

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Berenuk (*Crescentia cujete*)

Berenuk (dalam bahasa Inggris “*Calabas*”, Prancis “*Calabassier*”) merupakan tanaman yang tumbuh pada daerah tropis dan tanaman asli negara Amerika Tengah, Kamerun serta beberapa negara bagian Afrika. Tanaman ini dikenal dengan nama berenuk atau maja di Indonesia (Kusuma *et al.*, 2014).

2.1.1 Klasifikasi Buah Berenuk

Buah berenuk berasal dari kingdom *Plantae*, subkingdom *Tracheobionta*, superdivisi *Spermatophyta*, divisi *Magnoliophyta*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Magnoliopsida*, subkelas *Asteridae*, ordo *Scrophulariales*, famili *Bignoniaceae*, genus *Crescentia*, dan nama spesiesnya adalah *Crescentia cujete* (Arango-Ulloa *et al.*, 2009)



Gambar 2.1 Buah Berenuk (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Deskripsi Tanaman Berenuk

Berenuk atau dalam bahasa Inggris disebut *calabash tree* merupakan tumbuhan yang tergolong dalam keluarga *Bignoniaceae* yang berasal dari daerah

tropis dan subtropis di Amerika. Tumbuhan ini memiliki bentuk bulat atau lonjong, berwarna hijau, dan berisi seperti bubur putih (Ridwanuloh, 2021).

Tanaman berenuk memiliki tinggi 6-10 m dengan ukuran batang lebih dari 30 cm, percabangan bengkok, bentuk daun bulat serta mahkota terbuka yang khas. Daun berenuk tumbuh berkerumun dengan bunga pada cabang atau batang. Daunnya memiliki panjang 56 cm dan lebar 2-3 cm. Buah berenuk berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hijau, memiliki panjang 15-20 cm dan lebar 10-18 cm (Ridwanuloh, 2021). Berenuk memiliki bunga tunggal atau berpasangan dengan 2 kelopak cuping/lobus yang berwarna kekuningan dengan urat berwarna ungu serta tidak memiliki tangkai bunga (Widodo, 2001).

2.1.3 Kandungan Buah Berenuk

Buah berenuk mengandung beberapa senyawa utama, antara lain: asam tartarat, asam sitrat, β -sitosterol, estigmastrol, α dan β amirina, asam stearat, triakontanol, asam palmitat, quersetin, apigenin, dan minyak esensial golongan diterpena (Kaneko *et al.*, 1998). Menurut Pasicolan *et al.*, (2014), Billacura and Laciapag (2017) buah berenuk juga mengandung alkaloid, flavonoid, fitosterol, tanin, dan saponin.

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang biasa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa menghentikan metabolisme sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Simbala 2009).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan hijau. Senyawa flavonoid mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya dan tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6. Kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Mabry, 2012).

Fitosterol merupakan golongan senyawa steroid. Fitosterol secara struktur terdiri dari triterpena yang mirip dengan kolesterol pada hewan (Cuomo *et al.*, 2012). Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal (Desmiaty *et al.*, 2008).

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi. Saponin juga ditemukan pada beberapa hewan laut. Saponin merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya (Patra, 2009., Addisu, 2016).

2.1.4 Manfaat Buah Berenuk

Buah berenuk banyak tumbuh di Indonesia dan telah digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit secara tradisional. Daun berenuk dapat digunakan untuk menyembuhkan luka dan bubuknya dimanfaatkan sebagai obat sakit kepala, diuretik, pengobatan hematoma dan tumor. Daun dan kulit berenuk juga memiliki fungsi anti inflamasi dan antibakteri (Englo dkk.,

2020). Buah berenuk biasanya digunakan masyarakat untuk mengobati diare, sakit perut, flu, bronkitis, batuk, asma, uretritis, ekspektoran, antitusif, dan pencahar (Kaneko *et al.*, 1998 dan Parvin *et al.*, 2015). Cangkang berenuk dimanfaatkan sebagai alat perabot rumah tangga, hiasan, alat musik dan kerajinan tangan. Berenuk juga berkhasiat membunuh caplak sapi (*Rhipicephalus microplus*) dan ulat grayak (*Spodoptera litura*) (Pareira *et al.*, 2017 dan Safirah *et al.*, 2016).

2.2 Fermentasi

2.2.1 Definisi

Fermentasi merupakan perubahan struktur kimia dari bahan-bahan organik dengan memanfaatkan agen-agen biologis terutama enzim sebagai biokatalis. Fermentasi berasal dari bahasa Latin *fervere* yang berarti mendidihkan. Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan (Herawati, 2011).

2.2.2 Tujuan dan Proses Fermentasi

Fermentasi bertujuan untuk meningkatkan nilai gizi pangan. Fermentasi dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme tertentu dan diharapkan dapat meningkatkan nilai gizi yang ada pada produk fermentasi (Widowati, 2003).

Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan starter mikroorganisme yang sesuai dengan tujuan fermentasi. Fermentasi mempunyai kelebihan yaitu tidak mempunyai efek samping yang negatif, mudah dilakukan, tidak

membutuhkan peralatan khusus dan biaya relatif murah (Tampoebolon *et al.*, 2009). Dalam bioproses, lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan kadar asam laktat dari kadar sebelumnya. Semakin lama fermentasi maka bakteri pembentuk asam laktat bertambah dan asam laktat yang dihasilkan akan naik (Nurfuzianti, 2021).

Bahan-bahan yang dihasilkan melalui fermentasi merupakan hasil-hasil metabolit sel mikrobial, misalnya antibiotik, asam-asam organik, aldehid, alkohol, fusel oil, dan sebagainya. Fermentasi juga dapat menghasilkan biomassa sel mikrobial seperti ragi roti (*baker yeast*) yang digunakan dalam pembuatan roti. Untuk menghasilkan tiap-tiap produk fermentasi di atas dibutuhkan kondisi fermentasi yang berbeda-beda dan jenis mikrobial yang bervariasi. Oleh karena itu, diperlukan keadaan lingkungan, substrat (media) serta perlakuan (treatment) yang sesuai sehingga produk yang dihasilkan optimal (Herawati, 2011). Fermentasi yang dapat dilakukan tanpa bantuan mikroorganisme disebut fermentasi spontan. Pada fermentasi spontan tidak ditambahkan mikroorganisme tetapi menggunakan garam konsentrasi tinggi. Fermentasi spontan biasanya dilakukan dengan menggunakan media terpilih, seperti garam, asam organik, asam mineral, beras atau pati. Media selektif tersebut akan menyeleksi bakteri patogen dan menjadi media yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangan bakteri selektif yang membantu proses fermentasi (Suprihatin, 2010).

2.3 Uji Toksisitas

2.3.1 Definisi

Uji toksisitas merupakan uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik dan ambang batas penggunaan tumbuhan sebagai obat. Toksisitas timbul akibat interaksi kimia di dalam tubuh secara fisiologis yang menimbulkan kerusakan bersifat struktural ataupun fungsional bahkan kematian (Kurniawidjaja *et al.*, 2021) Untuk mengetahui sejauh mana takaran suatu senyawa yang mempunyai aktivitas biologi, maka perlu dilakukan uji toksisitas sehingga dosis obat dapat diketahui. Dosis adalah kuantitatif yang menunjukkan jumlah senyawa yang dibutuhkan untuk menghasilkan efek biologi. Dosis dalam pengobatan harus tepat, agar tidak terjadi pemberian dosis yang underdose atau overdose (Sugiarto *et al.*, 2013).

2.3.2 Tujuan dan Jenis

Data toksisitas yang diperoleh bertujuan untuk membantu mengetahui tingkat keamanan sediaan uji bagi manusia. Pemaparan suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis efek toksik, efek karsinogenik, teratogenik, mutagenik, dan lain-lain. Efek toksik suatu sediaan dapat diketahui setelah pemberian dosis dengan menggunakan uji toksisitas akut, subkronis dan kronik (BPOM, 2022).

Uji toksisitas akut adalah uji yang digunakan untuk mengetahui efek toksik yang muncul pada periode tertentu pasca pemberian sediaan uji dalam dosis tunggal atau dosis berulang pada periode 24 jam. Uji toksisitas subkronis adalah uji yang digunakan untuk mengetahui efek toksik setelah pemberian sediaan uji

dengan dosis berulang pada hewan uji selama sebagian umur hewan tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Uji toksisitas kronis adalah uji yang digunakan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan (Rumaseuw, 2022).

2.3.3 Faktor yang Mempengaruhi Toksisitas

Konsentrasi bahan pencemar merupakan faktor penting yang mempengaruhi toksisitas. Bahan pencemar dengan toksisitas tinggi tidak akan memberikan dampak yang besar bagi organisme apabila masih dalam konsentrasi sangat rendah. Sebaliknya bahan pencemar dengan toksisitas rendah akan memberikan dampak yang buruk bagi organisme apabila dipaparkan dengan konsentrasi tinggi. Faktor penting lain yang mempengaruhi toksisitas adalah konsentrasi toksin, durasi dan frekuensi pemaparan, komposisi dan jenis toksin, spesies biota penerima dan sifat lingkungan (Megawati, 2015).

2.3.4 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut adalah salah satu uji praklinik yang dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu singkat setelah pemajanan atau pemberian dalam takaran tertentu. Data kuantitatif yang diperoleh dari uji toksisitas akut adalah LD50 (*Lethal Dose 50*). Berdasarkan data LD50, suatu senyawa dapat digolongkan sebagai bahan yang sangat toksik (*extremely toxic*) hingga bahan yang tidak toksik (*practically nontoxic*). Data kualitatif yang diperoleh meliputi penampakan klinis, morfologis, dan mekanisme efek toksik (Khan *et al.*, 2008).

Uji toksisitas akut yang umum dilakukan adalah secara oral dan dermal. Uji toksisitas akut oral bertujuan untuk mengetahui daya racun suatu bahan kimia yang masuk ke dalam saluran pencernaan. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap efek toksik dan kematian (Sasmiko *et al.*, 2015 dan Shofiana, 2019).

Penilaian toksisitas akut ditentukan dari kematian hewan uji sebagai parameter akhir. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas. Hewan selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ (Oktavia Rahayu, 2018). Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia. Hasil uji dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relative dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Faktor-faktor yang dapat menentukan hasil uji toksisitas yaitu pemilihan spesies hewan uji, jumlah hewan, cara pemberian sediaan uji, pemilihan dosis uji, efek samping sediaan uji, teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM RI, 2020).

2.3.5 Lethal Dose 50 (LD50)

Lethal Dose 50 (LD50) didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50 % hewan percobaan (Rahayuningsih, 2017). LD50 dapat ditentukan dengan memberikan obat dalam dosis yang bervariasi (bertingkat) kepada sekelompok hewan coba dan setiap

hewan diberikan dosis tunggal (Anonim, 2008). Ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai LD50 antara lain spesies, strain, jenis kelamin, umur, berat badan, gender, kesehatan nutrisi, dan isi perut hewan coba. Teknis pemberian juga mempengaruhi hasil seperti waktu pemberian, suhu lingkungan, kelembaban dan sirkulasi udara. Kesalahan manusia juga dapat mempengaruhi hasil ini. Maka dari itu, sebelum melakukan penelitian ada baiknya memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil (Priyanto, 2010).

Semakin kecil nilai LD50 maka semakin toksik senyawa tersebut. Sebaliknya semakin besar nilai LD50 maka semakin rendah toksisitasnya. Ketoksikan akut senyawa uji dapat digolongkan menjadi beberapa kelas seperti pada tabel

Tabel 1 Kategori Toksisitas Senyawa Uji

Tingkat Toksisitas	LD50 mg/kg BB
Sangat toksik	5
Toksik	5-50
Toksik Sedang	50-500
Toksik ringan	501-5000
Praktis tidak toksik	5001-15.000
Relatif tidak membahayakan	>15.000

Sumber : BPOM (2022)

2.4 Darah

Darah merupakan suatu jaringan cair yang terdiri atas eritrosit, leukosit, dan trombosit yang terendam dalam plasma (Bloom dan Fawcett, 2002). Darah berfungsi untuk mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang

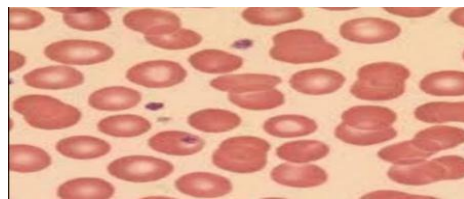
dihasilkan tubuh dari proses-proses metabolisme. Oleh karena itu, darah menjadi salah satu parameter pokok dalam penelitian praklinik atau biomedik. Hematologi adalah ilmu yang mempelajari cara penilaian darah. Nilai hematologi (profil darah) berguna untuk menilai kondisi kesehatan dan sebagai acuan nilai awal (*baseline*) atau kontrol dalam suatu penelitian. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi organ, pengaruh agen atau obat, dan stres dapat diketahui dari perubahan profil darah (Ihedioha *et al.*, 2012).

2.4.1 Eritrosit

Eritrosit merupakan sel berbentuk bikonkaf dan memiliki struktur khusus yang mengandung hemoglobin dan enzim karbonat anhidrase. Eritrosit memiliki fungsi transportasi dalam sistem kardiovaskuler. Hemoglobin yang dimiliki eritrosit berfungsi mengikat oksigen dari paru-paru untuk di bawah ke sel-sel tubuh. Sedangkan enzim karbonat anhidrase berfungsi meningkatkan reaksi pembentukan asam karbonat dari gas karbon dioksida dan air. Akibat dari reaksi ini adalah terbentuknya ion bikarbonat yang kemudian diangkut dari jaringan menuju paru-paru (Boone *et al.*, 2013). Nilai komponen dari profil eritrosit dapat memberi informasi status kesehatan yang penting. Hal ini disebabkan data profil eritrosit dapat digunakan untuk membantu penetapan karakteristik dan derajat kesehatan, serta membantu dalam menilai dan menegakkan diagnosa penyakit (Ihedioha *et al.*, 2004).

Toksisitas dapat mempengaruhi kondisi profil eritrosit. Efek toksisitas pada kadar hemoglobin dapat berupa penurunan sintesis atau peningkatan destruksi eritrosit. Hal ini menyebabkan terbentuknya *methemoglobin* di dalam eritrosit.

Hemoglobin yang tidak normal tidak dapat menjalankan fungsinya sebagai penghantar oksigen. Kehadiran *methemoglobin* dalam darah mengurangi tingkat hemoglobin dalam eritrosit sehingga menyebabkan anemia hemolitik (Norsita *et al.*, 2018)



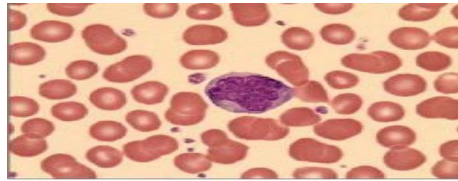
Gambar 2.2 Eritrosit (Harahadap, 2008)

2.4.2 Leukosit

Menurut Cahyaningsih *et al.*, (2007), sel darah putih (leukosit) berfungsi sebagai pertahanan tubuh yang cepat dan kuat terhadap agen-agen infeksius. Apabila ada antigen asing, maka jumlah leukosit dalam sirkulasi meningkat. Rangsangan menghambat aktivitas jaringan myeloid untuk memproduksi leukosit ke sirkulasi.

Wardiny *et al.*, (2012) dan Furman *et al.*, (2014) menyatakan bahwa jumlah leukosit yang menurun dapat menyebabkan antibodi yang dibentuk sedikit. Hal ini membuat daya tahan tubuh menurun sebaliknya jumlah leukosit yang meningkat dapat menyebabkan antibody meningkat sehingga daya tahan tubuh kuat.

Toksisitas dapat mempengaruhi profil leukosit. Efek toksisitas dalam tubuh berdampak pada profil darah, salah satunya terjadi leukositosis. Adanya toksisitas dalam tubuh memicu terjadinya aktivasi sistem pertahanan tubuh yang mengakibatkan profil leukosit mengalami peningkatan (Marijanati, 2012).



Gambar 2.3 Leukosit (Adianto, 2013)

2.5 Tikus *Sprague Dawley*

Tikus *Sprague Dawley* ini merupakan galur yang banyak digunakan dalam penelitian dengan pertimbangan perkembangbiakannya yang cepat, temperamennya yang tenang dan relatif mudah penanganannya. Tikus *Sprague Dawley* dapat mencapai usia hingga 3,5 tahun. Berat badan tikus dewasa betina berkisar 250–300 g, sedangkan tikus jantan 450–520 g (Andreollo *et al.*, 2012).



Gambar 2.4 Tikus Sprague-Dawley (Rosidah dkk, 2020)

Dalam penelitian laboratorium, tikus sebagai hewan model harus memenuhi persyaratan tertentu, antara lain memiliki galur yang sama, jenis kelamin tertentu, rentang usia tidak jauh berbeda, berat badan merata, menunjukkan fisik yang sehat yang dicirikan dengan mata cerah, aktivitas motorik normal, bulu tidak berdiri dan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian (BPOM, 2014). Kelebihan tikus *Sprague Dawley* pada uji toksisitas yaitu dapat berkembangbiak dengan cepat, memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak (Frianto, 2015).