

## PENGARUH PEMBERIAN KHITOSAN TERHADAP PROFIL LIPID SERUM DARAH TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

### *The Effect of Chitosan on Lipid Profile of Sprague Dawley Rat Blood Serum*

Erryana Martati<sup>1\*</sup> dan Lily Arsanti Lestari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – FTP – Universitas Brawijaya, Jl. Veteran – Malang

<sup>2</sup> Program Studi Gizi Kesehatan – Fakultas Kedokteran – Universitas Gadjah Mada.

Bulaksumur – Yogyakarta

Penulis korespondensi: [martati\\_erryana@yahoo.com](mailto:martati_erryana@yahoo.com)

#### **ABSTRACT**

*Chitosan shares characteristic with dietary fiber which can interact with lipids and/or cholesterol in the intestinal lumen, consequently, reduce their absorption. The effect of chitosan concentration on the serum cholesterol levels (total cholesterol, HDL, LDL cholesterol and triglyceride) and digesta profile of Sprague Dawley rats were investigated.*

*A two month old Sprague Dawley rats consisted of six groups with seven animals of each group were adapted for one week by giving standard diet (AIN-93). Then they were treated with hypercholesterol diet containing approximately 200 mg/kg cholesterol for one week. At the end of this week, cholesterol level was measured. The parameter for hypercholesterolemic rats was the raising level of serum cholesterol as much as 130 mg/dl. The first three groups of rats were treated with standard diet (AIN-93) with 0%, 2.5%, and 5% of chitosan. The second three groups were treated with hypercholesterol diet with the same treatments as the first one. Blood was drawn from eyes (reorbital plexus) every week for analyzing cholesterol levels (total cholesterol, HDL, LDL cholesterol and triglycerides). At the end of the treatment, seven rats were killed after one day fasting then liver and caecum were collected for analyzing.*

*Research showed that chitosan of 2.5% and 5% in the diet did not alter body and liver weight of the group with standard diet (AIN-93) treatment. Conversely, body weight decreased and liver weight increased in the hypercholesterol diet treatments. Chitosan also increased digesta weight and cholesterol level either in standard or hypercholesterol diet treatments. Serum profiles showed that chitosan treatment of 2.5% or 5% decreased total cholesterol, LDL cholesterol and triglyceride but increased HDL cholesterol.*

**Keyword:** lipid profile, blood serum, chitosan, hypercholesterol

#### **PENDAHULUAN**

Khitosan adalah khitin yang mengalami deasetilisasi yang diperoleh dari eksoskeleton hewan arthropoda. Walaupun bukan berasal dari tanaman tetapi mempunyai sifat seperti serat makanan yang merupakan polisakarida yang bersifat *indigestible* (Gallaher *et al.*, 2000).

Khitosan mempunyai sifat penukar anion dan mempunyai viskositas tertentu dalam larutan asam. Sifat ini dapat memberikan efek hipokolesterolemik, sama dengan *cholestyramine*, penukar

anion komersial, yang digunakan sebagai obat hipokolesterolemik, dapat menurunkan penyerapan kolesterol dan meningkatkan eksresi asam empedu (Gallaher *et al.* (2000)). Peningkatan eksresi asam empedu dapat menurunkan konsentrasi kolesterol karena kolesterol dalam plasma atau hati akan digunakan untuk mempertahankan konsentrasi pool asam empedu. Selain itu pengikatan asam empedu oleh resin dalam usus halus dapat menghancurkan pembentukan misel sehingga menurunkan kemampuannya untuk melarutkan kolesterol (juga

monogliserida dan asam lemak) dan selanjutnya menurunkan penyerapan kolesterol.

Penyerapan kembali asam empedu dan kolesterol dari saluran pencernaan tergantung pada tingkat pengikatan serat makanan. Serat makan dapat mengikat dan meningkatkan pengeluaran sterol feses dengan jalan meningkatkan waktu transit bahan makanan melalui usus kecil. Peningkatan asam empedu feses atau kolesterol yang hilang dapat menyebabkan penurunan kolesterol plasma sekitar 10-25%. Keadaan ini dapat disebut hipokolesterolemia.

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi fisik yang menunjukkan adanya kenaikan kadar kolesterol di dalam darah. Mekanisme terjadinya hiperkolesterolemia dapat dipengaruhi oleh faktor makanan (eksogen) atau faktor bukan makanan, khususnya mekanisme pengaturan metabolik endogen yang dapat ditentukan secara genetik.

Proses pembuangan kolesterol plasma yang disekresi oleh hati juga tergantung pada esterifikasi kolesterol dengan asam lemak tidak jenuh atau *lesitin cholesterol acyl transferase* (LCAT). Adanya kemungkinan overproduksi kolesterol oleh hati juga bertanggung jawab atas terjadinya hiperkolesterolemia pada penduduk Amerika. Hal ini dapat terjadi karena perubahan struktur dan aktivitas reduktase HMG CoA, dengan demikian *feed back inhibition* kolesterol kurang efektif atau produksi enzim ini terlampaui banyak sehingga menyebabkan peningkatan kapasitas untuk produksi kolesterol.

Sifat polikationik khitosan menyebabkan khitosan mampu memerangkap lemak. Pada penelitian ini akan dipelajari pengaruh pemberian khitosan pada tikus hiperkolesterolemik terhadap penurunan kolesterol, HDL, LDL dan trigliserida serum darah, penurunan berat badan, berat liver dan profil digesta.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Tikus Percobaan *Sprague Dawley* jantan umur 2 bulan dengan berat badan  $\pm 200$  g diperoleh dari LPPT Universitas Gadjah Mada. Khitosan diperoleh dari perusahaan Qingdao Reach International Inc. China. Pakan diformulasikan menurut standar AIN-93 (Reeves, 1993) (Tabel 1). Campuran vitamin, mineral, L-sistin, dan kolin bitartrat (ICN) diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM, kasein diperoleh dari Mirota, tepung jagung dan sukrosa (lokal) diperoleh dari Toko Intisari, minyak kedelai dari Happy Salad Oil. Bahan-bahan kimia meliputi: Kit untuk analisis profil lipid dari DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co., Holzheim, Germany, dengan nomer kit 10 130 021 (kolesterol), 10 571 021 (trigliserida), dan 10 350 022 (HDL).

Tabel 1. Komposisi pakan standar dan hiperkolesterol yang diformulasikan menurut standar AIN-93

| Komponen         | Komposisi (g/kg diet) |                 |
|------------------|-----------------------|-----------------|
|                  | Standar               | Hiperkolesterol |
| Tepung jagung    | 620,692               | 440,66          |
| Kasein           | 140                   | 140             |
| Sukrosa          | 100                   | 100             |
| Minyak kedelai   | 40                    | 40              |
| Serat            | 50                    | 50              |
| Campuran mineral | 35                    | 35              |
| Campuran vitamin | 10                    | 10              |
| Lemak sapi       | 0                     | 180             |
| L-sistin         | 1,8                   | 1,8             |
| Kolin bitartrat  | 2,5                   | 2,5             |
| TBHQ             | 0,008                 | 0,04            |
| Kolesterol       | 0                     | 0,196           |
| Total (g)        | 1000                  | 1000            |

Reeves (1993)

### Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan tikus, oven listrik (Heraius Electronic type UT 5042 EK), oven Memert (Germany), neraca analitik (Sartorius analytic), inkubator (merk

Forma Scientific), spektrofotometer (HACH DR 2000), sentrifus (merk Labofuge 200/Heraius), pH meter (merk ToA Jenway), vortex (Genie 2) model G 560E, refrigerator, dan seperangkat alat-alat gelas.

### Metode Penelitian

Tikus diadaptasikan terlebih dulu selama 1 minggu dengan diberi pakan standar dan pada akhir minggu pertama dilakukan analisis profil lipida (kolesterol total, HDL, LDL, dan TG) pada serum darah. Setelah itu tikus dikondisikan hiperkolesterol dengan pemberian pakan tinggi kolesterol selama 1 minggu. Pakan hiperkolesterol mengandung 180g lemak sapi/ kg pakan atau setara 200 mg kolesterol/kg pakan).

Pakan standar diformulasikan menurut (Reeves, 1993), sedangkan pakan hiperkolesterol diformulasikan menurut komposisi dari Reeves (1993) yang dimodifikasi. Pada akhir minggu ke-2 ini dilakukan analisis profil lipida untuk memastikan terjadinya hiperkolesterolemia. Parameter terjadinya hiperkolesterolemia adalah kadar total kolesterol mencapai  $> 130$  mg/dl.

Selanjutnya tikus dibagi secara acak menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 7 ekor tikus. Tiga kelompok pertama diperlakukan dengan pakan standar dan perlakuan penambahan khitosan, 0%, 2,5% dan 5%. Tiga kelompok kedua diperlakukan dengan pakan hiperkolesterol dengan perlakuan penambahan khitosan 0, 2,5% dan 5%.

Satu kandang tikus ditempati oleh satu ekor tikus. Air minum dan pakan selama perlakuan disediakan secara *ad libitum*. Pakan diberikan sebanyak 20 g/hari dan ditimbang pakan yang tersisa pada hari berikutnya. Tikus ditimbang beratnya pada awal percobaan dan tiga

hari sekali selama percobaan. Analisis profil lipid serum darah (total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, dan trigliserida) dilakukan setiap minggu selama 6 minggu. Pada akhir percobaan (minggu ke 6) dilakukan analisis profil lipid, berat liver, digesta (pH, kadar air, kadar kolesterol). Berat badan tikus dipantau setiap 3 hari sekali.

### Metode Analisis

Analisis yang dilakukan meliputi kadar kolesterol total (Richmond, 1973), HDL kolesterol (Eckel *et al.*, 1977), kadar trigliserida (McGowan *et al.*, 1983; Fossati dan Principe, 1982). Kadar LDL kolesterol, berat, dan kadar air digesta, serta kadar kolesterol digesta (Plummer, 1977). Data dianalisis dengan program statistik SPSS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat fisik dan kimia khitosan yang di peroleh dari perusahaan Qingdao Reach International Inc. China memiliki spesifikasi sebagai berikut: derajat deasetilisasi 90,6 %, kadar air 9%, viskositas 50 cps, logam berat 5 ppm dan ukuran mesh 100.

### Perubahan berat badan, asupan pakan, berat liver, berat digesta, pH digesta, dan kadar kolesterol digesta

Tabel 2 menunjukkan kenaikan berat badan tikus yang diberi pakan hiperkolesterol berbeda dengan kelima perlakuan lainnya. Demikian juga dengan asupan pakan.

Pemberian pakan standar konsumsi khitosan tidak akan menyebabkan penurunan berat badan tikus percobaan. Klaim khitosan sebagai penurun berat badan di pasaran tidak terbukti pada tikus percobaan ini (pada kondisi pakan standar).

Tabel 2. Perubahan berat badan, liver, berat digesta, pH digesta setelah 4 minggu perlakuan pada tikus perlakuan pakan standar dan pakan hiperkolesterol

| Parameter                           | S                              | S+ 2,5%<br>khitosan            | S+ 5%<br>khitosan              | HP                            | HP+ 2,5%<br>khitosan          | HP+ 5%<br>khitosan            |
|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Kenaikan berat badan (g)            | 104,00 $\pm$ 8,79 <sup>a</sup> | 108,00 $\pm$ 5,07 <sup>a</sup> | 104,00 $\pm$ 2,71 <sup>a</sup> | 12,57 $\pm$ 4,39 <sup>b</sup> | 108,7 $\pm$ 4,39 <sup>a</sup> | 109,0 $\pm$ 4,08 <sup>a</sup> |
| Asupan pakan (g/hari)               | 19,10 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>  | 19,15 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>  | 19,13 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>  | 19,28 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup> | 19,12 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup> | 19,07 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup> |
| Berat liver (g/100 g bb)            | 2,51 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>   | 2,8 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>    | 2,51 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>   | 3,32 $\pm$ 0,84 <sup>b</sup>  | 2,73 $\pm$ 0,68 <sup>a</sup>  | 2,76 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>   |
| Berat basah digesta (g/100 g bb)    | 0,42 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>   | 0,80 $\pm$ 0,22 <sup>b</sup>   | 0,83 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>   | 0,51 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>  | 0,65 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>   | 0,87 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>  |
| pH digesta                          | 6,44 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>   | 6,57 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>   | 6,51 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>   | 6,37 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>  | 6,50 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>  | 6,42 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>  |
| Kadar kolesterol digesta (mg/100 g) | 29,6 $\pm$ 0,81 <sup>b</sup>   | 36,9 $\pm$ 0,79 <sup>e</sup>   | 42,7 $\pm$ 1,16 <sup>f</sup>   | 26,58 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup> | 30,14 $\pm$ 1,2 <sup>c</sup>  | 35,64 $\pm$ 1,27 <sup>d</sup> |

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan pada tingkat 5%. S=pakan standar. HP=pakan hiperkolesterol

Asupan pakan perlakuan dengan pakan hiperkolesterol paling tinggi dibandingkan dengan kelima perlakuan yang lainnya. Pada percobaan ini pakan diberikan tidak dengan paksa sehingga kemungkinan tikus lebih menyukai pakan hiperkolesterol yang tidak mengandung khitosan dan juga diduga khitosan dalam tubuh bisa memberikan rasa cepat kenyang. Khitosan yang dicampurkan dalam makanan dapat memberikan rasa sepat.

Berat basah digesta berbeda antara kontrol dan perlakuan khitosan. Khitosan merupakan polimer yang tidak tercerna oleh tubuh sehingga akan keluar bersama-sama digesta. Semakin tinggi konsumsi khitosan maka semakin tinggi berat digesta.

Berat liver perlakuan pakan hiperkolesterol berbeda dengan kelima perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan pakan hiperkolesterol dapat meningkatkan kadar lipid dalam liver dan sebaliknya konsumsi khitosan dapat menurunkan kadar lipid dalam liver sehingga menurunkan berat liver. Percobaan Sugano *et al.* (1988) menunjukkan bahwa pemberian khitosan dapat menyebabkan berat liver lebih rendah dibanding perlakuan dengan selulosa, lignin dan pektin. Kadar kolesterol digesta berbeda nyata antar tiga perlakuan dan semakin tinggi pemberian khitosan maka semakin tinggi kadar kolesterol digesta. Khitosan dalam uji *in vitro* dapat mengikat dan

mengendapkan misele lemak termasuk asam empedu, kolesterol dan trigliserida hingga 4-5 kali beratnya (Nauss,1983). Jika jumlah gugus amino yang bermuatan positif lebih besar maka dapat meningkatkan daya ikat terhadap lemak, asam empedu dan kolesterol.

Kadar kolesterol digesta berbeda nyata antar keenam perlakuan. Pakan standar masih mengandung serat sehingga masih menunjukkan kemampuan mengikat lemak dan kolesterol sehingga digestanya mengandung kolesterol.

#### Profil lipid (total kolesterol, LDL, HDL, dan trigliserida) serum darah

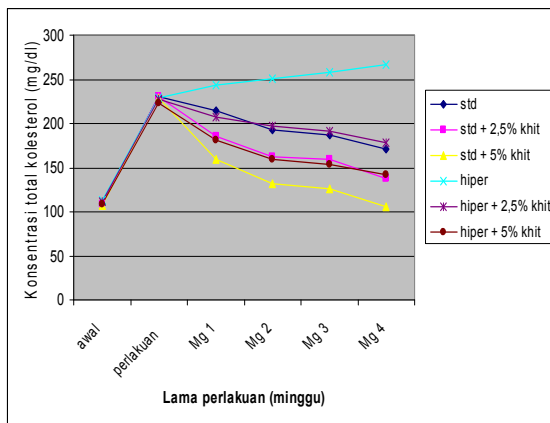
Gambar 1a, 1b, dan 1d menunjukkan penurunan total kolesterol, LDL kolesterol, dan trigliserida serum darah untuk semua perlakuan kecuali perlakuan pakan hiperko-lesterol tanpa khitosan menunjukkan ke-naikan. Kadar HDL koelsterol cenderung mengalami kenaikan (Gambar 1c).

Khitosan merupakan polimer glukosamin yang mengandung banyak gugus amino yang bermuatan positif yang mampu mengikat gugus bermuatan negatif seperti asam empedu dan asam lemak (Sugano *et al.*, 1988). Sifat ini bisa disamakan dengan, *cholestyramine*, obat penurun kolesterol yang mampu mengikat asam empedu ataupun sebagai polimer dapat disamakan dengan pektin atau selulosa. Secara umum sifat hipokholesterolemik serat disebabkan

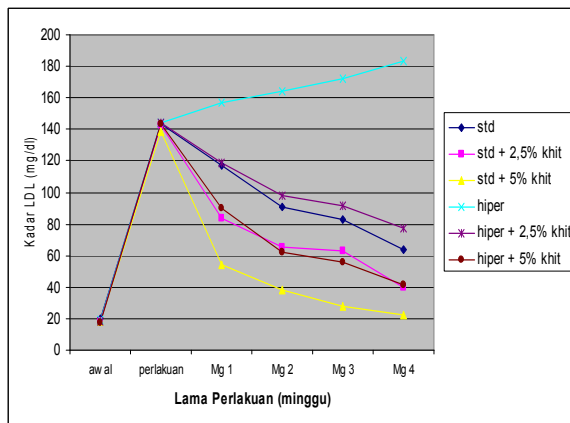
sifat serat tidak tercerna pada saluran pencernaan atas, memiliki viskositas tinggi, merupakan polimer alami dan kemampuan pengikatan airn tinggi. Khitosan memiliki semua kriteria tersebut.

Asam empedu disintesis dari kolesterol, sejumlah 95% asam empedu akan diambil kembali oleh tubuh pada usus halus bagian akhir dan diresirkulasi dari usus halus ke hati. Jika asam empedu diikat oleh bahan lain (khitosan, serat, atau *cholestyramine*) maka dapat menyebabkan peningkatan sintesis asam kolat (komponen utama asam empedu) dari kolesterol dalam liver. Akibatnya kadar kolesterol dalam sel hati akan turun sehingga akan terjadi aktivasi

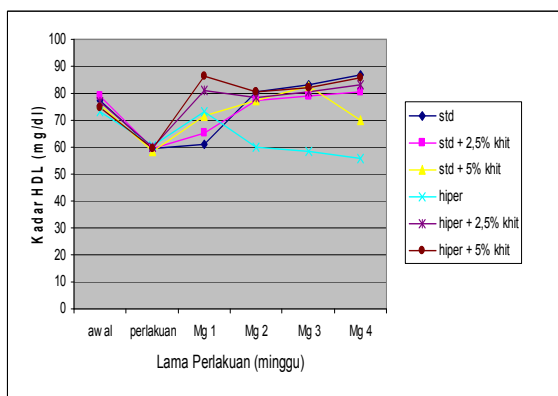
ekspresi LDL reseptor dan selanjutnya meningkatkan pengambilan LDL melalui LDL reseptor dalam hati (Shahidi dan Abuzayton, 2005). Akibatnya menyebabkan kadar kolesterol dalam serum turun. Tabel 3, 4, 5, dan 6 menunjukkan pada kondisi adaptasi, tikus memiliki kadar total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, dan trigliserida serum darah yang tidak berbeda nyata. Begitu juga setelah perlakuan hiperkolesterolemik kadar total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, dan trigliserida tidak berbeda nyata. Dengan demikian, semua tikus yang akan digunakan untuk perlakuan selanjutnya mempunyai kondisi awal kadar lipid yang tidak berbeda nyata.



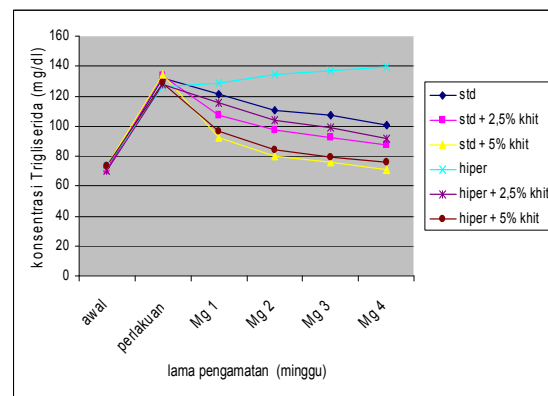
a. Kadar total kolesterol



b. Kadar LDL kolesterol



c. Kadar HDL kolesterol



d. Kadar trigliserida

Gambar 1. Perubahan profil lipid serum darah (a) total kolesterol (b) LDL (c) HDL (d) trigliserida dengan perlakuan pakan standar dan hiperkolesterol dan masing-masing dengan penambahan khitosan 2,5% dan 5%

Tabel 3. Perubahan total kolesterol (mg/dl) akibat penambahan khitosan

| Kelompok            | Adaptasi                   | Pakan<br>Hiperkolesterol   | Pengukuran pada             |                             |                            |                            |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                     |                            |                            | Minggu 1                    | Minggu 2                    | Minggu 3                   | Minggu 4                   |
| Standar             | 109,39 ± 4,97 <sup>a</sup> | 230,28 ± 3,56 <sup>a</sup> | 214,57 ± 7,21 <sup>c</sup>  | 193,15 ± 8,24 <sup>c</sup>  | 187,43 ± 7,10 <sup>c</sup> | 171,00 ± 5,60 <sup>c</sup> |
| Standar + Khit 2,5% | 109,05 ± 3,72 <sup>a</sup> | 230,28 ± 5,40 <sup>a</sup> | 186,23 ± 6,47 <sup>b</sup>  | 162,01 ± 4,55 <sup>b</sup>  | 159,83 ± 3,65 <sup>b</sup> | 138,10 ± 3,70 <sup>b</sup> |
| Standar + Khit 5%   | 107,34 ± 3,08 <sup>a</sup> | 228,91 ± 3,62 <sup>a</sup> | 159,36 ± 5,50 <sup>a</sup>  | 131,62 ± 4,85 <sup>a</sup>  | 125,56 ± 5,64 <sup>a</sup> | 106,49 ± 3,06 <sup>a</sup> |
| Hiperkolesterol     | 111,33 ± 1,99 <sup>a</sup> | 229,03 ± 3,98 <sup>a</sup> | 243,48 ± 14,30 <sup>d</sup> | 250,62 ± 11,38 <sup>d</sup> | 257,79 ± 9,00 <sup>d</sup> | 266,77 ± 8,40 <sup>c</sup> |
| Hiper + Khit 2,5%   | 111,21 ± 4,01 <sup>a</sup> | 227,77 ± 4,86 <sup>a</sup> | 206,83 ± 7,65 <sup>c</sup>  | 197,11 ± 8,35 <sup>c</sup>  | 191,62 ± 9,58 <sup>c</sup> | 178,68 ± 7,02 <sup>d</sup> |
| Hiper + Khit 5%     | 108,37 ± 2,80 <sup>a</sup> | 223,67 ± 5,44 <sup>a</sup> | 181,56 ± 8,26 <sup>b</sup>  | 159,76 ± 5,96 <sup>b</sup>  | 153,49 ± 6,43 <sup>b</sup> | 142,75 ± 3,44 <sup>b</sup> |

Notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Tabel 4. Perubahan kadar LDL kolesterol (mg/dl) akibat penambahan khitosan

| Kelompok            | Adaptasi                  | Pakan<br>Hiperkolesterol   | Pengukuran pada             |                             |                            |                            |
|---------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                     |                           |                            | Minggu 1                    | Minggu 2                    | Minggu 3                   | Minggu 4                   |
| Standar             | 19,80 ± 2,73 <sup>a</sup> | 144,55 ± 1,97 <sup>a</sup> | 117,21 ± 2,85 <sup>c</sup>  | 90,53 ± 6,93 <sup>c</sup>   | 82,72 ± 6,63 <sup>d</sup>  | 63,93 ± 4,58 <sup>c</sup>  |
| Standar + Khit 2,5% | 18,22 ± 1,70 <sup>a</sup> | 143,87 ± 5,89 <sup>a</sup> | 83,48 ± 6,03 <sup>b</sup>   | 65,29 ± 4,09 <sup>b</sup>   | 62,73 ± 4,19 <sup>c</sup>  | 39,88 ± 4,98 <sup>b</sup>  |
| Standar + Khit 5%   | 17,98 ± 2,60 <sup>a</sup> | 143,55 ± 4,98 <sup>a</sup> | 54,54 ± 4,75 <sup>a</sup>   | 38,30 ± 5,11 <sup>a</sup>   | 27,83 ± 0,95 <sup>a</sup>  | 22,51 ± 1,81 <sup>a</sup>  |
| Hiperkolesterol     | 19,32 ± 2,13 <sup>a</sup> | 143,31 ± 4,69 <sup>a</sup> | 156,78 ± 13,25 <sup>d</sup> | 163,97 ± 10,72 <sup>e</sup> | 172,32 ± 9,81 <sup>f</sup> | 183,27 ± 9,11 <sup>e</sup> |
| Hiper + Khit 2,5%   | 18,39 ± 2,00 <sup>a</sup> | 142,43 ± 4,84 <sup>a</sup> | 118,74 ± 5,36 <sup>c</sup>  | 97,68 ± 6,38 <sup>d</sup>   | 91,56 ± 7,99 <sup>c</sup>  | 77,45 ± 5,33 <sup>d</sup>  |
| Hiper + Khit 5%     | 17,63 ± 2,58 <sup>a</sup> | 138,44 ± 4,87 <sup>a</sup> | 90,40 ± 8,17 <sup>b</sup>   | 62,52 ± 3,44 <sup>b</sup>   | 55,61 ± 5,37 <sup>b</sup>  | 41,75 ± 3,30 <sup>b</sup>  |

Notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Tabel 5. Perubahan kadar HDL kolesterol (mg/dl) serum darah akibat penambahan khitosan

| Kelompok            | Adaptasi                  | Pakan<br>Hiperkolesterol  | Pengukuran pada           |                           |                           |                           |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                     |                           |                           | Minggu 1                  | Minggu 2                  | Minggu 3                  | Minggu 4                  |
| Standar             | 75,33 ± 4,67 <sup>a</sup> | 59,35 ± 2,34 <sup>a</sup> | 73,13 ± 8,53 <sup>b</sup> | 80,44 ± 2,35 <sup>b</sup> | 83,31 ± 1,16 <sup>a</sup> | 87,00 ± 1,88 <sup>d</sup> |
| Standar + Khit 2,5% | 76,62 ± 3,72 <sup>a</sup> | 59,72 ± 3,22 <sup>a</sup> | 81,31 ± 1,53 <sup>c</sup> | 77,30 ± 2,33 <sup>b</sup> | 78,69 ± 3,52 <sup>b</sup> | 80,74 ± 3,13 <sup>c</sup> |
| Standar + Khit 5%   | 74,69 ± 2,24 <sup>a</sup> | 58,52 ± 4,15 <sup>a</sup> | 86,27 ± 2,02 <sup>d</sup> | 77,30 ± 2,33 <sup>b</sup> | 82,57 ± 5,65 <sup>b</sup> | 69,86 ± 3,90 <sup>b</sup> |
| Hiperkolesterol     | 77,54 ± 2,32 <sup>a</sup> | 60,54 ± 1,94 <sup>a</sup> | 61,00 ± 2,08 <sup>a</sup> | 59,82 ± 1,71 <sup>a</sup> | 58,16 ± 1,77 <sup>a</sup> | 55,67 ± 1,16 <sup>a</sup> |
| Hiper + Khit 2,5%   | 78,73 ± 3,93 <sup>a</sup> | 59,81 ± 1,39 <sup>a</sup> | 65,04 ± 1,55 <sup>a</sup> | 78,69 ± 2,56 <sup>b</sup> | 80,35 ± 2,32 <sup>b</sup> | 82,95 ± 2,91 <sup>c</sup> |
| Hiper + Khit 5%     | 75,98 ± 4,08 <sup>a</sup> | 59,53 ± 2,13 <sup>a</sup> | 71,84 ± 1,85 <sup>b</sup> | 80,35 ± 2,86 <sup>b</sup> | 82,11 ± 2,38 <sup>b</sup> | 85,90 ± 2,77 <sup>c</sup> |

Notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Tabel 6. Perubahan kadar trigliserida (mg/dl) serum darah akibat penambahan khitosan

| Kelompok            | Adaptasi                  | Pakan<br>Hiperkolesterol   | Pengukuran pada            |                            |                            |                            |
|---------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                     |                           |                            | Minggu 1                   | Minggu 2                   | Minggu 3                   | Minggu 4                   |
| Standar             | 70,85 ± 3,59 <sup>a</sup> | 131,89 ± 1,99 <sup>a</sup> | 121,14 ± 2,9 <sup>c</sup>  | 110,91 ± 3,45 <sup>d</sup> | 107,01 ± 3,76 <sup>d</sup> | 100,32 ± 2,84 <sup>c</sup> |
| Standar + Khit 2,5% | 71,06 ± 1,79 <sup>a</sup> | 133,47 ± 2,46 <sup>a</sup> | 107,22 ± 3,00 <sup>b</sup> | 97,10 ± 2,55 <sup>b</sup>  | 92,04 ± 2,58 <sup>b</sup>  | 87,39 ± 2,67 <sup>c</sup>  |
| Standar + Khit 5%   | 73,38 ± 1,27 <sup>a</sup> | 134,21 ± 2,35 <sup>a</sup> | 92,78 ± 4,52 <sup>a</sup>  | 80,13 ± 3,13 <sup>a</sup>  | 75,80 ± 3,76 <sup>a</sup>  | 70,59 ± 2,40 <sup>b</sup>  |
| Hiperkolesterol     | 72,32 ± 3,74 <sup>a</sup> | 125,88 ± 2,12 <sup>a</sup> | 128,52 ± 3,94 <sup>d</sup> | 134,11 ± 3,24 <sup>e</sup> | 136,53 ± 3,56 <sup>e</sup> | 139,18 ± 3,72 <sup>f</sup> |
| Hiper + Khit 2,5%   | 70,43 ± 2,85 <sup>a</sup> | 127,68 ± 2,30 <sup>a</sup> | 115,24 ± 6,47 <sup>b</sup> | 103,74 ± 6,76 <sup>a</sup> | 98,58 ± 6,47 <sup>c</sup>  | 91,39 ± 4,53 <sup>d</sup>  |
| Hiper + Khit 5%     | 73,80 ± 3,38 <sup>a</sup> | 128,52 ± 4,29 <sup>a</sup> | 96,57 ± 3,34 <sup>a</sup>  | 84,45 ± 5,84 <sup>a</sup>  | 78,86 ± 5,16 <sup>a</sup>  | 75,53 ± 3,57 <sup>a</sup>  |

Notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Tabel 3 menunjukkan bahwa pada minggu 1 kadar total kolesterol pakan standar+ khitosan 2,5% tidak berbeda nyata dengan perlakuan pakan hiperkolesterol+ 5% khitosan. Perlakuan pakan standar tidak berbeda nyata dengan pakan hiperkolesterol + khitosan 2,5%. Kadar total kolesterol pada minggu ke-2 memiliki pola yang sama dengan minggu ke-1.

Pola yang hampir sama juga ditunjukkan pada kadar LDL kolesterol dimana pada minggu 1 kadar LDL kolesterol perlakuan pakan hiperkolesterol+ khitosan 5% sama dengan perlakuan pakan standar+ khitosan 2,5% serta hiperkolesterol+ khito-san 2,5% sama

dengan pakan standar, hal ini berlanjut hingga minggu ke 4.

Menurut Fernandez (2001) modifikasi diet yang mempengaruhi kolesterol bebas hepatic dapat memodulasi aktivitas enzim sintesis kolesterol HMG-CoA reduktase. Penelitian Fernandez (1994) menunjukkan konsumsi pektin 12,5% dapat meningkatkan aktivitas HMG CoA reduktase karena kadar kolesterol bebas dalam liver menurun. Konversi kolesterol hepatic menjadi asam empedu merupakan salah satu cara tubuh untuk menghilangkan kolesterol yang berlebihan. Enzim kolesterol 7•• hidroksilase (Cyp7) akan menghroksilasi posisi 7• kolesterol menjadi salah satu komponen asam empedu. Faktor lain

Tabel 7. Perubahan kadar LDL kolesterol, trigliserida, dan HDL kolesterol dalam serum darah setelah pemberian pakan selama 4 minggu dibandingkan kondisi awal

| Perlakuan                | Perubahan total kolesterol (mg/dl) | Perubahan LDL kolesterol (mg/dl) | Perubahan HDL kolesterol (mg/dl) | Perubahan trigliserida (mg/dl) |
|--------------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| Standar                  | -59,28±7,99 <sup>c</sup>           | -80,62±5,63 <sup>c</sup>         | + 27,66±3,49 <sup>c</sup>        | -31,58±2,39 <sup>b</sup>       |
| Standar+ khitosan 2,5%   | -92,18±4,45 <sup>e</sup>           | -103,99±8,10 <sup>d</sup>        | + 21,02±6,26 <sup>c</sup>        | -46,08±4,30 <sup>d</sup>       |
| Standar+ khitosan 5%     | -122,42±6,03 <sup>f</sup>          | -121,04±5,72 <sup>e</sup>        | + 11,34±6,89 <sup>b</sup>        | -63,62±3,49 <sup>f</sup>       |
| Hiperkolesterol          | + 37,75±9,15 <sup>a</sup>          | + 39,96±9,59 <sup>a</sup>        | -4,87±1,80 <sup>a</sup>          | + 13,30±3,96 <sup>a</sup>      |
| Hiperkol + khitosan 2,5% | -49,09±10,60 <sup>b</sup>          | -64,98±9,05 <sup>b</sup>         | + 23,14±3,33 <sup>c</sup>        | -36,29±5,52 <sup>c</sup>       |
| Hiperkol + khitosan 5%   | -80,93±6,39 <sup>d</sup>           | -96,70±6,75 <sup>d</sup>         | + 26,37±4,34 <sup>c</sup>        | -52,99±3,58 <sup>e</sup>       |

Keterangan

Awal : Setelah diberi pakan tinggi kolesterol

Akhir : Setelah perlakuan 4 minggu

Perubahan dihitung dari kadar akhir dikurangi kadar awal

Nilai (-) : menunjukkan penurunan

(+) : menunjukkan kenaikan

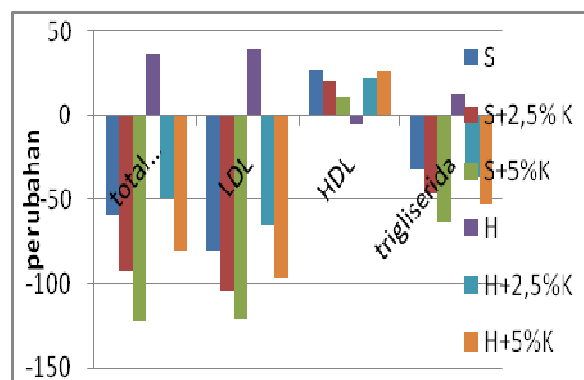
yang juga berperan penting adalah LDL reseptor dimana jika untuk menyuplai kolesterol bebas sebagai substrat untuk sintesis asam empedu maka sel-sel di jaringan hati akan membentuk LDL reseptor dimana LDL kolesterol akan dihilangkan dari sistem sirkulasi sehingga mengakibatkan konsentrasi LDL kolesterol akan turun (Fernandez, 2000).

#### Perubahan kadar total kolesterol, LDL kolesterol, trigliserida, dan HDL kolesterol dalam serum darah

Perubahan kadar lipid setelah 4 minggu perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2. Penurunan total kolesterol yang paling drastis adalah pada perlakuan pakan standar dengan penambahan khitosan 5%, disusul dengan pakan standar+ khitosan 2,5% dan perlakuan hiperkolesterol+ khitosan 5%. Diet pakan standar mengandung kolesterol dan lemak yang lebih rendah dibanding pakan hiperkolesterol sehingga khitosan 5% akan menurunkan kadar total kolesterol plasma lebih rendah. Hal yang sama juga terjadi pada penurunan LDL kolesterol dan trigliserida. Adapun HDL kolesterol mengalami peningkatan.

Hasil uji statistik perubahan kadar lipid dapat dilihat pada Tabel 7. Perubahan kolesterol berbeda nyata antar perlakuan. Perubahan LDL kolesterol antara perlakuan hiperkolesterol dan khitosan 5% dan

pakan standar dan khitosan 2,5% tidak berbeda nyata. Perubahan kadar HDL kolesterol antara perlakuan standar, standar dan khitosan 2,5%, hiperkolesterol dan khitosan 2,5% dan hiperkolesterol dan khitosan 5% tidak berbeda nyata. Perubahan trigliserida semua perlakuan menunjukkan perbedaan nyata.



Gambar 2. Perubahan kadar LDL kolesterol, trigliserida, dan HDL kolesterol dalam serum darah dan perlakuan selama 4 minggu dibandingkan kondisi awal

#### KESIMPULAN

Pemberian khitosan sebanyak 2,5 % dan 5% dalam pakan tidak mempengaruhi berat badan tikus pada kondisi pakan standar tetapi pada kondisi pakan

hiperkolesterol dapat menurunkan berat badan dan berat liver. Pemberian khitosan sebanyak 2,5% dan 5% dapat meningkatkan berat digesta karena khitosan merupakan polimer yang tidak tercerna sehingga akan keluar bersama-sama dengan feses.

Pemberian khitosan sebanyak 2,5% dan 5% dapat meningkatkan kadar kolester-ol. Secara umum pemberian khitosan 2,5% atau 5% pada tikus kontrol (pakan standar) dan tikus hiperkolesterolemia dapat menurunkan kadar total kolesterol, LDL kolesterol, dan trigliserida dan menaikkan HDL kolesterol dalam serum.

Berturut-turut penurunan kadar total kolesterol pada kondisi pakan standar adalah  $92,18 \pm 4,45$  dan  $122,42 \pm 6,03$  pada kondisi pakan hiperkolesterol adalah  $49,09 \pm 10,60$  dan  $80,93 \pm 6,39$  (mg/dl).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Fernandez, M.L. 2001. Guinea pigs as models for cholesterol and lipoprotein metabolism. *Journal Nutrition* 131: 10-20
- Fukada, Y, A. Kim, dan Y. Ayaki. 1991. Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rat. *Lipid* 26: 345-349
- Fossati, P. dan L. Principe. 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry* 28: 2077-2080
- Gallaher, C.M., J. Munion, R. Hesslink Jr., J. Wise, dan D. Gallaher. 2000. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *The Journal of Nutrition*. Presented in part at Experimental Biology 99, April 1999, Washington, DC
- King, M. W. 2002. Cholesterol and Bile Metabolism. <http://www.indstate,-edu/theme/mwking/cholesterol.html>
- McGowan, M.W., Artiss, J.D., Standbergh, R., dan Zak. 1983. A peroxide-coupled methods for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry* 29: 538-542
- Nauss J.L., J.L. Thompson, and J. Nagyvary. 1983. The binding of micellar lipids to chitosan. *Lipids* 18:714-719
- Plummer, D.T. 1977. *An Introduction to Practical Biochemistry*. Tata Mc Graw Hill Pub. Ltd, Bombay-New Delhi
- Richmond, W. 1973. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry* 19: 1350-1354
- Reeves, P.G., F. H. Nilson, and G. C. Fahey. 1993. Purified diet for laboratory rodents: final report of The American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on The Reformulation of AIN-76 a Rodent Diet. *J. Nutr.* 123: 1939-1951
- Shahidi, F. dan R. Abuzayton. 2005. Chitin, Chitosan, And Co-Products: Chemistry, Production, Applications, And Health Effects *Advances In Food and Nutrition Research Vol 49*
- Sugano, M. and E. Tsuji. 1997. Rice bran oil and cholesterol metabolism. *Journal of Nutrition* 127: 512s-524S
- Sugano, M., S. Watanabe, S. Kishi, M. Izume, and A. Ohtakara. 1988. Hypocholesterolemic action of chitosan with different viscosity in rats. *Lipids* 23: 187-191