

RESEARCH STUDY

Indonesian Version

OPEN ACCESS

Pengaruh *Food Bar* Berbasis Daun Katuk dan Daun Torbangun pada Profil Toksisitas Tikus Putih

The Effect of Food Bars Made from Katuk Leaf and Torbangun Leaf on the Toxicity Profile of White Rats

Shelfia Chakarita Baskara¹, Nanang Nasrulloh^{1*}, Avliya Quratul Marjan¹¹Program Studi Ilmu Gizi Program Sarjana, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta, Kota Depok, Indonesia**INFO ARTIKEL**

Received: 12-09-2024

Accepted: 31-12-2024

Published online: 31-12-2024

***Koresponden:**

Nanang Nasrulloh

nasrulloh@upnvi.ac.idDOI:
10.20473/amnt.v8i3SP.2024.336-343**Tersedia secara online:**<https://e-journal.unair.ac.id/AMNT>**Kata Kunci:***Food bar, Tikus putih galur wistar jantan, Gejala toksis, Bobot badan tikus***ABSTRAK**

Latar Belakang: Berbagai tanaman herbal yang tumbuh di Indonesia, seperti daun katuk dan daun torbangun telah diketahui memiliki banyak khasiat bagi kesehatan. Kedua tanaman ini mengandung senyawa-senyawa penting seperti vitamin, mineral, dan antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Berdasarkan penelitian sebelumnya, daun katuk dan daun torbangun terbukti dapat meningkatkan produksi air susu ibu. Namun, kajian mengenai manfaat dan potensi toksisitas penggunaan kedua tanaman herbal tersebut pada hewan coba masih sangat terbatas. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi dan mengidentifikasi secara komprehensif profil toksisitas yang mungkin timbul pada tikus putih setelah pemberian suplemen herbal berbasis daun katuk dan daun torbangun. Informasi ini penting untuk menilai keamanan penggunaan sediaan herbal tersebut.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan dan mengidentifikasi gejala toksisitas dari *food bar* yang mengandung tepung daun katuk dan daun torbangun pada tikus putih jantan galur wistar.

Metode: Penelitian menggunakan metode kuantitatif dengan desain *True Experimental Design*. Sampel penelitian 32 ekor tikus putih yang dibagi menjadi dua kelompok. Tikus diberi *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun dengan dosis mulai dari 1,75 mg/KgBB hingga 17,5 mg/KgBB. Pengamatan dilakukan selama 14 hari terhadap gejala toksisitas seperti perubahan kulit dan bulu, kejang, tremor, koma, dan kematian. Uji statistik yang digunakan adalah uji normalitas, uji homogenitas, dan uji hipotesa (ANOVA)

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun tidak menimbulkan gejala toksisitas pada tikus putih. Rerata bobot badan tikus tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok ($p\text{-value} > 0,05$ yaitu dengan hasil 0,109).

Kesimpulan: Pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun tidak memiliki sifat toksik dan aman dikonsumsi. Gejala toksisitas tidak terbukti pada tikus putih yang diberikan *food bar* tersebut.

PENDAHULUAN

Berbagai tanaman herbal yang terdapat di Indonesia, seperti daun katuk dan daun torbangun, diketahui memiliki potensi khasiat yang substansial di bidang kesehatan. Tanaman-tanaman ini telah lama dimanfaatkan secara tradisional karena terbukti memiliki kandungan gizi yang bermanfaat bagi kesehatan manusia¹. Daun katuk memiliki warna hijau gelap dan tumbuh secara merambat atau tegak. Daun ini kaya akan berbagai vitamin, seperti vitamin C, vitamin B, vitamin A, dan vitamin K, serta mineral penting seperti kalsium, besi, kalium, fosfor, dan magnesium². Selain itu, daun katuk juga mengandung senyawa fitosterol dan flavonoid dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman tropis lain yang dapat dikonsumsi³. Di sisi lain,

daun torbangun memiliki tekstur yang licin dan tebal serta beraroma *oregano* atau *mint*. Tanaman herbal ini telah lama dikonsumsi secara harian sebagai makanan tambahan atau pengobatan tradisional. Secara keseluruhan, baik daun katuk maupun daun torbangun memiliki potensi gizi yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, terutama karena kandungan vitamin, mineral, dan senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya.

Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Lutfiani dan Nasrulloh terkait pemanfaatan tanaman herbal yang dibuat menjadi *food bar* dengan penambahan formulasi tepung daun torbangun dan daun katuk, menunjukkan adanya peningkatan produksi ASI (Air Susu Ibu) setelah mengkonsumsi *food bar* tersebut⁴. Melihat manfaat daun katuk dan daun torbangun terhadap kesehatan, salah

satunya untuk peningkatan produksi ASI dan masih jarang penelitian mengenai manfaat daun katuk dan daun torbangun terhadap hewan coba, maka penelitian ini penting dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gejala toksis pada tikus putih. Sesuai dengan regulasi Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI), Untuk memastikan keamanan paparan suatu zat pada manusia, perlu dilakukan uji toksisitas pra-klinik secara *in vivo*. Tujuan utama dari uji ini adalah untuk mengevaluasi efek kumulatif dosis yang dapat menimbulkan potensi efek toksik potensial pada manusia, seperti efek karsinogenik dan efek toksik lainnya yang dapat berdampak pada kesehatan⁵. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gejala toksisitas pada kelompok tikus putih setelah pemberian *food bar* formula yang mengandung kombinasi tepung daun katuk dan daun torbangun. Uji toksisitas *in vivo* pada hewan coba seperti tikus putih merupakan langkah penting dalam mengevaluasi keamanan suatu bahan atau produk sebelum dapat diaplikasikan pada manusia.

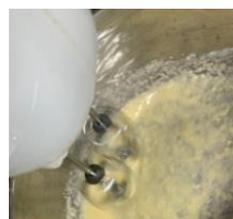
METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama kurang lebih 2 bulan pada tikus putih yang diberikan intervensi *food bar* tepung daun torbangun dan daun katuk. Tempat penelitian terbagi menjadi beberapa lokasi, dengan tahap

pembuatan dan formulasi *food bar* dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pangan, S1 Ilmu Gizi, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, dan tahap terakhir, yakni uji efektivitas produk, dilaksanakan di Laboratorium Animal Research Facility Unit – (International Conference on Health Innovation and Technology (ICOHIT) Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta. Penelitian ini menggunakan metode kuantitatif dengan jenis *True Experimental Design* dan desain *Randomized Post Test Control Group Only*, di mana kelompok intervensi dan kontrol dibandingkan setelah perlakuan diberikan pada kelompok intervensi. Populasi penelitian adalah tikus putih jantan galur wistar berusia 2-3 bulan dengan bobot tubuh 150-200 gram. Sampel penelitian terdiri dari 32 ekor tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok, menggunakan Rumus Federer untuk menentukan ukuran sampel. Kriteria inklusi meliputi tikus putih jantan sehat berusia 2-3 bulan dengan bobot 150-200 gram, sedangkan kriteria eksklusi meliputi tikus yang sakit, mati, atau mengalami penurunan berat badan lebih dari 10%. Tahap pembuatan *food bar* melibatkan pencampuran bahan-bahan seperti margarin, gula, garam, susu full cream bubuk, telur, air, tepung terigu, tepung torbangun, dan tepung katuk, yang kemudian dicetak dan dipanggang. Berikut adalah gambaran dalam pembuatan *food bar* yang sudah mendapatkan formulasi terbaik.



Persiapkan bahan untuk pembuatan *food bar* yang terdiri dari tepung katuk-torbangun,,susu bubuk, tepung terigu, garam, gula, telur, dan mentega



Mixer gula dan telur di dalam wadah, kemudian tambahkan margarin



Selanjutnya, tambahkan tepung terigu, susu bubuk, dan garam secara bertahap



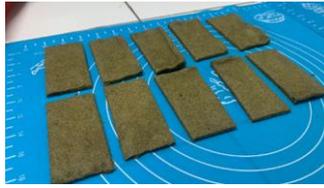
Masukkan tepung daun katuk dan daun torbangun, lalu air sedikit demi sedikit dan aduk kembali sampai adonan merata



Cetak *food bar* ke dalam wadah cetakan



Kemudian adonan di oven menggunakan oven listrik dengan suhu 130°C dalam waktu 15 menit



Food bar tepung daun katuk dan daun torbangun siap disajikan

Gambar 1. Langkah pembuatan *food bar*

Penelitian ini menggunakan berbagai alat dan bahan, termasuk kandang hewan uji, timbangan analitik, alat sonde, dan pakan tikus (Rat Bio)⁷. Hewan uji diberi dosis *food bar* tepung daun katuk-torbangun mulai dari 1,75 mg/KgBB hingga 17,5 mg/KgBB. Penelitian ini, dilakukan pengamatan terhadap tanda-tanda toksisitas pada tikus putih yang diberi perlakuan. Observasi dilakukan selama 14 hari dengan memantau perubahan yang terjadi pada kulit, kondisi bulu, serta kemunculan gejala klinis seperti kejang, tremor, koma, dan kematian hewan coba. Pemantauan tanda-tanda toksisitas secara komprehensif selama periode merupakan langkah penting dalam uji toksisitas praklinik. Perubahan pada parameter-parameter tersebut dapat mengindikasikan adanya efek toksik akibat pemberian dosis zat uji. Kelompok kontrol hanya diberi pakan biasa dan air, sedangkan kelompok intervensi diberi pakan tambahan berupa *food bar* tepung daun katuk dan torbangun. Hasil pengamatan dibandingkan antara kelompok kontrol dan intervensi untuk mengetahui efek perlakuan. Parameter yang diamati mencakup perubahan pada kondisi fisik, seperti perubahan pada bulu dan kulit, serta gejala klinis yang mungkin timbul, seperti kejang, tremor, koma, dan kematian hewan coba setelah pemberian *food bar*. Hal ini diamati setelah 24 jam selama masa intervensi dalam waktu 14 hari. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan pemantauan gejala toksik pada tikus putih dengan sampel *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun pada tikus putih galur wistar jantan yang diberikan secara peroral untuk mengetahui tingkat keamanan *food bar* tersebut. Pengamatan dalam penelitian ini, dilakukan selama 14 hari untuk mengevaluasi tanda-tanda toksisitas, termasuk perubahan pada kulit dan bulu, serta gejala klinis seperti kejang, tremor, koma, dan kematian pada hewan⁶. Pada penelitian ini penulis telah mendapatkan persetujuan etik (*ethical approval*) dengan (Nomor: 81/III/2024/KEP) yang dirilis oleh KEPK UPN "Veteran" Jakarta pada tanggal 11 Maret 2024.

Analisis Univariat

Hasil analisis univariat digunakan untuk menggambarkan atau mendeskripsikan distribusi data dari sebuah variabel yang diteliti meliputi gejala toksik dan bobot badan tikus uji. Analisis univariat dapat menyediakan informasi deskriptif dasar tentang suatu variabel sebelum melakukan analisis lebih lanjut seperti analisis bivariat.

Analisis Bivariat

Hasil uji bivariat digunakan untuk melihat adanya pengaruh antara kedua variabel, yakni variabel independent (*food bar*) dengan variabel dependen

(gejala toksik). Penelitian ini menerapkan uji *Shapiro Wilk*. Berikut ialah temuan uji bivariat dari variabel yang diteliti.

Uji Normalitas

Gejala Toksisitas

Pada penelitian ini, jumlah sampel yang digunakan sebanyak 32 ekor tikus putih. Mengingat jumlah sampel tidak lebih dari 50, maka uji normalitas yang akan diterapkan adalah uji *Shapiro-Wilk*. Hipotesis yang digunakan menyatakan bahwa jika nilai $p\text{-value} > 0,05$, maka data terdistribusi normal, namun jika $p\text{-value} < 0,05$, maka data tidak terdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji normalitas, diperoleh nilai $p\text{-value} < 0,01$ baik untuk kelompok tikus yang bergejala toksik (0,000) maupun yang tidak bergejala toksik (0,000). Salah satu hasil $p\text{-value} < 0,05$ menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, langkah selanjutnya adalah melakukan analisis non-parametrik menggunakan uji *Wilcoxon* untuk mengevaluasi perbedaan antara kelompok-kelompok tersebut.

Analisis Deskriptif Bobot Badan Tikus

Beberapa tahapan analisis yang dilakukan yaitu uji normalitas, uji univariat, dan uji bivariat. Proses analisis diawali dengan uji normalitas untuk menentukan apakah data terdistribusi normal atau tidak. Jika data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas. Data yang terdistribusi normal memiliki kurva simetris, di mana sebagian besar data mengelompok dan terdistribusi merata di kedua sisi kurva, tidak melebihi rata-rata. Uji homogenitas merupakan prosedur uji statistik yang dirancang untuk menunjukkan bahwa dua atau lebih kumpulan data sampel berasal dari populasi yang memiliki varians yang sama. Tujuan uji homogenitas adalah untuk melihat kehomogenan data. Apabila data teridentifikasi homogen, maka langkah selanjutnya adalah melakukan uji ANOVA. Uji ANOVA dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan atau intervensi yang diberikan terhadap sampel uji. Berikut adalah penjelasan tahapan lebih lanjut:

Uji Homogenitas (*Levene*)

Uji *Levene* sering digunakan untuk menguji homogenitas varians karena lebih tahan terhadap penyimpangan distribusi normal dibandingkan uji homogenitas varians lainnya. Dengan melakukan uji homogenitas, untuk hasil uji dapat dipastikan bahwa asumsi penting dari analisis statistik terpenuhi dan hasil analisis yang diperoleh valid sehingga dapat diinterpretasikan dengan tepat. Berdasarkan hasil uji homogenitas *Levene* menunjukkan menunjukkan hasil dari nilai signifikansi bobot badan dari hari ke-1 sampai

dengan hari ke-14 menunjukkan angka $>0,05$ yang artinya homogen (sama) sehingga dilanjutkan dengan uji statistic parametric analisis varians (ANOVA).

Uji Hipotesa (ANOVA)

Analisis varian (*analysis of variance*, ANOVA) merupakan sebuah analisis statistik yang menguji perbedaan rerata antar grup. Metode ini juga dikenal dengan berbagai istilah lain, seperti analisis ragam, sidik ragam, dan analisis variasi, sehingga uji F juga umum digunakan dalam pengambilan kesimpulan. Selain itu, analisis ini masih memiliki keterkaitan dengan analisis regresi, yang menyebabkan penggunaannya sangat luas di berbagai bidang, mulai dari eksperimen laboratorium hingga eksperimen kemasyarakatan dan lainnya¹⁴. Melihat dari hasil perhitungan F hitung $< F$ tabel, H_0 diterima artinya data bobot badan tikus tidak berbeda secara signifikan. Adapun nilai hasil dari uji ANOVA yakni p-value yaitu 0,109 yang berarti $p\text{-value} \geq 0,05$ sehingga data kelompok uji tikus kontrol maupun kelompok uji tikus perlakuan tidak ada perbedaan bobot badan secara signifikan. Berat badan tikus merupakan salah satu parameter yang diukur dalam evaluasi toksisitas. Perubahan berat badan hewan coba dapat menjadi data pendukung untuk menganalisis efek toksik dari suatu intervensi. Menurut teori yang disampaikan oleh Herlina, perubahan berat badan, baik penurunan maupun peningkatan, yang terjadi pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan selama penelitian tidak lebih dari 10%. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap perubahan berat badan hewan selama pengujian. Sehingga, data perubahan berat badan tikus dapat digunakan sebagai indikator tambahan untuk mendukung hasil analisis toksisitas, di mana fluktuasi berat badan yang tidak melebihi 10% mengindikasikan bahwa intervensi yang diberikan tidak memberikan efek toksik yang signifikan terhadap hewan¹⁵.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang fokus pada karakteristik *food bar* daun katuk dan daun torbangun, dengan penelitian ini menitikberatkan pada intervensi terutama pada hewan coba⁸. Diawali dengan ditemukannya komposisi *food bar* yang dapat menambah produksi ASI, penelitian sebelumnya belum didukung oleh uji keamanan pangan secara klinis terhadap hewan coba. Langkah awal dilakukan dengan menentukan hewan uji yang akan digunakan, yaitu tikus putih galur wistar (jantan) yang memiliki karakteristik fisik mirip dengan manusia karena 98% gen manusia memiliki kesamaan dengan gen tikus. Hewan uji diaklimatisasi selama tujuh hari dengan diberikan pakan berupa pur Bio Rat dan perawatan lainnya seperti penggantian sekam dan pencucian kandang. Bahan uji yang digunakan adalah *food bar* tepung daun katuk dan torbangun yang diberikan dalam bentuk makanan cair atau sonde untuk memastikan dosis yang masuk sesuai persyaratan. Dosis yang diberikan mengacu pada standar BPOM dengan pengamatan dilakukan secara individual setiap hari selama 14 hari. Tanda gejala toksis yang diamati meliputi kondisi fisik, tingkah laku, sistem saraf pusat, sistem pernapasan, dan

kematian. Pencatatan bobot badan hewan uji juga dilakukan sebagai parameter penting dalam memonitor tanda toksisitas. Setelah 14 hari masa penelitian, data hasil penelitian diolah sesuai tujuan awal. Selain pemilihan tikus uji dan pencatatan hasil, pengetahuan tambahan seperti penanganan dan pemeliharaan kesehatan tikus uji harus mengikuti protokol yang berlaku dan standar etik yang disetujui. Setelah perlakuan, tikus uji diberlakukan dengan euthanasia hewan uji sesuai prosedur yang mengurangi rasa sakit dan stres.

Sebelum melakukan penelitian, hewan uji diaklimatisasi (masa adaptasi) selama tujuh hari. Tujuan aklimatisasi adalah untuk membiasakan hewan uji dengan lingkungan dan kondisi penelitian. Selama tahap aklimatisasi, hewan uji diberikan pakan standar berupa pelet (Rat Bio) yang mengandung komposisi 60% karbohidrat, 20% protein, 4% lemak, 4% serat kasar, 12% kalsium, dan 0,7% fosfor. Selain itu, hewan uji juga mendapatkan perawatan lainnya yang diperlukan selama masa adaptasi. Proses aklimatisasi ini penting dilakukan sebelum memulai intervensi penelitian untuk memastikan bahwa hewan uji berada dalam kondisi yang sesuai dan siap untuk menanggapi perlakuan yang akan diberikan selama penelitian. Perawatan yang dimaksud yakni berupa penggantian sekam selama tiga hari sekali dan pencucian kandang satu kali setiap minggunya. Sementara itu, cara untuk membuat tikus putih tetap aktif adalah meletakkan pipa di dalam kandang. Pipa ini berfungsi sebagai mainan tikus untuk mengurangi tingkat stress dan menambah aktivitas pergerakan tikus. Selanjutnya, untuk bahan uji yang digunakan adalah *food bar* tepung daun katuk dan torbangun. Untuk memudahkan agar *food bar* dapat dengan mudah dikonsumsi oleh maka *food bar* yang diberikan dalam bentuk makanan cair atau sonde. Hal ini perlu dilakukan karena kemungkinan *food bar* tersebut tidak terkonsumsi secara utuh oleh hewan uji sehingga *food bar* tersebut disondekan terlebih dahulu sebelum diberikan kepada hewan uji. Tujuannya untuk memastikan *food bar* yang masuk ke dalam tubuh hewan uji sesuai dengan persyaratan.

Dalam penelitian ini, tikus uji diobservasi secara individual selama setidaknya 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji. Selanjutnya, pengamatan dilakukan setiap empat jam selama 24 jam pertama. Setelah itu, pengamatan dilakukan satu kali sehari selama 14 hari. Sementara itu, untuk membedakan setiap sampel maka diterapkan penandaan khusus pada tikus uji masing-masing dari kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Hal ini diperlukan agar tidak tertukar dalam pemantauan selama penelitian. Penandaan tikus uji diletakkan pada ekor tikus kemudian diberikan angka romawi. Untuk membedakan antar dua kelompok maka diberi tinta warna spidol yang tidak sama. Tanda gejala toksis yang diamati meliputi kondisi fisik, tingkah laku, sistem saraf pusat, sistem pernafasan, dan kematian. Dalam tahap ini, gejala-gejala yang diamati tersebut direkam ke dalam catatan individual secara sistematis yang dilakukan untuk setiap masing-masing tikus uji. Catatan tersebut mengindikasikan ada atau tidaknya efek toksis dari sediaan bahan yang diuji.

Pemantauan bobot badan pada hewan uji secara tidak langsung dapat menjadi parameter evaluasi efek

dari bahan sediaan uji dan memastikan kesehatan hewan coba selama percobaan. Hal ini merupakan bagian penting dari prosedur standar dalam pengujian toksisitas. Kemudian, setelah 14 hari masa penelitian dan sudah memperoleh data hasil penelitian maka untuk tahapan selanjutnya adalah mengolah data penelitian sesuai dengan tujuan awal penelitian. Tahap terakhir selain pemilihan tikus uji dan pencatatan hasil, dibutuhkan pengetahuan tambahan seperti penanganan, pemeliharaan kesehatan tikus uji. Selama masa penelitian harus mengikuti protokol yang berlaku dan sesuai dengan standar etik yang telah disetujui. Setelah perlakuan, sesuai prosedur tikus uji diberlakukan dengan euthanasia hewan uji. Euthanasia adalah tindakan menghilangkan nyawa hewan coba melalui prosedur yang menyebabkan hewan mengalami penurunan kesadaran, sehingga hewan tersebut meninggal tanpa merasakan stres atau rasa sakit¹⁶. Salah satu cara euthanasia pada hewan uji adalah dengan dislokasi leher yaitu memutus sumsum tulang belakang dengan cara

menekan kepala mencit kemudian ibu jari dan telunjuk, kemudian dilakukan penarikan ekor dengan kuat secara tiba-tiba¹⁷. Hal ini dipercaya sebagai salah satu cara yang paling efektif untuk mengurangi rasa sakit yang dirasakan hewan coba. Untuk itu, berdasarkan prosedural tikus uji yang telah selesai diteliti tidak mengalami rasa sakit dan nyeri pada saat diberi perlakuan euthanasia.

Gejala Toksisitas

Pengamatan yang dilakukan yakni melihat tanda gejala toksisitas yang bertujuan untuk mengidentifikasi efek toksik pada kelompok hewan uji. Gejala toksisitas merupakan tanda awal penyebab kemunculan adanya toksisitas atau keracunan seperti yang disebutkan oleh Kurniawidjaja bahwa toksisitas (*toxicity*) merupakan kapasitas intrinsik dari suatu toksikan yang dapat menimbulkan efek bagi suatu organisme⁹. Efek gejala toksisitas dapat muncul secara bertahap pada hewan uji. Pencatatan selama masa intervensi pada hewan uji dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan gejala toksisitas

Pengamatan	30 M	240 M	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 8	D 9	D 10	D 11	D 12	D 13	D 14
Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperaktivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mortalitas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

30m – 240m: 30 menit hingga 240 menit,

D2 – D14: Day/Hari ke-2 hingga ke-14

(-): tidak terjadi

Tabel 1 menampilkan tanda gejala toksisitas yang diamati meliputi piloereksi (perubahan pada bulu tikus), konvulsi (kejang), tremor (bergetar), hiperaktivitas (reaksi berlebihan), dan mortalitas (tahapan kematian). Berdasarkan hasil dari Tabel 7 maka pengamatan setelah pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun tidak menunjukkan adanya tanda gejala

toksisitas pada keseluruhan hewan uji. Gejala toksisitas diamati secara langsung selama 30 menit setelah diberikan bahan uji kemudian pengamatan tanda gejala toksisitas dilanjutkan selama 14 hari. Gambaran distribusi ada atau tidaknya gejala toksisitas sebelum dan setelah diberikan perlakuan terdapat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Gambaran gejala toksisitas sebelum dan setelah perlakuan

Tanda Gejala Toksisitas Setelah Perlakuan	Kelompok Penelitian		Total
	Kontrol (n) (%)	Perlakuan (n) (%)	
Tidak Bergejala	16 (100%)	16 (100%)	32 (100%)
Bergejala	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Total	16 (100%)	16 (100%)	32 (100%)

Tabel 2 menyatakan distribusi tanda gejala toksisitas. Dari Tabel 8 didapatkan bahwa dari kedua kelompok baik kelompok kontrol maupun kelompok intervensi dengan total masing-masing 16 tikus per kelompok tidak terdapat gejala toksisitas dengan persentase 100%. Pada kelompok hewan uji tidak ditemukan perubahan tingkah laku. Oleh karena itu, pengamatan yang dilakukan selama 14 hari tidak ditemukan adanya gejala toksisitas yang terjadi pada seluruh hewan uji tikus.

Secara nyata, perubahan berat badan termasuk dalam indikator yang dapat dilihat secara mudah dan sebagai tanda awal timbulnya efek toksik dari sediaan uji yang diberikan⁶. Kenaikan bobot badan tikus diperoleh dari pengukuran bobot badan tikus selama rentang waktu 14 hari pada masa intervensi berlangsung. Berdasarkan hasil diperoleh data sebanyak 24 tikus uji yang diidentifikasi maka bobot badan yang naik persentasenya 75,0% dan sebanyak 8 tikus uji bobot badannya tidak naik dengan persentase 12,5%. Mayoritas bobot badan yang naik yakni kelompok yang diberikan perlakuan. Peningkatan bobot badan dapat dilihat dari

Bobot Badan Tikus Setelah Perlakuan

bertambahnya berat badan, yang dilakukan dengan pengukuran berat badan tikus uji dimulai pada hari pertama sampai hari terakhir. Tikus uji diberikan standar pakan yang diujikan, pakan standar yang diberikan pada tikus uji yaitu pakan (Rat Bio) yang mengandung karbohidrat sebanyak 60%, protein sebanyak 20%, lemak sebanyak 4%, serat kasar sebanyak 4%, kalsium sebanyak 12%, dan fosfor sebanyak 0,7%. Kenaikan bobot badan yang dialami oleh tikus uji sejalan dengan penelitian Adnyana yang menyatakan bahwa pakan induksi tinggi karbohidrat dan lemak dapat membentuk lemak *visceral* yang diikuti dengan efek samping yang terlihat yaitu peningkatan bobot badan pada hewan uji¹⁰. Hal ini dibuktikan dengan komposisi pakan tikus yang diberikan yaitu 60% karbohidrat ditambahkan sediaan uji. Dengan demikian, peningkatan bobot badan tikus tidak sepenuhnya dipengaruhi oleh komposisi sediaan uji yaitu *food bar* tepung daun torbangun dan daun katuk.

Bobot Badan Tikus

Menurut Ghozali, uji normalitas merupakan salah satu uji statistik yang digunakan untuk menentukan apakah data yang diperoleh dari suatu penelitian atau percobaan terdistribusi secara normal atau tidak¹¹. Uji normalitas dilakukan untuk menguji apakah nilai residual yang telah distandarisasi pada model regresi terdistribusi normal. Keberadaan uji normalitas menjadi penting untuk dilakukan sebelum melanjutkan ke uji-uji lainnya. Hal ini dikarenakan asumsi normalitas merupakan salah satu prasyarat yang harus dipenuhi dalam beberapa metode analisis statistik parametrik. Oleh karena itu, uji normalitas menjadi tahap awal yang penting dalam proses analisis data, untuk memastikan bahwa data yang akan dianalisis selanjutnya telah memenuhi asumsi normalitas. Hal ini akan menentukan pemilihan metode analisis yang sesuai untuk menarik kesimpulan yang valid dari hasil penelitian atau percobaan. Uji ini merupakan bagian dari uji prasyarat untuk melakukan analisis statistik parametrik seperti analisis varians (ANOVA), regresi linier, dan lainnya. Dengan uji normalitas, maka tahapan penelitian selanjutnya dapat menghindari bias dalam penarikan kesimpulan dari hasil analisis data jika asumsi normalitas tidak terpenuhi. Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro-wilk* pada, menunjukkan hasil dari nilai signifikansi bobot badan dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-14 menunjukkan angka $>0,05$ yang artinya terdistribusi normal. Jika kedua kelompok data yang diperoleh telah memenuhi asumsi normalitas, maka analisis dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas varians. Hasil uji homogenitas varians akan menentukan jenis uji statistik yang tepat untuk digunakan. Jika varians

homogen, maka ANOVA dapat digunakan. Namun, jika varians tidak homogen, dilanjutkan dengan uji non-parametrik seperti *Kruskal-Wallis* atau *Mann-Whitney* mungkin lebih tepat digunakan.

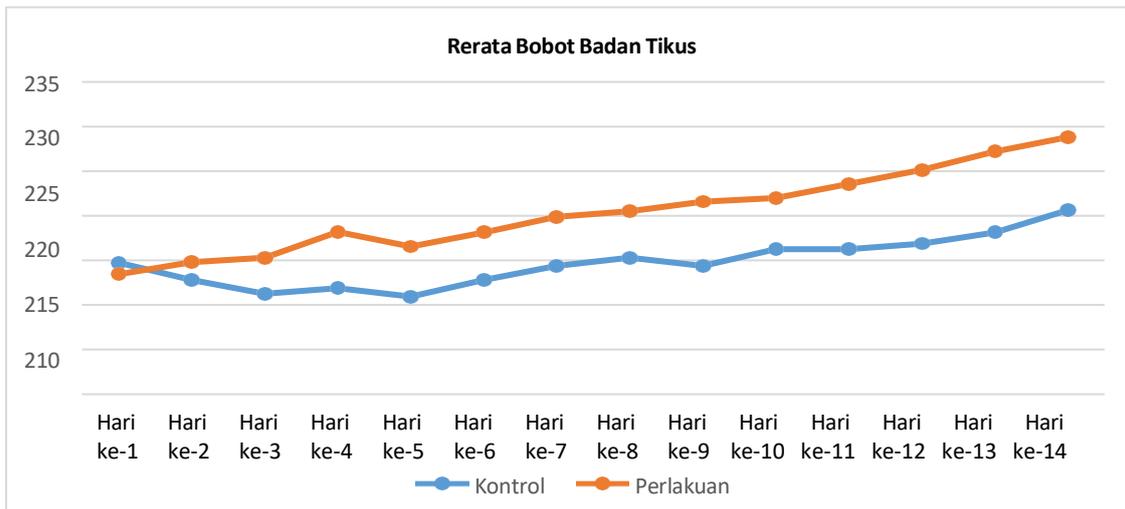
Gejala Toksisitas

Hasil uji pengaruh antar kedua variabel menggunakan uji *Wilcoxon Sign Rank Test*. Uji ini dilakukan untuk menguji dua sampel berpasangan. Dengan tujuan untuk melihat adanya pengaruh atau tidak dari pemberian *food bar* terhadap tanda gejala toksisitas. Berdasarkan Hasil Uji *Wilcoxon* diketahui bahwa p-value adalah 1,000. Hasil p-value lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima sehingga dapat diartikan tidak terdapat pengaruh pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun terhadap tanda gejala toksisitas.

Bagi penelitian yang melibatkan pengujian pada hewan uji seperti tikus putih, salah satu aspek penting yang perlu diperhatikan adalah evaluasi potensi toksisitas atau efek samping yang merugikan¹². Namun, perlu dilakukan analisis yang lebih mendalam untuk memastikan keamanan dan keefektifan suatu senyawa atau *treatment* yang sedang diteliti. Dalam penelitian toksikologi, terdapat beberapa parameter yang diukur, seperti piroleksi (perubahan pada bulu tikus), konvulsi (kejang), tremor (bergerak), hiperaktivitas (reaksi berlebihan), dan mortalitas (tahapan kematian). BPOM menyebutkan bahwa parameter toksikologi menunjukkan tidak ada perubahan signifikan pada parameter-parameter tersebut dibandingkan dengan kelompok kontrol, itu merupakan indikasi awal bahwa senyawa atau *treatment* yang diuji tidak menyebabkan efek toksik yang nyata¹³. Periode 14 hari dianggap cukup untuk mendeteksi efek toksik akut (dalam beberapa hari) dan efek toksik subkronis (dalam beberapa minggu) dari suatu senyawa atau bahan uji. Observasi hewan uji secara individual dilakukan dalam waktu 30 menit pertama setelah diberikan sediaan uji, dan setiap 4 jam secara periodik selama 24 jam pertama dilakukan dalam waktu sehari sekali selama 14 hari.

Rerata Kenaikan Bobot Badan Tikus

Hasil pengukuran bobot badan tikus bertujuan untuk menjelaskan situasi yang hendak diteliti serta melihat terdapat perbedaan atau tidak dari pengaruh pemberian *food bar* terhadap bobot badan tikus. Pengukuran bobot badan tikus dilakukan setiap hari dalam jangka waktu 14 hari setelah bahan uji diberikan ke tikus. Adapun hasil pengukuran bobot badan pada tikus yang diberikan *food bar* dapat dilihat di Gambar 2.



Gambar 2. Mean berat tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan

Mean berat badan tikus berdasarkan Gambar 2 selama 14 hari pada kelompok perlakuan memiliki bobot badan terendah yakni pada hari ke-1 yaitu 213,44 gram. Untuk bobot badan tertinggi mencapai 228,81 gram jatuh pada hari ke-14. Sementara itu, untuk kelompok kontrol nilai bobot terendah terdapat pada hari ke-5 yakni 210,94 gram dan bobot badan tertinggi jatuh pada hari ke-14 sebesar 220,63 gram. Hal ini menunjukkan bahwa data berdasarkan grafik rerata bobot badan mengalami kenaikan baik dari kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Kenaikan bobot badan pada grafik tersebut sejalan dengan penelitian Adnyana yang menyatakan bahwa pakan induksi tinggi karbohidrat dan lemak dapat membentuk tumbuhnya lemak *visceral* serta dibersamai dengan adanya efek samping yang terlihat secara langsung yakni adanya peningkatan bobot badan yang terjadi pada hewan uji¹⁰. Pada penelitian ini, tikus uji tidak hanya mengonsumsi sediaan uji melainkan pakan standar yang memiliki kandungan karbohidrat cenderung tinggi. Menurut pengamatan pada penelitian ini terkait faktor konsumsi pangan pada tikus uji, hal yang kemungkinan dapat membuat bobot badan tikus mengalami kenaikan adalah kurangnya aktivitas fisik seperti contohnya tikus kurang bergerak dan tidak banyak beraktivitas sehingga cenderung menghasilkan penurunan berat badan karena membakar lebih sedikit kalori. Secara keseluruhan, meskipun hasil analisis data tidak menunjukkan gejala toksik pada tikus merupakan temuan yang positif, hal tersebut hanya salah satu bagian dari proses evaluasi keamanan yang lebih besar. Untuk menjamin keamanan pangan suatu produk, diperlukan penelitian lebih lanjut, termasuk studi toksikologi kronis, studi pada spesies lain, dan uji klinis pada manusia sebelum dapat digunakan secara luas hingga tersertifikasi keamanan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).

Kelebihan penelitian ini diantaranya yaitu pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun tidak menimbulkan tanda gejala toksisitas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, gejala toksisitas yang meliputi piroeleksi (perubahan pada bulu tikus), konvulsi (kejang), tremor (bergerak), hiperaktivitas (reaksi

berlebihan), dan mortalitas (tahapan kematian) tidak terbukti, dan bobot badan pada tikus yang diberikan *food bar* tidak berbeda secara bermakna terhadap kelompok kontrol yang tidak diberikan *food bar* tersebut. Sedangkan, untuk keterbatasan penelitian di antaranya adalah hasil yang diperoleh pada tikus tidak selalu dapat diterjemahkan secara langsung ke manusia, tetap harus melakukan uji keamanan produk lebih lanjut untuk mendapatkan sertifikasi keamanan pangan dari BPOM. Lalu, pemberian pakan standar tidak menggunakan perhitungan yang baku disebabkan oleh kurangnya kontrol lingkungan pada saat penelitian. Serta, diperlukan uji klinis/studi lebih lanjut pada manusia untuk memastikan tingkah keamanan dan efektivitas *food bar* tersebut.

KESIMPULAN

Pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun tidak menimbulkan tanda gejala toksisitas terhadap tikus putih jantan wistar. Gejala toksisitas seperti piroeleksi (perubahan pada bulu tikus), konvulsi (kejang), tremor (bergerak), hiperaktivitas (reaksi berlebihan), dan mortalitas (tahapan kematian) tidak terbukti. Parameter pendukung lainnya terkait gejala toksisitas, seperti pemantauan perubahan bobot badan pada tikus yang diberikan *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun, tidak berbeda secara bermakna terhadap kelompok kontrol yang tidak diberikan *food bar* tersebut). Rerata bobot badan tikus uji menunjukkan kenaikan pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, namun kenaikan ini tidak cukup membuktikan adanya efek dari pemberian *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun karena tikus juga mengonsumsi pakan standar yang memiliki komposisi karbohidrat cenderung tinggi. Kenaikan bobot badan dapat terjadi karena faktor lain, yaitu komposisi pakan standar tikus yang tinggi karbohidrat. Dengan demikian, hasil pengamatan gejala toksisitas pada penelitian ini membuktikan bahwa *food bar* tepung daun katuk dan daun torbangun tidak memiliki sifat toksik dan aman dikonsumsi.

ACKNOWLEDGEMENT

Terima kasih diberikan Laboratorium Animal Research UPN Veteran Jakarta, dan seluruh pihak yang telah berkontribusi selama penelitian berlangsung.

KONFLIK KEPENTINGAN DAN SUMBER PENDANAAN

Sumber dana penelitian ini adalah pendanaan pribadi. Tim penulis tidak memiliki konflik kepentingan terhadap artikel ini.

KONTRIBUSI PENULIS

SCB: *writing-original draft, methodology, conceptualization, writing-review and editing*; NN: *methodology, writing-original draft, supervision, formal analysis, resources, editing*; AQM: *methodology, formal analysis, supervision, resources*.

REFERENSI

1. Oktiningrum, M., Harjanti, A. I., Nurhidayah, A., Dewi, I. & Ayu, L. Literatur Review : Pemanfaatan Bahan Alam Guna Memperlancar ASI pada Ibu Menyusui. *Pros. Semin. Nas. dan Call Pap. Kebidanan Univ. Ngudi Waluyo* **2**, 138–146 (2023). p-ISSN: 2961-7340 dan e-ISSN: 2962-2913.
2. Pusat Kajian Hortikultura Tropika (Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat). KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *IPB* <https://pkht.ipb.ac.id/index.php/2018/05/17/katuk-sauropus-androgynus-l-merr/> (2018).
3. Subekti, S., Piliang, W., Manalu, W. & Jitv, T. M. Penggunaan tepung daun katuk dan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) sebagai substitusi ransum yang dapat menghasilkan produk puyuh. *Oaji.Net* 254–259 (2006).
4. Lutfiani, L. & Nasrulloh, N. Total Flavonoid and Antioxidant Activity of Food Bar Torbangun – Katuk on The Effectiveness of Breast Milk Production. *Amerta Nutr.* **7**, 88–97 (2023). <https://doi.org/10.20473/amnt.v7i1.2023.88-97>.
5. BPOM RI. Uji Toksisitas Praktikum secara In Vivo. *Berita Negara Republik Indonesia* (2022).
6. Lukman, M. & Christin, V. Analisis Profil Bobot Badan Tikus dan Gejala Toksis Pada Pemberian Ekstrak Etanol Daun Parang Romang (*Boehmeria virgata*) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *J. Farm. Galen. (Galenika J. Pharmacy)* **6**, 1–6 (2020). <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1>.
7. Saputra, A., Junaidi, Supriyanto, A. & Surtono, A. Desain dan Realisasi Alat Ukur Massa (Neraca Digital) Menggunakan Sensor Load Cell Berbasis Arduino. *J. Teor. dan Apl. Fis.* **10**, (2023).
8. Luthfiah, L., Setyati, D. & Arimurti, S. Antibacterial Activity of Liverworts of *Dumortiera hirsute* (Sw.) Nees Ethyl Acetate Extract Against Pathogenic Bacteria. *Berk. Sainstek* **9**, 75 (2021). ISSN: 2339-0669 <https://doi.org/10.19184/bst.v9i2.22645>.
9. Kurniawidjaja, L. M. *Konsep Dasar Toksikologi Industri*. (FKM UI, Jakarta, 2021). <https://doi.org/10.21109/kesmas.v1i6.284>.
10. Adhyana, I. K., Sukandar, E. Y., Yuniarto, A. & Finna, S. Anti-obesity effect of the pomegranate leaves ethanol extract (*Punicagranatum* L.) in high-fat diet induced mice. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **6**, 626–631 (2014). <https://doi.org/10.2991/smichs-17.2017.43>.
11. Ghozali, I. *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS 23*. (Undip Press, Semarang, 2018).
12. Riana, E., Ischak, N., Ayudia, E., Khairani, I., Prabandari, A., Miftahurrahmah, M. & Mulyana, J. I. *Toksikologi Dasar. Angewandte Chemie International Edition*. **6**, 951–952. (1967). <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410102005>.
13. BPOM. Panduan penyusunan protokol uji praklinik uji toksisitas akut. 1–3 (2022).
14. Meimaharani, R. & Listyorini, T. Analisis Varian (Anova) Untuk Mengetahui Statistik Tingkat Kemajuan Prestasi Karate di Kabupaten Kudus. *Pros. Semin. Nas. Ilmu Komput.* (2013). <https://doi.org/10.24176/simet.v5i1.127>.
15. Herlina & Wijaya, D. P. Acute Toxicity Of Extract From Melinjo (*Gnetum Gnetum* L) Leaf With Fixed Dose Procedure Method. *Indones. J. Pharm. Sci. Technol.* **9**, 140 (2022). <https://doi.org/10.24198/ijpst.v9i3.33683>.
16. N.G. Kostomitsopoulos & S.F. Durašević. *The ethical justification for the use of animals in biomedical research, Archives of Biological Sciences*, 62(3), pp. 781–787. (2010). <https://doi.org/10.2298/ABS1003781K>.
17. Setiawan, H., Maliza, R., and Wulandari, S.W. Petunjuk Praktikum Fisiologi Hewan Eksperimental (2021). <http://eprints.uad.ac.id/id/eprint/36604>.