

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Intake Makan dan Minum

Berikut merupakan tabel *intake* makan normal *Rattus norvegicus* Strain Wistar jantan dan betina pada fase sub-kronis dan kronis menurut *Toxicology Excellence for Risk Assessment (TERA) 2002* :

**Tabel 2.1 Intake Makan *Rattus norvegicus* Strain Wistar (kg/day)**

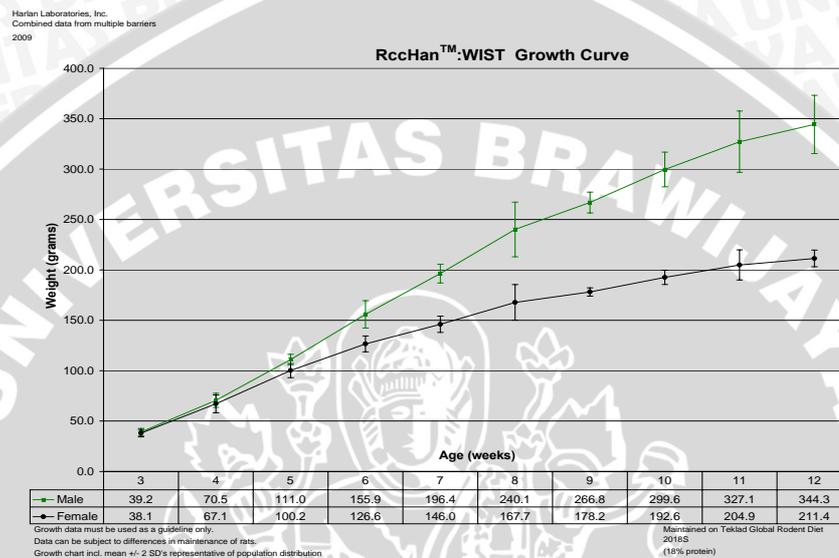
	Subchronic Study				
	Body Weight	Water Intake	Water Factor	Food Intake	Food Factor
<b>Male</b>					
Wistar	0.217	0.032	0.147	0.020	0.092
Sprague-Dawley	0.267	0.037	0.139	0.023	0.086
Osborne-Mendel	0.263	0.037	0.141	0.023	0.087
<b>Female</b>					
Wistar	0.156	0.025	0.160	0.016	0.103
Sprague-Dawley	0.204	0.031	0.152	0.016	0.098
Osborne-Mendel	0.201	0.031	0.154	0.019	0.095

Sumber : *Toxicology Excellence for Risk Assessment (TERA), 2002*

Tikus *Wistar* memiliki karakteristik yg bagus sebagai model hewan yang digunakan untuk menyelidiki *intake* makanan, selain itu tikus dan manusia memiliki struktur hipotalamus dan sirkuit neuroendokrin yang mengontrol *intake* makanan dan pengeluaran energi yang sebanding (Thibault L *et al.*, 2004).

### 2.2 Berat badan

Istilah berat badan digunakan dalam bahasa sehari-hari, dalam ilmu biologi dan medis untuk merujuk pada massa atau berat badan seseorang. Berat badan diukur dalam satuan massa (kg atau g). Berat badan normal untuk *Rattus norvegicus* Strain Wistar jantan dan betina disampaikan dalam grafik berikut :



**Gambar 2.1 Grafik Berat Badan dan Umur *Rattus norvegicus* Strain Wistar Jantan & Betina. (Harlan Laboratories, Inc. 2009)**

### 2.3 Hipotalamus dan Regulasi *Intake* Makan

Hipotalamus merupakan bagian yang berukuran kecil dari dan memiliki fungsi yang sangat penting, salah satunya kontrol *intake* makan. Tiga rostral pada regio kaudal dibedakan sesuai dengan tiga ciri yang menonjol di permukaan ventral nya: 1) supraoptik atau daerah anterior di tingkat kiasma optik, 2) tuberal atau daerah tengah di tingkat tuber cinereum (juga dikenal sebagai *median eminence*—tonjolan dimana infundibulum meluas ke hipofisis), dan 3) *mammillary* atau daerah posterior pada tingkat *mammillary bodies* (Lieshout DV, 2006).

Wilayah tuberal (di tingkat *tuber cinereum*) umumnya dibagi menjadi medial dan bagian lateral. Bagian dari nukleus yang paling besar dan menonjol pada daerah medial regio tuberal adalah nukleus ventromedial. Salah satu fungsi penting yang telah dikaitkan dengan

nukleus ventromedial adalah kontrol *intake* makan. Lesi bilateral pada nukleus ventromedial pada binatang dan manusia menyebabkan makan berlebihan (hiperfagia) dan obesitas ekstrim serta *hypothalamic rage*. Sebaliknya, lesi bilateral di lateral hipotalamus, menghasilkan anoreksia (kurang nafsu makan). Nukleus ventromedial telah disebut sebagai pusat kenyang dan daerah hipotalamus lateral sebagai pusat makan (Lieshout DV, 2006).

Neuroreseptor yang dihasilkan oleh hipotalamus dan mengontrol *intake* makanan salah satunya adalah NPY (*Neuro Peptide Y*). Salah satu studi menunjukkan bahwa stimulasi aktivitas *NPYergic* melalui pemberian agonis NPY tertentu meningkatkan asupan makanan dibandingkan dengan data baseline pada tikus. Efek aktivitas *NPYergic* pada asupan makanan juga ditunjukkan oleh blokade reseptor tertentu NPY (Y1 dan Y5 reseptor), seperti yang diharapkan, menghambat aktivitas *NPYergic*. Dengan demikian dapat mengurangi asupan makanan (King PJ, *et al.* 2000).

#### 2.4 Adipogenesis

Akumulasi lemak disebabkan karena proses hiperplasia dan juga hipertrofi jaringan adiposa. Volume adiposit menggambarkan keseimbangan antara lipogenesis dan lipolisis sedangkan volume adiposit ini ditentukan oleh perubahan (diferensiasi) *adipocyte precursor cell* (preadiposit) menjadi *mature adipocyte* (adiposit matang) dan kematian sel (apoptosis). Apabila mekanisme proliferasi dan diferensiasi preadiposit tidak diimbangi dengan program kematian sel terutama apoptosis maka terjadi peningkatan hipertrofi dan hiperplasia (Evan *et al.*, 2000).

Adiposit hipertrofi disebabkan oleh akumulasi lipid dan hiperplasia disebabkan oleh diferensiasi *pre-adipocytes* menjadi adiposit matur. Adipogenesis dan lipogenesis diatur oleh faktor transkripsi seperti *liver X receptor  $\alpha$*  (LXR $\alpha$ ), *CCAAT enhancer binding protein- $\alpha$*  (C/EBP $\alpha$ ), *Peroxisom proliferators-activated reseptor- $\gamma$*  (PPAR), *sterol regulatory element-binding protein-1c* (SREBP-1c). Faktor transkripsi ini banyak

diekspresikan dalam jaringan adiposa dan aktivasi mereka selama diferensiasi adiposit meningkatkan akumulasi lipid dengan meningkatkan gen lipogenik seperti *Fatty Acid Synthase* (FAS), *Stearoyl-CoA desaturase-1* (SCD-1), dan *Acetyl-CoA Carboxylase  $\alpha$*  (ACC $\alpha$ ) secara langsung (Rosen E.D *et al.*, 2000).

## 2.5 Antosianin

Antosianin merupakan *sub-class* dari flavonoid yang bertanggung jawab untuk warna merah, biru dan ungu dalam sayuran dengan potensi *anti-obesity-related effects* (Clifford, 2000). Tanaman yang banyak mengandung antosianin diantaranya *blueberry*, *cranberry* dan *bilberry*, *berry Rubus*, termasuk *blackberry*, *black raspberry*, *red raspberry*, *blackcurrant*, ceri, kulit terong, beras hitam, kubis merah, dan kelopak bunga warna ungu (Wu X, 2004).

Peran pigmen antosianin sebagai agen obat, terkait dengan berbagai manfaatnya yang luas untuk kesehatan. Sebagai contoh, antosianin dari *Hibiscus sp.* secara historis telah digunakan dalam pengobatan untuk disfungsi hati dan hipertensi; dan antosianin dari *bilberry* (*Vaccinium*) memiliki sejarah penggunaan untuk gangguan penglihatan, infeksi mikroba, diare, dan gangguan kesehatan lainnya (Smith M, 2000 ; Wang CJ, 2000).

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) merupakan tumbuhan yang murah dan banyak terdapat di Indonesia. Selain itu merupakan salah satu sumber antosianin yang memiliki kandungan antosianin lebih besar apabila dibandingkan dengan ubi jalar dengan varietas lain karena kulit dan dagingnya yang berwarna ungu, yaitu sebesar 110,51 mg/100 gr (Winarti *et al.*, 2008).

## 2.6 Antosianin terhadap *Intake* Makan dan Berat Badan

Antosianin dalam berbagai spesies tanaman telah diidentifikasi dan dikenal untuk efek hipolipidemik dan anti-obesitasnya. Pengaruh antosianin yang diekstrak dari kedelai hitam pada berat badan dan *intake* makanan sehari-hari pada tikus dewasa dengan diet normal telah dipelajari dengan menggunakan tikus *Sprague Dawley* diberikan air atau

antosianin 6 mg / kg dan 24 mg / kg selama 40 hari secara intragastrik. Selama periode ini asupan makanan sehari-hari dan berat badan diukur sebelum pemaparan antosianin. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian antosianin menurunkan berat badan dan asupan makanan secara signifikan dibandingkan dengan tikus kontrol. Selain itu, dosis dependen antosianin mengurangi ukuran jaringan adiposa dibandingkan dengan kelompok kontrol. *Analisis Western blot* menunjukkan bahwa dosis tinggi pemberian antosianin secara signifikan mengurangi ekspresi *neuropeptide Y* (NPY) dan peningkatan reseptor asam butirat c-amino (GABAB1R) di hipotalamus. Selain itu, peristiwa diikuti oleh pemberian sinyal GABAB1R untuk menurunkan ekspresi protein kinase A- $\alpha$  (PKA) dan *phosphorylated cAMP-response element binding protein* (p-CREB) di hipotalamus. Data ini mendukung konsep bahwa antosianin bahkan dalam keadaan normal memiliki kemampuan untuk mengurangi berat badan dan asupan makanan melalui efek modulator pada NPY dan GABAB1R di hipotalamus (Badshah H, *et al.* 2012).

## 2.7 Antosianin dan *Visceral Fat*

Keseimbangan energi dalam tubuh diatur melalui sinyal saraf dan hormon. Sinyal dari jaringan saraf perifer dan saraf pusat, berkontribusi pada homeostasis energi dalam tubuh melalui mekanisme pengaturan yang mempertahankan jumlah energi yang tersimpan dalam tubuh kita (Schwartz *et al.*, 2000). Ada keseimbangan antara *orexigenic* dan *anorexigenic* dari hipotalamus dan batang otak untuk mengatur asupan makanan, berat badan dan homeostasis energi (Szekely dan Szelenyi, 2005; Berthoud *et al.*, 2006). *Neuropeptide Y* (NPY), salah satu kunci dalam nukleus arkuata (ARC) yg ada di hipotalamus, adalah *orexigenic* kuat yang terdapat pada mamalia (Sousa-Ferreira *et al.*, 2011;. Bi *et al.*, 2012.). Pemberian NPY langsung ke hipotalamus pada tikus dapat menyebabkan obesitas yang melibatkan peningkatan berat badan, hiperfagia, hiperleptinemia, hiperkortikosteronemia, hiperinsulinemia dan peningkatan berat *white adipose tissue* (WAT) (Lin *et al.*, 2006; Szekely *et al.*, 2005)

Studi pada tikus dan monyet menunjukkan bahwa stres berulang merangsang pelepasan *neuropeptide Y*, menyebabkan lemak untuk terakumulasi di abdomen atau *visceral fat*. (Kuo LE, 2007)

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).

## 2.8 *Ipomoea batatas L.* varietas ungu

Ubi jalar atau ketela rambat (*Ipomoea batatas L.*) merupakan tanaman yang tumbuh hampir di seluruh wilayah Indonesia. Ubi jalar memiliki 3 varietas yaitu ubi jalar putih, ubi jalar kuning, ubi jalar ungu. (Sutomo, 2007).

### 2.8.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonomi tumbuhan. Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L.*) dikelompokkan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Magnoliophyte
Kelas	: Magnoliopsida / Dicotyledoneae
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales

- Famili : Convolvulaceae  
Genus : ipomoea L.  
Spesies : Ipomoea batatas (L.) Lam. (USDA, 2001)

### 2.8.2 Morfologi

*Ipomoea batatas* L. termasuk tanaman dikotiledon (biji berkeping dua). Selama pertumbuhannya, tanaman ini dapat berbunga, berbuah dan berbiji. Tumbuhannya menjalar pada permukaan tanah dan terlihat seperti semak dengan panjang dapat mencapai 3 meter.

Akar *Ipomoea batatas* L. dibedakan menjadi dua tipe, akar serabut dan akar tunggang. Akar serabutnya menyerap zat hara dalam tanah dan disebut akar sejati. Sedangkan akar tunggang menyimpan energi hasil fotosintesis, yang dapat membentuk umbi dan disebut akar lumbung. Setiap batas ruas (buku) tumbuh daun, akar, tunas, atau cabang Bagian tanaman yang dipakai dalam penelitian ini adalah umbi akarnya. (Supadmi S, 2009)

Daun pada tumbuhan *Ipomoea batatas* L. tumbuh pada batang, tunggal, bertangkai pada ruas-ruas batang dan ketiak daun. Batangnya lunak, tidak berkayu, banyak mengandung air, berbentuk bulat, mempunyai ruas sepanjang 1-3 cm. Bunganya majemuk, berbentuk terompet, terdapat di ketiak daun, kelopak berbentuk lonceng, warna bunga ungu muda pada bagian ujung, dan ungu tua pada pangkal. (Supadmi S, 2009)

Tanaman *Ipomoea batatas* L. umumnya tidak berbuah. Jika berbuah dan berbiji, biasanya sulit tumbuh ketika ditanam karena bijinya terlalu keras. Buahnya seperti kapsul bagian dalam berkotak tiga, berisi biji jika terjadi penyerbukan. Penyerbukan bisa terjadi secara silang maupun penyerbukan sendiri. Biji yang masih muda warnanya hijau muda. Apabila sudah matang, bijinya akan berwarna hitam. Berbentuk pipih, kulit keras, dan berkeping dua. (Supadmi S, 2009)



**Gambar 2.2 Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L.*) Varietas Ungu**

### 2.8.3 Kandungan Kimiawi

Varietas ubi jalar ungu lebih kaya akan kandungan vitamin A yang mencapai 7.700 mg per 100 g. Jumlah ini 3 kali lipat lebih besar dari tomat. Setiap 100 g ubi jalar ungu mengandung energi 123 kkal, protein 1.8 g, lemak 0.7 g, karbohidrat 27.9 g, kalsium 30 mg, fosfor 49 mg, besi 0.7 mg, vitamin A 7.700 SI, vitamin C 22 mg dan vitamin B1 0.09 mg. Kandungan betakaroten, vitamin E dan vitamin C bermanfaat sebagai antioksidan pencegah kanker dan beragam penyakit kardiovaskuler (Sutomo, 2007).

Selain itu ubi jalar ungu merupakan salah satu sumber antosianin yang memiliki kandungan antosianin lebih besar apabila dibandingkan dengan ubi jalar dengan varietas lain karena kulit dan dagingnya yang berwarna ungu, yaitu sebesar 110,51 mg/100 gr (Winarti *et al.*, 2008).

## 2.9 Toksisitas antosianin

Bahaya akibat pemaparan / toksisitas suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia, efek karsinogenik, teratogenik, mutagenik, dan lain-lain. Informasi tersebut dapat diperoleh dari

percobaan menggunakan hewan uji sebagai model yang dirancang pada serangkaian uji toksisitas yang meliputi uji toksisitas akut oral, toksisitas subkronis oral, toksisitas kronis oral, dsb (WHO, 2000). Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan coba. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis 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 (OECD 408, 1998).

Beberapa penelitian telah menguji toksisitas antosianin. Salah satunya dilakukan oleh Jintanaporn Wattanathorn (2012) menguji toksisitas oral sub-kronis dari ekstrak buah *Mulberry (Morus alba L.)* pada 30 tikus Wistar (15 jantan dan 15 betina). Tidak terdapat perubahan perilaku hewan atau tanda-tanda toksik yang terdeteksi pada tikus. Berat badan dan berat organ internal tikus jantan dan betina setelah pemberian berulang buah *mulberry* pada dosis 2, 10 dan 500 mg/kgBB ditunjukkan pada tabel di bawah ini :

**Tabel 2.2 Berat Badan (g) dan Berat Organ (g/kg) dari Tikus Jantan yang Diberi Ekstrak M.alba Selama 3 Bulan**

Organs	Control	Dose of <i>M. alba</i> (mg/kg BW/day)		
		21	0	500
Initial body weight	206.00±4	234.000±12	220.000±2	234.000±13
Final body weight	398.10±8	378.000±8	435.000±6*	420.000±7*
Brain	5.02±0.06	5.110±0.13	4.810±0.10	4.850±0.11
Lung	5.80±0.23	6.690±0.66	6.570±0.37	6.490±0.67
Heart	3.02±0.16	3.280±0.08	3.050±0.05	3.050±0.06
Liver	24.51±1.00	26.860±0.62	24.720±0.41	25.310±0.65
Right Kidney	2.85±0.09	3.030±0.10	2.910±0.07	2.920±0.09
Left Kidney	2.95±0.12	3.130±0.10	2.780±0.10	3.000±0.09
Spleen	2.69±0.43	3.000±0.12	2.280±0.14	2.460±0.09
Pancreas	4.83±0.28	4.640±0.41	4.310±0.35	4.660±0.35
GI Tract	55.90±1.02	56.670±2.03	53.980±1.24	56.250±1.18
Right Testis	5.03±0.1	5.250±0.17	5.020±0.11	4.850±0.15
Left Testis	5.19±0.15	5.240±0.19	5.010±0.07	4.540±0.27
Adrenal gl.	0.27±0.03	0.300±0.03	0.341±0.026	0.290±0.02
Right Salivary gland	0.44±0.05	0.482±0.018	0.421±0.027	0.420±0.02
Left Salivary gland	0.51±0.05	0.485±0.035	0.451±0.036	0.502±0.04
Thymus	1.25±0.04	1.240±0.11	1.230±0.03	1.260±0.07

Sumber : Jintanaporn, 2012

**Tabel 2.3 Berat Badan (g) dan Berat Organ (g/kg) dari Tikus Betina yang Diberi Ekstrak *M.alba* Selama 3 Bulan**

Organs	Dose of <i>M. alba</i> (mg/kg BW/day)			
	Control	2	10	500
Initial body weight	219.000±3	231.000±3*	219.000±2	224.000±6
Final body weight	255.000±4	251.000±3	250.000±2	255.000±2
Brain	7.860±0.18	7.460±0.13	7.750±0.09	7.870±0.15
Lung	7.770±0.32	8.400±0.52	7.610±0.51	8.030±0.55
Heart	3.420±0.09	3.340±0.07	3.350±0.07	3.450±0.07
Liver	33.180±0.75	34.980±0.93	34.740±1.07	32.870±1.12
Right Kidney	3.460±0.13	3.230±0.08	3.520±0.11	3.370±0.12
Left Kidney	3.320±0.08	3.340±0.07	3.640±0.18	3.250±0.09
Spleen	2.740±0.17	2.820±0.09	2.900±0.16	2.740±0.12
Pancreas	5.840±0.22	5.590±0.37	6.170±0.37	6.070±0.45
GI Tract	96.420±1.32	96.080±3.25	94.760±4.57	90.140±3.71
Right Ovary	2.040±0.17	2.080±0.12	2.070±0.13	1.830±0.20
Left Ovary	2.290±0.25	2.130±0.18	2.420±0.29	1.810±0.18
Adrenal gl.	0.406±0.061	0.448±0.041	0.409±0.041	0.432±0.036
Right Salivary gland	0.522±0.042	0.538±0.043	0.564±0.038	0.521±0.029
Left Salivary gland	0.541±0.045	0.512±0.037	0.529±0.034	0.580±0.063
Thymus	1.520±0.13	1.430±0.09	1.49 ± 0.07	1.540±0.11

\* significantly different from control group ( $p < 0.05$ ) The values are expressed as mean  $\pm$  S.E.M.)

Sumber : Jintanaporn, 2012

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.

Pada penelitian ini peneliti hendak melakukan uji toksisitas antosianin secara subkronik (90 hari) untuk memperoleh informasi adanya efek toksik yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut; informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam 90 hari; informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level* / NOAEL); dan mempelajari adanya efek kumulatif antosianin ubi jalar ungu kultivar gunung kawi. Sehingga diharapkan antosianin *Ipomoea batatas* benar-benar terbukti menjadi herbal baru yang bermanfaat dan aman.

## 2.10 Bioavaibilitas Antosianin

Bioavaibilitas merupakan tingkat penyerapan, pencernaan dan metabolisme dari suatu zat. Absorpsi antosianin berbeda dari flavonoid lain karena sebagian besar diabsorpsi sebagai glikosida utuh. Absorpsi antosianin berlangsung cepat setelah dikonsumsi. Konsentrasi plasma maksimum tercapai dalam waktu 45 menit-4 jam setelah konsumsi

makanan yang mengandung antosianin, tergantung kondisi pada eksperimen. Observasi tersebut mengarah kepada anggapan bahwa antosianin yang diserap tidak hanya oleh bagian atas usus halus tapi juga oleh lambung. Berbagai antosianin muncul dalam urin setelah suplementasi buah atau ekstrak buah beri tetapi dalam konsentrasi rendah (biasanya 0,1 % atau lebih rendah dari dosis yang tertelan). Karena penyerapan antosianin rendah, sebagian besar antosianin masuk ke usus besar dgn utuh dan dapat terdegradasi menjadi asam fenolik oleh mikroflora usus diikuti dengan penyerapan. (Ramune, B. and Jonas, V. 2013). Dari studi eksperimental juga disebutkan bahwa antosianin dari ekstrak buah merah secara struktural berikatan dengan glukosa dari saluran pencernaan kemudian ke serum dan liver tikus dalam 15 menit setelah konsumsi 320 mg *cyaniding-glucoside* dan *cyaniding-3,5-diglucoside*. Secara umum, penyerapan, metabolisme, dan pemulihan antosianin tergantung pada struktur aglikon dan bagian gula (Pascual-Teresa, Sanchez-Ballesta, 2007)

