

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Berenuk (*Crescentia cujete L.*)

Buah berenuk dikenal juga sebagai *calabash tree* adalah tanaman yang memiliki banyak manfaat dalam bidang pengobatan. Pohon ini memiliki tinggi sekitar 6-10m, dengan batang pendek dan panjang, serta mahkota terbuka yang khas. Daunnya tumbuh berkerumun dan bunga-bunganya tumbuh dicabang besar atau langsung pada batang. Daunnya memiliki panjang 56 cm dan lebar 2-3 cm. Buah berenuk bulat atau lonjong, berwarna hijau, halus, keras. Buah berenuk memiliki panjang 15-20 cm dan lebar 10-18cm, berisi seperti bubur putih (Michael, 2004).



Gambar 2.1. Buah berenuk (Jiedle, 2020).

Berenuk (*Crescentia cujete L.*) telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Mulai dari daun, daging buah, kulit batang maupun akarnya sering kali digunakan masyarakat untuk mengobati diare, sakit perut, flu, bronchitis, batuk, asma, urethritis, ekspektoran, antitusif, dan pencahar (Parvin *et al.*, 2015).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Berenuk.

Taksonomi tanaman berenuk menurut (Backer *et al.*, 1963) adalah sebagai berikut : Kingdom: Plantae; Divisi: Tracheophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo ; Lamiales; Famili: Bignoniaceae; Genus: Crescentia; Spesies : *Crescentia cujete L.* *Crescentia cujete L.* memiliki penamaan yang berbeda di setiap wilayahnya. Di daerah Sulawesi buah ini dikenal dengan nama bila atau maja, di Madura terkenal dengan nama maos, di Melayu dikenal dengan nama bila sedangkan di Nusa Tenggara terkenal dengan sebutan kabila (Fatmawati, 2015).

2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia Buah Berenuk.

Terdapat beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder baik pada bagian daun, kulit batang maupun daging buah. Pada bagian daging buah berenuk mengandung saponin, flavonoid, fenol, tannin. Buah berenuk juga dapat menjadi senyawa obat anti inflamasi dan sebagai antibiotik dalam mengobati penyakit (Ejelonu *et al.*, 2011).

a. Saponin

Saponin memiliki kemampuan untuk menghasilkan busa ketika dilarutkan dalam air, saat saponin bereaksi dengan air senyawa turunannya mengalami hidrolisis (Nugrahani dkk., 2016). Busa yang muncul dalam pengujian saponin adalah glikosida yang mengikat air dalam sampel melalui gugus polar dan memiliki bagian non-polar yang bersifat hidrofobik, sehingga membentuk busa (Khadijah dkk., 2017).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon, biasanya ditemukan dalam tumbuhan. Senyawa ini berperan sebagai pigmen tanaman yang memberikan warna merah dan biru pada bunga, sedangkan pigmentasi kuning pada kelopak digunakan untuk menarik hewan penyerbuk. Flavonoid tersebar hampir di seluruh bagian tumbuhan, termasuk buah, akar, daun, dan kulit batang (Worotikan, 2011).

Flavonoid memiliki beragam efek pada organisme, salah satunya sebagai senyawa pereduksi yang efektif mampu menghambat reaksi oksidasi, serta berperan sebagai penangkap radikal hidroksil dan superoksida. Hal ini membuatnya mampu melindungi membran lipid dari kerusakan akibat reaksi oksidatif (Parvin dkk., 2015).

c. Fenol

Fenol merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari komponen seperti quinon, tannin, lignin. Senyawa fenol merupakan turunan dari fenilpropanoid. Proses sintesis senyawa metabolit sekunder dimulai ketika tanaman menyelesaikan proses fotosintesis untuk menghasilkan karbohidrat. Karbohidrat kemudian dipecah melalui jalur fosfat pentosa dan diubah menjadi gula yang kemudian menjadi m-inositol (Fhaizal dkk., 2018).

d. Tannin

Tannin dapat bereaksi dengan $FeCl_3$ untuk membentuk senyawa kompleks yang menghasilkan warna biru kehitaman (Mirah dkk., 2016). Biosintesis tannin terjadi melalui hidrolisis jalur sikimat menjadi asam galat. Asam galat kemudian

terurai menjadi dua senyawa, yaitu *monogalloylglucose* dan *galloyl quinic acids* (turunan asam galat). *Monogalloylglucose* kemudian mengalami degradasi menjadi pentagalloylglucose yang akan menghasilkan galotanin dan elagitanin (Fhaizal dkk., 2018).

2.2 Fermentasi

Fermentasi adalah proses kimia dimana substrat organik mengalami perubahan melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Suprihatin, 2010). Proses fermentasi dibutuhkan starter mikroba yang akan ditumbuhkan dalam substrat. Starter merupakan populasi mikroba yang siap untuk diinokulasikan pada media fermentasi (Prabowo, 2011). Fermentasi dapat dilakukan secara spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan terjadi tanpa penamabahan mikroorganisme starter atau ragi dalam prosesnya, sedangkan fermentasi tidak spontan melibatkan penamabahan mikroorganisme starter atau ragi (Herawati, 2011).

Mikroorganisme tumbuh dan berkembang secara aktif merubah bahan yang difermentasikan menjadi produk yang diharapkan selama proses fermentasi (Suprihatin, 2010). Kondisi optimal dari proses fermentasi tergantung pada jenis organisme yang digunakan (Sulistyaningrum, 2008). Menurut Hidayat dan Suhartini (2013), faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi mencakup suhu, pH awal fermentasi, inokulum, substrat dan kandungan nutrisi medium.

2.2.1 Tujuan Fermentasi

Fermentasi bertujuan merubah substrat menjadi produk tertentu seperti yang diharapkan (Iglesias *et al.*, 2014). Fermentasi di pakai untuk meningkatkan

nilai gizi yang ada pada produk tersebut. Olahan fermentasi mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces cerevisiae*, vitamin A, vitamin B kompleks, vitamin K dan probiotik. Adanya bakteri baik pada hasil olahan fermentasi, membuat kandungannya lebih kompleks dan baik untuk kesehatan tubuh (Priherdityo, 2016).

2.3 Tikus Putih

Menggunakan hewan coba sebagai subjek dalam penelitian dan uji coba dapat meningkatkan kesejahteraan hewan dan manusia. Contohnya pada pengembangan vaksin, obat, alat diagnosis, penilain toksisitas, percobaan klinis obat, penyempurnaan teknik bedah, dan berbagai bidang lainnya (Sinclair *et al.*, 2019). Hewan coba memiliki peran yang sangat penting dalam kemajuan ilmu pengetahuan dan memberikan kontribusi dalam menemukan solusi untuk permasalahan biomedis, baik yang berkaitan dengan manusia maupun hewan (Andersen and Winter, 2019). Sebagai hewan model, tikus harus memenuhi kriteria-kriteria tertentu, seperti memiliki galur yang serupa, jenis kelamin yang spesifik, rentang usia yang tidak terlalu berbeda, berat badan yang seragam, menunjukkan keadaan fisik yang sehat seperti mata yang terang, aktivitas motorik yang normal, bulu yang rapi, dan harus dipilih sesuai dengan tujuan penelitian. (BPOM, 2014).

Tikus putih sering dipilih sebagai subjek penelitian biomedis karena kesamaan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme, dan biokimia yang dekat dengan

manusia. Tikus putih yang dimaksud adalah tikus dengan seluruh tubuh berwarna putih dan mata berwarna merah muda (Margaretha, 2016).

Tikus *Sprague Dawley* sering dipilih dalam penelitian karena memiliki tingkat reproduksi yang cepat, tempramen yang tenang, dan relatif mudah ditangani. Tikus *Sprague Dawley* dapat hidup hingga usia 3,5 tahun dan memiliki berat dewasa sekitar 250 – 300 g. Namun, berat tikus betina dan jantan dapat mencapai 450 – 520 g (Andreollo *et al.*, 2012).



Gambar 2.2. Tikus *Sprague Dawley* usia 10 minggu (Idah *et al.*, 2020).

2.4. Darah

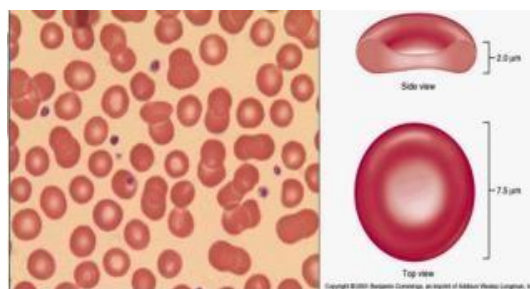
Darah merupakan jaringan yang terletak pada pembuluh darah. Warna merah pada darah dipengaruhi oleh kadar oksigen dan karbondioksida yang ada di dalamnya. Darah memindahkan fungsi sistem imun dan bertujuan untuk mempertahankan tubuh dari berbagai penyakit. Darah juga mengangkut bahan-bahan sisa metabolisme, obat-obatan dan bahan kimia asing dari hati untuk diekskresikan ke ginjal dan dikeluarkan bersama urine (Jamaluddin, 2007).

Darah merupakan bagian penting dalam transport nutrisi. Arteri mengalirkan darah ke organ dan jaringan tubuh, sedangkan vena membawa darah dari organ atau jaringan tubuh kembali ke jantung. Darah memiliki karakteristik isotonik, memiliki tekanan osmotik koloid, dan viskositas yang ditimbulkan

mempengaruhi susunan dan bentuk eritrosit. Secara umum fungsi darah adalah sebagai media pengirim bahan makanan atau media transportasi, memelihara suhu tubuh dan keseimbangan asam basa dalam tubuh (Evelyn, 2009).

2.4.1 Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah adalah sel terbanyak dalam darah perifer. Eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, ukuran normal eritrosit pada manusia berkisar 7,4-8 mikron. Eritrosit bersifat elastis sehingga eritrosit dapat melewati kapiler darah yang ukuran diameternya lebih kecil dibandingkan diameter eritrosit, namun hal tersebut merupakan penyebab trauma pada eritrosit. Kadar normal eritrosit pada tikus jantan berkisar antara 7,27-9,64 ($10^6/\mu\text{l}$). Sedangkan pada tikus betina berkisar antara 7,07-9,03 ($10^6/\mu\text{l}$) (Sa'adah, 2018).



Gambar 2.3. Morfologi eritrosit (Wahyu, 2017).

a. *Mean corpuscular volume* (MCV)

Mean corpuscular volume (MCV) adalah volume rata-rata eritrosit, normositik merupakan ukuran eritrosit normal dengan rata – rata nilai MCV normal. Rata – rata MCV normal pada tikus putih berkisar antara 48,9-57,9 Femtoliter (fL). Makrositik merupakan keadaan diameter eritrosit melebihi MCV normal. Makrositik disebabkan oleh kegagalan maturasi nukleus pada eritropoiesis. Kekurangan vitamin B12 atau folat mengakibatkan gangguan dalam

pembelahan mitosis di sumsum tulang. Peningkatan stimulasi eritropoietin menyebabkan peningkatan dalam sintesis hemoglobin saat sel berkembang. Akibatnya, eritrosit menjadi lebih besar dari ukuran normal. Penyebab makrositik adalah penurunan sintesis globulin dan gangguan pada mitokondria yang memengaruhi sintesis heme dalam molekul hemoglobin (Andika dan Puspitasari, 2019).

b. *Mean corpuscular hemoglobin (MCH)*

Mean corpuscular hemoglobin (MCH) adalah kadar rata-rata hemoglobin dalam eritrosit. MCH dapat digunakan untuk mendiagnosa anemia. Penurunan kadar MCH mengindikasikan anemia mikrositik. Peningkatan kadar MCH mengindikasikan anemia akibat defisiensi besi. Kisaran normal kadar MCH pada tikus adalah sekitar 17,1-20,4 Pikogram (pg) (Laeto *et al.*, 2022).

c. *Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)*

Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) menunjukkan variasi warna eritrosit. Normokromia merupakan keadaan normal eritrosit ditunjukkan dengan rata – rata kadar MCHC normal. Rata – rata kadar MCHC pada tikus antara 32,9-37,5 g/dL. Eritrosit normal memiliki warna merah dengan daerah tengah (*Central pallor*) berwarna lebih pucat. Warna merah pada eritrosit disebabkan oleh keberadaan hemoglobin didalamnya. Daerah pucat adalah bagian tipis dari sel yang memiliki diameter kurang dari sepertiga dari eritrosit. Hipokromia terjadi ketika kadar MCHC eritrosit berada dibawah nilai normal, dengan daerah pucat (*Central pallor*) melebihi sepertiga dari diameter sel. Kondisi ini disebabkan oleh kurangnya cadangan besi yang mengakibatkan

penurunan sintesis hemoglobin. Hiperkromia merupakan keadaan eritrosit dengan rata – rata kadar MCHC lebih dari normal (Andika dan Puspitasari, 2019).

Berikut adalah tabel nilai rata-rata parameter MCV, MCH, MCHC pada tikus *Sprague Dawley* (Darelanko *et al.*, 2014).

Tabel 2.1 Nilai rerata parameter MCV, MCH, MCHC pada tikus (Darelanko *et al.*, 2014)

Parameter (satuan)	Umur 10-12 Minggu	Umur 18-20 Minggu	Umur 32-34 Minggu	Umur 58-60 Minggu
MCV (fl)	53,0 – 63,0	50,0 – 60,0	45,0 – 60,0	46,0 – 58,0
MCH (pg)	19,0 – 22,0	16,0 – 20,0	17,0 – 21,0	16,0 – 21,0
MCHC (g/dl)	33,0 – 38,0	31,0 – 38,0	31,0 – 38,0	31,0 – 38,0

2.4.2 Hemoglobin

Hemoglobin merupakan komponen utama pada sel darah merah atau eritrosit yang terdiri dari globin dan heme terdiri dari cincin porfirin dengan satu atom besi (ferro). Globin terdiri atas 4 rantai polipeptida yaitu 2 rantai polipeptida alfa dan 2 rantai polipeptida beta. Rantai polipeptida alfa terdiri dari 141 asam amino dan rantai polipeptida beta terdiri dari 146 asam amino (Norsiah, 2015).

Fungsi fisiologi utama hemoglobin adalah mengatur pertukaran oksigen dengan karbondioksida di dalam jaringan tubuh. Mengambil oksigen dari paru-paru kemudian dibawa ke seluruh tubuh untuk dipakai sebagai bahan bakar. Membawa karbondioksida dari jaringan-jaringan tubuh sebagai hasil metabolisme ke paru- paru untuk dibuang (Erdina, 2017).

2.5 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut adalah uji yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada hewan model dan memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberikan informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji. Uji toksisitas diuji untuk menentukan keamanan suatu senyawa uji bagi manusia (BPOM, 2014).

Efek toksisitas yang ditimbulkan suatu zat sangat bervariasi, tergantung dari zat, target organ, mekanisme aksi, dan besarnya dosis. Awal dari terjadinya efek toksik karena adanya interaksi biokimiawi antara zat yang bersifat toksik atau metabolit aktifnya dengan reseptor pada makhluk hidup. Perubahan yang terjadi pada reseptor ini bisa berupa stimulus positif atau negatif (Priyanto, 2010). Efek toksik terbagi menjadi 2, yaitu interaksi langsung (toksik intraseluler) dan tidak langsung (toksik ekstraseluler). Toksik intraseluler dimulai dengan interaksi langsung antara zat kimia atau metabolitnya dengan reseptor didalam sel. Toksisitas ekstraseluler terjadi secara tidak langsung dan memengaruhi lingkungan disekitar sel target (Priyanto, 2010).

Nilai potensi toksisitas akut yang dinyatakan dalam *lethal dose 50* (LD50) yang digunakan sebagai parameter dalam uji toksisitas akut oral. Toksisitas akut oral bertujuan untuk mengidentifikasi dampak toksik yang timbul dalam waktu singkat setelah pemberian substansi uji dalam dosis tunggal atau berulang dalam rentang 24 jam. Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mengenali karakteristik toksisitas intrinsik suatu zat, mengidentifikasi organ yang terpengaruh, memperoleh informasi awal yang dapat membantu menentukan dosis

yang aman, merancang uji toksisitas lanjutan, serta memperoleh nilai LD50 dari bahan atau sediaan yang diuji (BPOM, 2022). Berikut adalah tabel penggolongan toksisitas sediaan uji berdasarkan nilai LD50 (BPOM RI, 2022) :

Tabel 2.2 Penggolongan sediaan uji pada tikus (BPOM RI, 2022)

Tingkat Toksisitas	LD ₅₀ Oral	Klasifikasi
1	≤ 1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50mg	Toksik
3	50-500 mg	Toksik sedang
4	500-5000mg	Toksik ringan
5	5-15g	Praktis tidak toksik
6	≥15 g	Relatif tidak membahayakan