

# **PENGARUH EKSTRAK ETANOL COKLAT HITAM (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP PENINGKATAN *ENDURANCE* DENGAN *TREADMILL RUNNING* *TEST* PADA TIKUS WISTAR JANTAN**

Yenny Belinda Jioe, Dr. dr. Sugiarto Puradisastra, M.Kes., dr. Harijadi Pramono, M.Kes.

## **Abstrak**

Gaya hidup sehat semakin ditinggalkan oleh masyarakat, akibatnya dapat menimbulkan penyakit metabolik seperti diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular dan *stroke*. Oleh karena itu, setiap orang disarankan untuk melakukan aktivitas fisik dengan intensitas sedang. Akan tetapi, aktivitas fisik dengan intensitas berat atau sangat melelahkan berdampak meningkatkan radikal bebas. Jadi, tubuh membutuhkan suplai antioksidan dari luar seperti coklat hitam (*Theobroma cacao* L.) yang tinggi polifenol. Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai pengaruh ekstrak etanol coklat hitam (EECH) terhadap peningkatan *endurance* dengan *treadmill running test* pada tikus Wistar jantan. Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorik. Tikus Wistar jantan sebanyak 24 ekor dikelompokkan menjadi empat kelompok EECH dosis ( $n = 6$ ), yaitu 1,11 g/KgBB, 2,22 g/KgBB, 4,44 g/KgBB dan CMC 1% (kontrol) selama 18 hari. Uji *treadmill* dilakukan satu kali sehari pada hari ke-14 sampai ke-18 (kecepatan 15 m/menit, ditingkatkan satu meter/menit, setiap dua menit, kemiringan 15°) sampai kelelahan, diambil nilai terbaik. Data yang diukur untuk *endurance* adalah jarak tempuh (m). Analisis data menggunakan *one way ANOVA* yang dilanjutkan Tukey *HSD* dengan  $\alpha = 0,05$ . Hasil rerata *endurance* dalam ln menunjukkan, EECH dosis 2,22 g/KgBB (6,9811) berbeda sangat bermakna ( $p = 0,006$ ) dibandingkan kontrol (5,4304), sedangkan dosis 1,11 g/KgBB (5,5108) dan 4,44 g/KgBB (6,0061) tidak berbeda bermakna ( $p = 0,997$  dan  $p = 0,508$ ). Simpulan adalah ekstrak etanol coklat hitam (EECH) berpengaruh terhadap peningkatan *endurance* dengan *treadmill running test* pada tikus Wistar jantan.

**Kata kunci:** *Theobroma cacao* L., *endurance*, *treadmill*, ekstrak etanol

## **Abstract**

Healthy lifestyle that is being abandoned by many people leads metabolic diseases such as diabetes mellitus, cardiovascular disease and stroke. Therefore, everyone is advised to perform moderate-intensity of physical activity. However, the strenuous intensity or exhausting physical activity increases free radicals molecules. Thus, our body requires dietary antioxidants supply such as high polyphenols dark chocolate (*Theobroma cacao* L.). The purpose of this research is to assess the effect of dark chocolate ethanol extract (EECH) on increasing *endurance* with *treadmill running test* in male Wistar rats. The research was conducted by laboratory experimental design. Twenty four male Wistar rats were divided into four EECH dose groups ( $n = 6$ ), i.e. 1.11 g/kgbw, 2.22 g/kgbw, 4.44 g/kgbw, and CMC 1% (control) for 18 days. Treadmill test was performed once a day starting on 14<sup>th</sup> day to 18<sup>th</sup> day (velocity of 15m/min, increased by 1m/min every 2 min, 15° slope) until exhaustion. Total running distance (m) was used as the *endurance* performance measurement. The data was analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey HSD with  $\alpha = 0.05$ . The results on ln showed 2.22 g/kgbw EECH dose (6,9811) was highly significant ( $p = 0.006$ ) to control (5,4304), whereas the doses of 1.11 g/kgbw (5,5108) and 4.44 g/kgbw (6,0061) were not significantly different ( $p = 0.997$  and  $p = 0.508$ ). It could be concluded that dark chocolate (*Theobroma cacao* L.) ethanol extract (EECH) increased the *endurance* of male Wistar rats on *treadmill running test*.

**Keywords:** *Theobroma cacao* L., *endurance*, *treadmill*, ethanol extract

## **Pendahuluan**

Seiring dengan perkembangan era globalisasi, gaya hidup sehat menjadi terpinggirkan sebagai akibat dari aktifitas yang semakin padat. Makan yang teratur, konsumsi makanan sehat, dan terutama olahraga, seringkali diabaikan. Rekomendasi minimal untuk melakukan aktifitas fisik intensitas sedang selama 30 menit setiap hari telah gagal dicapai oleh 60% populasi global. Hal tersebut menyebabkan risiko terkena penyakit metabolik meningkat menjadi 1,5 kali.<sup>1</sup>

Latihan fisik atau olahraga merupakan subkategori aktifitas fisik yang direncanakan, terstruktur, berulang, dan bertujuan untuk perbaikan atau pemeliharaan satu atau lebih komponen kebugaran fisik. Komponen program latihan fisik adalah aktifitas aerobik, latihan kekuatan, dan latihan kelentukan. Manfaat aktivitas aerobik adalah meningkatkan daya tahan (*endurance*), memperkuat jantung, paru-paru, otot, dan sistem imun.<sup>2</sup> Latihan aerobik dapat dilakukan dengan *jogging* atau lari menggunakan *treadmill*, bersepeda, berenang, dan lompat tali.<sup>3</sup> Ketahanan fisik juga dapat ditingkatkan dengan menggunakan beberapa jenis tanaman herbal. Beberapa tanaman herbal yang dapat meningkatkan stamina dan berefek stimulan, seperti coklat hitam dari biji kakao, teh hijau, delima putih, delima merah, jahe, sambiloto, sembung, dan ginseng.<sup>4,5,6</sup> Tanaman herbal bersifat alami, dianggap lebih aman, ditoleransi dengan baik, mudah didapat, dan relatif lebih murah.<sup>7</sup>

*Endurance* adalah kemampuan tubuh untuk melakukan aktivitas fisik tanpa merasa lelah secara terus-menerus.<sup>8</sup> Hal ini dipengaruhi oleh faktor kardiorespiratori yang mensuplai oksigen menuju otot dan faktor otot selama melakukan aktivitas fisik.<sup>9,10</sup> Latihan fisik yang dilakukan terus-menerus dalam intensitas tinggi atau sangat tinggi dengan menggunakan *treadmill* berdampak pada peningkatan berlebihan *ROS* karena terjadi kebocoran elektron dari rantai transfer elektron dalam mitokondria sel otot.<sup>11</sup>

Biji kakao dan produknya, seperti kakao cair, bubuk kakao, dan coklat hitam (*Theobroma cacao* L.) merupakan sumber makanan yang kaya antioksidan fenolik dengan kadar monomer flavanol (*epicatechin* dan *catechin*) dan oligomer proisianidin sebanyak 60%. Kandungan tersebut berpotensi untuk melawan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh serta dapat mengurangi risiko kerusakan seluler, menunda kelelahan dan meningkatkan performa latihan salah satunya adalah *endurance*.<sup>8,12</sup>

## **Tujuan Penelitian**

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol coklat hitam (*Theobroma cacao* L.) terhadap peningkatan *endurance* dengan *treadmill running test* pada tikus Wistar jantan.

## **Metode penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik. Hewan coba yang digunakan adalah tikus Wistar jantan berusia 8-10 minggu sebanyak 60 ekor dan setelah diseleksi menjadi 24 ekor. Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok secara acak. Masing-masing kelompok terdiri atas enam ekor tikus. Perlakuan yang diberikan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan dan satu kelompok kontrol tanpa perlakuan. Ekstrak etanol coklat hitam (EECH) diberikan per-oral menggunakan sonde. Data yang diukur adalah *endurance* selama menyelesaikan *treadmill running test*. Normalitas data dianalisis menggunakan uji Kolmogorov-smirnov. Bila distribusi normal dilakukan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan Tukey *HSD*. Bila distribusi tidak normal dilakukan uji non-parametrik Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U dengan  $\alpha = 0,05$  dan tingkat kemaknaan berdasarkan nilai  $p < 0,05$ .

### Penelitian awal

Tikus sebanyak 60 ekor diseleksi kemampuan berlari pada *treadmill* dengan kecepatan 15 m/menit selama 5 menit. Seleksi tikus dilakukan sebanyak 3 kali sampai didapatkan sebanyak 24 ekor.

### Penelitian lanjutan

Tikus dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok (n=6) dan dilakukan pengenalan terhadap *treadmill* selama 5 hari. Kemudian masing-masing kelompok diberi perlakuan dengan volume 2 ml secara oral selama 18 hari yaitu, kelompok EECH I diberi dosis 1,11 g/KgBB, kelompok EECH 2 diberi dosis 2,22 g/KgBB, kelompok EECH 3 diberi dosis 4,44 g/KgBB. EECH 1, 2, dan 3 dilarutkan dalam CMC 1%, dan kelompok IV diberi CMC 1%.

Pada hari ke-14, empat puluh lima menit setelah diberi perlakuan, dilakukan *treadmill running test* sampai tikus kelelahan dengan kecepatan 15 m/menit, setiap 2 menit ditingkatkan 1 m/menit dan kemiringan 15 derajat. Dicatat waktu (menit) dan kecepatan (meter/menit) selama tikus berlari di atas *treadmill* untuk menghitung jarak tempuh. Performa *endurance* adalah jarak terbaik pada 5 kali *trial* selama 5 hari dari hari ke-14 sampai hari ke-18 sampai terjadi kelelahan. Kriteria kelelahan yaitu tikus tertinggal dan bergerak ke belakang tidak mampu melawan gerakan *treadmill* sebanyak 3 kali saat pengujian *endurance*.<sup>13,14</sup> Penelitian dilakukan antara pukul 12.00 sampai 16.00.

### Hasil dan Pembahasan

Hasil pengukuran jarak tempuh terbaik selama *treadmill* diuraikan pada tabel 1.

Tabel 1. Jarak Tempuh Dalam Meter

Mencit/Kelompok	EECH 1	EECH 2	EECH 3	Kontrol
1	670,05	762,53	161,5	189,37
2	140,4	1343,57	1050,38	45,33
3	219	1132,27	527,92	1046,25
4	507,5	835,2	239,67	260,05
5	117	1324,87	549,17	215,33
6	187,15	1209,45	379,5	281,05

Keterangan :

EECH 1 adalah kelompok ekstrak etanol coklat hitam (EECH) dosis 1,11 g/KgBB

EECH 2 adalah kelompok ekstrak etanol coklat hitam (EECH) dosis 2,22 g/KgBB

EECH 3 adalah kelompok ekstrak etanol coklat hitam (EECH) dosis 4,44 g/KgBB

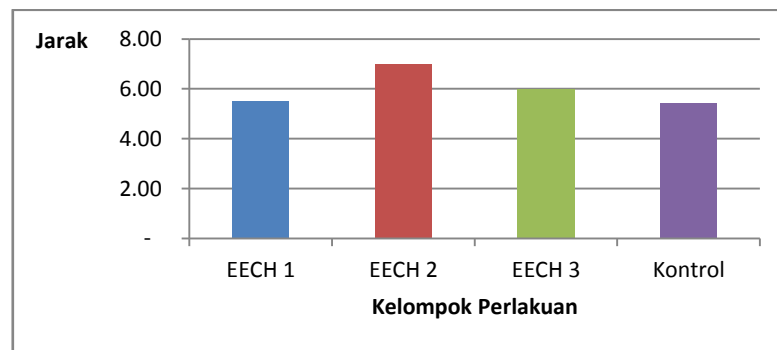
Kontrol adalah kelompok larutan CMC 1%

Nilai rerata jarak tempuh sangat berbeda jauh, sehingga perlu dilakukan transformasi dalam ln yang diuraikan pada tabel 2.

Tabel 2. Jarak Tempuh Dalam ln

Mencit/Kelompok	EECH 1	EECH 2	EECH 3	Kontrol
1	6,51	6,64	5,08	5,24
2	4,94	7,20	6,96	3,81
3	5,39	7,03	6,27	6,95
4	6,23	6,73	5,48	5,56
5	4,76	7,19	6,31	5,37
6	5,23	7,10	5,94	5,64
Rerata	5,5108	6,9811	6,0061	5,4304
Min	4,76	6,64	5,08	3,81
Maks	6,51	7,20	6,96	6,95

Tabel 2 menunjukkan jarak tempuh dari tikus di setiap kelompok antara 3,81 pada kelompok CMC 1%, sampai 7,20 pada kelompok EECH dosis 2,22 g/KgBB, dan diuraikan pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Rerata Jarak Tempuh Selama *Treadmill Running Test*

Keterangan :

EECH 1 adalah kelompok ekstrak etanol coklat hitam (EECH) dosis 1,11 g/KgBB

EECH 2 adalah kelompok ekstrak etanol coklat hitam (EECH) dosis 2,22 g/KgBB

EECH 3 adalah kelompok ekstrak etanol coklat hitam (EECH) dosis 4,44 g/KgBB

Kontrol adalah kelompok larutan CMC 1%

Gambar 1 menunjukkan nilai rerata kelompok EECH 1 (5,5108), EECH dosis 2 (6,9811) dan EECH 3 (6,0061) lebih besar dari kelompok kontrol (5,4304).

Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov didapatkan  $p = 0,947$ . Hal ini berarti data terdistribusi normal, sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji *one way ANOVA* dan didapatkan nilai  $F_{hitung} (6,100) > F_{(3,20)5\%} (3,098)$  dengan  $p = 0,004$ . Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan rerata jarak tempuh selama *treadmill running test* antar kelompok perlakuan.

Tabel 3 Uji Tukey *HSD* Terhadap Jarak Tempuh

	EECH 1	EECH 2	EECH 3	Kontrol
Kelompok perlakuan	(5,5108)	(6,9811)	(6,0061)	(5,4304)
EECH 1 (5,5108)		**	TB	TB
EECH 2 (6,9811)			**	**
EECH 3 (6,0061)				TB
Kontrol (5,4304)				

Keterangan:

\*\* : Sangat Bermakna

TB : Tidak Bermakna

Pada tabel uji beda rata-rata Tukey *HSD*, kelompok EECH 1 bila dibandingkan dengan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p= 0,997$ ). Hal ini berarti EECH 1 tidak mempunyai pengaruh dalam meningkatkan *endurance*.

Kelompok EECH 2 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna ( $p= 0,006$ ). Hal ini berarti EECH 2 mempunyai pengaruh dalam meningkatkan *endurance*.

Kelompok EECH 3 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p= 0,508$ ). Hal ini berarti EECH 3 tidak mempunyai pengaruh dalam meningkatkan *endurance*.

Jadi, Ekstrak Etanol Coklat Hitam (EECH) dosis 2,22 g/KgBB secara statistik berpengaruh dalam meningkatkan *endurance*. Hal ini disebabkan karena coklat hitam (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang memperlambat terjadinya kelelahan pada otot lurik.<sup>15</sup> Senyawa polifenol tersebut terutama *epicatechin* yang menyebabkan peningkatan volume densitas mitokondria pada otot jantung maupun otot lurik. Selain itu, dapat memperkuat sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh untuk mengimbangi radikal bebas yang diproduksi selama latihan fisik. Keseimbangan antara antioksidan-radikal bebas ini dijaga untuk menunda kelelahan otot.

Sedangkan pada kelompok EECH dosis 1,11 g/KgBB dan 4,44 g/KgBB secara statistik tidak berpengaruh dalam meningkatkan *endurance* karena beberapa hal. Pertama, meskipun ROS dan radikal bebas lain mampu menginduksi ekspresi enzim dan mekanisme pertahanan antioksidan, tetapi pada kelompok EECH dosis 1,11 g/KgBB, kadar senyawa polifenol yang terkandung masih rendah sehingga setelah penyerapan, total antioksidan tidak dapat mengimbangi radikal bebas yang diproduksi selama latihan fisik. Kedua, polifenol dalam kadar rendah tidak cukup menimbulkan vasodilatasi untuk membawa oksigen lebih banyak menuju otot lurik, sehingga otot lurik lebih cepat mengalami kelelahan. Ketiga, volume densitas mitokondria kemungkinan tidak terpengaruh oleh kadar polifenol yang rendah. Hal ini menyebabkan jarak tempuh menjadi lebih pendek.

Pada kelompok EECH dosis 4,44 g/KgBB tidak berpengaruh terhadap peningkatan *endurance* karena beberapa hal. Pertama, kandungan polifenol yang diabsorpsi lebih banyak, sehingga total antioksidan lebih tinggi dari radikal bebas selama latihan. Peningkatan antioksidan bebas dapat bertindak sebagai prooksidan melalui struktur *phenolic*-nya. Struktur tersebut rentan terhadap autooksidasi menjadi radikal superoksida.<sup>16</sup> Kedua, antioksidan

dosis besar akan menghambat biogenesis mitokondria yang penting dalam pembentukan ATP.<sup>17</sup> Ketiga, efek antioksidan yang berlebihan juga dapat menghambat pembentukan NO suatu radikal bebas yang dibutuhkan untuk vasodilatasi pembuluh darah.<sup>18</sup> Keempat, berhubungan dengan kadar karbohidrat dalam coklat. Karbohidrat dalam jumlah yang banyak akan menghasilkan CO<sub>2</sub> berlebihan dan diekskresikan melalui paru-paru. Akibatnya kadar CO<sub>2</sub> paru-paru meningkat dan kadar O<sub>2</sub> menurun sedangkan saat latihan kebutuhan O<sub>2</sub> meningkat.<sup>9</sup>

## Simpulan

Ekstrak etanol coklat hitam (*Theobroma cacao* L.) berpengaruh terhadap peningkatan *endurance* dengan *treadmill running test* pada tikus Wistar jantan. Peningkatan *endurance* dengan *treadmill running test* terjadi pada dosis 2,22 g/KgBB.

## Daftar Pustaka

1. *Physical Activity*. Tang, Xuan, et al. 8, Shanghai : PLoS ONE, August 2011, Arctigenin Efficiently Enhanced Sedentary Mice.
2. *Physical Activity & Health*. Dodani, S. 2004, Physical Activity & Health.
3. *The Benefits of Physical Activity*. Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov>, 2011, Physical Activity and Health.
4. Sastroamidjojo, S. *Obat Asli Indonesia*. [ed.] Arjatmo Tjokronegoro. Indonesia : Dian Rakyat, 2001. Vol. VI.p. 282.
5. *Efek Stimulasi Sistem Saraf Pusat oleh Infusa Rimpang Jahe (Zingiber officinale Rosc.) pada Mencit ddy*. Suwendar, Sigit J.I, Pipih dan Sopiah. Bandung : Acta Pharmaceutica Indonesia, 2004, Vol. XXIX, pp. 34-42.
6. *Antidepressant-like Effects of a Cocoa Polyphenolic Extract in Wistar–Unilever Rats*. Messaoudi, Michaël , et al. W. S. Maney and Son Ltd, 2008, Nutritional Neuroscience, Vol. 11, pp. 269-76.
7. Juckett, G. Herbal Medicine. *Modern Pharmacology with Clinical Application*. 6. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2004, p. 785.
8. Ji, Li Li. Wisconsin : Society for Experimental Biology and Medicine, 1999, Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise, pp. 283-90.
9. Fox, Edward L, Bowers, Richard W and Foss, Merle L. *The Physiological Basis for Exercise and Sport*. 5th. Dubuque : Wm. C. Brown Communications, Inc., 1989.
10. Palupi Widyastuti dan Erita Agustin, Hardiyanti. *Gizi Kesehatan Masyarakat*. Jakarta : EGC Medical Publisher, 2008.
11. *Acute Exercise and Oxidative Stress: a 30 years history*. Fisher-Wellman, Kelsey and Bloomer, Richard J. BioMed Central Ltd., 2009, Dynamic Medicine.
12. *Cocoa Phenolic Extract Protects Pancreatic Beta Cells against Oxidative Stress*. Martín, María Ángeles , et al. Madrid : [www.mdpi.com](http://www.mdpi.com), 2013, Nutrients, pp. 2955-68.
13. Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokomia dan Pengujian Klinik*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI, 1993. pp. 57-58.
14. *Heritability of treadmill running endurance in rats*. Koch, Lauren Gerard, et al. Ohio : American Journal of Physiology, 2012, Selective Breeding For Endurance Performance, pp. 1455-60.
15. *Epicatechin Enhance Fatigue Resistance and Oxidative Capacity in Mouse Muscle*. Nogueira, Leonardo, et al. <http://www.jp.physoc.org>, 2011, Epicatechin and Muscle Adaptation, pp. 4615-31
16. Papas, Andreas M. *Antioksidant Status, Diet, Nutrition, and Health*. Danvers : CRC Press LLC, 1999..
17. *Exercise and Antioxidant Supplement in the Elderly*. Gomez-Cabrera, Mari Carmen, et al. <http://www.sciencedirect.com>, 2013, Journal of Sport and Health Science 2, pp. 94-100.
18. *Cocoa, Chocolate and Cardiovascular Disease*. Galleano, Monica , Oteiza, Patricia and Fraga, Cesar. 2009, J Cardiovasc Pharmacol, pp. 483–90.