

## BAB 6 PEMBAHASAN

Penelitian uji toksisitas subkronis oral telah dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak antosianin ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar gunung kawi yang dipapar secara subkronis terhadap berat badan, asupan makan dan *visceral fat* pada *Rattus norvegicus strain Wistar* yang dipapar dengan diet normal.

Prosedur yang digunakan pada penelitian ini adalah *post test only control group design* dengan mengacu pada OECD 408 tahun 1998. Sediaan uji dibagi dalam 3 tingkatan dosis yaitu 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB yang diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan coba dengan satu dosis per kelompok selama 90 hari. Selama periode administrasi dosis, hewan coba diamati dengan cermat untuk melihat adanya tanda-tanda toksisitas.

### 6.1 Subjek Penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan dan betina galur *Wistar (Rattus norvegicus)* sejumlah 40 ekor. Tikus diperoleh dari Laboratorium Fisiologi fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, berusia 1.5-2 bulan dengan berat badan 150-200 gram. Sebelum digunakan dalam penelitian, tikus tersebut harus melalui aklimatisasi yang dilakukan selama 5-7 hari dengan tujuan agar tikus dapat beradaptasi dengan baik dengan makanan dan lingkungan yang baru. Selama aklimatisasi tikus diberi diet normal, ditimbang sisa pakannya, diganti air minumnya, dan juga diganti sekamnya setiap 3 hari sekali. Kemudian tikus dibagi dalam 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol, dan 3 kelompok perlakuan (dosis 10mg/kgBB, dosis 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB).

Penelitian ini menggunakan antosianin dari ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar gunung kawi yang telah dipurifikasi oleh Dr.Ciptati MS,MSc dari Laboratorium Kimia FMIPA ITB. Ekstrak antosianin tersebut kemudian diencerkan

setiap 3-4 hari sekali dengan molaritas yang telah dihitung sesuai berat badan tikus dan dosis masing-masing kelompok.

Paparan antosianin terhadap hewan coba dilakukan setiap hari selama 90 hari. Dalam waktu tersebut, dilakukan penelitian terhadap *intake* pakan setiap harinya. Cara mengetahui *intake* pakan tikus yaitu dengan mengurangi jumlah pemberian pakan tikus (30 gram) dengan berat sisa pakannya. Sedangkan pengukuran peningkatan berat badan tikus dilakukan setiap minggu (7hari) sampai dengan sebelum pembedahan. Lemak viseral diambil pada saat pembedahan tikus, kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui jumlah lemak viseral yang terbentuk selama perlakuan (gram). Dari penelitian ini telah didapatkan hasil rata-rata *intake* pakan, peningkatan berat badan dan lemak viseral untuk kelompok kontrol dan masing-masing kelompok perlakuan. Ada 2 tikus dari kelompok dosis 10mg/kgBB dan 20mg/kgBB yang masuk ke dalam kriteria eksklusi, karena diperkirakan terdapat kesalahan penyondean sehingga cairan antosianin masuk ke dalam paru-paru dan kedua tikus tersebut mengalami kematian.

## 6.2 Pengaruh Antosianin *Ipomoea batatas* L Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap *Intake* Pakan Tikus

Hasil rata-rata *intake* pakan tikus betina kelompok kontrol, dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB didapatkan secara berurutan yaitu 19,175 gram ; 17,569 gram ; 18,329 gram ; 18,068 gram. Setelah memenuhi uji asumsi homogenitas dan berpopulasi normal, maka dilakukan uji kemaknaan *One-way ANOVA* dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.288 yang lebih besar dari tingkat kesalahan 5% ( $\alpha=0.05$ ). Sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Untuk tikus jantan didapatkan *intake* pakan kelompok kontrol, dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB secara berurutan 19,175 gram ; 18,053 gram ; 19,972 gram ; 21,338

gram. Dari hasil tersebut, peneliti menggunakan uji *Levene* dan *Saphiro Wilk* untuk menentukan asumsi homogenitas dan distribusi populasinya. Setelah dinyatakan homogen dan populasinya berdistribusi normal, maka dapat dilakukan uji kemaknaan *One-way ANOVA*. Disini didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,190. Dengan demikian tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan karena nilainya lebih besar daripada 0.05.

Salah satu penelitian mengenai efek antosianin terhadap intake pakan yang telah dilakukan sebelumnya, memiliki hasil yang berbeda dengan penelitian ini. Nilai rata-rata *intake* makan sehari-hari yaitu, kontrol = 20,31 g/hari, 6 mg = 20,03 g/hari dan 24 mg = 16,43 g/hari. Dinyatakan bahwa paparan antosianin dosis dependen berpengaruh terhadap penurunan *intake* makan. (Badshah, 2013)

### 6.3 Pengaruh Antosianin *Ipomoea batatas* L Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Peningkatan Berat Badan Tikus

Hasil peningkatan berat badan tikus betina kelompok kontrol, dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB telah dirata-rata dan didapatkan secara berurutan yaitu 5,945 gram ; 3,968 gram ; 4,619 gram ; 6,366 gram. Setelah data tersebut dinyatakan homogen dan memiliki populasi yang berdistribusi normal, selanjutnya dapat diuji kemaknaan dengan menggunakan *One-way ANOVA*. Hasilnya, terdapat nilai signifikansi sebesar 0,452. Dapat dinyatakan bahwa  $0.452 > 0.05$  atau lebih besar daripada tingkat kesalahan 5%, artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Sedangkan rata-rata peningkatan berat badan tikus jantan kelompok kontrol, dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB telah didapatkan secara berurutan yaitu 6,074 gram ; 5.279 gram ; 7,293 gram ; 7,737 gram. Setelah diolah dengan menggunakan metode *Levene* dan *Saphiro Wilk*, diketahui bahwa data homogen

dan mempunyai distribusi populasi normal. Data tersebut asumsi homogenitas dan normalitas, sehingga dapat dilakukan uji kemaknaan dengan *One-way ANOVA*. Nilai signifikansi yang didapatkan yaitu 0.758 yang lebih besar dari tingkat kesalahan 5% ( $\alpha=0.05$ ) dapat dinyatakan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kontrol maupun perlakuan.

Dalam penelitian Badshah H, menyatakan bahwa antosianin dapat mencegah peningkatan berat badan via modulasi neuropeptida Y dan reseptor GABA<sub>B1</sub>. Pada penelitian tersebut dilakukan pemberian antosianin dengan dosis 6mg/kgBB dan 24mg/kgBB pada tikus jantan *Sprague-Dawley* selama 40 hari. Hasilnya didapatkan bahwa terdapat penurunan berat badan yang signifikan dari kelompok kontrol, dosis 6mg/kgBB dan 24mg/kgBB. (Badshah, 2013)

### 6.3 Pengaruh Antosianin *Ipomoea batatas* L Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap *Visceral Fat* Tikus

Hasil jumlah lemak visceral kelompok kontrol, dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB didapatkan secara berurutan yaitu 1,904 gram; 1,668 gram ; 2,768 gram ; 1,840 gram. Setelah melalui uji asumsi homogenitas dan normalitas, serta dinyatakan homogen dan berdistribusi normal, maka data dapat diuji kemaknaan menggunakan *One-way ANOVA*. Nilai signifikansi yang didapatkan adalah sebesar 0,393. Dengan demikian berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan karena nilainya lebih dari 0.05.

Kemudian jumlah lemak visceral yang didapatkan pada tikus jantan kelompok kontrol, dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB dan 80mg/kgBB diketahui secara berurutan yaitu 1,768 gram ; 1,470 gram ; 1,693 gram ; 1,846 gram. Setelah memenuhi uji asumsi homogenitas dan berpopulasi normal, maka dilakukan uji kemaknaan *One-way ANOVA* dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.958 yang lebih besar dari tingkat kesalahan 5%

( $\alpha=0.05$ ). Sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Pada penelitian Bonggi Lee (2014) menggunakan antosianin dari kulit anggur merah didapatkan hasil bahwa antosianin dapat menghambat jalur lipogenesis selama diferensiasi pada sel 3T3-L1. 3T3-L1 adalah sel yang berasal dari sel 3T3 tikus dan digunakan dalam penelitian biologis pada jaringan adiposa. Antosianin mengurangi akumulasi trigliserida (TG) selama diferensiasi adiposit. Antosianin mengurangi tingkat ekspresi protein dan gen yg berperan sebagai faktor transkripsi lipogenik seperti *liver X receptor  $\alpha$* , *sterol regulatory element-binding protein-1c*, *Peroxisom proliferators-activated receptor- $\gamma$* , dan *CCAAT enhancer-binding protein- $\alpha$* . Sebagai tambahan, ekspresi target gen dan protein dari faktor transkripsi lipogenik ini seperti asam lemak sintase, *stearoyl-CoA desaturase-1*, dan *acetyl-CoA  $\alpha$  carboxylase* ditekan secara signifikan oleh antosianin. Dengan demikian, antosianin menekan akumulasi lipid dalam sel lemak akibat penghambatan yang luas dari faktor transkripsi yang mengatur lipogenesis (Lee et al., 2014).

Dengan melihat hasil penelitian, yaitu tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan, maka dapat dikatakan bahwa hipotesis yang disusun sebelumnya adalah salah, diduga bahwa pemberian ekstrak antosianin *Ipomoea batatas* varietas ungu kultivar gunung kawi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap intake makan tikus, peningkatan berat badan, maupun pembentukan lemak visceral.

Pada penelitian yang dilakukan oleh *European Food Safety Authority* dengan menggunakan hewan coba tikus dalam fase subkronis (90 hari), tidak ditemukan efek toksik selama periode pengamatan. Hal yang diamati antara lain mortalitas, berat badan, pemeriksaan mata, dan hematologi. Dosis antosianin yang digunakan 1780mg/kgBB/hari pada tikus betina, dan 2150mg/kgBB/hari pada tikus jantan. (EFSA, 2013)

Penelitian lainnya juga dilakukan oleh Jintanaporn Wattanathorn (2012). Penelitian tersebut menguji toksisitas oral sub-kronis dari ekstrak buah *Mulberry*

(*Morus alba* L.) pada 30 tikus Wistar (15 jantan dan 15 betina). Data menunjukkan bahwa tidak ada kelainan signifikan dalam parameter yang diamati. Hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa dosis *No Adverse Effect Level* (NOAEL) ekstrak *mulberry* untuk tikus jantan maupun betina adalah 500mg/kgBB.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain : kemungkinan kurangnya efektivitas dari ekstrak yang digunakan, yaitu penggunaan dosis antosianin. Pada penelitian ini tidak didapatkan hasil yang signifikan, mungkin dengan peningkatan dosis antosianin akan diperoleh hasil yang lebih signifikan untuk diamati. Oleh karena itu, pada penelitian- penelitian selanjutnya, perlu ada standardisasi dari pemilihan kandang dan tempat pemeliharaan digunakan, selain itu peningkatan dosis yang digunakan juga dapat dilakukan dengan memperhatikan dosis maksimal pemberian ekstrak pada uji toksisitas subkronis.

