

UJI HAYATI LIMA JENIS MINUMAN KEMASAN GLAS DENGAN HEWAN Uji *Daphnia Magna* DAN MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)

**Hertien Koosbandiah Surtikanti¹, Hernawati²,
Diah Frisda³, Muhamad Taufiq Hidayah⁴**

^{1,2,3,4}Program Studi Biologi, Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA
Universitas Pendidikan Indonesia

Diterima : 23 April 2018
Disetujui : 21 Mei 2018
Publish : 31 Mei 2018

Jalan Dr. Setiabudi no 229 Bandung/telp/fax. 022 2001937
e-mail :
¹hertiensurtikanti@yahoo.com,
²hernawati_hidayat@yahoo.com,
³diahfrisda@yahoo.com,
⁴taufiqhdyh27@gmail.com

e-ISSN : 2541-4208
p-ISSN : 2548-1606

Abstrak. Lima jenis minuman yang terpilih yaitu panther, meico, teh zeggara, degan, dan teh bukit sudah dilakukan uji hayati. Salah satu untuk pengujian kualitas minuman tersebut, yaitu uji hayati dengan menggunakan neonate *Daphnia magna* (berumur <24 jam) dan mencit jantan (*Mus musculus*). Pengujian menggunakan *D. magna*, dilakukan dalam dua tahap yaitu Range Finding test (RFT) dan Range Definitive Test (RDT), sementara uji hayati mencit jantan galur Deutschland Denken Yoken (DDY) dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap, dua faktorial dengan 18 kelompok perlakuan. Pengambilan sampel darah mencit jantan diambil pada bagian ekor hewan dan diperiksa dengan menggunakan metode strip dan glucometer autocheck. Hasil RFT menunjukkan 50% kematian neonate *D. magna* terdapat pada pengenceran 10-100%. Hasil analisis menunjukkan nilai LC_{50-24h} untuk minuman Panther (P), Meico (M), Teh Bukit (B), Teh Zegar (Z) dan Degan (D). berturut-turut adalah 39,99; 51,5; 40,9; 40,93; dan 49,74%. Hasil uji hayati menggunakan mencit jantan, terjadi kenaikan berat badan yang signifikan pada saat diberi Z, D dan B. Kenaikan kadar gula darah mencit jantan signifikan pada waktu perlakuan selama dua dan tiga minggu dengan P, M, B, Z dan D. Hal ini disebabkan kadar gula minuman dapat meningkatkan kadar gula darah. Dapat disimpulkan bahwa kelima sampel minuman tersebut bersifat toksik, karena nilai LC_{50} kurang dari 50% (hasil uji *D. magna*) dan dapat meningkatkan kadar gula darah pada mencit jantan.

Kata kunci: *Daphnia magna*, kadar gula darah, LC_{50} , mencit jantan (*Mus musculus*), minuman kemasan.

Abstract. Five types of drinks selected are panther, meico, zeggara tea, degan, and tea hill is conducted in biological tests. In testing the quality of the beverage, the biological test using neonate *Daphnia magna* is carried out (aged <24 hours) and male mice (*Mus musculus*). Tests using *D. magna* are performed in dua stages of Range Finding test (RFT) and Range Definitive Test (RDT), while the biological test using mice male Deutschland Denken Yoken (DDY) strain was done with Completely Randomized Design, two factorials with 18 treatment groups. Sampling of mice mile blood samples taken at the tail of the animal and examined using the strip method and Autocheck Glucometer. RFT results showed that the mortality 50% neonate *D. magna* is presented at 10-100% dilution.

The result of analysis showed that the value of LC_{50-24h} for the consecutive drinks Panther (P), Meico (M), Teh Bukit (B), Teh Zegar (Z) and Degan (D), were 39.99; 51.5; 40.93; 40.93; and 49.74%. While the results of biological tests using mice male, there was a significant weight gain when given Z, D and B. Increase in blood sugar levels of mice male significantly at treatment time for two and three weeks with P, M, B, Z and D. It is due to the content of sugar in the beverages may increase the blood glucose. It can be concluded that the five beverage samples are toxic, since LC_{50} values are less than 50% (D. magna test result) and may increase blood sugar levels in mice male.

Key words: *Daphnia magna*, blood sugar level, LC_{50} , mice male (*Mus musculus*), beverage packaging.

Cara Sitasi

Surtikanti, H. K., Hernawati, Frisda, D. & Hidayah, M. T. (2018). Uji Hayati Lima Jenis Minuman Kemasan Gelas dengan Hewan Uji *Daphnia magna* dan Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Biodjati*, 3 (1), 79-89.

PENDAHULUAN

Pemenuhan konsumsi minuman dan peningkatan daya saing jual, banyak ditemukan di berbagai jenis minuman dalam kemasan yang menarik. Minuman kemasan tersebut siap dikonsumsi dan mudah diperoleh dengan harga yang relatif murah. Sehingga banyak dikonsumsi oleh manusia pada usia muda maupun dewasa. Walaupun minuman tersebut merupakan salah satu sumber energi bagi manusia, tetapi tidak semua minuman tersebut aman bagi kesehatan manusia. Kadangkala minuman tersebut diberi bahan pengawet, pewarna dan pemanis buatan, agar menarik dan membutuhkan biaya produksi yang rendah.

Kandungan dalam minuman kemasan belum diuji tingkat toksisitas secara hayati. Persyaratan minuman air dari aspek kimia berdasarkan SNI 01-3553 1996 antara lain tidak berbau, batasan kandungan zat organik 1,0 mg/L, klorida 250 mg/l, sulfat 200 mg/l, dan ammonium 0,15 mg/L (BSN, 2015). Kriteria tidak berbau merupakan indikator yang bersifat kualitatif, sehingga sulit untuk dijadikan indikator yang akurat. Kandungan glukosa be-

lum dicantumkan dalam daftar ambang batas air yang layak dikonsumsi. Kandungan glukosa apabila melebihi batas konsumsi gula per hari akan menyebabkan hiperglikemia. Glukosa merupakan prekursor untuk sintesis semua karbohidrat lain di dalam tubuh manusia (Murray, 2003), sehingga akan menimbulkan masalah *Diabetes mellitus* (DM) pada manusia.

Pengujian tingkat toksisitas dapat dilakukan secara analisa biologi (uji hayati). Hewan uji coba yang digunakan harus memenuhi persyaratan diantaranya: memiliki tingkat sensitifitas terhadap bahan kimia; mudah dikultur dalam laboratorium; memiliki distribusi habitat luas (Surtikanti, 2012; Surtikanti et al., 2017); dan sudah diuji dalam tingkat Internasional. *Daphnia magna* termasuk ke dalam golongan udang-udangan banyak ditemukan di habitat air tawar (Pangkey, 2009). Neonates *D. magna* (berumur <24 jam) merupakan hewan standar Internasional yang layak digunakan dalam pengujian kualitas air dan sudah banyak digunakan dalam pengujian kualitas air (Surtikanti & Priyandoko, 2005; Effendi et al., 2012; Le et al., 2016)

Selain *D. Magna*, pada penelitian ini digunakan mencit jantan (*Mus musculus*) sebagai hewan uji. Menurut Arrington, (1972), Surtikanti & Priyandoko (2005), mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian uji hayati Hal ini karena hewan tersebut merupakan hewan mamalia yang memiliki karakteristik fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia terutama dalam aspek metabolisme glukosa melalui perantaraan hormon insulin (Ngatidjan, 2006). Kadar glukosa dalam darah normal mencit adalah 62,8 - 176 mg/dL (Mitruka & Rawnsey, 1977). Apabila kadar glukosa dalam darah melebihi angka tersebut maka mencit dalam keadaan hiperglikemia. Hiperglikemia dapat menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat, protein, dan lipid (Malole & Pramono, 1989). Oleh sebab itu dalam penelitian ini, dua hewan uji *D. magna* dan mencit digunakan dalam mengevaluasi toksisitas minuman kemasan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian experimental terdiri dari dua uji hayati yang menggunakan dua jenis hewan berbeda yaitu *D. magna* dan mencit jantan galur Deutschland Denken Yoken (DDY). Penelitian ini berlangsung selama lima bulan yang dilakukan dalam lima tahap yaitu: analisa kimia, seleksi sampel minuman, kultur *D. magna*, uji toksisitas *D. magna*, uji toksisitas mencit dan analisa data.

Pengujian analisa kimia terhadap sampel minuman dilakukan di Balai Laboratorium Pengembangan Kesehatan Provinsi Jawa Barat Bandung berupa kadar glukosa, siklamat, dan benzoat. Pengujian kadar gula darah menggunakan Photometer dengan metode Titrimetri. Pengujian BTP berupa pemanis yaitu siklamat menggunakan Spektrofotometer dengan metode Gravimetri.

Jenis penelitian uji hayati *D. magna* yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental uji hayati statis (APHA, 1995). Kriteria jenis minuman yang diseleksi untuk pengujian hayati yaitu: tidak memiliki tanggal kadaluarsa; tidak memiliki izin BPOM; tidak memiliki label halal; warna minuman bening; jumlah dominan di pertokoan. Berdasarkan kriteria tersebut maka dipilih Panther (P), Meico (M), Teh Bukit (B), Teh Zegar (Z) dan Degan (D).

Kultur *D. magna* dewasa dan aklimatisasi dilakukan di Laboratorium Riset Lingkungan Departemen Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FPMIPA) Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) selama satu minggu. Media kultur dilakukan dengan menggunakan air sumur di dalam beker gelas volume 3 liter yang dilengkapi dengan aerator. Pemberian pakan fermipan dilakukan dua kali sehari. Gravid *D. magna* dipisahkan dalam gelas beker untuk memperoleh neonate.

Masing-masing minuman P, M, B, Z dan D tersebut dimasukkan ke dalam vial botol yang berukuran 10 mL dengan masing-masing tiga kali pengulangan. Kemudian 10 neonate di masukan secara perlahan dengan menggunakan pipet ke dalam masing-masing botol vial yang berisi medium minuman kemasan termasuk kontrol *medium freshwater*. Pengamatan jumlah neonate hidup dan mati dihitung setiap 24 dan 48 hari sejak perlakuan. Neonate yang mati dibuang untuk menjaga agar media tidak terkontaminasi. Uji hayati *D. magna* dilakukan dan diulang tiga kali untuk mendapatkan data yang konsisten. Nilai toksisitas yang akurat dari uji hayati *D. magna* dilakukan dalam dua tahap yaitu uji Range Finding Test (RFT) dan Range Definitive Test (RDT) (Surtikanti, 2012). Uji toksisitas RFT menggunakan konsentrasi perlakuan 0,01; 0,1; 1; 100 dan kontrol 0%. Kontrol menggunakan

medium freshwater (NaHCO₃, CaCl₂.2H₂O, MgSO₄.7H₂O, KCl). Apabila rentang konsentrasi kritis terletak antara 10 sampai dengan 100 % maka konsentrasi yang digunakan pada uji RDT dipersempit menjadi 15; 22; 32; 46; dan 68% (EPS, 1990).

Uji hayati mencit dengan berat badan 25-30 gr/ekor (Kusumawati 2004), dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dan terdapat 18 kelompok perlakuan, yaitu minuman ringan kemasan M, P, B, Z, D dan akuades (control) sebanyak 8 mL/ekor. Pemberian minuman dilakukan setiap pagi hari secara ad libitum (Smith & Mangkoewidjojo, 1988; Malole & Pramono, 1989) dengan waktu perlakuan selama 1, 2, dan 3 minggu yang terdiri dari lima ekor perkelompok perlakuan. Pemeliharaan dilakukan di rumah mencit Kebun Botani UPI Bandung. Pemeriksaan gula darah dan pengukuran berat organ mencit dilakukan di Laboratorium Riset Lingkungan Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

Pemeriksaan gula darah mencit menggunakan metode strip dengan alat glukometer *autocheck*. Alat pemeriksaan labora-

torium sederhana ini dirancang hanya untuk penggunaan sampel darah kapiler, sehingga strip katalisator ini spesifik untuk pengukuran glukosa dalam darah kapiler (Suryaatmadja & Hardjasudarma, 2006).

Analisis data menggunakan program SPSS 17 for Windows. Tahap pertama pengujian dilakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov setelah itu dilakukan uji homogenitas *Levene*. Jika data yang diperoleh homogen dan normal maka dilakukan uji parametrik *Two Ways Anova (Analysis of Variance)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian uji hayati ini terdiri dari analisa kimia, uji toksisitas *D. magna*, dan mencit. Analisis kimia lima jenis minuman (Tabel 1) menunjukkan kadar gula, siklamat, asam benzoat dan pewarna, dimana kadar kandungan bahan tambahan pangan pada setiap sampel minuman ringan kemasan gelas yang telah diuji relatif berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa setiap sampel minuman kemasan memiliki kandungan yang berbeda-beda dan masing-masing memiliki kadar ambang batas.

Tabel 1. Persentase kandungan kimia (mg/kg) dalam lima jenis minuman

No	Sampel Minuman	Kadar Gula	Siklamat	Natrium Benzoat	Pewarna
1	P	5,6	1	1	Tartazin
2	M	7,82	2,25	1,2	-
3	B	6,23	2,1	0,3	Coklat
4	Z	7,21	1	0,8	Coklat
5	D	7,4	1,5	0,2	-

Batas maksimum penggunaan natrium benzoat menurut Permenkes RI No. 722/Menkes/Per/IX/88 adalah 1 g/kg, sedangkan batas maksimum penggunaan pewarna tartrazin adalah 200 mg/kg (BPOM, 2012). Batas siklamat yang dianggap aman oleh manusia adalah 11 mg/kg berat badan/hari (Astawan, 2004). Semua sampel tersebut tidak

memiliki kandungan bahan makanan yang melebihi ambang batas yang telah ditentukan oleh Kementerian Kesehatan.

Berdasarkan Surat Keputusan Kepala BPOM RI (204), siklamat merupakan pemanis sintetis non-kalori yang diperbolehkan untuk dikonsumsi di Indonesia. Hasil penelitian menunjukkan kandungan siklamat pada sampel

minuman tidak melebihi ambang batas yang telah ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan. Di Indonesia penggunaan bahan pemanis sintetis ditetapkan berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia tentang Bahan Tambahan Makanan, yaitu 1 g/kg bahan (BPOM RI, 2004). Pemanis buatan siklamat hingga saat ini penggunaannya masih banyak menimbulkan kontroversi karena aspek keamanan dalam jangka panjang yang berpotensi karsinogenik jika terkonversi menjadi *cyclohexylamine* di dalam saluran pencernaan (Cahyadi, 2008).

Tidak hanya kandungan gula yang ada pada setiap minuman ringan kemasan gelas, ternyata terdapat juga Bahan Tambahan Pangan (BTP) berupa siklamat dan natrium benzoat. Siklamat ($C_6H_{11}NHSO_3Na$) umumnya dalam bentuk garam kalsium, kalium, dan natrium siklamat. Garam siklamat berbentuk kristal putih, tidak berbau, tidak berwarna, dan mudah larut dalam air dan etanol, intensitas kemanisannya ± 30 kali kemanisan sukrosa (Pinheiro et al., 2005). Kombinasi penggunaan siklamat dengan sakarin bersifat sinergis, dan kompatibel dengan pencitarasa dan sebagai bahan pengawet (Pinheiro et al., 2005). Menurut peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/88, kadar maksimum siklamat yang diperbolehkan dalam pangan dan minuman berkalori rendah dan untuk penderita *Diabetes mellitus* adalah 3g/kg bahan pangan dan minuman. Menurut Wibowotomo (2002), kadar maksimum penggunaan siklamat untuk jenis pangan dan minuman adalah 3 g/kg berat bahan. Ketentuan tersebut dapat disimpulkan harga ambang batas siklamat adalah 3 g dalam 1 kg minuman (3.000 ppm). Jadi dalam 1 gram minuman serbuk instan harga ambang batas penggunaan siklamat adalah 0,003 g.

Menurut *World Health Organization* (WHO) batas konsumsi harian siklamat yang

aman adalah 11 mg/kg berat badan. Kelompok perlakuan yang diberi minuman kemasan P, M, B, Z, dan D memiliki kandungan siklamat dalam ambang batas. Akan tetapi, apabila pengonsumsi bahan pemanis berupa siklamat berlebihan secara terus menerus dapat menyebabkan kanker kandung kemih, migrain, kehilangan daya ingat, hipertensi, dan hiperglikemia (Irianto, 2004). Siklamat memunculkan banyak gangguan bagi kesehatan, diantaranya tremor (penyakit saraf), migrain, dan sakit kepala, kehilangan daya ingat, bingung, insomnia, iritasi, asma, hipertensi, diare, sakit perut, alergi, impotensi, dan gangguan seksual, kebutakan, dan kanker otak (Lestari, 2011; Surtikanti, 2012).

Batas maksimal penggunaan natrium benzoat menurut WHO adalah 600 mg/kg. Semua kelompok perlakuan yang diberi minuman P, M, B, Z, dan D memiliki kandungan natrium benzoat dalam batas aman. Apabila pengonsumsiannya melebihi batas per hari dan secara terus menerus akan menurunkan fungsi hati karena endapan natrium benzoat yang menumpuk di jaringan hati (Surtikanti, 2012). Lama-kelamaan kondisi tersebut akan menyebabkan pembengkakan hati hingga peradangan yang akan mengganggu fungsi hati. Semakin banyak endapan natrium benzoat yang terdapat di dalam jaringan hati, maka akan semakin menurunkan juga fungsi dan kinerja hati (Irianto, 2004). Menurut Rohadi (2002), apabila tubuh mengonsumsi bahan pengawet ini secara berlebih, dapat mengganggu kesehatan, terutama menyerang saraf.

Hasil uji *D. magna* terdiri dari uji RFT dan RDT. Uji RFT dilakukan untuk menentukan konsentrasi pengenceran yang akan digunakan pada uji RDT, dimana konsentrasi pengenceran yang digunakan dalam RFT antara lain 0; 0,01; 0,1; 1; 10 dan 100%. Berdasarkan hasil pengamatan uji RFT dan RDT dari kelima sampel minuman ringan ke-

masan gelas dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3 uji RFT yang dilakukan selama 24 dan 48 jam rata-rata tingkat mortalitas *D. magna* pada kontrol adalah <10%. Hal ini menunjukkan

bahwa pengujian ini valid sehingga dapat digunakan untuk dasar uji RDT. Uji RDT dilakukan untuk mempersempit kembali konsentrasi yang akan dihitung nilai LC₅₀.

Tabel 2. Persentase rerata mortalitas neonate uji RFT 24 jam pada lima pengenceran

Jenis minuman		0%	0,01%	0,1%	1%	10%	100%
P	∑	0/50	0/50	0/50	2/50	5/150	50/50
	%	0	0	0	3,33	10	100
M	∑	0/50	0/50	0/50	1/50	3/50	50/50
	%	0	0,6	0	2,6	6	100
B	∑	0/50	0/50	3/50	6/50	7/50	50/50
	%	0	0	1,33	4	16	100
Z	∑	0/50	9/50	0/50	7/50	15/50	50/50
	%	0	6	0	4,6	10	100
D	∑	0/50	0/50	0/50	1/50	7/50	50/50
	%	0	0	0	0,6	4,6	100

Tabel 3. Persentase rerata mortalitas neonate uji RFT 48 jam pada lima pengenceran

Jenis minuman		0%	0,01%	0,1%	1%	10%	100%
P	∑	0/50	0/50	0/50	1/50	5/50	50/50
	%	0	0	0	0,25	10	100
M	∑	0/50	0/50	0/50	1/50	9/50	50/50
	%	0	0,6	0	0,25	6	100
B	∑	0/50	0/50	3/50	3/50	10/50	50/50
	%	0	0	1,33	1,33	20	100
Z	∑	0/50	9/50	3/50	3/50	15/50	50/50
	%	0	6	1,33	1,33	30	100
D	∑	0/50	0/50	1/50	2/50	15/50	50/50
	%	0	0	0,25	0,6	30	100

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat tingkat mortalitas selama 24 jam mulai muncul pada konsentrasi sampel minuman 1%. Pada konsentrasi tersebut semua sampel mengalami kematian dalam jumlah yang sedikit. Selanjutnya, pada konsentrasi 100% semua sampel mengalami mortalitas atau kematian total, se hingga 50% mortalitas *D. magna* mati dalam waktu 24 jam berada pada rentang konsentrasi 10-100%. Konsentrasi inilah yang nantinya akan digunakan pada uji RDT.

Uji RDT dilakukan untuk menentukan nilai LC₅₀ dengan menggunakan seri pengenceran berdasarkan hasil uji RFT. Berdasarkan hasil RFT diketahui bahwa 50% mortalitas terjadi pada rentang 10-100%. Oleh karena itu berdasarkan hitungan logaritma maka digunakan nilai 15; 22; 32; 46 dan 68% untuk pengenceran. Hasil pengamatan mortalitas *D. magna* pada uji RDT 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Persentase rerata mortalitas neonate uji RDT 24 jam pada lima pengenceran

Jenis minuman		0%	15%	22%	32%	46%	68%
P	∑	0/50	8/50	15/50	23/50	37/50	50/50
	%	0	16	30	46	74	100
M	∑	0/50	7/50	16/50	21/50	29/50	50/50
	%	0	14	32	42	58	100
B	∑	0/50	9/50	13/50	18/50	24/50	50/50
	%	0	18	26	36	48	100
Z	∑	0/50	7/50	13/50	18/50	25/50	50/50
	%	0	14	26	36	50	100
D	∑	0/50	6/50	16/50	17/50	24/50	50/50
	%	0	12	32	34	48	100

Berdasarkan hasil uji RDT yang dilakukan selama 24 dan 48 jam rata-rata tingkat mortalitas *D. magna* pada kontrol adalah <10%. Hal ini menunjukkan bahwa pengujian ini valid sehingga data dapat digunakan untuk penghitungan LC₅₀. Hasil pengamatan RDT (24 jam) di atas menunjukkan bahwa minuman

P dan M lebih toksik dibandingkan dengan minuman B, Z dan D (Tabel 4). Makin lama *D. magna* dalam larutan minuman selama 48 jam, maka toksisitas makin tinggi (Tabel 5). Toksisitas kandungan kelima minuman tersebut berada pada konsentrasi 22 – 32 %.

Tabel 5. Persentase rerata mortalitas neonate uji RDT 48 jam pada lima pengenceran

Jenis minuman		0%	15%	22%	32%	46%	68%
P	∑	0/50	14/50	24/50	37/50	49/50	50/50
	%	0	28	48	74	98	100
M	∑	0/50	12/50	25/50	36/50	40/50	50/50
	%	0	24	50	72	80	100
B	∑	0/50	18/50	23/50	36/50	43/50	50/50
	%	0	36	46	72	86	100
Z	∑	0/50	15/50	21/50	28/50	43/50	50/50
	%	0	30	42	56	86	100
D	∑	0/50	18/50	22/50	30/50	41/50	50/50
	%	0	36	44	60	82	100

Hasil ini selanjutnya di analisis probit menggunakan software IBM SPSS 23 yang sebelumnya data telah di uji tes normalitas dan

homogenitasnya. Hasil nilai LC₅₀ yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai toksisitas lima jenis minuman terhadap *D. magna*

Jenis minuman	LC ₅₀ 24 jam	Batas Rentang	LC ₅₀ 48 jam	Batas Rentang
P	35,58	25,95-40,73	21,02	15,41-70,73
M	49,01	35,75-58,16	35,91	23,79-39,42
B	40,82	33,54-52,48	23,26	12,43-34,96
Z	48,72	38,91-54,27	34,23	20,01-41,98
D	40,84	28,73-50,66	35,21	25,07-41,45

Tabel 6 menunjukkan bahwa nilai LC₅₀-24h dan LC₅₀-48h dalam bentuk rentang batas rendah dan tinggi. Nilai toksisitas LC₅₀-48h pada semua minuman lebih toksik dan lebih kecil dibandingkan nilai toksisitas LC₅₀-24h terhadap *D. magna*. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama *D. magna* berada dalam medium minuman yang mengandung bahan kimia, maka akan semakin toksik bagi *D. magna*. Diantara jenis minuman, berturut-turut P, B, D, Z dan M menunjukkan tingkat toksisitas yang menurun selama 24 jam, sedangkan semakin sempit nilai rentang batas bawah dan atas, maka nilai LC₅₀-24h dan LC₅₀-48h semakin akurat.

Meskipun tidak ada BTP yang melebihi ambang batas yang telah ditentukan oleh Kementerian Kesehatan, akan tetapi tidak menutup kemungkinan jika mengkonsumsi secara terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan masalah kesehatan tubuh. Kemungkinan aturan nilai baku mutu dari Kementerian Lingkungan Hidup tidak berbasis pada uji hayati *D. magna*. Hasil pengujian toksisitas ini merupakan langkah awal

untuk mengetahui tingkat toksisitas minuman kemasan terhadap biota air tawar dan dapat pula dikatakan sebagai uji seleksi.

Hasil uji mencit yang terdiri dari efek minuman terhadap perubahan berat badan dan kadar gula darah dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8, sedangkan hasil uji signifikansi uji statistik Tukey dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 7. Rerata selisih kenaikan berat badan mencit (mg) setelah pemberian lima jenis minuman kemasan dalam tiga minggu perlakuan.

Minggu ke-	Kontrol	P	M	B	Z	D
1	0,74	1,36	0,82	7,92	8,32	5,68
2	2,3	3,22	3,16	7,76	7,1	8,28
3	4,52	3,38	6,06	6,32	6,06	2,88

Tabel 8. Rerata selisih kenaikan kadar gula darah mencit setelah pemberian lima jenis minuman kemasan dalam tiga minggu perlakuan.

Minggu ke-	Kontrol	P	M	B	Z	D
1	18,8	36,8	26,8	31,6	17,8	34,8
2	15,6	50,6	53,8	52	51,2	47
3	5,4	54,2	61,4	67	41	57,2

Tabel 9. Rerata selisih kenaikan berat badan dan kadar gula darah mencit selama perlakuan

mencit	Jenis minuman					
	P	M	B	Z	D	Akuades
Berat badan	2.65 ± 0.67 ^a	3.34 ± 0.43 ^{ab}	7.33 ± 4.94 ^c	7.16 ± 1.32 ^c	5.61 ± 2.05 ^{bc}	2.52 ± 0.55 ^a
Kadar gula darah	47.2 ± 13.88 ^b	43.73 ± 12.98 ^b	50.2 ± 14.44 ^b	36.66 ± 12.06	46.33 ± 12.93 ^b	13.26 ± 9.07 ^a

Keterangan : Nilai rerata kenaikan selisih berat badan dan kadar gula darah mencit ± SD. Notasi huruf kecil yang sama dibelakangnya menunjukkan nilai tersebut tidak berbeda signifikan pada derajat kepercayaan 95%.

Berdasarkan hasil analisa (Tabel 8 dan 9) menunjukkan bahwa pemberian minuman kemasan berpengaruh signifikan terhadap kenaikan berat badan dan kandungan gula darah mencit. Minuman B, Z dan D meningkatkan berat badan mencit secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Selain itu semua jenis minuman kemasan juga meningkatkan kandungan gula darah mencit secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Harkness & Wagne (1989), Nichols (2003), dan Kusumawati (2004) menyatakan bahwa kadar gula darah mencit normal berkisar antara 62-176 mg/dL.

Kelompok perlakuan yang diberi minuman Z mengalami kenaikan kadar gula mencapai 190,2 mg/dL, menandakan bahwa mencit tersebut mengalami hiperglikemia. Akan tetapi belum dapat dipastikan bahwa mencit mengalami *Diabetes millitus*. Menurut *American Diabetes Association* (ADA) (2007), mencit yang memiliki kadar glukosa darah >200 mg/dL termasuk ke dalam kategori *Diabetes millitus*. Pada saat sebelum perlakuan, keadaan awal kadar gula darah kelompok perlakuan tersebut memang sudah besar, akan tetapi jika melihat selisih kenaikannya tidak begitu signifikan dibandingkan dengan yang lain. Kelompok yang diberi akuades (kontrol) kadar gula darah awal dari 101,6 mg/dL menjadi 120,4 mg/dL, hal

tersebut menandakan bahwa masih dalam batas normal.

Kelebihan mengkonsumsi gula dapat menimbun lemak, sehingga dapat menaikkan berat badan. Begitupun dalam penelitian ini, pemberian minuman kemasan yang mengandung kadar gula yang melebihi ambang batas konsumsi per hari dapat menaikkan berat badan mencit. Apabila terjadi kenaikan berat badan yang sangat berlebihan tidak menutup kemungkinan akan menyebabkan obesitas. Apabila disertai dengan kenaikan kadar gula

darah yang sangat tinggi, hal ini dikarenakan penderita obesitas mempunyai resiko tinggi terjadinya resistensi insulin serta peningkatan kadar glukosa darah (Felber, 1992).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima minuman kemasan P, M, B, Z dan D bersifat toksik, sebab nilai LC_{50-24h} *D. magna* berada dibawah konsentrasi 50%. Jika minuman kemasan ini dikonsumsi dalam jangka waktu yang panjang dan secara berlebihan akan menimbulkan masalah kesehatan. Hasil uji hayati dengan menggunakan mencit memberikan respon yang berbeda yaitu terjadi kenaikan berat badan dan kadar gula darah mencit. berdasarkan hal tersebut, uji hayati *D. magna* dan mencit merupakan uji seleksi untuk evaluasi toksisitas minuman kemasan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Rektor dan Ketua LPPM Universitas Pendidikan Indonesia yang telah mendukung dana penelitian melalui Hibah Penelitian PPKBK UPI. Dekan FPMIPA, Ketua Departemen Pendidikan Biologi dan Tim peneliti yang telah membantu terlaksananya penelitian hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- ADA. (2007). American Diabetes Association Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2007, *Diabetes Care.*, 26, 624.
- APHA (1995). Standar Method for The Examination of Water and Waste Water American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation 19th edition. Washington DC.
- Arrington, L. (1972). *Introductory Laboratory Animal. The Breeding, Care, and Management of Experimental Animal Science.*

- New York: The Interstate Printers and Publishing.
- Badan Standarisasi Nasional (2015). Air Mineral. SNI 3553:201. Jakarta.
- BPOM RI. (2004). Persyaratan Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan dalam Produk Pangan. *Surat Keputusan*, No HK.00.05.5.4547.
- Cahyadi, W. (2008). Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Effendi, H., Emawan A.H, Wardiatno Y. Krisanti M. (2012). Toksisitas akut (LC50) serbuk bor (Cuttings) terhadap *Daphnia* sp. Bumi Lestari, Vol.12. No 2
- Felber, J.P. (1992). From Obesity To Diabetes: Pathophysiological Considerations. *Int. J. Obes.* 16:937-952.
- Harkness, J.E. & Wagner, J.E. (1989). The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. London: Lea Febiger.
- Irianto, K. (2004). Struktur dan Fungsi Tubuh Manusia untuk Paramedis. Bandung: Yrama Widya.
- Kusumawati, D. (2004). Bersahabat dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Le Q.V., Sekhon S.S., Lee L, Ko J.H. (2016). *Daphnia* in water quality biomonitoring-“omic” approaches. *Toxicology and Environmental Health Sciences* vol 8, issue 1, pp 1-6.
- Lestari, D. (2011). Analisis Adanya Kandungan Pemanis Buatan (Sakarina dan Siklamat) pada Jamu Gendong di Pasar Gubug Grobogan. *Jurnal Gizi dan Pangan*, Vol 10, No.3: 44-47.
- Malole, M. B. M & Pramono, C. S. U. (1989). Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan dilaboratorium. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Mitruka, B. M & Rawnsey, H. M. (1977). *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animal*, Mas-son Publ., New York, 118-119.
- Murray, R. K. (2003). *Biokimia Harper*, edisi 25. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Ngatidjan (2006). Metode Laboratorium Dalam Toksikologi. *Metode Uji Toksisitas*: 86-135.
- Nichols, J. B. (2003). *The Laboratory Mouse*. University Veterinarian, Florida.
- Pangkey, H. (2009). *Daphnia dan Penggunaannya*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, V (3), 33-36.
- Shahab, A. (2006). *Diagnosis dan Penatalaksanaan Diabetes Mellitus* (disarikan dari Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus di Indonesia: Perkeni 2006).
- Smith, B. J. & Mangkoewidjojo, S. (1988). *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Surtikanti, H. K. (2012). *Toksikologi Lingkungan dan Metode Uji Hayati*, Penerbit Rizqi Press. Bandung
- Surtikanti, H. K, & Priyandoko, D. (2005). *Pengembangan Uji Toksisitas untuk Mengevaluasi Kualitas Air Sungai Cikapundung*. Laporan Penelitian Hibah PEKER-TI. Lembaga Penelitian UPI Bandung.
- Surtikanti, H., Juansah, R., & Frisda, D. (2017). *Optimalisasi Kultur Daphnia yang Berperan sebagai Hewan Uji dalam Ekotoksikologi*. *Biodjati*, 2(2), 5-10.
- Suryaatmadja, M. & Hardjasudarma, I. Y. (2006). *Uji Kinerja Glukosameter ACCU-CHEK Advantage*. Indonesia: Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & BLU RS Dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta.
- Wibowoutomo. (2002). *Pengembangan Metode Penetapan Kadar Siklamat Kromatografi Kinerja Tinggi Guna Diimplementasikan Dalam Kajian Papa-*

ran.Teknologi dan Kejuruan, PT. Kalma
Media, Jakarta.