana Registrasi Obat. Peraturan Kepala Badan pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 24 Tahun 2017 Tentang Kriteria dan Tata Laksana Registrasi Obat. 2017.
- BPOM. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. 2014.
- Najmi A, Javed SA, Al Bratty M, Alhazmi HA. Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. *Molecules*. 2022;27(2):1–26. <https://doi.org/10.3390/molecules27020349>
- Calixto JB. The role of natural products in modern drug discovery. *An Acad Bras Cienc*. 2019;91(3):1–7. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920190105>
- Reduan FH, Shaari RM, Sayuti NSA, Mustapha NM, Abu Bakar MZ, Sithambaram S, et al. Acute and subacute dermal toxicity of ethanolic extract of *Melastoma malabathricum* leaves in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Res*. 2020;36(3):203–10. <https://doi.org/10.1007/s43188-019-00013-5>
- Taddese SM, Gurji TB, Abdulwuhab M, Aragaw TJ. Wound Healing Activities of Hydromethanolic Crude Extract and Solvent Fractions of *Bersama abyssinica* Leaves in Mice. Ullah R, editor. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2021;1–20. <https://doi.org/10.1155/2021/9991146>
- Nestmann ER, Alluri VK, Dodda S, Davis BA. Toxicological studies on the botanical supplement LI12542F6 containing extracts of *Sphaeranthus indicus* flower heads and *Mangifera indica* (mango tree) bark. *Food Sci Nutr*. 2019;7(2):817–33. <https://doi.org/10.1002/fsn3.931>
- Begashaw B, Mishra B, Tsegaw A, Shewamene Z. Methanol leaves extract *Hibiscus micranthus* Linn exhibited antibacterial and wound healing activities. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):337. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1841-x>
- Zhang J, Onakpoya IJ, Posadzki P, Eddouks M. The Safety of Herbal Medicine: From Prejudice to Evidence. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2015;316706:1–3. <https://doi.org/10.1155/2015/316706>
- Ernst E. Adverse effects of herbal drugs in dermatology. *Br J Dermatol*. 2000;143(5):923–9. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2000.03822.x>
- Vender RB. Adverse reactions to herbal therapy in dermatology. *Skin Therapy Lett*. 2003;8(3):5–8.
- Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2018;9(6):7204–18. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Charles AJ, Paul T, Mark W, Mark JS. *Immunobiology*. 7 ed. New York: Garland Science; 2008.
- Fusco M, Skaper SD, Coaccioli S, Varrassi G, Paladini A. Degenerative Joint Diseases and Neuroinflammation. *Pain Pract*. 2017;17(4):522–32.
- Hurley J V. *Acute Inflammation*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1972.
- Kaminska B. MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy—from molecular mechanisms to therapeutic benefits. *Biochim Biophys Acta- Proteins Proteomics*. 2005;1754(1–2):253–62.
- Hendrayani S-F, Al-Harbi B, Al-Ansari MM, Silva G, Aboessekhra A. The inflammatory/cancer-related IL-6/STAT3/NF-κB positive feedback loop includes AUF1 and maintains the active state of breast myofibroblasts. *Oncotarget*. 2016;7(27):41974–85. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9633>
- Henríquez-Olguín C, Altamirano F, Valladares D, López JR, Allen PD, Jaimovich E. Altered ROS production, NF-κB activation and interleukin-6 gene expression induced by electrical stimulation in dystrophic mdx skeletal muscle cells. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2015;1852(7):1410–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.03.012>
- Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian Mitogen-Activated Protein Kinase Signal Transduction Pathways Activated by Stress and Inflammation. *Physiol Rev*. 2001;81(2):807–69. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.807>
- Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and *acne vulgaris*: a brief look at the latest updates. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2018;32(2):5–14. <https://doi.org/10.1111/jdv.15043>
- Zaenglein AL, Pathy AL, Schlosser BJ, Alikhan A, Baldwin HE, Berson DS, et al. Guidelines of care for the management of *acne vulgaris*. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(5):945–73. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.12.037>
- Martel JL, Miao JH, Badri T. *Anatomy, Hair Follicle*. Treasure Island (FL): StatPearls; 2021.

- [24]. Tanghetti EA. The role of inflammation in the pathology of acne. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2013;6(9):27–35.
- [25]. Kim J, Ochoa M-T, Krutzik SR, Takeuchi O, Uematsu S, Legaspi AJ, et al. Activation of Toll-Like Receptor 2 in Acne Triggers Inflammatory Cytokine Responses. *J Immunol*. 2002;169(3):1535–41.
- [26]. Lee SE, Kim J-M, Jeong SK, Jeon JE, Yoon H-J, Jeong M-K, et al. Protease-activated receptor-2 mediates the expression of inflammatory cytokines, antimicrobial peptides, and matrix metalloproteinases in keratinocytes in response to *Propionibacterium acnes*. *Arch Dermatol Res*. 2010;302(10):745–56. <https://doi.org/10.1007/s00403-010-1074-z>
- [27]. Peyravian N, Deo S, Daunert S, Jimenez JJ. The Anti-Inflammatory Effects of Cannabidiol (CBD) on Acne. *J Inflamm Res*. 2022;15:2795–801. <https://doi.org/10.2147/JIR.S355489>
- [28]. Habeshian KA, Cohen BA. Current Issues in the Treatment of Acne Vulgaris. *Pediatrics*. 2020;145(Supplement 2):S225–30. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-2056L>
- [29]. Moradi Tuchayi S, Alexander T, Nadkarni A, Feldman SR. Interventions to increase adherence to acne treatment. *Patient Prefer Adherence*. 2016;10:2091–6. <https://doi.org/10.2147/PPA.S117437>
- [30]. Arulseelan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, et al. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;5276130:1–15. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
- [31]. Ravipati AS, Zhang L, Koyyalamudi SR, Jeong SC, Reddy N, Bartlett J, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC Complement Altern Med*. 2012;12(1):173. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-173>
- [32]. OECD. Test No. 402: Acute Dermal Toxicity. OECD; 2017. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4).
- [33]. OECD. Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion. OECD; 2002.
- [34]. OECD. OECD Guideline for Testing of Chemicals Proposal for A New Draft Guideline 434 : Acute Dermal Toxicity – Fixed Dose Procedure. 2004.
- [35]. OECD. Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. OECD; 2008. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4).
- [36]. Ng'uni T, Klaasen JA, Fielding BC. Acute toxicity studies of the South African medicinal plant *Galenia africana*. *Toxicol Reports*. 2018;5:813–8. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.08.008>
- [37]. Saiyed ZM, Sengupta K, Krishnaraju A V, Trimurtulu G, Lau FC, Lugo JP. Safety and toxicological evaluation of Meratrim®: An herbal formulation for weight management. *Food Chem Toxicol*. 2015;78:122–9. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.010>
- [38]. Dodda S, Alluri VK, Golakoti T, Sengupta K. Acute, Subacute, and Genotoxicity Assessments of a Proprietary Blend of *Garcinia mangostana* Fruit Rind and *Cinnamomum tamala* Leaf Extracts (CinDura®). *J Toxicol*. 2020;2020:1–15. <https://doi.org/10.1155/2020/1435891>
- [39]. Alluri VK, Dodda S, Kilari EK, Golakoti T, Sengupta K. Toxicological Assessment of a Standardized *Boswellia serrata* Gum Resin Extract. *Int J Toxicol*. 2019;38(5):423–35. <https://doi.org/10.1177/1091581819858069>
- [40]. Namukobe J, Sekandi P, Byamukama R, Murungi M, Namboze J, Ekyibetenga Y, et al. Antibacterial, antioxidant, and sun protection potential of selected ethno medicinal plants used for skin infections in Uganda. *Trop Med Health*. 2021;49(1):49. <https://doi.org/10.1186/s41182-021-00342-y>
- [41]. Madireddy RK, Alluri KV, Somepalli V, Golakoti T, Sengupta K. Toxicological Assessments of a Proprietary Blend of *Punica granatum* Fruit Rind and *Theobroma cacao* Seed Extracts: Acute, Subchronic, and Genetic Toxicity Studies. Moretti M, editor. *J Toxicol*. 2022;1–14. <https://doi.org/10.1155/2022/3903943>
- [42]. Abdel-Lateff A, Abdel-Naim AB, Alarif WM, Algandaby MM, Alburae NA, Alghamdi AM, et al. *Euryops arabicus* Promotes Healing of Excised Wounds in Rat Skin: Emphasis on Its Collagen-Enhancing, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities. Wang M, editor. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/8891445>
- [43]. Espinosa-Espinosa L, Garduño-Siciliano L, Rodríguez-Canales M, Hernández-Portilla LB, Canales-Martínez MM, Rodríguez-Monroy MA. The Wound-Healing Effect of Mango Peel Extract on Incision Wounds in a Murine Model. *Molecules*. 2022;27(1):259. <https://doi.org/10.3390/molecules27010259>
- [44]. Alemu BK, Ayalew Getahun K, Kahaliw W. In vitro Antioxidant and in vivo Wound Healing Activities of the 80% Methanol Extract and Solvent Fractions of Seeds of *Brassica carinata* A. Braun (Brassicaceae) in Mice. *J Exp Pharmacol*. 2020;12:463–74. <https://doi.org/10.2147/JEP.S278622>
- [45]. Tekleyes B, Huluka SA, Wondu K, Wondmkun YT. Wound Healing Activity of 80% Methanol Leaf Extract of *Zehneria scabra* (L.f) Sond (Cucurbitaceae) in Mice. *J Exp Pharmacol*. 2021;13:537–44. <https://doi.org/10.2147/JEP.S303808>
- [46]. Zeng Q, Xie H, Song H, Nie F, Wang J, Chen D, et al. In Vivo Wound Healing Activity of *Abrus cantoniensis* Extract. Evidence-Based Complement Altern Med. 2016;2016:1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/6568528>



Copyright © 2021 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)