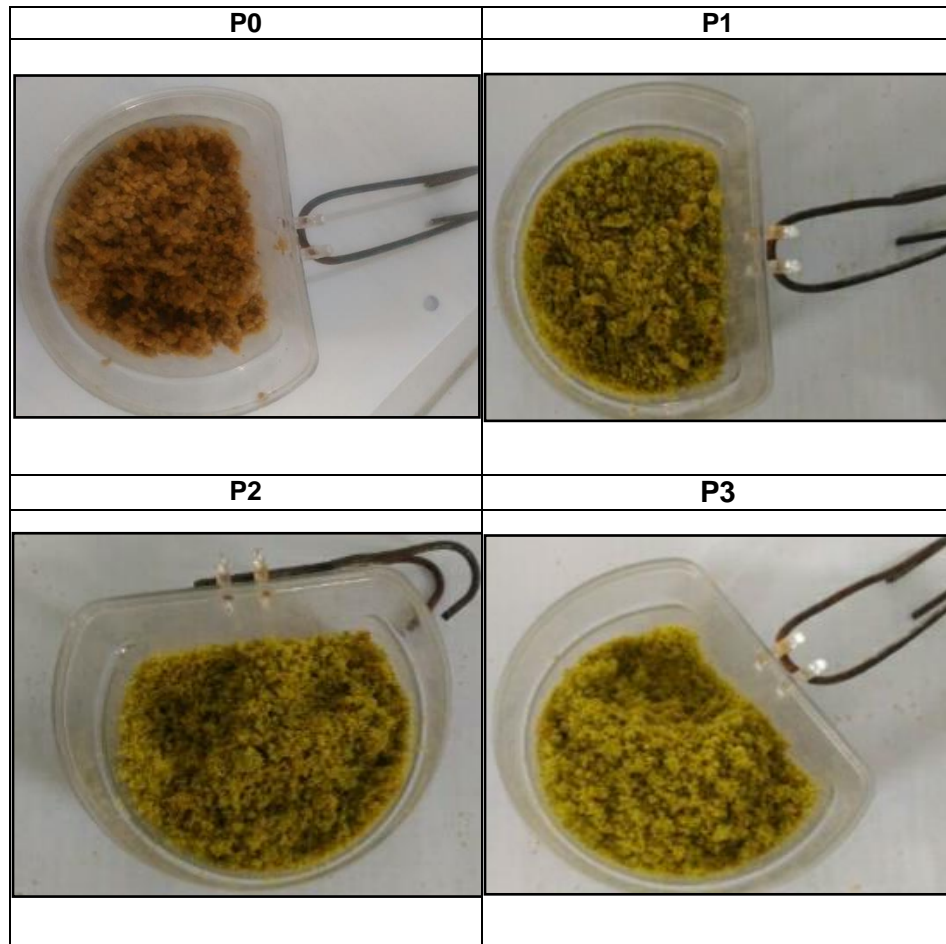


BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Ransum



Keterangan :

P0 : Ransum standar

P1 : Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*

P2 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm

P3 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm

Gambar 8. Visualisasi ransum untuk tikus selama pemeliharaan

Ransum yang diberikan pada perlakuan P0 adalah ransum standar berupa PARS dengan penambahan pati jagung dan minyak kelapa. Perlakuan P1, P2, dan P3 adalah pemberian ransum berupa biskuit STRIATA. Seperti yang disajikan pada Gambar 8, ransum yang diberikan pada hewan coba sudah disesuaikan dengan ransum standar yaitu perlakuan P0 agar memiliki bentuk dan tekstur yang sama dengan ransum

pada perlakuan P1, P2, dan P3. Dari segi warna pada ransum standar dan ransum untuk perlakuan berupa biskuit tidak jauh berbeda, hanya saja warna pada biskuit yang dihancurkan tampak lebih cerah. Ransum standar dan perlakuan memiliki aroma yang sangat berbeda, ransum standar memiliki aroma khas PARS. Bahan tersebut biasanya digunakan untuk pakan unggas seperti ayam. Ransum untuk perlakuan berupa biskuit memiliki aroma khas biskuit dan jauh lebih enak dibandingkan dengan aroma pakan standar. Tekstur yang dimiliki ransum standar dan ransum untuk perlakuan tidak jauh berbeda karena sudah disesuaikan, keduanya memiliki bentuk yang sama yaitu seperti remahan kecil dan tekstur yang renyah.

B. Asupan

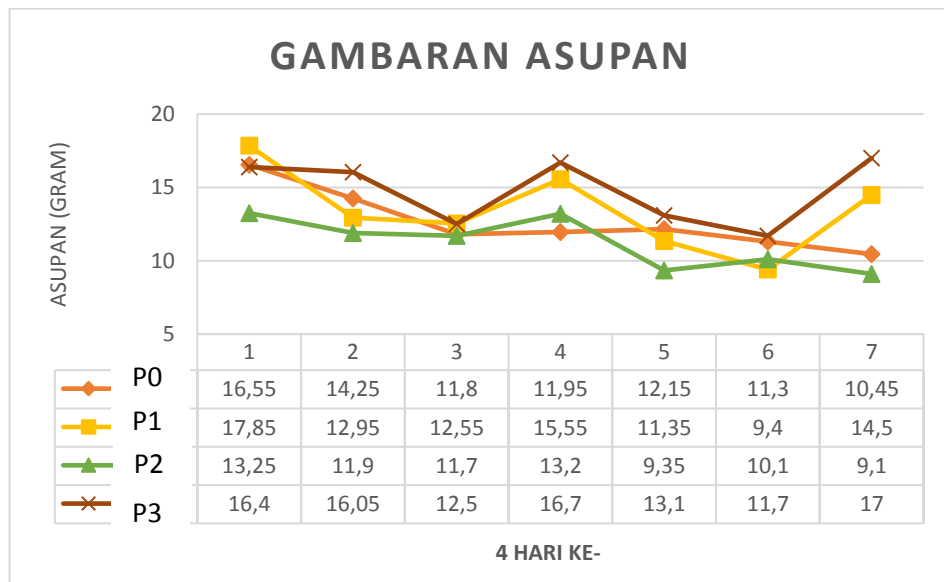
Pemberian ransum pada hewan coba berupa tikus putih jantan galur wistar dilakukan dengan metode *ad libitum*. Pada fase adaptasi, pemberian ransum dalam sehari adalah 40 gram. Ransum diberikan pada waktu pagi dan sore hari masing-masing 20 gram. Dalam pemberian ransum saat fase awal adaptasi, dilakukan penimbangan sisa ransum untuk mengetahui seberapa besar rata-rata asupan sehari (24 jam). Rata-rata jumlah ransum yang dimakan sebesar <20 gram dalam waktu 24 jam. Selanjutnya ransum diberikan sebanyak 25 gram dalam sehari. Pemberian minum juga dilakukan dengan metode *ad libitum*, dan tetap dilakukan pengecekan tiap pagi dan sore hari.

Masing-masing hewan diberikan ransum berdasarkan perlakuan yaitu P0 berupa ransum standar dengan modifikasi, P1 berupa pemberian biskuit tanpa penambahan *Natrium Benzoat*, P2 berupa pemberian biskuit kelor dengan penambahan *Natrium Benzoat* sebanyak 100 ppm. P3 berupa pemberian biskuit kelor dengan penambahan *Natrium Benzoat* sebanyak 500 ppm. Nilai gizi ransum tiap pemberian 25 gram disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan gizi ransum tiap pemberian

Kandungan	Ransum Standar/25 gram	Biskuit STRIATA/ 25 gram
Energi (Kkal)	120,3	128,57
Protein (g)	3,17	2,82
Lemak (g)	5,67	6,50
KH (g)	14,17	14,67
Air (g)	2	0,58

Meskipun jumlah pemberian disamakan, namun hewan coba berupa tikus putih jantan galur wistar memiliki nafsu makan atau daya terima yang berbeda tiap ekornya. Oleh karena itu, untuk selanjutnya setelah fase adaptasi penimbangan sisa makanan akan terus dilakukan tiap hari agar dapat mengetahui seberapa besar asupan makan tikus tiap harinya. Data akan disajikan dalam bentuk rata-rata tiap 4 hari agar selanjutnya dapat dianalisis dengan pengukuran berat badannya. Sesuai dengan prosedur, pengukuran berat badan dan panjang badan juga dilakukan tiap 4 hari sekali. Data rata-rata asupan pada masing-masing perlakuan akan disajikan pada Gambar 9.



Keterangan :

P0 (Ransum standar)

P1 (Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*)

P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm)

P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm)

Gambar 9. Grafik asupan tiap perlakuan selama pemeliharaan

Secara umum dapat digambarkan pada Gambar 9 bahwa terjadi penurunan jumlah asupan pada hewan coba dari semua perlakuan. Rata-rata asupan ransum pada perlakuan P0, P1, P2, dan P3 menunjukkan perkembangan yang fluktuatif selama penelitian berlangsung. Pada perlakuan P0 asupan berkisar 10,45-16,55 gram. Rata-rata asupan ransum pada perlakuan P1 sejumlah 9,40-17,85 gram dan perkembangan asupan tiap kali penimbangan tidak menentu. Rata-rata asupan ransum pada perlakuan P2 sejumlah 9,10-13,25 gram dan cenderung mengalami penurunan jumlah asupan tiap kali penimbangan. Rata-rata asupan ransum pada perlakuan P3 adalah sejumlah 11,70 – 17,00 gram, diakhir penimbangan asupan lebih tinggi jika dibandingkan pada masa awal pemeliharaan.

Hasil uji statistik terhadap asupan menunjukkan nilai $p < 0,05$, yang berarti terdapat perbedaan asupan antara perlakuan P0, P1, P2, dan P3. Berikut hasil uji lanjut atau *Post Hoc* dengan metode *Tukey* yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis uji *Post Hoc* terhadap asupan (gram)

Perlakuan	Rata-rata
P0 (Ransum standar)	12,93 ^a
P1 (Biskuit tanpa pengawet <i>Natrium Benzoat</i>)	13,09 ^a
P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet <i>Natrium Benzoat</i> 100 ppm)	11,46 ^a
P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet <i>Natrium Benzoat</i> 500 ppm)	14,77 ^b

Keterangan :

Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($\alpha = 0,05$)

Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan P2 dan P3. Rata-rata asupan terendah ada pada kelompok perlakuan P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm), sedangkan asupan tertinggi ada pada perlakuan P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm). Perbedaan terlihat pada perlakuan P2 dan P3. Pada perlakuan lain memiliki rata-rata yang relatif sama. Jumlah asupan ransum akan berkontribusi terhadap penambahan berat badan dan panjang badan.

Jumlah ransum yang dikonsumsi berbeda pada masing-masing tikus coba, bahkan tidak menentu tiap harinya dan bisa mengalami

kenaikan dan penurunan jumlah asupan sewaktu-waktu. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh nafsu makan yang tidak menentu, nafsu makan tikus sendiri dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan yang kurang kondusif atau tingkat stress yang bertambah. Selain itu bobot badan individu, individu hewan, tipe dan tingkat produksi, jenis ransum dan faktor lingkungan merupakan hal yang mempengaruhi konsumsi ransum (Church, 1979). Palatabilitas ransum, cita rasa, tekstur, ukuran dan konsistensi ransum juga turut mempengaruhi tingkat konsumsi ransum (Wiseman dan Cole, 1990). Selanjutnya Sutardi (1980) menyatakan bahwa hewan akan mencapai tingkat penampilan produksi tertinggi sesuai dengan potensi genetiknya apabila memperoleh zat-zat makanan yang dibutuhkan. Sifat dan komposisi ransum juga akan turut mempengaruhi tingkat konsumsi. Dalam penelitian ini, bentuk ransum untuk perlakuan berupa biskuit yang diberikan telah disesuaikan dengan bentuk ransum standar baik dari ukuran, jumlah, maupun teksturnya.

Kebutuhan ransum bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika ransum tersebut berupa ransum kering dan dapat ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika ransum yang dikonsumsi berupa ransum basah. Rata-rata pemberian ransum harian untuk tikus Sprague-Dawley selama periode pertumbuhan dan reproduksi mendekati 15-20 g untuk jantan dan 10-15 g untuk betina (National Research Council, 1978). Dalam penelitian ini berat badan awal tikus rata-rata berkisar antara 165,2-179,5 gram, sedangkan asupan rata-rata 13,25-17,85 gram. Jumlah tersebut memenuhi kisaran asupan yakni kurang lebih 10% dari berat badan tikus.

Kualitas pakan dapat dilihat dari kandungan zat makanan dan palatabilitasnya. Smith dan Mangkoewidjojo (1988) menyatakan bahwa pada kondisi dimana pakan diberikan dalam jumlah yang sangat terbatas maka tikus dapat mengurangi konsumsinya, tetapi jika nafsu makan berlebih, tikus dapat meningkatkan penggantian energi. Adapun kriteria yang umum digunakan dalam memperkirakan kecukupan nutrisi makanan antara lain pertumbuhan, reproduksi, pola tingkah laku, kesediaan nutrisi, aktivitas enzim, histologi jaringan dan kandungan asam amino serta protein dalam jaringan (National Research Council, 1978). Pakan yang diberikan pada tikus umumnya tersusun dari komposisi alami dan mudah diperoleh

dari sumber daya komersial. Namun demikian, pakan yang diberikan pada tikus sebaiknya mengandung nutrisi dalam komposisi yang tepat. Dari rata-rata asupan dapat dilihat kisaran jumlah energi dan zat gizi yang dikonsumsi dari masing-masing perlakuan untuk mengetahui kualitas pakannya, data tersebut disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Asupan energi dan zat gizi hewan coba pada tiap perlakuan selama penelitian berlangsung.

Perlakuan	Jumlah asupan (g)	Kandungan zat gizi			
		Energi (kkal)	Protein (g)	Lemak (g)	Karbohidrat (g)
P0	10,4 -16,5	50,04-79,39	1,31-2,09	2,35-3,74	5,89-9,35
P1	9,4 -17,85	48,34-91,70	1,06-1,49	2,40-4,64	5,51-10,47
P2	9,1-13,25	46,79-91,79	1,02-2,01	2,36-4,64	5,33-10,47
P3	11,7 - 17,00	60,17-87,42	1,31-1,91	3,04-4,42	6,86-9,97

Keterangan :

P0 : Ransum standar

P1 : Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*

P2 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm

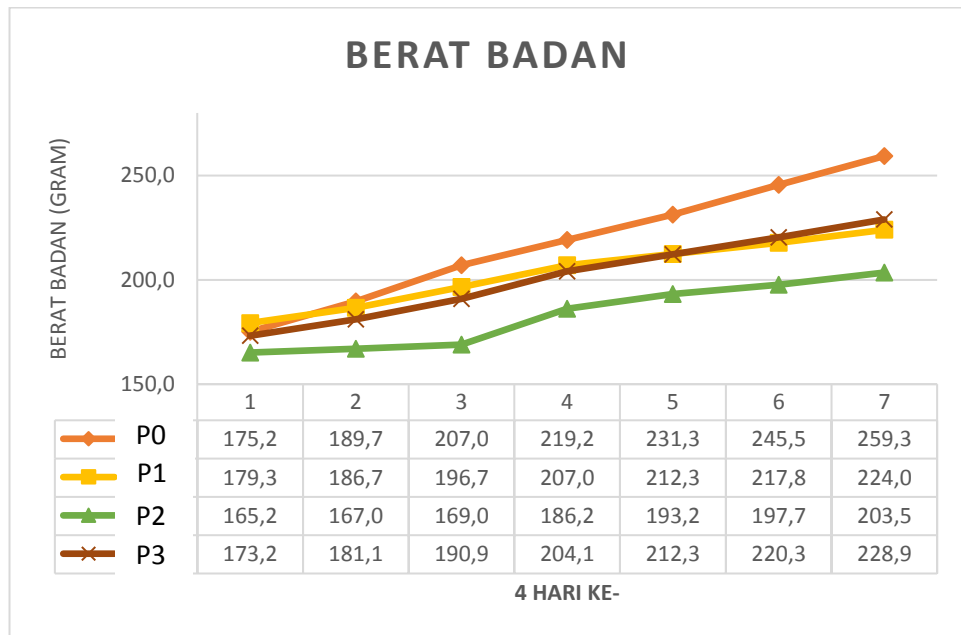
P3 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm

Tabel 5 menunjukkan bahwa rentang asupan energi paling tinggi adalah pada perlakuan P2 yaitu 91,79 kkal sedangkan rentangan asupan energi terendah juga ada pada perlakuan P2 yaitu 46,79 kkal. Rata-rata asupan protein hampir sama, namun nilai terendah ada pada rentangan perlakuan P2 yaitu 1,02 gram dan tertinggi ada pada rentangan perlakuan P0 yaitu 2,09 gram. Jumlah asupan lemak juga tidak berbeda jauh namun dapat disimpulkan bahwa nilai tertinggi ada pada rentangan perlakuan P1 dan P2 yaitu 4,64 gram dan nilai asupan lemak terendah ada pada perlakuan P0 yaitu 2,35 gram. Asupan karbohidrat tertinggi ada pada perlakuan P1 dan P2 yaitu 10,47 gram dan nilai terendah ada pada perlakuan P2 yaitu 5,33 gram. Besarnya asupan akan mempengaruhi seberapa besar peningkatan berat badan dan panjang badan hewan coba berupa tikus putih jantan galur wistar. Dalam penelitian ini zat gizi yang diberikan sudah disesuaikan sehingga nilai gizi pakan standar hampir sama dengan nilai gizi pada perlakuan seperti yang sudah ditampilkan pada Tabel 3. Ransum yang berkualitas baik akan memiliki tingkat konsumsi yang relatif tinggi bila dibandingkan dengan ransum berkualitas rendah.

C. Berat Badan

Semua makhluk hidup dalam keadaan normal akan mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Penambahan berat badan merupakan salah satu indikator pertumbuhan. Pertumbuhan diartikan sebagai bertambahnya materi tubuh. (Sediaoetama, 1996). Seperti pada bayi yang dikatakan sehat maka akan terjadi kenaikan berat badan setiap bulan. Beberapa penelitian menunjukkan adanya sejumlah faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan. Faktor-faktor tersebut diantaranya adalah pengetahuan gizi, pola konsumsi (Ismayanti & Solikhah, 2012); asupan energi (Lipoeto, Megosari, & Eka Putra, 2007). Menurut Sediaoetama (2006), pola pertumbuhan seseorang dari lahir hingga meninggal tidak merupakan suatu kurva garis lurus, tetapi terdiri dari beberapa bagian yang menunjukkan kecepatan tumbuh. Masa bayi dan balita serta remaja terjadi fase pertumbuhan cepat (*growth spurt*) dan pada akhir fase dewasa terjadi pertumbuhan lambat (*growth plateau*). Pertumbuhan anak dianggap berhenti setelah mencapai umur dewasa. Seperti pada manusia, tikus juga mengalami masa pertumbuhan khususnya pada usia bayi hingga balita dimana pada saat itu tikus mengalami fase pertumbuhan yang paling pesat. Berat badan tikus pada umur empat minggu dapat mencapai 35-40 gram dan setelah dewasa rata-rata 200-250 gram. Tetapi berat badan juga bervariasi tergantung pada galur. Tikus jantan tua dapat mencapai bobot badan 500 g, tetapi tikus betina jarang lebih dari 350 g (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan penambahan berat badan dari tiap perlakuan. Data penimbangan berat badan yang disajikan merupakan hasil rata-rata berat badan tikus putih jantan galur wistar dari semua sampel pada masing-masing perlakuan yaitu P0, P1, P2 dan P3. Peningkatan berat badan dari masing-masing perlakuan selama 7 kali pengukuran disajikan pada Gambar 10.



Keterangan :

P0 (Ransum standar)

P1 (Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*)

P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm)

P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm)

Gambar 10. Peningkatan berat badan

Pada Gambar 10 dapat diketahui bahwa terdapat peningkatan nilai berat badan pada tiap perlakuan meskipun peningkatan yang dialami masing-masing perlakuan tidak sama. Perlakuan P0 mengalami peningkatan berat badan dari awal pemberian perlakuan hingga akhir penelitian sebesar 84,10 gram, pada perlakuan P1 mengalami peningkatan berat badan sebesar 44,70 gram, pada perlakuan P2 mengalami peningkatan berat badan sebesar 38,30 gram, dan pada perlakuan P3 mengalami peningkatan berat badan sebesar 55,70 gram. Dari hasil penimbangan tersebut peningkatan berat badan terbesar adalah pada perlakuan P0 yang diberikan ransum standar, sedangkan peningkatan berat badan terendah hanya sebesar 38,30 gram yaitu pada perlakuan P2 yang diberikan ransum berupa biskuit dengan penambahan *Natrium Benzoat* 100 ppm. Dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan penambahan berat badan dari tiap perlakuan. Berat badan tertinggi adalah pada perlakuan P0 yang diberikan pakan standar, kemudian P3 yang

diberikan biskuit dengan penambahan *Natrium Benzoat* 500 ppm, selanjutnya pada perlakuan P1 yaitu pemberian biskuit tanpa *Natrium Benzoat*, dan yang terakhir adalah perlakuan P2 yaitu pemberian biskuit dengan penambahan *Natrium Benzoat* 100 ppm.

Hasil uji statistik terhadap berat badan menunjukkan nilai $p < 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan berat badan tiap taraf perlakuan P0, P1, P2, dan P3.

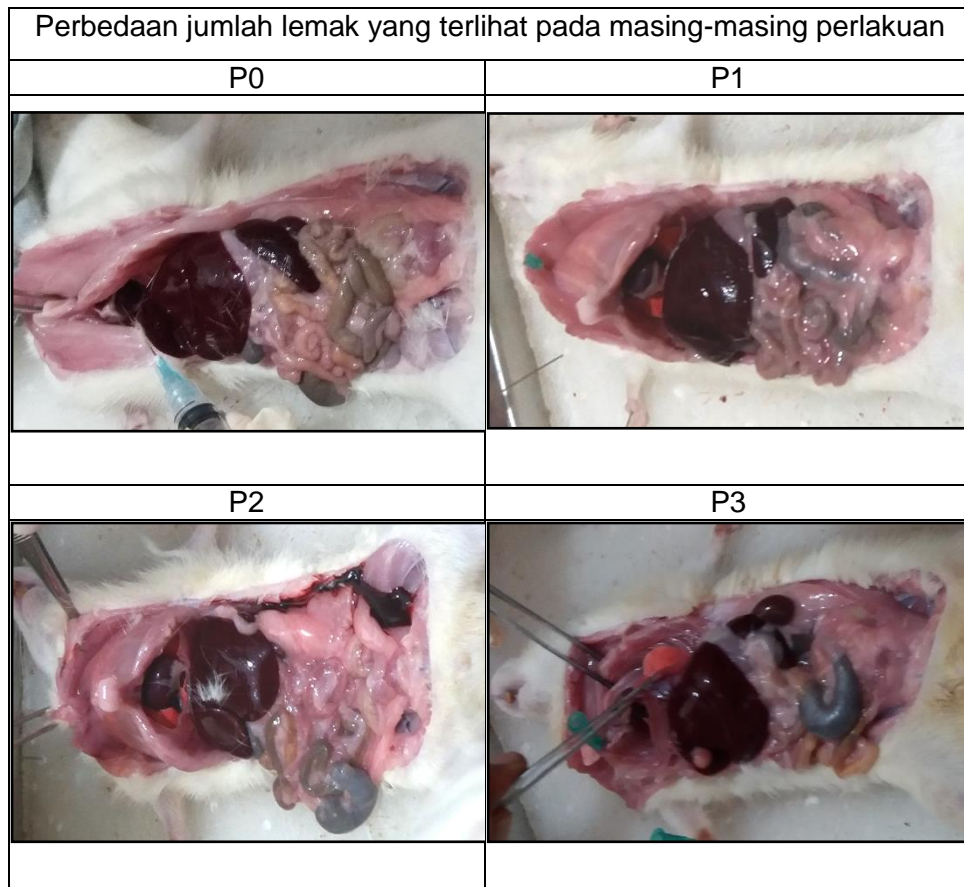
Tabel 6. Rata-rata berat badan hasil uji *Post Hoc* pada tiap perlakuan (gram)

Perlakuan	Rata-rata
P0 (Ransum standar)	189,91 ^a
P1 (Biskuit tanpa pengawet <i>Natrium Benzoat</i>)	181,09 ^b
P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet <i>Natrium Benzoat</i> 100 ppm)	163,52 ^a
P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet <i>Natrium Benzoat</i> 500 ppm)	179,90 ^a

Keterangan :

Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($\alpha = 0,05$)

Dari Tabel 6 dapat diketahui bahwa hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada taraf perlakuan P0 dan P1. Setelah dianalisa dengan melakukan pembedahan ternyata diketahui bahwa tingginya berat badan tikus diperoleh dari penumpukan lemak visceral atau lemak yang menumpuk didaerah abdomen hingga organ tertutup oleh lapisan lemak yang sangat tebal. Penampakan lemak visceral disajikan pada Gambar 11.



Keterangan :

P0 : Ransum standar

P1 : Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*

P2 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm

P3 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm

Gambar 11. Perbedaan penampakan lemak visceral pada masing-masing perlakuan

Gambar 11 menunjukkan bahwa penumpukkan lemak visceral paling banyak terdapat pada perlakuan P3. Bahkan pada taraf perlakuan tersebut terjadi perlemakan pada organ hati. Perlemakan tersebut dapat terjadi akibat gangguan metabolisme zat gizi khususnya lemak. Selain itu, hati memiliki fungsi yang sangat kompleks, diantaranya memetabolisme protein dan menjalankan fungsi detoksifikasi. Fungsi detoksifikasi akan berjalan saat sebagian besar toksik dalam *gastrointestinal tract* terserap dan masuk dalam sirkulasi darah, kemudian ditranspor menuju hati dan masuk melalui pembuluh vena porta *hepatica*, dimana sisa metabolit *Natrium Benzoat* atau toksikan akan menyebabkan hati harus bekerja lebih keras dalam memetabolismenya. Semakin tinggi jumlah toksikan yang

memasuki hati, semakin besar resiko terjadinya kerusakan hati. Beberapa kerusakan hati antara lain; perlemakan hati, nekrosis, degenerasi dan sirosis hati hingga kegagalan fungsi hati (Cairns, 2008). Perlemakan, ditandai dengan adanya akumulasi trigliserida dan metabolit lemak lainnya pada sitoplasma, berupa vakuola jernih dalam sitoplasma (Sudiono, 2003). Akumulasi lemak umumnya dimulai dari daerah portal yang meluas menuju vena sentralis. Hal ini disebabkan karena suplai darah dari usus menuju ke hati melalui vena porta. Jika darah yang berasal dari usus mengandung toksin maka kerusakan awal akan ditemukan pada hepatosit daerah vena porta (Paderi, 2007).

Penyimpanan lemak dalam tubuh dibedakan menjadi dua yaitu lemak subkutan dan lemak visceral. Lemak visceral merupakan sumber asam lemak bebas yang langsung menuju hati melalui vena porta. Terlebih lagi bahwa jaringan lemak visceral ini relatif resisten terhadap kerja insulin yang ditunjukkan dengan relatif tidak terhambatnya lipolisis jaringan ini pada fase setelah makan padahal konsentrasi insulin pada waktu itu meningkat (Aminuddin, 2010). Hal tersebut meningkatkan proses glukoneogenesis dan juga menghambat ambilan serta penggunaan glukosa di otot. Akumulasi trigliserida di hati dan di otot akan mengakibatkan resistensi insulin (Jalal dkk, 2010). Glukoneogenesis yang meningkat menyebabkan jumlah protein yang tersisa sedikit sementara terjadi peningkatan pembentukan kolesterol di hati, sehingga kolesterol yang terbentuk sedikit berikatan dengan lipoprotein dan mengakibatkan terjadi peningkatan kadar kolesterol LDL (Murray, 2003). Lemak visceral berfungsi untuk melindungi organ-organ tubuh bagian dalam. Penumpukkan lemak visceral tidak hanya terlihat pada perlakuan P3, namun juga terjadi pada perlakuan P2. Perlakuan P2 dan P3 merupakan tikus dengan pemberian pakan berupa biskuit dengan penambahan *Natrium Benzoat* masing-masing 100 ppm dan 500 ppm.

Metabolisme *Natrium Benzoat* yang merupakan salah satu jenis xenobiotik berjalan melalui dua fase, yaitu fase I dan fase II yang disebut fase konjugasi atau pengkelatan (Setiarto, 2016). Metabolisme pada fase I bertujuan untuk membuat sisa metabolit menjadi lebih polar, sehingga sisa

metabolit xenobiotik (khususnya *Natrium Benzoat*) dapat diekskresikan. Sisa metabolit xenobiotik yang tidak dapat diekskresikan pada fase I karena masih bersifat elektrofil atau lipofil (hidrofob) akan memasuki fase II. Fase II meliputi konjugasi dengan asam amino (glisin), glukoronida atau sulfat (Cairns, 2008). Fase II bertujuan untuk membuat sisa metabolit xenobiotik bersifat lebih larut air (hidrofil), sehingga dapat diekskresikan melalui urin dan/ atau empedu, karena jika sisa metabolit xenobiotik masih bersifat elektrofil atau lipofil (hidrofob), maka tidak dapat diekskresikan dan menyebabkan terjadinya penumpukan toksikan dalam tubuh. Penumpukan toksikan menyebabkan terjadinya peningkatan stres oksidatif, karena toksikan bersifat reaktif (radikal bebas), dimana hal tersebut akan memperberat kerja hati. Toksikan tersebut berupa kuinonimina, dimana kuinonimina merupakan salah satu sisa metabolit dari obat-obatan seperti *paracetamol* (Cairns, 2008), antioksidan BHA dan BHT yang digunakan sebagai BTP pada minyak yang dapat mencegah oksidasi lemak (Barlow, 1990). Karena adanya penumpukan visceral fat dan penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang dipicu oleh karena adanya radikal bebas yang akan mengganggu hidrolisis TG, sehingga kadar TG meningkat dan hewan akan mengalami hiperkolesterolemia (Wresdiyati, 2006 dan Goldberg, 2001). Penurunan aktivitas enzim LPL juga akan menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL terhambat, sehingga VLDL akan mengendap di dalam hepar dan menyebabkan perlemakan hepar berupa akumulasi lemak pada sinusoid dan sekitar sel-sel hepar.

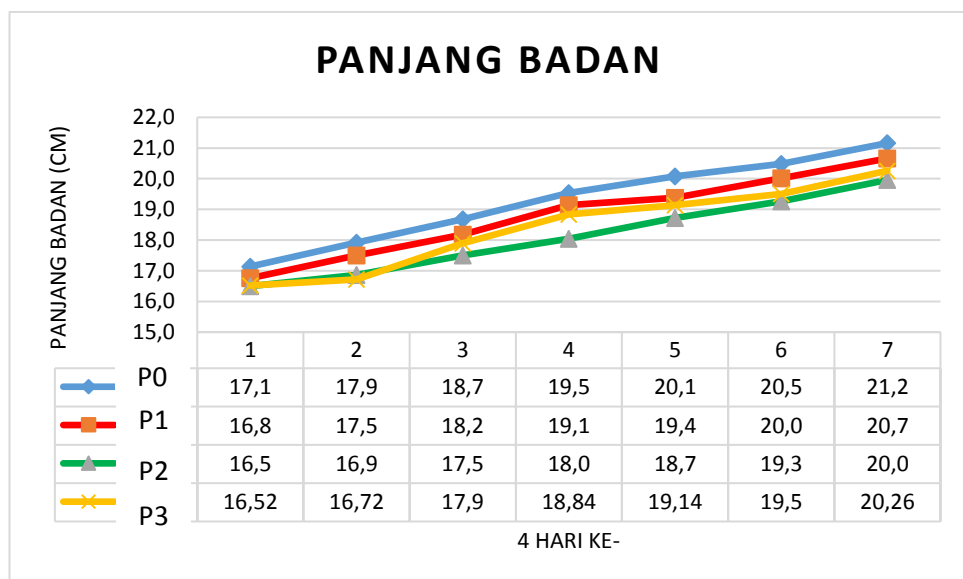
Sel lemak (adiposit) merupakan sel yang dikenal memiliki fungsi sebagai penyimpanan kelebihan energi dalam bentuk triasilgliserol dan mensekresikannya dalam bentuk asam lemak bebas ketika tubuh membutuhkan energi kembali. Asam lemak akan diaktifkan di mitokondria, oksidasi lemak akan terjadi di jaringan apabila asam lemak meningkat. Jaringan yang tidak memiliki mitokondria seperti darah tidak akan bisa mengoksidasi lemak. Pada tubuh kita terjadi proses untuk menjaga homeostasis energi, jaringan lemak memiliki fungsi yang cukup penting dalam regulasi homeostasis energi. Peningkatan massa jaringan adiposa disebabkan oleh energi yang masuk melebihi energi yang dikeluarkan,

sehingga terjadi akumulasi dalam bentuk lemak. Akumulasi dalam bentuk lemak akan mengakibatkan hipertrofi dan hiperplasia pada jaringan adiposa (Derdemezis *et al.*, 2011; Enns *et al.*, 2011). Nutrisi yang dikonsumsi tubuh dalam jumlah besar akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS yang lebih besar daripada aktivitas antioksidan yang ada dalam tubuh, akan menyebabkan terjadi stres oksidatif dalam lingkungan sel. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa obesitas dapat menginduksi stres oksidatif dan menimbulkan gangguan pada produksi adipokin. Salah satu adipokin yang memiliki peran dalam menjaga homeostasis energi dalam tubuh adalah leptin (Wellen dan Thompson, 2010; Sanchez *et al.*, 2011). Leptin merupakan hormon yang disintesis oleh sel adiposa. Leptin berfungsi untuk menurunkan jumlah makanan yang masuk, meningkatkan energi yang dikeluarkan melalui sinyal spesifik pada hipotalamus, dan memelihara homeostasis berat badan (Rodrigues, 2009; Sahu, 2011). Variabel penting yang berpengaruh pada kadar leptin pada sirkulasi adalah massa lemak tubuh (body fat mass). Kadar leptin merefleksikan banyaknya jaringan lemak. Sintesis leptin dipengaruhi oleh beberapa hormon. Growth hormone (GSH) menstimulasi pada efek jangka pendek, sedangkan pada jangka panjang justru menekan leptin.

Dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan akan mempengaruhi metabolisme lemak hingga menimbulkan penimbunan lemak visceral. Jumlah asupan yang tinggi disertai dengan penambahan *Sodium Benzoat* pada biskuit yang diberikan dapat memicu timbulnya stress oksidatif atau adanya radikal bebas. Hal tersebut akan mengganggu metabolisme lemak tepatnya hidrolisis trigliseride dan menimbulkan gangguan pada produksi adipokin dimana adipokin berupa leptin memiliki peran dalam menjaga homeostasis energi dalam tubuh. Jika homeostasis energi terganggu maka tikus mengalami penumpukkan lemak visceral. Akibat konsumsi *Sodium Benzoat* juga akan menimbulkan penumpukkan toksik/radikal bebas sisa hasil metabolisme xenobiotik (*Sodium Benzoat*) memperberat kerja hati hingga mengakibatkan kerusakan hati. Salah satu bentuk kerusakan hati adanya terjadinya perlemakan pada hepar.

D. Panjang Badan

Seperti penimbangan berat badan, panjang badan juga merupakan salah satu indikator pertumbuhan. Pengukuran panjang badan dilakukan sebelum diberikan perlakuan atau setelah fase adaptasi selesai. Selanjutnya pengukuran akan dilakukan selama 4 hari sekali. Hasilnya, pengukuran dilakukan sebanyak 7 kali selama penelitian dilaksanakan. Data disajikan dalam bentuk grafik. Data hasil pengukuran panjang badan yang ada dalam Gambar tersebut adalah hasil rata-rata pengukuran panjang badan tikus putih jantan galur wistar dari semua sampel pada masing-masing perlakuan yaitu P0, P1, P2 dan P3. Peningkatan panjang badan dari masing-masing perlakuan selama 7 kali pengukuran disajikan pada Gambar 12.



Keterangan :

P0 (Ransum standar)

P1 (Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*)

P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm)

P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm)

Gambar 12. Grafik Peningkatan Panjang Badan

Dari Gambar 12 dapat diketahui bahwa terdapat peningkatan nilai panjang badan pada masing-masing perlakuan pada tiap plot. Pada masing-masing perlakuan jumlah peningkatan panjang badan berbeda. Perlakuan P0 mengalami peningkatan panjang badan dari awal pemberian perlakuan hingga akhir penelitian sebesar 4,1 cm, pada perlakuan P1

mengalami peningkatan panjang badan sebesar 3,9 cm, pada perlakuan P2 mengalami peningkatan panjang badan sebesar 3,6 cm, dan pada perlakuan P3 mengalami peningkatan panjang badan sebesar 3,7 cm. Dari hasil pengukuran tersebut peningkatan panjang badan terbesar adalah pada perlakuan P0 yang diberikan ransum standar yaitu sebesar 21,2 cm, sedangkan peningkatan panjang badan terendah hanya sebesar 20,2 cm yaitu pada perlakuan P2 yang diberikan ransum berupa biskuit dengan penambahan *Natrium Benzoat* 100 ppm.

Hasil uji statistik terhadap panjang badan menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan panjang badan antara perlakuan P0, P1, P2, dan P3. Untuk mengetahui lebih lanjut taraf perlakuan manakah yang menunjukkan adanya perbedaan panjang badan maka dilakukan uji *Post Hoc* dengan metode *Tukey*, data hasil uji disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata panjang badan hasil uji *Post Hoc* pada tiap perlakuan (cm)

Perlakuan	Rata-rata
P0 (Ransum standar)	19,2857 ^a
P1 (Biskuit tanpa pengawet <i>Natrium Benzoat</i>)	18,8057 ^b
P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet <i>Natrium Benzoat</i> 100 ppm)	18,1200 ^a
P3 (Biskuit dengan penambahan pengawet <i>Natrium Benzoat</i> 500 ppm)	18,3086 ^a

Keterangan :

Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($\alpha = 0,05$)

Tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan P0 (ransum standar) dan P1 (Biskuit tanpa penambahan pengawet *Natrium Benzoat*). Nilai rata-rata panjang badan yang paling rendah ada pada kelompok perlakuan P2 (Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm), sedangkan nilai panjang badan tertinggi ada pada perlakuan P0 (Ransum standar). Tidak seperti berat badan, peningkatan panjang badan tidak bisa dinilai perubahannya dalam jangka waktu yang singkat. *Stunting* (pendek) atau gangguan pertumbuhan yang di diagnosis melalui parameter PB/U akan merefleksikan kegagalan dalam mencapai potensi pertumbuhan dengan indikasi kekurangan gizi jangka panjang (kronis) (Sudirman, 2008). Penyakit kronis didefinisikan sebagai gejala penyakit yang dirasakan dalam

jangka waktu lebih dari 6 bulan dan menyebabkan perubahan fungsi biologis, psikologis, dan sosiokultural. Hasil penelitian Rahmania, dkk (2014) menunjukkan bahwa asupan energi dan protein tidak berhubungan dengan stunting pada anak usia 6-23 bulan. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat faktor yang mempengaruhi pertumbuhan selain faktor jumlah asupan makanan, dimana asupan *Sodium Benzoat* dalam makanan berpeluang menjadi salah satu faktor penyebabnya.

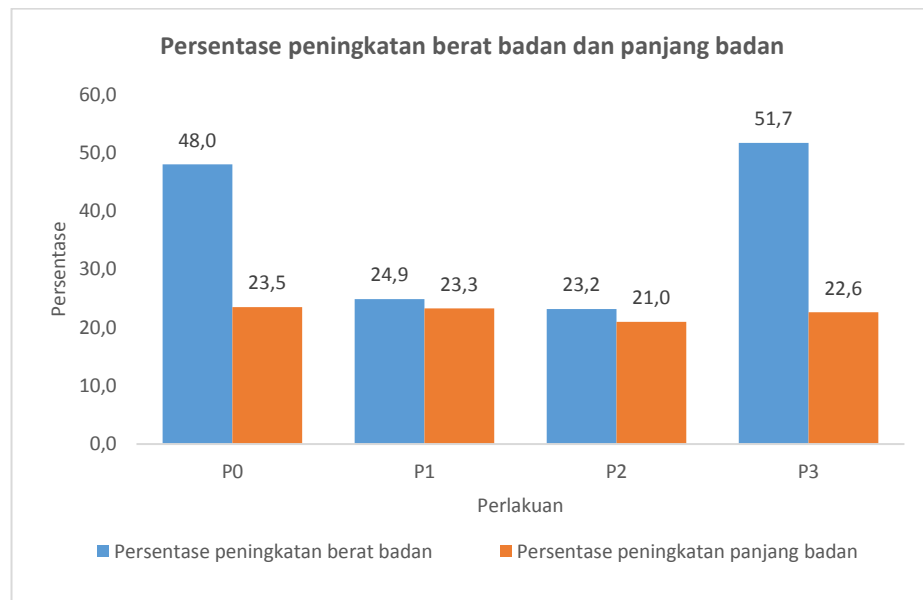
Metabolisme xenobiotik akan selalu menghasilkan radikal bebas, sehingga tubuh akan terus membutuhkan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas tersebut. Dalam tubuh, enzim SOD merupakan pertahanan primer tingkat sel terhadap toksisitas radikal bebas. Enzim SOD berperan dalam menggradasi anion superoksida yang mengganggu pertahanan sel. Peningkatan aktivitas enzim SOD tersebut dapat mempengaruhi kadar zink (Zn) dan tembaga (Cu) dalam serum, karena kedua enzim tersebut digunakan sebagai kofaktor enzim SOD (Winarsi, 2006). Peningkatan aktivitas enzim SOD dalam jangka waktu yang lama (kronis) dapat dijadikan sebagai salah satu faktor penyebab terjadinya penurunan kadar zink dan tembaga serum karena digunakan untuk mengaktifkan enzim SOD. Zink juga berperan dalam mengaktifkan dan memulai sintesis hormon pertumbuhan (*growth hormone*) (Agustian, 2009) sehingga pertumbuhan akan terganggu.

Peningkatan aktivitas enzim SOD tersebut disebabkan karena terhalangnya kompleks I (donor elektron NADH^+) ko koenzim Q (ubiquinon) pada transpor elektron, dimana hal tersebut menyebabkan terjadinya radikal bebas (spesies oksigen reaktif) dengan hasil akhir berupa radikal oksigen, yaitu anion peroksida. Benzoat dapat menstimulasi radikal bebas karena secara langsung benzoat menjadi inhibitor transpor elektron kompleks I ke ubiquinon. (Badenhost dkk, 2014). Radikal bebas hasil metabolisme benzoat dan turunannya menyebabkan terinduksinya enzim SOD sebagai bentuk keseimbangan oksidatif. Sejalan dengan penelitian Das dan Vasudevan (2005) yang menunjukkan bahwa radikal bebas hasil metabolisme etanol (bercincin aromatik) dapat menginduksi enzim SOD di hepar, dimana semakin tinggi paparan etanol terhadap hewan coba maka aktivitas SOD juga semakin tinggi. Transpor elektron yang terhalangi pada

kompleks I ke kompleks II dapat menyebabkan terjadinya oksidasi membran mitokondria dimana pori-pori membran akan terbuka dan pertahanan membran akan terganggu, sehingga benzoat yang berubah menjadi asam benzoat karena pH inter membran yang rendah dapat memasuki membran mitokondria bagian dalam dengan cara berdifusi. Asam benzoat yang berhasil menembus inter membran akan masuk dalam matriks mitokondria menjadi benzoyl koA (cincin aromatik) dengan bantuan ATP, dimana benzoil koA tersebut membutuhkan konjugat agar bersifat lebih hidrofil sehingga dapat dikeluarkan dari matriks dan diekskresikan melalui urin. Benzoyl koA akan berkonjugasi dengan asam amino (glisin) dan/atau glukoronida pada biotransformasi fase II dalam matriks mitokondria (Cairns,2008). Benzoat juga mengalami konjugasi dengan glisin di hepar (WHO, 2000), namun apabila benzoil koA terakumulasi lebih banyak dibandingkan dengan jumlah glisin atau glukoronida, maka benzoil koA akan menjadi natrium benzoat kembali dengan melepaskan koenzim A dengan gugus sulfhidril (koA-SH), dimana koenzim tersebut berperan dalam terjadinya beta oksidasi lapisan membran (fosfolipid). Beta oksidasi tersebut terjadi setelah koenzim A tersebut bersama karnitin intraseluler (sebagai carrier) masuk kedalam mitokondria. Hasil akhir beta oksidasi adalah asetil koA yang selanjutnya akan memasuki siklus krebs hingga menghasilkan NADH dan FADH yang digunakan dalam sintesis energi (ATP) pada transpor elektron, sehingga energi tersebut berasal dari asam lemak. Beta oksidasi yang terus menerus akibat paparan natrium benzoat dalam jangka waktu yang lama (kronis) juga menyebabkan penggunaan karnitin akan terjadi secara terus menerus. Hal ini menyebabkan terjadinya defisiensi karnitin yang pada penurunan beta oksidasi sehingga berdampak pada terjadinya hipoglikemi (Behrman, 1996). Hipoglikemi tersebut merupakan respon bahwa tubuh telah mengalami kekurangan energi (ATP). Gangguan pertahanan atau integritas membran dan terjadinya beta oksidasi merupakan tanda bahwa telah terjadi degenerasi sel, dimana defisiensi karnitin dan terjadinya penurunan beta oksidasi menyebabkan penumpukan senyawa radikal bercincin aromatik (benzoil koA) yang meningkatkan terjadinya peroksidasi lemak dan stress oksidatif.

Konsumsi *Natrium Benzoat* menyebabkan zat gizi protein (asam amino), khususnya asam amino glisin digunakan sebagai konjugat untuk proses ekskresi *Natrium Benzoat* (Shahmohammadi, 2016). Konsumsi *Natrium Benzoat* dalam jangka waktu lama menjadi salah satu faktor penurunan utilisasi zat gizi, dimana hal tersebut akan menyebabkan terjadinya peningkatan stres oksidatif yang disertai dengan penurunan kadar zink tubuh yang akan menghambat pertumbuhan pada perlakuan P2 dan P3 jika dibandingkan dengan P0 dan P1.

D. Hubungan Asupan dengan Berat Badan dan Panjang Badan Tikus Putih Galur Wistar



Keterangan :

P0 : Ransum standar

P1 : Biskuit tanpa pengawet *Natrium Benzoat*

P2 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 100 ppm

P3 : Biskuit dengan penambahan pengawet *Natrium Benzoat* 500 ppm

Gambar 13. Persentase peningkatan berat badan dan panjang badan

Dalam Gambar 13, persentase peningkatan berat badan perlakuan P3 yaitu 51,7% dimana peningkatan tersebut adalah yang paling tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sebaliknya, pada perlakuan P2 persentase peningkatan berat badan hanya 23,2%. Gambar 13 juga memberikan gambaran bahwa peningkatan berat badan tidak sebanding dengan peningkatan panjang badan. Pada Tabel 5 terlihat bahwa asupan

P3 lebih tinggi dibandingkan dengan P0, namun persentase penambahan panjang badan pada perlakuan P3 lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan P0 yaitu 22,6% (P3) dan 23,5% (P0).

Namun secara statistik belum diketahui apakah asupan memiliki hubungan atau pengaruh terhadap berat badan dan panjang badan dari segi jumlahnya. Jumlah asupan seharusnya dapat memberikan pengaruh terhadap penambahan berat bada dan panjang badan. berikut hasil uji korelasi terhadap asupan dengan berat badan dan panjang badan.

1. Hubungan Asupan dengan berat badan

Ada tidaknya korelasi atau pengaruh asupan terhadap berat badan akan diuji dengan uji korelasi *Pearson*. Hasil uji korelasi *Pearson* disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil analisis korelasi *Pearson* terhadap berat badan

		Skor Asupan
Skor Berat Badan	r	-.108
	p	.205
	n	140

Keterangan :

- r (kekuatan korelasi) : 0,00-0,199 sangat lemah
 0,20-0,399 lemah
 0,40-0,599 sedang
 0,60-0,799 kuat
 0,80-1,000 sangat kuat
- p : < 0,05 terdapat korelasi
 > 0,05 tidak terdapat korelasi
- n : jumlah sampel

Hasil uji korelasi *Pearson* pada Tabel 8 menunjukkan nilai p 0,205 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh antara asupan dengan berat badan.

2. Hubungan Asupan dengan panjang badan

Ada tidaknya hubungan atau pengaruh asupan terhadap berat badan juga akan diuji dengan uji korelasi *Pearson*. Berikut adalah hasil uji korelasi *Pearson* :

Tabel 9. Hasil analisis korelasi *Pearson* terhadap panjang badan

		Skor Asupan
Skor Panjang Badang	r	-.203*
	p	.016
	n	140

Keterangan :

r (kekuatan korelasi) : 0,00-0,199 sangat lemah
 0,20-0,399 lemah
 0,40-0,599 sedang
 0,60-0,799 kuat
 0,80-1,000 sangat kuat

p : < 0,05 terdapat korelasi
 > 0,05 tidak terdapat korelasi

n : jumlah sampel

Dari data tersebut dapat diketahui hasil uji korelasi *Pearson* pada Tabel 9 yang menunjukkan bahwa asupan memiliki nilai p 0,016 (<0,05) yang berarti terdapat hubungan antara asupan dengan penambahan panjang badan tikus putih galur wistar, sedangkan kekuatan korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r yang memperoleh -0,203 yang menunjukkan kekuatan korelasi yang lemah. Skore negatif menunjukkan bahwa semakin besar nilai satu variabel maka semakin kecil nilai variabel lainnya. Atau semakin besar asupan maka akan menghambat pertumbuhan panjang badan tikus putih galur wistar.

Pada Tabel 8 menjelaskan bahwa jumlah pakan yang dikonsumsi, secara statistik tidak memiliki hubungan atau pengaruh terhadap peningkatan berat badan. Hal ini disebabkan karena banyak faktor yang mempengaruhi, bukan hanya kuantitas atau jumlah pakan saja melainkan juga dari segi kualitas pakan yang diberikan. Nutrisi yang dikonsumsi tubuh dalam jumlah besar akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS yang lebih besar daripada aktivitas antioksidan yang ada dalam tubuh, akan menyebabkan terjadi stres oksidatif dalam lingkungan sel yang akan mengganggu homeostasis energi. Selain itu, kandungan natrium benzoat sebagai xenobiotik juga akan memicu terjadinya stress oksidatif akibat dari metabolisme xenobiotik yang menghasilkan anion peroksida sebagai radikal bebas, dalam tubuh apabila jumlah zat gizi

melebihi kebutuhan, maka energi akan disimpan dalam bentuk lemak di jaringan adiposa. Simpanan bahan bakar utama dalam tubuh adalah triasilgliserol (trigliserida) di jaringan adiposa. Dibandingkan karbohidrat dan protein, lemak mengandung jauh lebih sedikit oksigen sehingga lemak mengalami reduksi lebih besar dan menghasilkan energi lebih banyak sewaktu oksidasi. Oksidasi sempurna triasilgliserol menjadi CO₂ dan H₂O dalam tubuh menghasilkan energi sekitar 9 kkal/g. Walaupun tersebar di seluruh tubuh lemak cenderung bertambah di daerah pinggul, paha dan abdomen atau disebut sebagai *visceral fat*. (Marks, 1996). Pemberian pakan pada masing-masing perlakuan berbeda jenisnya, tetapi zat gizi sudah disesuaikan hingga hampir sama nilainya. Dengan penambahan Natrium Benzoat pada perlakuan P2 dan P3 akan menurunkan kualitas makanan yang dikonsumsi karena karakteristik makanan yang berkualitas rendah umumnya mengandung non-zat gizi yang tinggi, seperti; pengawet, penyedap rasa, dsb. Adanya penambahan natrium benzoat pada kadar 100 ppm dan 500 ppm terbukti berdampak pada penumpukan lemak visceral dalam tubuh hewan coba pada perlakuan P2 dan P3 yaitu penambahan natrium benzoat 100 ppm dan 500 ppm. Bahkan perlakuan P3 mengalami perlemakan hati.

Hasil penelitian yang serupa terkait pemberian natrium benzoat terhadap pewarnaan HE (Hematoksin-Eosin) pada hati sebagai organ utama metabolisme xenobiotik natrium benzoat dapat digunakan untuk mengetahui sel-sel yang mengalami degradasi. Dari hasil rata-rata persentase kerusakan sel pada masing-masing taraf perlakuan didapatkan yaitu 39,69 – 60,75, dimana semakin tinggi persentase kerusakan sel pada jaringan hati hewan coba maka profil enzim SOD akan mengalami peningkatan induksi stimulant yaitu dengan menghasilkan antioksidan. Hasil pemeriksaan hispatologi hati tikus putih galur wistar setelah diberikan perlakuan rata-rata persentase kerusakan sel tertinggi terdapat pada P3 (Biskuit STRIATA ditambahkan 500 ppm Na-Benzoat) dan rata-rata persentase kerusakan sel terendah pada P1 (Biskuit STRIATA ditambahkan 100 ppm Na-Benzoat). Dari ke empat taraf perlakuan mean hepatosit normal dan abnormal terendah pada taraf perlakuan P3 sebesar

486,8 ± 83,49 dan P1 474,8 ± 181,95 serta mean hepatosit normal dan abnormal tertinggi pada taraf perlakuan P₁ 721,6 ± 121,54 dan P₃ 891,2 ± 48,94 (Arbinta, 2017). Dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel radang pada pemberian natrium benzoat, dimana sel-sel tersebut terkonsentrasi pada sel-sel yang mengalami degradasi.

Adanya stress oksidatif ditunjukkan dengan peningkatan jumlah enzim SOD darah sebagai pertahanan primer tingkat sel terhadap toksisitas radikal bebas. Na-Benzoat yang telah diserap juga akan menyebabkan terjadinya peroksidase lipid karena benzoate dapat menembus membrane sel sehingga pertahanan tingkat seluler terganggu. Hal itu menyebabkan terinduksinya SOD akibat dari senyawa radikal (cincin aromatic dan anion superoksida). Peningkatan sel hepatosit yang abnormal, dimana hal tersebut menyebabkan aktivitas SOD (Superoksida Dismutase) dalam darah meningkat. Hasil penelitian Wulandari, BM (2017) juga menunjukkan bahwa mean profil enzim SOD serum tertinggi secara berurutan pada taraf perlakuan P₃, P₂, P₀ dan P₁ yang sejalan dengan perhitungan hasil persentase kerusakan sel hati tikus hewan coba. Sies dan Lester (2004) menjelaskan bahwa peningkatan aktivitas enzim SOD merupakan akibat dari adanya sisa metabolisme xenobiotik *quinone* dan anion superoksida. Terakumulasi anion superoksida yang menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim SOD akan mempengaruhi kadar mineral zink dan tembaga, karena mineral tersebut digunakan sebagai sintesis enzim SOD (Marks, dkk., 2000). Penggunaan mineral-mineral tersebut secara terus menerus akan menyebabkan tubuh mengalami defisiensi. Defisiensi mineral zink dan tembaga menyebabkan penurunan sintesis enzim peroksidase. Zink merupakan mineral yang digunakan dalam sintesis hormone pertumbuhan. Pada kondisi stress oksidatif diperlukan enzim antioksidan dimana mineral zink digunakan sebagai kofaktor. Oleh karena itu, peningkatan stress oksidatif dapat menyebabkan penurunan kadar zink dalam darah, sehingga akan terjadi keterlambatan pertumbuhan dan perkembangan pada anak.

Tabel 9 menunjukkan bahwa asupan dengan panjang badan secara statistik mempunyai hubungan atau pengaruh yang sangat kuat. Dari segi jumlah sudah dipastikan asupan dapat memberikan pengaruh positif terhadap penambahan panjang badan, namun dengan penambahan natrium benzoat ternyata dapat menghambat pertumbuhan atau penambahan panjang badan tikus. Hal ini dapat dilihat saat membandingkan antara P0 dan P3, dimana asupan yang dikonsumsi lebih tinggi pada perlakuan P3, namun penambahan panjang badan P0 sedikit lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan P3. Meskipun pakan yang diberikan sudah memiliki kandungan zat gizi yang cukup, namun dengan adanya pemberian perlakuan berupa penambahan natrium benzoat pada perlakuan P2 dan P3 akan menyebabkan rendahnya utilisasi zat gizi. Seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, bahwa zat gizi berupa protein (asam amino) akan terkuras karena digunakan untuk mengeluarkan sisa metabolismenya. Zat gizi berupa glisin, sistein, dan glutamin digunakan sebagai konjugat untuk proses ekskresi (Shahmohammadi, 2016) dan sebagai penangkal radikal bebas hasil metabolisme natrium benzoat). Hal ini disebabkan asam amino glisin, sistein, dan glutamin merupakan asam amino prekursor sintesis glutathione peroxidase, dimana glutathione peroxidase adalah enzim antioksidan utama dalam tubuh (Hyman, 2010). Sintesis enzim glutathione peroxidase untuk mendukung proses detoksifikasi akan mengurangi ketersediaan asam amino dalam tubuh. Penggunaan asam amino tersebut menyebabkan terhambatnya sintesis protein otot, sehingga anak akan mengalami gangguan pertumbuhan dan perkembangan, karena energi dan zat gizi dari asupan makanan tidak dapat digunakan secara sempurna. (Wirasuta, 2006). Kekurangan energi kronis atau dalam jangka waktu yang lama khususnya saat usia pertumbuhan inilah yang memicu terjadinya gangguan pertumbuhan hingga terjadi stunting dan masalah tumbuh kembang lainnya.