

UJI TOKSISITAS AKUT FERMENTASI BUAH BERENUK (*Crescentia cujete* L.) TERHADAP PROFIL ERITROSIT DAN LEUKOSIT PADA TIKUS *Sprague Dawley*

Rosalinda Clarista Teku

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

email: indateku@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to determine the acute toxicity of fermented berenuk fruit (*Crescentia cujete* L.) on the erythrocyte and leukocyte profile of white Sprague Dawley rats. The type of research carried out was experimental using 20 male white Sprague Dawley rats divided into 4 treatments and 5 replications. The treatment groups were P1: as control, P2: giving fermented berenuk fruit at a dose of 50 mg/kg BW, P3: giving fermented berenuk fruit at a dose of 500 mg/kg BW, P4: fermenting berenuk fruit at a dose of 5000 mg/kg BW for 14 days using a probe. orally. On the 15th day, blood was taken from the mice via the orbital vein, then the erythrocyte index was examined. The data obtained was tested using ANOVA, the results of the analysis showed that it was not significant ($p > 0.05$). The conclusion received is that there is no toxicity effect caused by the fermentation of berenuk fruit (*Crescentia cujete* L.) on the erythrocyte and leukocyte profile of white Sprague Dawley rats.

Keywords: Berenuk fruit fermentation (*Crescentia cujete* L.), toxicity, erythrocyte and leukocyte profile, Sprague dawley white Rat

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan flora dan fauna. Terdapat lebih dari 30.000 jenis flora yang berkhasiat sebagai obat. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional telah dilakukan oleh masyarakat Indonesia, tetapi belum terdokumentasi dengan baik (Widjaja, 2014). Salah satu tumbuhan yang dipakai sebagai obat adalah berenuk. Berenuk (*Crescentia cujete* L.) merupakan tanaman yang tumbuh di wilayah tropis, seperti Amerika Tengah, Kamerun, serta beberapa negara bagian Afrika (Mahbub, 2011). Tumbuhan ini kemudian tersebar ke berbagai wilayah di dunia termasuk Indonesia. Berenuk mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder di bagian daun, kulit batang dan daging buah. Buah berenuk mengandung zat-zat seperti

saponin, flavonoid, fenol, tannin, dan cardenolid (Ejlonu *et al.*, 2011). Buah berenuk dapat membantu mengatasi berbagai masalah kesehatan seperti diare, sakit perut, flu, bronchitis, batuk, asma, urethritis, ekspektoran, antitusif, dan pencahar (Hasanah *et al.*, 2016).

Fermentasi adalah proses pemecahan gula menjadi alkohol dan asam laktat dengan bantuan mikroorganisme (Nurkholis, 2019). Fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jumlah mikroba, pH, substrat, suhu, alkohol, oksigen, garam, air, dan durasi fermentasi. Lama fermentasi yang dilakukan berpengaruh terhadap produk yang dihasilkan, karena berkaitan erat dengan periode inkubasi bakteri asam laktat (Widyantara, 2020).

Penggunaan fermentasi buah berenuk belum diketahui tingkat keamanannya. Oleh karena itu

harus dilakukan pengujian toksisitas untuk mengetahui derajat toksisitas yang diakibatkan oleh fermentasi buah berenuk (Mulyani1, 2020).

Uji toksisitas akut merupakan tata cara tertentu yang di rancang untuk mendeteksi toksisitas bawaan suatu zat dan mendapatkan informasi tentang nilai LD50. LD50 ialah pengujian dosis yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan uji dalam waktu singkat (BPOM, 2014). Toksisitas adalah sifat relatif dari suatu zat yang dapat menyebabkan kerusakan pada struktur atau fungsi bahkan bisa menyebabkan kematian (Frank, 1995). Pengujian toksisitas akut bertujuan untuk mengidentifikasi dampak pemberian dosis tunggal suatu senyawa pada hewan coba. Senyawa yang diuji diberikan kepada hewan coba dengan variasi dosis yang berbeda, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari (BPOM, 2014).

Toksisitas dapat menimbulkan pengaruh pada eritrosit dan leukosit. Dampak toksisitas pada eritrosit berupa sindroma saluran pencernaan, anemia, konsekuensi pathophysiologis, gangguan pada sistem saraf pusat dan perubahan tingkah laku (Ardillah, 2016). Hal tersebut karena toksisitas dapat mengakibatkan penurunan masa hidup eritrosit dan meningkatkan kerapuhan membran eritrosit. Sehingga, terjadi penurunan konsentrasi hemoglobin dalam sirkulasi darah (Patrick, 2006). Dampak toksisitas pada leukosit seperti leukositosis, leukopenia, dan degenerasi. Dampak pada leukosit terjadi karena timbulnya abnormalitas pada pembentukan leukosit dan juga sistem imun. Hal ini menyebabkan peningkatan yang signifikan pada leukosit (Shah *et al.*, 2007). Jika dilakukan uji toksisitas pada suatu senyawa maka dapat diperoleh data toksisitas. Data yang diperoleh dari hasil uji toksisitas dapat memberikan informasi tentang potensi bahaya dan membantu dalam mengidentifikasi kemungkinan efek samping yang disebabkan oleh senyawa uji pada pasien (Hodgson dan Levi, 2000). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan uji toksisitas akut terhadap profil eritrosit dan leukosit pasca

pemberian fermentasi buah berenuk pada tikus *Sprague Dawley*

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian dilakukan pada Januari hingga Februari 2024.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba, tempat makan dan minum, timbangan, pipet eritrosit, kamar hitung, aspirator, pipet leukosit, cover glass, mikroskop, tabung EDTA.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fermentasi buah berenuk, tikus *Sprague Dawley* jantan, pakan hewan coba, air mineral, reagen Hayem, reagen Turk, gloves, spuit, tisu, sampel darah, 400 gram buah berenuk.

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *post test* menggunakan complete *random sampling* (CRD). Tikus *Sprague Dawley* dipilih secara random lalu dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dan 5 ulangan. Rata-rata perhitungan ulangan menggunakan rumus Federer yaitu : $(n-1)k \geq 16$. Ket : n = jumlah ulangan, k = jumlah kelompok. Hasil perhitungan Rumus Federer sebagai berikut : $(n-1) \geq 16 = 4(n-1) \geq 16 = 4n-4 \geq 16 = 4n \geq 16 + 4 = 20 \rightarrow n = 5$ (ulangan).

Penelitian ini menggunakan 3 variabel, yaitu variabel terikat yang meliputi profil eritrosit dan leukosit. Variabel bebas meliputi umur, berat tikus, dan jenis kelamin tikus. Variabel kontrol meliputi fermentasi buah berenuk dan dosis.

Prosedur Penelitian

Pengambilan sampel dalam penelitian ini pada akhir periode riset (*Post Test*). Masing-masing tikus *putih Sprague Dawley* diambil dan dipilih secara acak kemudian dilakukan anestesi menggunakan ketamin 50 mg/kg BB. Pengambilan darah menggunakan mikrohematokrit dan dijaga agar tidak terjadi hemolisis. Darah diambil dari vena *ophthalmica* (pleksus *retro-orbitalis*) pada mata. Darah

disimpan dalam tabung EDTA. Tabung disimpan dalam lemari es suhu 4°C.

Pembuatan fermentasi buah berenuk yaitu buah dicuci dengan air mengalir lalu dikupas. Daging buah dipotong kecil – kecil dan dihaluskan kemudian difermentasi dengan komposisi sebagai berikut : air : buah : gula : pektinase (Pectinex® Ultra AFP, Novozymes, London, UK) dengan perbandingan berat 1.000 : 400 : 40 : 40. Campuran disimpan dalam botol pada suhu 25°C selama 30 hari. Kain kasa digunakan sebagai penutup mulut botol. Campuran tersebut diaduk secara manual setiap 24 jam Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan yang berumur 6 bulan dengan berat 300 gram yang dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Hewan tersebut diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan dan selama proses adaptasi dilakukan pengamatan kondisi umum. Hewan uji diberikan pakan tanpa batas (*ad libitum*) dan air putih. Sebelum perlakuan, tikus dipuaskan terlebih dahulu sebelum diberikan bahan uji.

Dosis uji pada uji toksisitas akut terdapat dalam beberapa tingkatan dosis yang akan diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok. Dosis yang diberikan antara lain : 5 mg/kg BB , 50 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini yaitu K1 = control, K2 = dosis fermentasi buah berenuk 5 mg/kg BB, K3= dosis fermentasi buah berenuk 50 mg/kg BB, dan K4 = dosis fermentasi buah berenuk 5000 mg/kg BB.

Tikus *Sprague Dawley* dipuaskan sebelum diberikan perlakuan. Tikus ditimbang dan diberikan sediaan uji. Sediaan uji diberikan dalam dosis tunggal dengan menggunakan metode sonde oral. Senyawa uji diberikan 1 kali 1 hari sesuai dosis selama 14 hari kemudian dilakukan pengambilan sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan pada hari ke 15.

Darah diambil ke dalam pipet eritrosit hingga tanda 0,5 kemudian tambahkan larutan hayem dengan cara dihisap hingga tanda 101. Tutup kedua ujung pipet menggunakan ibu jari dan jari

tengah, kemudian dihomogenkan dengan cara kocok membentuk angka 8 sekitar 2 menit. Larutan Hayem yang terdapat di bagian kapiler dibuang dengan cara diteteskan sebanyak 3 tetes. Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan menempelkan ujung pipet pada cover glass. Kamar hitung yang sudah terisi diletakkan di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x lalu hitung jumlah eritrosit. Hasil perhitungan dikalikan 10.000 (Fadilah *et al.*, 2022).

Sampel darah dihisap ke dalam pipet leukosit sampai tanda 0,5 tambahkan larutan Turk dengan cara dihisap sampai tanda 11. Tutup kedua ujung pipet dengan ibu jari dan jari tengah, lalu dihomogenkan dengan cara kocok membentuk angka 8 selama kurang lebih 2 menit. Larutan Turk yang terdapat di bagian kapiler dibuang dengan cara diteteskan sebanyak 3 tetes. Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan menempelkan ujung pipet pada cover glass. Kamar hitung yang sudah terisi diletakkan di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x lalu hitung jumlah leukosit. Hasil perhitungan dikalikan 50 (Fadiah *et al.*, 2022).

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan jumlah eritrosit dan leukosit pada tikus *Sprague Dawley* dianalisis menggunakan uji ANOVA. Taraf signifikansi 5%. Uji statistik dilakukan dengan software SPSS versi 26

HASIL

Hasil pengujian toksisitas akut fermentasi buah berenuk dengan beberapa dosis perlakuan terhadap jumlah eritrosit dan leukosit tikus *Sprague dawley* memperlihatkan rerata eritrosit pada P1 = 6,48, P2 = 6,47, P3 = 6,55, P4 = 6,51. Rerata leukosit pada P1 = 7,04, P2 = 7,14, P3= 7,04, P4 = 7,18. Hasil tersebut selanjutnya diuji dengan uji Anova sehingga didapatkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian fermentasi buah berenuk terhadap jumlah eritrosit dan leukosit tikus *Sprague Dawley* ($p > 0,05$) (Tabel 4.1). Tidak adanya perbedaan yang signifikan ditunjukkan oleh nilai signifikansi eritrosit dan leukosit berturut-turut 0,75 dan 0,87. (**Tabel 4.1**)

Tabel 4.1 Hasil uji Anova uji toksisitas akut fermentasi buah berenuk terhadap jumlah eritrosit dan leukosit pada tikus *Sprague Dawley*

Parameter	Kelompok				P
	P1	P2	P3	P4	
Eritrosit	6.48	6.47	6.55	6.51	0.75
	± 0.50	± 0.46	± 0.42	± 0.48	
Leukosit	7.04	7.14	7.04	7.18	0.87
	± 0,65	± 0.61	± 0.43	± 0.55	

PEMBAHASAN

Uji toksisitas akut adalah metode untuk mengidentifikasi dampak toksik yang timbul dalam waktu singkat setelah pemberian suatu zat dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang dilakukan dalam rentang waktu kurang dari 24 jam (BPOM, 2014). Penelitian toksisitas akut dilakukan dengan memeriksa gejala klinis dan dampak toksik yang ditimbulkan oleh fermentasi buah berenuk terhadap jumlah eritrosit dan leukosit yang dinilai berdasarkan nilai LD50. LD50 merupakan dosis yang pada tingkat statistik dapat menyebabkan kematian pada 50% hewan coba. Penentuan LD50 dilakukan dengan memberikan dosis obat yang bervariasi kepada sekelompok hewan coba dimana setiap hewan diberikan dosis tunggal (Sulastra *et al.*, 2020). Hasil pengujian toksisitas akut menunjukkan bahwa pemberian fermentasi buah berenuk dalam beberapa dosis tidak mempengaruhi jumlah eritrosit dan leukosit pada tikus *Sprague dawley*.

Fermentasi merupakan proses pemecahan gula menjadi alkohol dan asam laktat dengan bantuan mikroorganisme (Nurkholis, 2019). Proses fermentasi pada buah umumnya mengakibatkan penurunan kandungan nutrisi dan senyawa biokimia namun dapat meningkatkan konsentrasi vitamin dan lemak serta mempertahankan stabilitas nutrisi tersebut dan memperpanjang masa simpan (Samtiya, 2021). Fermentasi juga cenderung menurunkan tingkat pH dan mengurangi jumlah logam berat dalam buah-buahan dan mencegah oksidasi beberapa nutrisi (Wilujeng *et al.*, 2023). Proses fermentasi buah berenuk melibatkan senyawa berupa asam organik, serat, vitamin, mineral dan antioksidan. Selama proses ini mikroorganisme

seperti ragi atau bakteri mengubah komponen-komponen tersebut menjadi bentuk baru yang mencakup asam organik, alkohol, dan senyawa lainnya (Nurkholis, 2019). Mekanisme toksisitas terhadap profil eritrosit dan leukosit dapat bervariasi tergantung pada senyawa yang terbentuk selama fermentasi. Kadar alkohol yang tinggi dalam produk fermentasi dapat memiliki efek toksik pada sel darah yang menyebabkan kerusakan pada membran sel. Tingkat asam organik yang tinggi dapat menyebabkan perubahan bentuk sel, penurunan fungsi oksigenasi dan lisis eritrosit dan juga dapat mengganggu fungsi kekebalan tubuh sehingga mempengaruhi kemampuan leukosit untuk melawan infeksi. Selain itu beberapa senyawa metabolit yang dihasilkan selama fermentasi dapat merusak DNA dan mengganggu jalur metabolisme sel yang dapat mempengaruhi Kesehatan eritrosit dan leukosit (Nurdin, 2015). Fermentasi pada buah berenuk belum diketahui keamanannya, sehingga dilakukan pengujian toksisitas untuk mengetahui derajat toksisitas yang diakibatkan oleh fermentasi buah berenuk (Mulyani, 2020).

Buah berenuk mengandung beragam nutrisi yang berperan penting seperti flavonoid, saponin, tannin, hidrogen sianida, fenol, kardenolida, asam tartarat, pitosterol, dan kolin (Wilujeng *et al.*, 2023). Senyawa tersebut membantu menjaga kesehatan serta fungsi eritrosit dan leukosit. Kandungan zat besi dalam buah berenuk dapat membantu dalam pembentukan hemoglobin yang meningkatkan jumlah eritrosit dan mencegah terjadinya anemia (Kusudaryati dan Prananingrum, 2018). Vitamin B12, vitamin C dan folat juga memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan dan ukuran normal eritrosit (Hapsari, 2023). Antioksidan seperti flavonoid dapat membantu melindungi eritrosit dari kerusakan akibat radikal bebas (Auliana, 2016). Nutrisi seperti vitamin C dan flavonoid pada leukosit dapat meningkatkan fungsi kekebalan tubuh dan mendukung aktivitas leukosit dalam melawan infeksi (Ahmed, 2021). Sementara itu, folat dan vitamin B12 dibutuhkan untuk pembentukan dan pematangan berbagai jenis leukosit termasuk limfosit dan neutrofil (Meliala, 2020).

Fermentasi buah berenuk tidak mempengaruhi profil eritrosit dan leukosit karena

proses fermentasi tersebut tidak menghasilkan zat-zat yang secara langsung mempengaruhi sel darah (Ronaldi, 2022). Selain itu pada saat proses fermentasi kandungan senyawa yang dihasilkan seperti asam organik atau alkohol tidak mengalami peningkatan (Nairfana, 2021). Fermentasi buah berenuk yang diduga tidak terkontaminasi mikroba berbahaya (Krisna, 2022). Proses fermentasi berlangsung dengan baik sehingga menghasilkan produk yang aman dan tidak memiliki efek langsung pada profil eritrosit dan leukosit

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah :

- a. Tidak terdapat toksisitas akut fermentasi buah berenuk terhadap profil eritrosit pada tikus *Sprague dawley*
- b. Tidak terdapat toksisitas akut fermentasi buah berenuk terhadap profil leukosit pada tikus *Sprague dawley*

REFERENSI

Addisu, S. & A. Assefa. 2016. *Role of plant containing saponin on livestock production; A Review Advances in Biological Research*. 10 (5): 309-314.

Adianto, M., & Syahputra, A. 2013. *Perbedaan Morfologi Sel Darah pada Pengecatan Giemsa yang Diencerkan Menggunakan Aquades dan Buffer pH 6,8*. Keperawatan dan Kesehatan, 1(1), 1-7.

Ahmed, M. H., Hassan, A., & Molnár, J. 2021. *The role of micronutrients to support immunity for COVID-19 prevention*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 31(4), 361-374.

Andreollo, N. A., Santos, A. C. D., Nogueira, T. C. M., & Melo, F. S. 2012. *Rat's age versus human's age: what is the relationship? Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva : Brazilian archives of digestive surgery*, 25(1), 49–51. doi: 10.1590/s0102-67202012000100011

Anonim. 2008. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.

Arango-Ulloa, J., Bohorquez, A., Duque, M. C., & Maass, B. L. 2009. *Diversity of the calabash tree (Crescentia cujete L.) in Colombia*. Agroforestry Systems, 76, 543-553.

Ardillah, Y. 2016. *Faktor Risiko Kandungan Timbal di Dalam Darah*. Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat, 150-155.

Billacura MP, Laciapag GCR. 2017. *Phytochemical screening, cytotoxicity, antioxidant, and anthelmintic property of various extract from Crescentia cujete Linn*. Science International 29(2):31-35.

Bloom, W., & Fawcett, D. W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Edisi ke-12. EGC.

BPOM Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*. Perka BPOM nomor 875 tahun 2014.

BPOM RI. 2020. *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara in Vivo*. Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), 21–25.

BPOM RI. 2022. *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 1 Tahun 2022 Tentang Pengawasan Klaim Pada Label Dan Iklan Pangan Olahan*.

Cuomo, V., L. Trabace, S. Schiavone, M. Zotti, M. Colaianna, P. Tucci, P. Trotta, M. G. Morgese, dan M. Francavilla. 2012. *“Extraction, Characterization and In Vivo Neuromodulatory Activity of Phytosterols from Microalga Dunaliella Tertiolecta.” Current Medicinal Chemistry* 19 (18):3058–67.

Cahyaningsih, U., H. Malichatin, dan Y.E.Hediarto. 2007. *Diferensial Leukosit Ayam setelah Diinfeksi Eimeria tenella dan Pemberian Serbuk Kunyit (Curcuma domestica) dosis*

- bertingkat*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Desmiaty., Ratih., Dewi M., A., Agustin., R. 2008. *Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dan Daun Sambang Darah (Excoecaria bicolor Hassk.) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia*. *Ortocarpus*. 8,106-109.
- Ejelonu, BC. 2011. *The Chemical Constituents of Calabash (Crescentia cujete)*. *African Journal Biotechnology* Vol. 10:84
- Englo, J., & Tjandra, O. (2020). *Pengaruh pemberian ekstrak daun Berenuk (Crescentia cujete) terhadap aktivitas spesifik katalase darah dan hati tikus Sprague dawley yang diinduksi hipoksia*. *Tarumanagara Medical Journal*, 2(2), 315-319.
- Fadiah, S., Fitriana, R., & Sari, I. (2022). *Hubungan antara Kadar Hemoglobin dengan Jumlah Eritrosit pada Pasien Demam Berdarah Dengue di RSUD Kota Padang*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 10(2), 120-127.
- Furman, E., E. Leidinger., E.H. Hooijberg, N.Bauer., G. Beddies, and A. Moritz. 2014. *A Retrospective Study of 1098 Blood Samples With Anemia From Adult Cats: Frequency, Classification, and Association With Serum Creatinine Concentration*. *J. Vet. Intern. Med*: (28) 1391-1397.
- Frianto, F. 2015. *Evaluasi Faktor Yang Mempengaruhi Jumlah Perkawinan Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Secara Kualitatif*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan*, 3(1).
- Frank, C. 1995. *Toksikologi dasar: asas, organ sasaran, dan penilaian resiko*. Edisi 2, Jakarta, UI Press.
- Hasanah, N., Sudrajat, H. W., & Damhuri, D. 2016. *Etnobotani tumbuhan obat masyarakat Desa Lapandewa Kaindea Kecamatan Lapandewa Kabupaten Buton Selatan*. *AMPIBI: Jurnal Alumni Pendidikan Biologi*, 1(1), 14–20.
- Herawati, D. A., & Wibawa, D. A. A. 2011. *Pengaruh konsentrasi susu skim dan waktu fermentasi terhadap hasil pembuatan soyghurt*. *Jurnal ilmiah teknik lingkungan*, 1(2), 48-58.
- Hodgson, E., dan Levi, P. 2000. *A textbook of modern toxicology*. 2nd edition, Singapore, McGraw Hill Higher Education.
- Iheidioha, T., Onyebuchi, C., & Bolarinwa, O. A. 2012. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang Anogeissus leiocarpus pada kadar glukosa darah pada tikus Wistar hiperglikemik*. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Terapi*, 1(2), 37-43.
- Kaneko T, Ohtani K, Kasai R, Yamasaki K, Minh Duc N. 1998. *n-Alkyl glycosides and p hydroxybenzoyloxy glucose from fruits of Crescentia cujete*. *Phytochemistry* 47(2):259-263. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00409-3.
- Khan, H. M., & O'Brien, P. J. 2008. *Metal toxicity in the environment*. *Metal Ions in Life Sciences*, 7, 289-317.
- Krisna, D., Atmodjo, P. K., & Arsiningtyas, I. S. 2022. *Efek Pemberian Sari Buah Berenuk (Crescentia cujete L.) Terhadap Berat Mencit Galur Swiss-Webster (Mus musculus)*. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 108-120.
- Kurniawidjaja, L. M., Lestari, F., Tejamaya, M., & Ramdhan, D. H. 2021. *Uji Toksisitas Subakut Daun Sungkai (Morinda citrifolia L.) pada Tikus*

- Wistar. Jurnal Media Kesehatan, 15(2), 71-78.
- Kusuma AM, Sulisty AN, Susanti S, Sabikis S. 2014. *Aktivitas penghentian pendarahan luar ekstrak etanol daun berenuk (Crescentia cujete L.) secara in-vivo*. *Pharmaceutical Sciences and Research* 1(2):134-139. DOI: 10.7454/psr.v1i2.3299.
- Kusudaryati, D. D., & Prananingrum, R. 2018. *Hubungan Asupan Protein Dan Status Gizi Dengan Kadar Hemoglobin Pada Remaja Putri Anemia*
- Mahbub, Khandaker Rayhan. 2011. *In Vitro Antibacterial Activity of Crescentia cujete and Moringa oleifera*. *Bangladesh Research Publication Journal* Vol. 05:337-347
- Mabry, T., Markham, K. R., & Thomas, M. B. 2012. *The systematic identification of flavonoids*. Springer Science & Business Media.
- Marinajati Dwi, Nur Endah W, Suhartono, 2012. *Hubungan Riwayat Paparan Pestisida Dengan Profil Darah Pada Wanita Usia Subur Di Daerah Pertanian Cabai Dan Bawang Merah*, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, vol 6, No. 6, hh. 354-355.
- Meliala, E. M. B. S., Nadiyah, N., Novianti, A., & Wahyuni, Y. 2020. *Asupan folat, vitamin b12, vitamin e berhubungan dengan kadar hemoglobin (hb) ibu hamil di Puskesmas Kebon Jeruk*. *Darussalam Nutrition Journal*, 4(2), 112-121.
- Mulyani, T. 2020. *Teknik Pengujian Toksisitas Teratogenik pada Obat Herbal*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 31-36
- Nairfana, I., & Setiawati, V. R. 2021. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Mutu Organoleptik, Tingkat Keasaman (pH) dan Tingkat Kemanisan Tape Sorghum (Sorghum Bicolor (L.) Moench)*. *Food and Agro-industry Journal*, 2(2), 53-61.
- Norsita, N., Ismail, N. A., & Ramli, N. S. 2018. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica L.) terhadap Kadar Kreatinin Serum pada Pasien Gagal Ginjal Kronis Stadium 3*. *Jurnal Keperawatan*, 17(1), 44-50.
- Nurkholis, N. R. 2019. *Sintesis Bioetanol Dari Buah Berenuk (Crescentia Cujete L) Dengan Metode Hidrolisis Asam Dan Fermentasi Alkoholik*. *Jurnal Teknologi*, Volume 6, Edisi 2
- Nurdin, S. U., Nurdjanah, S., Astuti, S., Sukohar, A., & Kustyawati, M. E. 2015. *Manfaat Herbal Indonesia* (pp. 73-100). plantaxia.
- Pasicolan VLL, Juan MECS, Cachero EE, de Panay CA, Gestupa LGN, Sarona GJN, Tahad JD. 2014. *Flavonoid screening and antiplatelet aggregation activity of miracle fruit*. *Root Gatherers* 7(2014):74-89.
- Pareira SG, de Araujo SA, Guilhon GMSP, Santos LS, Junior LMC. 2017. *In vitro acaricidal activity of Crescentia cujete L. fruit pulp against Rhipicephalus microplus*. *Parasitology Research* 116(5):1487-1493. DOI: 10.1007/s00436-017-5425-y
- Parvin, M. S., Das, N., Jahan, N., Akhter, M. A., Nahar, L. dan Islam, M. E. 2015. *Evaluation of in vitro anti-inflammatory and antibacterial potential of Crescentia cujete L leaves and stem bark*. *BMC Research Notes* 8 (412) : 1- 7.
- Patra, A.K. & J. Saxena. 2009. *The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and*

- fermentation in the rumen and ruminant production. Nutrition Research Reviews.* 22: 204–219.
- Patrick, L. 2006. *Toxic effects of metals on red blood cells.* *Toxicology*, 221(1-2), 110-121.
- Priyanto. 2010. *Toksikologi Ed:2.* Depok: Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Rahayu, O., & Hartono, A. 2018. *Dampak toksisitas timbal pada perkembangan kognitif anak-anak di daerah pertambangan.* *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 13(2), 123-130.
- Rahayuningsih, S. 2017. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Bawang Merah (Allium cepa L).* (Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang).
- Ridwanuloh, D., & Nurohmah, R. 2021. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Berenuk (Crecentia cujete L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus dan Eschericia Coli.* *Pharma Xplore: Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi*, 6(1), 60-69.
- Ronaldi, R., Atmodjo, P. K., & Sidharta, B. R. (2022, July). *Potensi Berenuk (Crecentia cujete L) Untuk Bahan Produksi Alkohol Secara Fermentasi.* In *PROSIDING SEMINAR NASIONAL INSTIPER* (Vol. 1, No. 1, pp. 306-313).
- Rumaseuw, E. S., Iskandar, Y., & Halimah, E. 2022. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Bawang Hitam.* *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 2(1), 1-9.
- Safirah R, Widodo N, Budiyanto MAK. 2016. *Uji efektifitas insektisida nabati buah Crescentia cujete dan bunga Syzygium aromaticum terhadap mortalitas Spodoptera litura secara in vitro sebagai sumber belajarbiologi.* *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia* 2(3):265-276. DOI: 10.22219/jpbi.v2i3.3874.
- Samtiya, M., Aluko, R. E., Puniya, A. K., & Dhewa, T. 2021. *Enhancing micronutrients bioavailability through fermentation of plant-based foods: A concise review.* *Fermentation*, 7(2), 63.
- Sasmiko, 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) The acute toxicity test of herbal medicine in mice based on Organization for Economic Co-operation and Development (OECD).* *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2), 234
239.<https://doi.org/10.22146/jsv.17924>
- Simbala, Herny E.I. 2009. *Analisis SenyawaAlkaloid beberapa Jenis Tumbuhan Obat sebagai Bahan Aktif Fitofarmaka.* <http://moko31.files.wordpress.com/2011/05/gandarus-22.pdf> (diakses tanggal 26 Februari 2012).
- Shofiana. 2019. *Toksisitas Akut Produk Yacona Menggunakan Metode OECD (Organisation For Economic Co-operation and Development) 425 pada Tikus Wistar Betina.* *Journal of Chemical Information and Modeling*, (2019), 1689-1699, 53(9).
- Shah, M. K., A. Khan., F. Rizvi, M. Siddique & S-UrRehman. 2007. *Effect of Cypermethrin on ClinicHaematological Parameters in Rabbits.* *Pakistan Vet. Journal*; 27 (4):171- 175.
- Sulastra, C. S., & Khaerati, K. 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).
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA Pres.
- Sugiarto, T., & Hertiani, T. 2013. *Pengaruh Pemberian Dosis Berulang Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica L.) terhadap Kadar Kreatinin Serum pada Pasien Gagal Ginjal Kronis Stadium 3*. *Jurnal Maranatha*, 7(2), 113-120.
- Tampoebolon, B. I. M. 2009. *Kajian perbedaan aras dan lama pemeraman fermentasi ampas sagu dengan Aspergillus niger terhadap kandungan protein kasar dan serat kasar*. In Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan–Semarang.
- Wardiny, T.M., Retnani, dan Taryati. 2012. *Pengaruh Ekstrak Daum Mengkudu terhadap Profil Darah Puyuh Starter*. *JITP*: 2(2): 110-120.
- Widodo. S. H, 2001. *Crescentia cujete L. In: van Valkenburg, J.L.C.H. and Bunyaprapatsara, N. Plant Resources of South-East Asia No 12(2). Medicinal and poisonous plants 2*. Backhuys Publishers, Leiden, the Neitherlands. Hal 191- 193
- Widowati, S. 2003. *Efektivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein atau Susu Nabati*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika Pertanian.
- Widjaja EA, Rahayuningsih Y, Rahajoe JS, Ubaidillah R, Maryanto I, Walujo EB, Semiadi G. 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia. Kementerian Lingkungan Hidup dan Bappenas*. LIPI Press
- Widyantara, I. W. A., Nocianitri, K. A., & Hapsari, N. M. I. 2020. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Sirsak (Annona muricata Linn)*. *Jurnal Itepa*, 9(2), 151-160.
- Wilujeng S., Wirjaatmadjar, Prakoso Y., A. 2023. *Effect of extraction, fermentation, and storage processes on the levels of choline derived from calabash fruit (Crescentia cujete L.)*. *J Res Pharm*. 27 (