

Toksisitas Oral Subakut Filtrat Buah Luwungan (*Ficus hispida* L.f.) pada Tikus Riul [*Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769)] Wistar Jantan {Subacute Oral Toxicity Study of Hairy Fig Fruits (*Ficus hispida* L.f.) Filtrate in Male Wistar Rats [*Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769)]}

Laksmindra Fitria^{1*}, Lina Noor Na'ilah², & Lisa Handayani²

¹Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

²Mahasiswa Program Sarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

Jalan Teknik Selatan, Sekip Utara, Sleman, D.I. Yogyakarta 55281

*E-mail korespondensi: laksmindraf@ugm.ac.id

Memasukkan: Januari 2021, **Diterima;** Maret 2021

ABSTRACT

Hairy Fig trees flourish in tropic regions, bearing abundant fruits all year round. Ethnobiological studies state that the fruits have been used as food or traditional medicine. However, some references reported that consuming the fruits cause dizziness, nausea, and vomiting. Therefore, we conducted this experiment to provide information regarding the toxicity and safety of consuming the fruits. Procedure following OECD Oral toxicity study of rodent was performed following the guide line of testing chemical No. 407. Repeated oral toxicity study was conducted for 28 days with some modification without changing the guideline. Nine male rats were selected as model to complement the toxicity study on male rats that had been done previously. Pure filtrate of young or ripe fruits were administered orally 1 mL/individual/day for consecutive 28 days. Feeding behavior and fecal conditions were recorded for qualitative data. Quantitative data consisted of body weight, core temperature, hematology profile, and evaluation of liver, heart, and renal functions were collected on day 0, 7, 14 and 28. Results showed that oral administration of young or ripe hairy fig fruits filtrate on male Wistar rats did not cause death or sublethal conditions as manifestation of clinical signs of toxicity. Both filtrates did not reduce appetite and affected the digestive system, as well as did not harm the general health indicated by all parameter's values were maintained within normal range. It can be concluded that no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) of hairy fig fruits filtrate was found in a concentration of 100%.

Keywords: clinical biochemistry, *Ficus hispida*, hairy fig, hematology, subacute oral toxicity

ABSTRAK

Pohon luwungan tumbuh subur di kawasan tropis dan berbuah lebat sepanjang tahun. Studi etnobiologi menyatakan bahwa buah ini telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan atau obat tradisional. Namun demikian, beberapa pustaka menyatakan bahwa mengkonsumsi buah luwungan dapat menyebabkan pusing, mual, dan muntah. Oleh karena itu kami melakukan percobaan ini untuk menyediakan informasi mengenai toksisitas dan keamanan mengkonsumsi buah luwungan. Prosedur mengikuti Panduan Uji Bahan Kimia untuk Studi Toksisitas Oral oleh OECD No. 407: Studi toksisitas oral dosis berulang selama 28 hari pada rodensia. Beberapa modifikasi dilakukan untuk penyesuaian tanpa mengubah prinsip. Sembilan ekor tikus Wistar jantan dipilih sebagai model untuk melengkapi data toksisitas pada tikus riul galur Wistar jantan yang telah dilakukan sebelumnya. Filtrat murni buah luwungan muda atau matang dicekok sebanyak 1 mL/ekor/hari selama 28 hari berturut-turut. Parameter yang diamati berupa perilaku makan dan kondisi feses (data kualitatif). Parameter kuantitatif meliputi berat badan, suhu badan, profil hematologis, serta evaluasi fungsi hati, jantung, dan ginjal diamati pada hari ke-0, 7, 14, dan 28. Hasil menunjukkan bahwa pencekokan filtrat buah luwungan muda atau matang pada tikus Wistar jantan tidak menyebabkan kematian atau menimbulkan kondisi subletal yang mengarah pada tanda-tanda klinis adanya ketoksikan. Kedua macam filtrat buah luwungan juga tidak mengurangi nafsu makan dan mempengaruhi sistem pencernaan. Demikian juga tidak berbahaya bagi kesehatan secara umum, diindikasikan dari nilai untuk semua parameter yang tetap dipertahankan dalam kisaran normal. Dapat disimpulkan bahwa tidak ada efek samping yang teramati (*no observed adverse effect level*, NOAEL) pada filtrat buah luwungan konsentrasi 100%.

Kata Kunci: biokimia klinis, *Ficus hispida*, hematologi, luwungan, toksisitas oral subakut

PENDAHULUAN

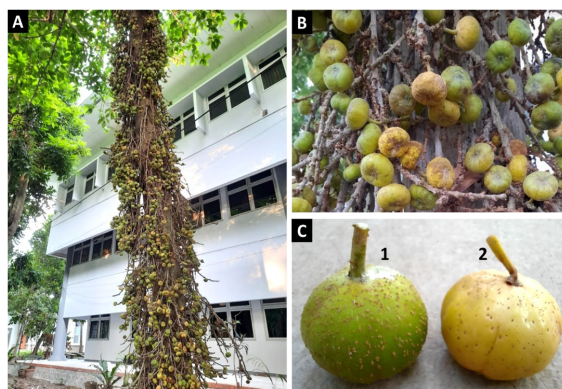
Tumbuhan luwigan (*Ficus hispida*) saat muda berupa semak yang setelah dewasa kemudian berkembang menjadi pohon berukuran kecil hingga sedang, tergantung pada kondisi habitatnya. Spesies ini tumbuh subur di kawasan tropis dan berbuah lebat sepanjang tahun (Ali & Chaudhary 2011; Lee *et al.* 2013). Buah luwigan yang masih muda (berwarna hijau) maupun yang sudah matang (berwarna kuning) dapat dikonsumsi sebagai makanan sehari-hari maupun dijadikan bahan obat herbal tradisional, terutama di kawasan Asia Barat dan Tenggara (Ali & Chaudhary 2011; Shahreen *et al.* 2012). Namun demikian di Indonesia buah luwigan belum dimanfaatkan sama sekali. Pemerintah Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta menanam pohon luwigan untuk menambah keanekaragaman hayati tumbuhan lokal dan difungsikan sebagai tanaman perindang saja (Kehati 2009). Morfologi pohon dan buah luwigan disajikan pada Gambar 1.

Studi toksisitas tumbuhan obat sudah banyak dilakukan seperti tumbuhan suku Annonaceae terhadap *Spodoptera litura* (Simanjuntak 2001) jambang untuk menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Rachmawati dkk 2021), namun untuk buah luwigan yang menghasilkan berbagai metabolit sekunder belum dilakukan pengkajian. Menurut Ali & Chaudhary (2011) dan Lansky & Paavileinen (2011), di dalam buah luwigan menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, sterol, fenol, flavonoid, pektin, gum, mucilage (semacam getah), glikosida, saponin, dan terpen. Zat-zat yang terkandung di dalam buah luwigan tersebut merupakan senyawa bioaktif yang berkhasiat untuk kesehatan, antara lain sebagai obat pencahar, antihemoragi, panas dalam, disentri, diare, ulkus, psoriasis, vitiligo, berbagai gangguan pencernaan, anemia, penyakit kuning, afrodisiak, tonik penyegar tubuh, serta mengatasi mual pada ibu hamil dan melancarkan produksi air susu.

Di sisi lain, beberapa pustaka menyebutkan bahwa mengkonsumsi buah luwigan dapat menyebabkan mabuk, pusing, mual, dan muntah, yang merupakan sebagian tanda-tanda ketoksikan (Berg *et al.* 2005; Slik 2009). Hingga saat ini masih sedikit publikasi ilmiah tentang kajian

ketoksikan dan efek fisiologis setelah mengkonsumsi buah luwigan. Oleh karena itu, kami melakukan serangkaian studi toksisitas oral. Studi toksisitas oral akut filtrat buah luwigan menggunakan model tikus Wistar menunjukkan bahwa nilai semua parameter yang diamati berada di dalam kisaran normal kecuali jumlah limfosit yang terus meningkat hingga akhir percobaan (Fitria dkk. 2019^b). Studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwigan pada tikus Wistar betina menunjukkan bahwa jumlah limfosit kembali ke dalam kisaran normal, akan tetapi menunjukkan potensi menyebabkan anemia serta gangguan fungsi ginjal (Fitria dkk. 2020). Studi toksisitas oral subakut pada tikus Wistar jantan belum dilakukan.

Menurut Clayton (2016) & Miller *et al.* (2017), metabolisme zat pada individu jantan dan betina dapat berbeda. Oleh karena itu, dalam percobaan biomedis-praktis yang terkait sistem fisiologis secara umum hendaknya diterapkan pada kedua jenis kelamin, termasuk studi toksisitas dan kajian potensi bahan alam sebagai obat maupun pangan fungsional. Hal ini karena hasil yang diperoleh nantinya akan ditranslasikan dan diformulasikan pada manusia, baik pria maupun wanita saat percobaan fase klinis. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka tujuan penelitian ini adalah untuk melengkapi data toksisitas oral subakut filtrat buah luwigan menggunakan tikus Wistar jantan.



Gambar 1. A. Pohon luwigan yang sedang berbuah, B. Buah luwigan tersusun dalam tandan, bercampur antara buah muda dan buah matang, C. Morfologi buah luwigan: 1. Buah muda, 2. Buah matang (Dokumentasi pribadi)

BAHAN DAN CARA KERJA

Buah luwigan dipetik langsung dari pohon yang tumbuh di area Fakultas Biologi UGM. Buah yang digunakan berupa buah muda (berwarna hijau, tekstur keras) dan buah matang (berwarna kuning, tekstur lunak), dengan diameter sekitar 3 cm dan berat minimal 20 gram. Segera setelah proses sortasi, buah dibelah untuk dibersihkan bagian dalamnya, selanjutnya dicuci, diparut, diperas, dan disaring cairannya sehingga diperoleh filtrat murni dengan konsentrasi 100 %. Preparasi buah luwigan dalam bentuk filtrat murni ini dipilih dengan pertimbangan kemudahan mengkonsumsi untuk kehidupan sehari-hari (Fitria dkk, 2020). Percobaan ini paralel dengan kajian fitokimia dalam rangka mengetahui jenis-jenis dan mengkuantifikasi kandungan metabolit sekunder per satu buah luwigan (belum dipublikasikan).

Sembilan ekor tikus riul jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berumur 8 minggu diperoleh dari Fakultas Farmasi UGM dengan kisaran berat badan awal 143-159 gram. Tikus dipelihara dalam kandang standar yang dimodifikasi dari bak persegi empat polipropilen *BPA-free* dengan penutup anyaman kawat tahan karat. Alas tidur berupa serutan kayu yang telah disterilisasi. Kandang ditempatkan di *animal room* Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi UGM dengan parameter lingkungan sebagai berikut: suhu ruangan 25-27 °C, kelembapan relatif 60-70 %, fotoperiode 12 jam gelap dan 12 jam terang menggunakan pencahayaan artifisial dengan intensitas iluminasi 40 lux, ventilasi udara searah, dilengkapi dengan AC dan *exhaust fan*. Prosedur pemeliharaan telah diupayakan mengikuti panduan standar hewan laboratorium oleh *National Research Council* (NRC 2011). Pakan berupa pelet rodensia merk Ratbio (PT Citra Ina Feedmill, Jakarta) dan air minum dalam kemasan (PT Aqua Golden Mississippi, Bekasi). Pakan dan air minum diberikan *ad libitum*. Sebelum percobaan dimulai, hewan diaklimasi selama satu minggu untuk pemulihan pasca transportasi dan habituasi lingkungan baru. Penelitian ini dilengkapi dengan sertifikat *Ethical Clearance* yang diterbitkan oleh Komisi Kelaikan Etik Hewan Coba Laboratorium Penelitian dan

Pengujian Terpadu (LPPT) UGM.

Tikus dikelompokkan menjadi tiga: Kelompok yang dicekok filtrat buah muda (FMU), kelompok yang dicekok filtrat buah matang (FMA), dan kelompok yang dicekok air suling sebagai kontrol/plasebo (K). Volume cekok filtrat buah luwigan dan air suling adalah 1 mL/ekor/hari. Proses pencekokan dilakukan selama 28 hari berturut-turut (Gambar 2).

Prosedur uji toksistas mengikuti Fitria dkk. (2020) yang mengacu pada Panduan Uji Bahan Kimia untuk Studi Toksistas Oral oleh OECD No. 407: *Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents* di bagian *Limit Test* (OECD 2008) dengan beberapa modifikasi yaitu: dosis/konsentrasi bahan uji, jumlah hewan coba, dan jenis kelamin hewan.

Data yang diambil mengikuti parameter pada studi toksistas oral akut dan subakut buah luwigan oleh Fitria dkk. (2019^b) dan Fitria dkk. (2020). Data kualitatif berupa pengamatan kondisi fisik secara umum, perilaku/aktivitas, nafsu makan, dan struktur feses. Pengamatan dilakukan setiap hari secara langsung selama dua jam setelah pencekokan, selanjutnya menggunakan perangkat CCTV. Data kuantitatif meliputi berat badan, suhu badan, profil hematologis (eritrosit, leukosit, trombosit), biokimia klinis untuk evaluasi fungsi hati: ALT, jantung: AST, dan ginjal: kreatinin (Fitria dkk. 2019^a). Pengukuran berat badan dan suhu badan dilakukan seminggu sekali bersamaan waktunya dengan sanitasi kandang dan ruangan pemeliharaan. Pengambilan data hematologis dan biokimia klinis



Gambar 2. Proses pencekokan filtrat buah luwigan pada tikus

dilakukan pada hari ke-0 (sebagai *baseline*), 7, 14, 21, dan 28.

Sampel darah untuk analisis hematologis dan biokimia klinis dikoleksi dari *sinus orbitalis* setelah hewan dianestesi dengan *cocktail Ketamine-Xylazine* (K=50 mg/kgbb, X=5 mg/kgbb). Hitung darah lengkap menggunakan *hematology analyzer* Sysmex®XP-100, evaluasi fungsi organ menggunakan *clinical chemistry analyzer* Microlab®300. Pada hari terakhir percobaan, hewan dikorbankan dengan cara anestesi dilanjutkan dengan eksanguinasi. Hati, jantung, dan ginjal diawetkan dalam fiksatif *neutral buffered formalin* (NBF 10 %) untuk diproses lebih lanjut guna pengamatan histopatologis jika hasil analisis darah menunjukkan adanya efek ketoksikan yang signifikan.

Data kualitatif dipaparkan secara deskriptif. Data kuantitatif dianalisis sebagai *descriptive statistic (mean±SEM)* dilanjutkan uji *two-way ANOVA* ($\alpha=0,05$). Hasilnya kemudian divisualisasikan dalam bentuk grafik garis untuk melihat kecenderungan (*trend*) dan dinamika fisiologis. Ada tidaknya efek toksik diamati dengan cara membandingkan data pada perlakuan dan kontrol serta kisaran normal (*baseline*). Nilai *baseline* berasal dari angka terendah hingga tertinggi dari populasi hewan dalam penelitian ini yang diukur pada hari ke-0 (Weiss & Wardrop 2010), ditampilkan dalam grafik sebagai blok berwarna hijau muda.

HASIL

Kondisi fisik, perilaku/aktivitas, nafsu makan, dan struktur feses

Selama percobaan tidak ada tikus yang mati atau sakit akibat pencekokan filtrat buah luwangan. Demikian juga tidak mengganggu nafsu makan yang dapat diketahui dari berat sisa pakan harian dan berat badan yang ditimbang setiap minggu secara reguler (Gambar 3).

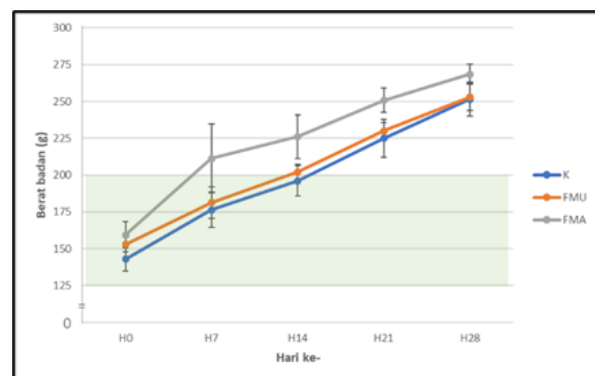
Berat badan tikus pada kelompok perlakuan yang terus meningkat sebagaimana kontrol membuktikan bahwa filtrat buah luwangan muda maupun matang tidak mengurangi nafsu makan. Filtrat buah luwangan juga tidak mengganggu fungsi pencernaan, diamati dari struktur feses yang normal, baik bentuk, warna, maupun konsistensinya (tidak mengalami diarea).

Hasil pengukuran suhu badan selama percobaan menunjukkan bahwa semua tikus berada dalam kondisi sehat, dibuktikan dengan nilai yang tetap dipertahankan di dalam kisaran normal (Gambar 4). Data ini mengindikasikan bahwa filtrat buah luwangan tidak mengandung zat yang menginduksi demam (pirogen) atau memicu peradangan/inflamasi (antigen).

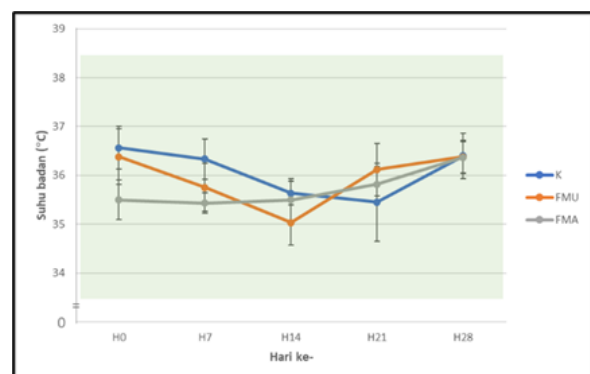
Profil hematologis

Profil hematologis yang terdiri dari eritrosit, leukosit, dan trombosit pada tikus selama percobaan disajikan berturut-turut pada Gambar 5-7.

Terlihat bahwa filtrat buah luwangan matang menurunkan hematokrit, jumlah eritrosit, dan hemoglobin (tidak signifikan dan masih berada di dalam kisaran normal). Kontrol mengalami penurunan hematokrit dan jumlah eritrosit, namun kemudian berangsur kembali ke dalam kisaran normal. Perhitungan indeks eritrosit berupa MCV, MCH, dan MCHC pada

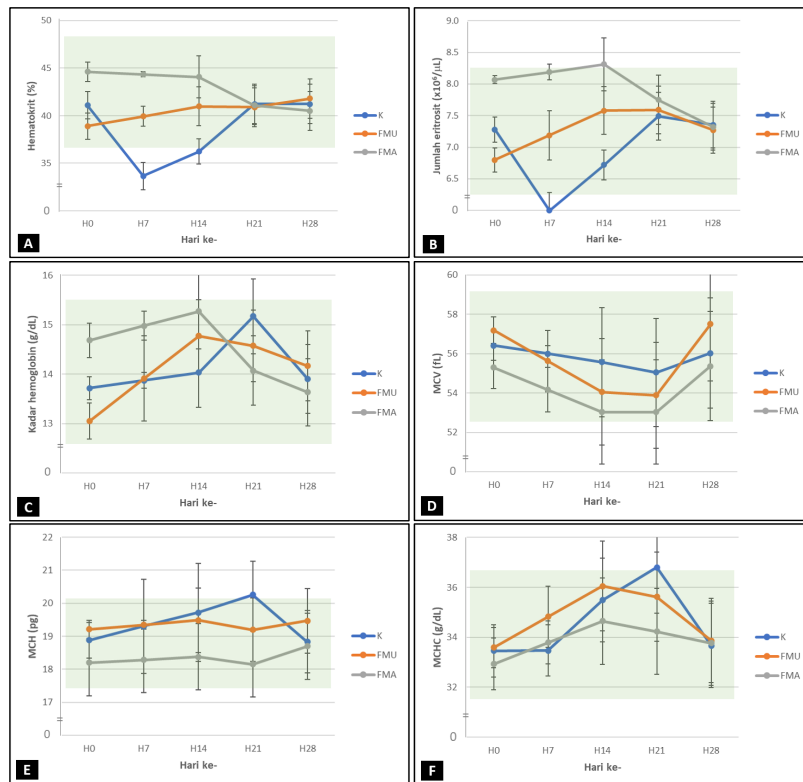


Gambar 3. Berat badan tikus Wistar jantan pada studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwangan.

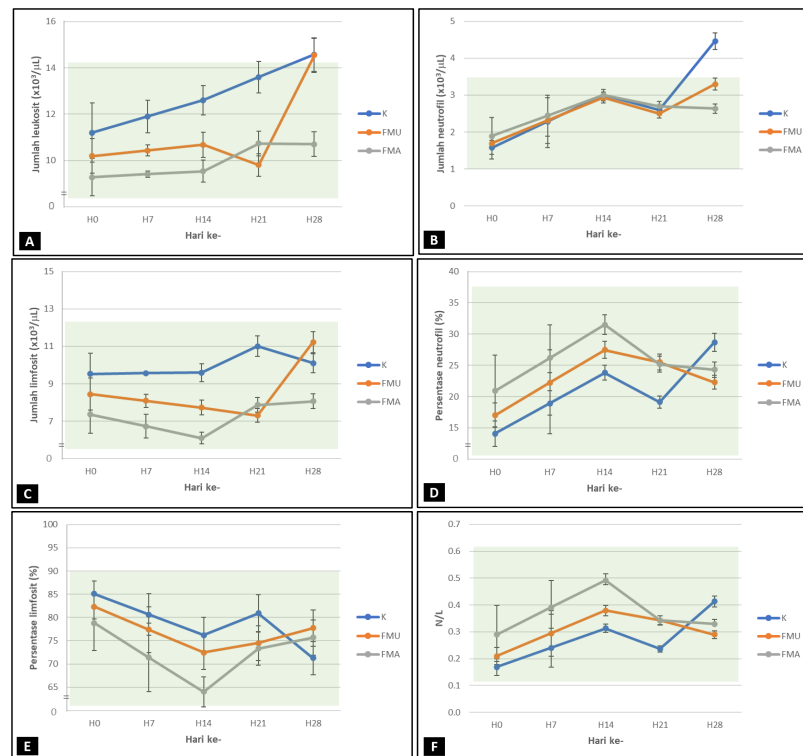


Gambar 4. Suhu badan tikus Wistar jantan pada studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwangan

Toksitas Oral Subakut Filtrat Buah Luwigan (*Ficus hispida* L.f.) pada Tikus



Gambar 5. Profil eritrosit tikus Wistar jantan pada studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwigan. A= hematokrit, B= jumlah eritrosit, C= kadar hemoglobin, D= MCV, E= MCH, F= MCHC



Gambar 6. Profil leukosit tikus Wistar jantan pada studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwigan. A= jumlah leukosit, B= jumlah neutrofil, C= jumlah limfosit, D= persentase neutrofil, E= persentase limfosit, F= N/L

semua kelompok menunjukkan bahwa semua nilai masih berada di dalam kisaran normal. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tidak ada indikasi anemia yang signifikan.

Parameter hematologis profil leukosit dapat dilihat pada Gambar 6, dan terlihat bahwa jumlah leukosit mengalami peningkatan pada semua kelompok. Pada kelompok yang dicekok filtrat buah luwungan muda dan kontrol, peningkatan hingga melebihi kisaran normal (tidak signifikan). Peningkatan jumlah leukosit pada kontrol terjadi akibat peningkatan jumlah neutrofil, sementara peningkatan jumlah leukosit pada kelompok yang dicekok filtrat buah luwungan karena peningkatan jumlah limfosit. Perubahan jumlah neutrofil dan limfosit dapat mengubah proporsi atau persentase keduanya yang dikenal dengan istilah rasio neutrofil terhadap limfosit (N/L). Dalam percobaan ini nilai N/L masih berada di dalam kisaran normal meskipun fluktuatif. Dapat disimpulkan bahwa filtrat buah luwungan muda maupun matang tidak mengandung zat yang memicu respons imun tubuh.

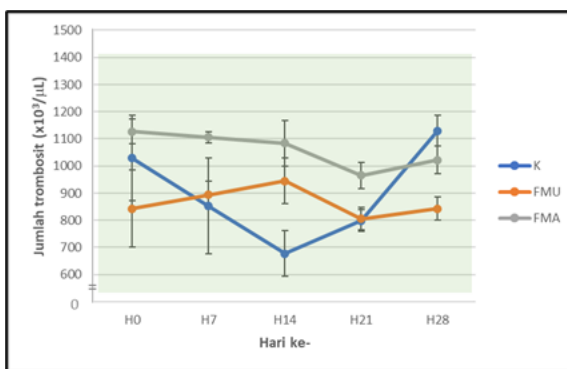
Parameter hematologis selanjutnya adalah jumlah trombosit (Gambar 7). Terlihat bahwa jumlah trombosit pada kelompok yang dicekok filtrat buah luwungan muda maupun matang tetap dipertahankan di dalam kisaran normal. Hal

ini menunjukkan bahwa buah luwungan tidak menimbulkan efek buruk terhadap fungsi hemostasis.

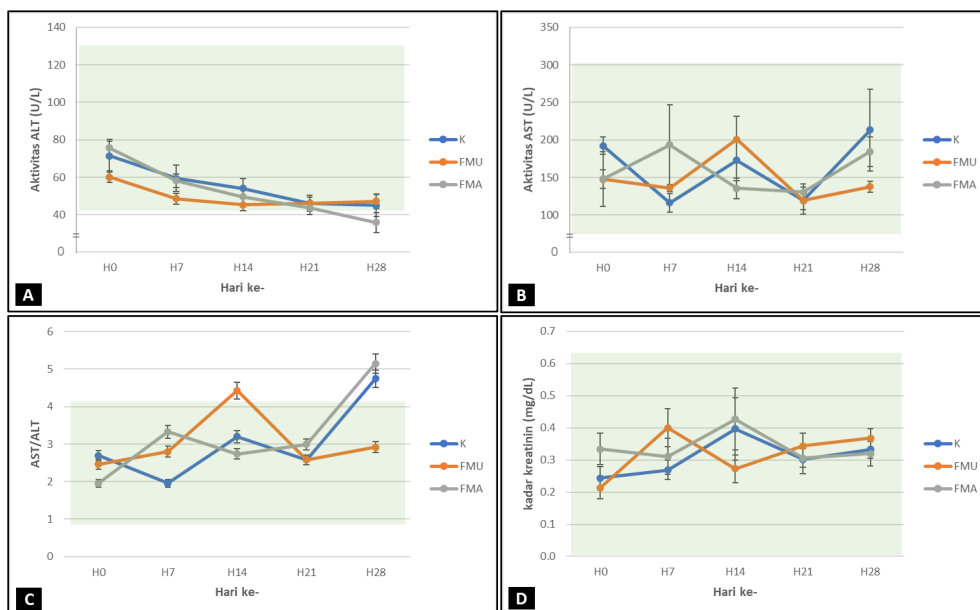
Uji fungsi Organ

Hasil analisis biokimia klinis plasma untuk evaluasi fungsi hati (aktivitas ALT), jantung (aktivitas AST), dan ginjal (kadar kreatinin) disajikan pada Gambar 8.

Terlihat bahwa aktivitas enzim *alanine amino-transferase* (ALT) dalam percobaan ini mengalami penurunan namun masih berada di dalam kisaran normal, kecuali pada kelompok yang dicekok filtrat buah luwungan matang



Gambar 7. Jumlah trombosit tikus Wistar jantan pada studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwungan



Gambar 8. Hasil analisis biokimia klinis plasma untuk evaluasi fungsi organ tikus Wistar jantan pada studi toksisitas oral subakut filtrat buah luwungan. . **A**= fungsi hati berdasarkan aktivitas ALT, **B**= fungsi jantung berdasarkan fungsi AST, **C**= AST/ALT untuk prediksi kerusakan hati, **D**= kadar kreatinin untuk fungsi ginjal

(tidak signifikan). Aktivitas enzim *aspartate amino-transferase* (AST) selain merupakan indikator kesehatan fungsi hati juga dapat digunakan untuk mengevaluasi fungsi jantung. Hasil menunjukkan bahwa nilai AST pada semua kelompok berada di dalam kisaran normal. Fluktuasi nilai merupakan perwujudan dinamika fisiologis normal.

Perhitungan rasio AST terhadap ALT (AST/ALT) atau *De Ritis ratio* dapat digunakan untuk diagnosis penyebab kerusakan hati atau hepatotoksisitas. Hasil menunjukkan bahwa nilai AST/ALT pada kelompok yang dicekok filtrat buah luwungan matang terus meningkat hingga melebihi kisaran normal. Namun demikian peningkatan ini tidak signifikan dan kontrol juga mengalami peningkatan yang serupa.

Hasil pengukuran kadar kreatinin menunjukkan bahwa semua kelompok mengalami fluktuasi namun nilainya masih berada di dalam kisaran normal. Dapat disimpulkan bahwa filtrat buah luwungan tidak mengganggu fungsi ginjal sebagai organ filtrasi.

PEMBAHASAN

Sebagaimana hasil studi toksisitas sebelumnya oleh Fitria dkk. (2019^b) dan Fitria dkk. (2020), pencekokan filtrat buah luwungan tidak menyebabkan kematian atau menimbulkan kondisi subletal (sakit). Tikus yang sakit dapat diamati dari kondisi fisik dan perilaku/aktivitasnya, yaitu: rambut tubuh berdiri (piloereksi), wajah muram, terdapat kotoran kemerahan di sekitar mata dan hidung akibat sekresi porfirin, jari-jari tungkai depan dan belakang serta ekor tampak kotor karena individu tidak aktif melakukan *grooming*, hewan tampak lesu, tidak banyak bergerak, dan pasif saat didekati, serta nafsu makan berkurang (RatCentral 2017).

Selain berat badan, suhu badan juga merupakan parameter fisiologis dasar yang penting karena dapat menunjukkan status kesehatan hewan. Suhu badan hewan yang sakit akan lebih rendah atau lebih tinggi daripada hewan sehat. Suhu badan tikus yang dipertahankan dalam kisaran normal menunjukkan bahwa filtrat buah luwungan muda maupun matang tidak merusak sistem termoregulasi yang dapat mengakibatkan hipotermia atau hipertermia. Menurut Hankeson

et al. (2018), gangguan termoregulasi pada tikus laboratorium terjadi akibat stres atau sakit (demam). Masuknya zat-zat asing yang berbahaya bagi tubuh (antigen) akan direspons dengan kenaikan suhu badan melalui mekanisme inflamasi. Sebaliknya, penurunan suhu badan akibat stres terjadi karena pada kondisi stres hewan menolak makan yang berdampak pada penurunan kadar glukosa darah. Hal tersebut, ditambah aktivitas hormon-hormon stres yaitu adrenalin dan kortisol, memicu glukoneogenesis dan termogenesis yang diimbangi dengan penurunan suhu badan (Nirupama *et al.* 2018).

Profil hematologis atau hitung darah lengkap dapat menggambarkan kondisi kesehatan hewan (Fitria & Mulyati 2014). Masuknya zat-zat asing ke dalam tubuh dapat mengubah nilai profil hematologis, bahkan bersifat toksik terhadap sel-sel darah (hematotoksik). Potensi hematotoksitas harus dikaji terkait administrasi obat-obatan dan zat-zat kimia. Efeknya dimulai dari gangguan transportasi oksigen (fungsi eritrosit), imunitas (fungsi leukosit), *clotting* (fungsi trombosit), bahkan dapat memicu pertumbuhan berbagai macam kanker (Budinsky 2000). Alih-alih bersifat hemotoksik dan karsinogenik, buah luwungan merupakan agen kemopreventif dan antikanker yang potensial karena mengandung senyawa isoflavin, *coumarins*, *caffeoylquinic acids*, fenolik, dan glukosida steroid (Zhang *et al.* 2018). Menurut Hossain *et al.* (2016), buah luwungan juga mengandung sejumlah senyawa antioksidan yang penting untuk melindungi sel-sel tubuh dari stres oksidatif. Kerusakan sel akibat stres oksidatif memicu berbagai penyakit kronik, antara lain: kardiovaskular, paru obstruktif, gagal ginjal, neurodegeneratif, dan kanker (Liguori *et al.* 2018).

Profil eritrosit pada percobaan ini menunjukkan hasil yang sama dengan studi toksisitas menggunakan tikus betina oleh Fitria dkk. (2020), akan tetapi penurunan tidak signifikan sebagaimana pada tikus betina. Perbedaan profil eritrosit pada tikus jantan dan betina bersifat umum, tidak hanya pada studi toksisitas ini saja. Individu jantan memiliki lebih banyak testosteron, di mana hormon ini mampu meningkatkan sintesis eritropoietin untuk produksi eritrosit (Barcello *et al.* 1999). Oleh karena itu, secara alami individu jantan cenderung memiliki jumlah eritrosit yang lebih

banyak dan kadar hemoglobin yang lebih tinggi sehingga dapat mengantisipasi kondisi anemia secara lebih baik daripada individu betina.

Profil leukosit pada percobaan ini menunjukkan hasil yang berkebalikan dengan pada tikus betina (Fitria dkk. 2020). Peningkatan jumlah leukosit yang disebabkan oleh peningkatan jumlah neutrofil atau limfosit mengindikasikan adanya respons imun jika bersifat signifikan atau berada di luar kisaran normal (lebih tinggi atau lebih rendah), serta mengubah nilai N/L (Weiss & Wardrop 2010). Dalam percobaan ini nilai N/L pada semua kelompok masih berada di dalam kisaran normal meskipun nilainya fluktuatif. Dapat disimpulkan bahwa filtrat buah luwungan tidak dianggap sebagai zat asing (antigen) yang membahayakan tubuh sehingga harus dilawan. Namun demikian konsumsi buah luwungan matang perlu diwaspadai karena menunjukkan nilai yang berada di ambang batas.

Jumlah trombosit tikus yang dicekok filtrat buah luwungan muda maupun matang tetap dipertahankan di dalam kisaran normal. Hal ini berarti filtrat buah luwungan tidak mengganggu produksi maupun fungsi trombosit. Dengan kata lain, tidak ada efek samping terhadap mekanisme hemostasis normal seperti adanya perdarahan, hemoragi, lamanya waktu koagulasi darah, dan gangguan proses penutupan luka (*clotting*). Hasil ini serupa dengan studi toksisitas pada tikus betina oleh Fitria dkk. (2020).

Menurut Bhutta *et al.* (2013), ALT merupakan enzim intrasel hepatosit, sehingga keberadaannya di dalam plasma mengindikasikan sejumlah hepatosit yang lisis dan mengakibatkan enzim ini bocor ke dalam sirkulasi darah. Oleh karena itu, peningkatan aktivitas ALT berkorelasi positif dengan gangguan fungsi hati akibat kerusakan hepatosit. Sebaliknya, penurunan aktivitas ALT dapat berarti terjadi perbaikan fungsi hati (Fitria dkk. 2019^a).

Seperti halnya ALT, nilai AST berkorelasi positif dengan gangguan fungsi hati dan jantung. Perhitungan rasio AST terhadap ALT atau AST/ALT (*De Ritis ratio*) dapat digunakan untuk diagnosis penyebab kerusakan hati atau hepatotoksitas. Formula ini diperkenalkan oleh Fernando De Ritis, seorang dokter dari Italia yang mempelajari aktivitas enzim transaminase pada tahun 1956. Nilai AST/SLT yang rendah

menunjukkan kerusakan ekstrahepatik, sedangkan nilai AST/ALT yang tinggi menunjukkan kerusakan intrahepatik (Botros & Sikaris, 2013). Tinggi rendahnya nilai rasio AST/ALT bersifat relatif, oleh karena itu, untuk memudahkan pembacaan maka dibandingkan dengan kontrol yang diasumsikan sebagai individu sehat, serta kisaran nilai normalnya (*baseline*). Hasil menunjukkan bahwa kelompok yang dicekok filtrat buah luwungan matang memiliki nilai AST/ALT yang terus meningkat hingga melebihi kisaran normal, demikian juga pada kontrol. Meskipun tidak signifikan, namun hal ini perlu diwaspadai. Oleh karena itu kami melanjutkan studi toksisitas pada tahap subkronik (90 hari) untuk mengetahui apakah peningkatan ini terus berlanjut atau kembali ke dalam kisaran normal.

Kreatinin sebagai hasil metabolisme otot merupakan limbah yang harus diekskresikan. Oleh karena itu, tingginya kadar kreatinin dalam sirkulasi darah berkorelasi positif dengan kerusakan filtrasi ginjal pada glomerulus (Fitria dkk. 2019^a). Hasil percobaan menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada semua kelompok memiliki nilai yang berfluktuasi namun tetap berada di dalam kisaran normal. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada kerusakan fungsi ginjal akibat konsumsi filtrat buah luwungan. Hasil ini berbeda dari studi toksisitas pada tikus betina oleh Fitria dkk. (2020). Dengan adanya perbedaan hasil ini, maka memperkuat alasan untuk dilakukan studi toksisitas lanjutan (periode subkronik) guna mempelajari potensi buah luwungan terhadap kerusakan fungsi ginjal (nefrotoksitas) dengan menggunakan tambahan indikator lain yaitu *blood urea nitrogen* (BUN). Menurut Bhutta *et al.* (2013), urea adalah variabel utama untuk uji fungsi ginjal selain kreatinin. Limbah hasil metabolisme protein ini secara konsisten diekskresikan melalui ginjal sebagai urin. Oleh karena itu, tingginya kadar urea di dalam plasma dapat digunakan untuk indikator gangguan fungsi ginjal.

SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian *per oral* filtrat buah luwungan muda atau matang pada tikus Wistar jantan tidak mengganggu nafsu makan dan sistem pencernaan ditunjukkan dengan pertumbuhan

