

Kajian Toksisitas Sub Akut Ekstrak Etanol Anggur Bali pada Tikus Wistar

(STUDY OF SUB ACUTE TOXICITY OF BALI GRAPES ETHANOL EXTRACT IN WISTAR RATS)

Luh Made Sudimartini^{1*}, I Wayan Nico Fajar Gunawan², I Wayan Wirata², I Made Kardena³, Anak Agung Gde Oka Dharmayudha², Amelia Avianti Saritjang⁴

¹Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Jl. PB. Sudirman Denpasar, Bali; ²Laboratorium Diagnosa Klinik, Patologi Klinik, dan Radiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. Raya Sesetan Gg. Markisa No. 6, Denpasar, Bali; ³Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Jl. PB. Sudirman Denpasar, Bali; ⁴Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman Denpasar, Bali.

*Email: md_sudimartini@unud.ac.id

Abstrak

Anggur bali merupakan sumber antioksidan dengan kandungan flavonoid dan antosianin yang cukup tinggi yang memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan seperti menurunkan kolesterol, anti kanker, menghambat penuaan dan melindungi jantung. Karena manfaatnya tersebut, buah anggur bali banyak di konsumsi masyarakat dengan cara dimakan langsung, diminum dalam bentuk jus ataupun dalam bentuk ekstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas sub akut ekstrak etanol buah anggur bali (*Vitis vinera cv. Alphonso lavelle*) terhadap perubahan SGOT dan SGPT hati tikus wistar jantan. Uji ini meliputi uji toksisitas sub-akut dan uji efek farmakologis. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) menggunakan *post-test only control group design*. Total tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor, yang dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol buah anggur bali 0,3 g/ml/kg BB (P1), kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol buah anggur bali 3 g/ml/kgBB (P2), dan kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol buah anggur bali 30 g/ml kg BB (P3). Masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus putih jantan. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak etanol buah anggur dilakukan per oral sebanyak satu kali per-hari selama 28 hari. Setelah 28 hari perlakuan, tikus wistar dieuthanasi dan sampel darah diambil melalui Chantus Medial Orbitalis kemudian dimasukkan ke dalam tabung non-EDTA. Sampel darah yang telah disentrifugasi dan menjadi serum kemudian dimasukkan kedalam tabung eppendorf digunakan untuk uji kadar SGOT dan SGPT. Hasil analisa dengan *One Way ANOVA* pada kadar SGPT hati tikus menunjukkan adanya perubahan yang berbeda nyata ($P < 0,05$) sehingga perlu dilakukan analisis lanjutan dengan menggunakan *Duncan-test*. Berdasarkan hasil analisis menggunakan *Duncan Test*, perubahan terjadi pada kelompok tikus perlakuan P3 yang diberikan ekstrak etanol buah anggur bali dengan dosis 30 g/ml/kgBB berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan kontrol (P0) sehingga campuran bahan tersebut termasuk dalam golongan bahan practically non toxic.

Kata kunci: ekstrak etanol; buah anggur bali; toksisitas sub akut; tikus wistar

Abstract

Bali grapes are a source of antioxidants with high flavonoids and anthocyanins, which have many health benefits such as lowering cholesterol and anti-cancer, inhibiting aging, and protecting the heart. Many people consume Balinese grapes by eating directly, drink in the form of juice or extract form because of its benefits. The purpose of this study was to determine the sub-acute toxicity of the ethanol extract of bali grapes (*Vitis vinera cv. Alphonso lavelle*) to changes in SGOT and SGPT of male Wistar rat liver. This test includes a sub-acute toxicity test and a pharmacological effect test. This research is an experimental study with a completely randomized design using a post-test-only control group design.

The number of white rats used in this study were 24 rats, which were divided into four groups of control groups, groups of mice given ethanol extract of bali grapes 0.3 g / ml/kg BW (P1), groups of mice given ethanol extract of grapes bali 3 g / ml/kg BW (P2), and the group of rats that were given 30 g / ml kg BW (P3) of ethanol extract of bali grapes. Each group consisted of 6 white male rats. In this study, the grape ethanol extract was presented orally once per day for 28 days. After 28 days of treatment, Wistar rats were euthanized, and blood samples were taken through Chantus Medial Orbitalis and then put into non-EDTA tubes. The blood sample that has been centrifuged and becomes serum is then inserted into the Eppendorf tube, which is used to test the levels of SGOT and SGPT. The results of the One-Way ANOVA analysis on SGPT levels in the liver of rats showed a significant difference ($P < 0.05$), so that further analysis was necessary using the Duncan-test. Based on the results of the analysis using the Duncan Test, changes occurred in the P3 treatment group of rats given the ethanol extract of Bali grapes at a dose of 30 g / ml/kg BW, which was significantly different from the control treatment group (P0) so that the mixture of these materials was included in the class of materials that were practically non-toxic.

Keywords: ethanol extract; Balinese grapes; sub-acute toxicity; wistar rats.

PENDAHULUAN

Buah anggur merupakan salah satu obat tradisional dan merupakan sumber antioksidan dengan kandungan polifenol dan antosianin yang cukup tinggi. Di Indonesia, buah anggur banyak dikonsumsi karena rasanya yang manis dan segar serta memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Beberapa jenis anggur yang tumbuh subur di Indonesia antara lain anggur bali, anggur probolinggo, anggur *caroline* dan anggur prabu bestari (Tarmizi, 2010). Anggur bali (*Vitis vinera cv Alphonso lavelle*) lebih sering disebut dengan anggur Buleleng karena banyak tumbuh di daerah tersebut dan merupakan jenis buah yang terkenal sebagai buah khas Buleleng.

Telah diketahui secara luas bahwa buah anggur mengandung berbagai macam zat gizi dan antioksidan yang berguna bagi kesehatan. Berbagai kandungan vitamin, mineral, serta antioksidan dalam anggur memiliki banyak sekali khasiat (Wiryanta, 2008). Anggur memiliki kandungan vitamin A, B1, B2, B6 dan C. Selain itu, buah anggur juga memiliki kandungan flavonoid. Semakin hitam warna anggur maka semakin banyak kandungan atau konsentrasi flavonoid di dalamnya (Ahira, 2010). Karena itu anggur bali yang memiliki warna ungu kehitaman mengandung flavonoid yang tinggi.

Semua makanan yang dikonsumsi oleh manusia mengandung berbagai macam zat

yang bermanfaat dan sangat diperlukan untuk tubuh. Namun ada beberapa zat yang dapat menimbulkan keadaan yang tidak diinginkan, seperti gejala sakit hingga kematian (Donatus, 2001). Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan ekstrak etanol buah anggur memiliki potensi toksik (Mutia, 2010; Siswanto *et al.*, 2013). Sebelum dimanfaatkan sebagai obat, evaluasi keamanan ekstrak dapat dilakukan melalui serangkaian uji toksisitas yaitu uji toksisitas akut, subakut, dan kronik (Gallagher, 2003).

Pengujian toksisitas sub akut dapat memberikan informasi mengenai tanda-tanda toksisitas seperti perubahan aktivitas, perubahan berat badan dan berat organ, hingga adanya kematian pada hewan coba. Perubahan fungsi organ hati yang diamati melalui beberapa parameter seperti *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT). Hati merupakan organ penting dalam metabolisme, detoksifikasi, penyimpanan, dan ekskresi xenobiotik dan metabolitnya, serta organ ini rentan terhadap kerusakan akibat metabolit yang bersifat toksik (Brzoska *et al.*, 2003).

Telah diketahui bahwa buah anggur merupakan salah satu sumber antioksidan dari tumbuh-tumbuhan dengan kandungan polifenol dan antosianin yang cukup tinggi. Antosianin merupakan antioksidan yang

memiliki potensi tinggi sebagai *scavenger* radikal bebas dan memiliki aktivitas protektif terhadap peroksidasi lipid (Cao *et al.*, 2001; Yanjun *et al.*, 2009). Pemberian ekstrak etanol buah anggur juga menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada tikus yang diinduksi pelatihan fisik berlebih (Siswanto, 2014). Buah anggur merupakan sumber antioksidan karena mengandung polifenol kompleks dan flavonoid (Shi *et al.*, 2003).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan uji toksisitas sub akut untuk menguji keamanan penggunaan ekstrak etanol buah anggur dengan dosis bervariasi dalam jangka waktu 28 hari dilihat dari tes fungsi hati.

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Hewan coba dalam penelitian ini berupa tikus putih jantan, berumur 2-3 bulan, dengan berat badan 200-250 gram, dan sehat. Tikus putih diaklimatisasi selama satu minggu di kandang tempat penelitian untuk penyesuaian dengan lingkungan.

Rancangan Penelitian

Dua puluh empat ekor sampel tikus putih yang digunakan dibagi menjadi empat kelompok secara acak yaitu kelompok P0 (control), P1, P2 dan P3 dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih. Dosis yang digunakan terdiri atas empat variasi dosis yaitu 0 g/kgBB (sebagai kontrol), 0,3 g/kgBB, 3 g/kgBB, dan 30 g/kgBB. Ekstrak etanol buah anggur diberikan secara oral sebanyak satu kali per-hari selama 28 hari.

Pemeriksaan Sampel

Pada hari ke-29, darah tikus putih diambil melalui chantus medial orbitalis dan ditampung dengan tabung non-EDTA untuk mendapatkan serum. Serum kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 60 menit dan diambil supernatannya untuk dilakukan pemeriksaan SGPT – SGOT. Kadar SGPT

– SGOT diukur dengan KIT di Rumah Sakit Hewan Pendidikan FKH UNUD.

Analisis Data

Analisis data yang dilakukan antara lain analisis deskriptif, analisis normalitas dilakukan dengan Uji *Shapiro-Wilk*, Uji homogenitas variansi dilakukan dengan Uji *Levene's test*. Komparasi kadar SGPT dan SGOT dianalisis dengan *Analisis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar SGPT dan SGOT serum darah tikus wistar jantan yang diperoleh dari kelompok kontrol (P0), kelompok P1 dengan pemberian dosis 0,3 g/kg.BB, kelompok P2 dengan pemberian dosis 3 g/kg.BB, dan kelompok P3 dengan pemberian dosis 30 g/kg.BB disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar SGPT dan SGOT Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Buah Anggur Bali

P	SGPT	SGOT
P0	81,67 ± 5,05 ^a	165,00 ± 40,01 ^a
P1	73,17 ± 5,71 ^a	139,33 ± 14,49 ^a
P2	84,33 ± 13,82 ^a	165,83 ± 27,45 ^a
P3	101,33 ± 19,51 ^b	189,83 ± 34,59 ^a
Sig.	0,007	0,072

Keterangan: P=Perlakuan; *notasi berbeda menunjukkan berbeda nyata.

Pembahasan

Analisa Sidik Ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah anggur bali dengan berbagai tingkatan dosis, tidak berpengaruh terhadap kadar SGOT ($P > 0,05$), namun berpengaruh nyata terhadap kadar SGPT dari serum tikus wistar ($P < 0,05$). Analisis lanjutan dengan menggunakan *Duncan Test* menunjukkan bahwa kadar SGPT yang berbeda bermakna adalah pada pemberian perlakuan dosis 30 g/kgBB.

Pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan adanya penurunan kadar SGOT dibandingkan dengan kelompok tikus perlakuan kontrol (P0). Pemberian ekstrak etanol buah anggur bali dengan dosis sebanyak 0,3 g/ml/kg BB, 3 g/ml/kg

BB, dan 30 g/ml/kg BB mampu menjaga juga mempertahankan morfologi retikulum endoplasma terhadap aktivitas enzim SGOT yang bertanggung jawab dalam biotransformasi obat juga berperan penting dalam metabolisme asam amino dan glukoneogenesis secara berlebihan (Arfeliana, 2010) Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan *Duncan-test* pemberian ekstrak etanol buah anggur bali dengan dosis 30 g/ml/kg BB mengalami perubahan kadar SGPT tiga kali lebih tinggi dibandingkan kelompok normal (P0).

Peningkatan kadar SGPT ini dapat disebabkan oleh senyawa toksik dalam ekstrak etanol buah anggur bali ataupun akibat kandungan antioksidan yang terdapat didalam ekstrak. Ekstrak etanol buah anggur bali memiliki kandungan antioksidan polifenol, flavonoid dan antosianin yang cukup tinggi (Ahira, 2010). Pemberian ekstrak etanol buah anggur bali dalam dosis yang tinggi menyebabkan jumlah antioksidan yang masuk kedalam tubuh pun meningkat. Pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan berubah menjadi prooksidan yang dapat merusak sel (Suryani *et al.*, 2013). Ketika jumlah antioksidan dan prooksidan dalam tubuh tidak seimbang, maka akan terjadi stres oksidatif. Aktivitas antioksidan polifenol dalam tubuh dapat berubah menjadi prooksidan akibat dua kondisi yakni konsentrasi yang tinggi dan adanya ion metal (Azam dan Little, 2004). Konsentrasi polifenol yang tinggi pada pemberian ekstrak etanol buah anggur dosis 30 g/ml/kg BB, menyebabkan terjadinya prooksidan yang memicu terjadinya kerusakan jaringan hati.

Menurut Hariyatmi (2004), kerusakan jaringan hati ini diartikan sebagai cedera pada membran sel yang bisa menyebabkan kebocoran plasma intraseluler normal menjadi plasma ekstraseluler. Plasma normal yang mengandung kadar enzim GPT ikut keluar terdorong oleh akumulasi lemak yang tidak teroksidasi di sel hati, sehingga enzim GPT keluar ke sitosol vena

intralobuler dan menyebabkan tingginya kadar SGPT dalam darah.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah anggur bali dengan dosis 0,3g/kg. BB, 3g/kg. BB, dan 30g/kg. BB secara oral tidak berpengaruh terhadap kadar SGOT tikus putih. Pemberian pada dosis 30 g/kgBB berpotensi mengakibatkan kerusakan hati yang ditunjukkan oleh kadar SGPT yang meningkat secara nyata.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa uji toksisitas kronis terhadap ekstrak ethanol buah anggur bali untuk mengetahui potensi penggunaan dalam jangka waktu lebih lama. Serta penelitian lebih lanjut dengan menggunakan hewan coba rodentia yang lebih bervariasi, yang mewakili dua jenis kelamin yaitu jantan dan betina juga diperlukan untuk mendapatkan data yang lebih valid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana atas fasilitas yang diberikan untuk menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahira A. 2010. *Kandungan Anggur dan Manfaatnya*. Available from : <http://www.anneahira.com/kandungan-anggur.htm>. Accessed March 16, 2014.
- Azam EI, Little JB. 2004. Human and Experimental Toxicology. *An Internasional Journal*. 2004: 61–65.
- Brzoska MM, Jakoniuk JM, Marcinkiewicz BP, Sawicki B. 2003. Liver and Kidney Function and Histology in Rats Exposed to Cadmium and Etanol. *Alcohol and Alcoholism*. 38(1): 2-10.

- Cao G, Mumlitelli HU, Moreno CS, Prior RL. 2001. Anthocyanins are Absorbed in Glycated Forms in Elderly Women. *American J. Clin. Nutr.* 73(5): 920-926.
- Donatus AI. 2001. *Toksikologi Dasar*. Fakultas Biofarmasi-Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Gallagher ME. 2003. Toxicity Testing Requirement, Methods and Proposed Alternatives. *Environs.* 26(2): 253-273
- Hariyatmi, 2004, Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia, *J. MIPA.* 14(1): 52-60.
- Mutia D. 2010. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Anggur (*Vitis vinera*) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). Skripsi: Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. 2003. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *J. Med. Food.* 6: 291-299.
- Siswanto FM, Suryawan IW, Wirawan TH, Rochman F, Pangkahila JA. 2014. Ekstrak Buah Anggur Menurunkan Kadar Aspartate Transaminase Darah Mencit dengan Aktivitas Fisik Berlebih. *Indonesia Medicus Veterinus.* 3(3): 192-199.
- Suryani N, Tinny EH, Aulanni'am. 2013. Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Mahoni terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes. *J. Kedokteran Brawijaya.* 27(3): 137-145.
- Tarmizi. 2010. Buah Anggur Berpotensi Anti Kanker. Available from: <http://kimia.unp.ac.id/?p=221>. Accessed March 8, 2014.
- Wiryanta BTW. 2008. *Menumbuhkan Anggur di dalam Pot*. Cetakan ke-7. Jakarta: PT Agromedia Pustaka. Pp. 7-12.
- Yanjun Z, Dana K, Robert D, Rypo L, David W. International Multidimensional Authenticity Specification (IMAS) Algorithm for Detection of Commercial Pomegranate Juice Adulteration. *J. Agric Food Chem.* 57(6): 2550-2557.