

Pengaruh Pemberian Pakan Hiperkolesterolemia terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat

The effect of consuming the hypercholesterolemia rationed food to the body weight of white rats wistar with administration of lactic acid bacteria

RIANI HARDININGSIH*, NOVIK NURHIDAYAT

Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16122.

Diterima: 16 Agustus 2005. Disetujui: 16 Januari 2006.

ABSTRACT

The consumption of food could influence the body weight of organisms. "Hypercholesterolemia rationed food" is the food that increase the cholesterol on blood of rats. The purpose of this research was to study the effect of hypercholesterolemia rationed food to the body weight of white rats wistar with administration of *Lactobacillus*. In vivo research was done by using thirty rats that divided into three groups. Group I as Negative Control; Group II as Positive Control and Group III as The Treatment. The rat on Group I was given standart rationed food with physiological solution; Group II was given hypercholesterolemia rationed food and Group III was given Hypercholesterolemia rationed food with administration of *Lactobacillus*. The rationed food was given 20 g/rat/day. The weight of rats were balanced twice a week. The result of this research showed that the hypercholesterolemia rationed food could increase the body weight of rats; and administration of *Lactobacillus* could not decrease the body weight of rat with hypercholesterolemia rationed food.

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: hypercholesterolemia rationed food, the body weight, lactic acid bacteria, *Lactobacillus*.

PENDAHULUAN

Konsumsi pakan harian dapat mempengaruhi bobot badan. Pakan hiperkolesterolemia adalah pakan yang sengaja dibuat untuk meningkatkan konsentrasi kolesterol darah hewan percobaan. Konsentrasi kolesterol tinggi dalam darah atau hiperkolesterolemia merupakan salah satu penyebab penyakit jantung koroner. Menurut Muray *et al.* (1999), kolesterol adalah produk khas hasil metabolisme hewan seperti kuning telur, daging, hati, dan otak. Semua jaringan yang mengandung sel-sel berinti mampu mensintesis kolesterol. Kolesterol merupakan prekursor semua steroid, seperti kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D (Dalimartha, 2001). Kolesterol di dalam tubuh diproduksi dalam jumlah yang diperlukan. Hiperkolesterolemia terjadi jika kadar kolesterol melebihi batas normal. Hiperkolesterolemia dapat berkembang menjadi aterosklerosis pada pembuluh arteri, berupa penyempitan pembuluh darah, terutama di jantung, otak, ginjal, dan mata. Pada otak, aterosklerosis menyebabkan stroke, sedangkan pada jantung menyebabkan penyakit jantung koroner (Vodjani, 1999). Hiperkolesterolemia dapat terjadi karena bobot badan, usia, kurang olah raga, stress emosional, gangguan metabolisme, kelainan genetik, serta diet tinggi kolesterol dan asam lemak jenuh (Grundy, 1991). Hiperkolesterolemia juga dapat terjadi pada wanita yang kekurangan hormon estrogen (Ganong, 1995).

Menurut Brown dan Goldstein (1991) beberapa mikrobia dapat memproduksi senyawa yang dapat menghambat sintesis kolesterol, mengimobilisasi atau mereduksinya. Bakteri asam laktat secara umum banyak digunakan dalam industri fermentasi, kini dimanfaatkan dalam bidang kesehatan sebagai bakteri probiotik. Salah satu genus yang menjadi anggota bakteri asam laktat adalah *Lactobacillus*. Dilaporkan bahwa bakteri ini dapat menurunkan pH instestin dan menurunkan pertumbuhan yang cepat dari *E. coli* (Fox, 1988). Gunawan (2003) melaporkan bahwa bakteri probiotik mempunyai efek menguntungkan kesehatan inangnya apabila dikonsumsi dalam keadaan hidup dan tetap hidup dalam saluran pencernaan. Probiotik dapat diberikan secara oral pada hewan dalam bentuk tablet, cairan atau pasta. Keuntungan mengkonsumsi probiotik antara lain menstabilkan mikroflora usus, mereduksi konsentrasi kolesterol serum, mencegah diare, dan sembelit (Kartini, 2002). Selain itu dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh, metabolisme kolesterol, karsinogenesis, dan menghambat penuaan (Cartney, 1997).

Lactobacillus dapat berperan sebagai bakteri probiotik penurun kolesterol. Dilaporkan oleh Darnell *et al.* (1986) dan Girindra (1993), bahwa asam organik sebagai produk utama fermentasi dari laktat dapat menurunkan kolesterol, di antaranya asam glukorat, asam glukonat, asam folat, asam kolat, asam laktat, dan asam ferolat Menurut Usman dan Hasono (1999), *Lactobacillus* mampu mengikat kolesterol yang terdapat pada aliran darah, kemudian dibawa ke usus halus untuk dibuang bersama feses. Voet *et al.* (1999) menyatakan penurunan kolesterol terjadi karena senyawa yang dihasilkan mikrobia berkompetisi dengan HMG CoA untuk berikatan dengan enzim HMG CoA reduktase. Genus *Lactobacillus* sebagai probiotik

♥ Alamat korespondensi:
Jl.Ir. H.Juanda 18 Bogor 16122
Tel. +62-251-324006. Fax.: +62-251-325854
e-mail: haryanto@bappenas.go.id

memiliki keunggulan dalam memproduksi asam, senyawa bioaktif, dan zat anti mikrobia.

Conway *et al.* (1987) mengatakan bahwa probiotik efektif jika strain telah terseleksi tahan terhadap pH asam dan dapat dikembangkan pada sistem buffer seperti susu, yoghurt atau makanan. Mikrobia probiotik yang digunakan secara oral lebih tahan terhadap enzim amilase dan lisozim dalam mulut, enzim pepsin atau lipase, pH rendah pada lambung, serta asam empedu, getah pankreas dan mucus pada usus halus.

Menurut Lestari dan Muchtadi (1997), makanan untuk meningkatkan konsentrasi kolesterol darah tikus terdiri atas kolesterol 1,5% dari kuning telur ayam, lemak kambing 10%, dan minyak kelapa 1%. Pakan kolesterol 1,5% artinya dalam setiap 100 g pakan terkandung 1,5 g kolesterol (Kuswinarti dan Sugiono, 1990). Hotimah (2003) melaporkan, pemberian campuran lemak kambing dan PTU (propil tiourasil) ke dalam ransum tikus dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol serum tikus. Pakan tinggi kolesterol ini dapat disebut pakan hiperkolesterolemia. PTU yaitu suatu zat antitiroid yang dapat merusak kelenjar tiroid sehingga menghambat pembentukan hormon tiroid. Hormon tiroid dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara meningkatkan pembentukan LDL di hati yang mengakibatkan peningkatan pengeluaran kolesterol dari sirkulasi. Kekurangan hormon tiroid mengakibatkan katabolisme kolesterol menurun, sehingga terjadi peningkatan kolesterol dalam darah (Ganong, 1995).

Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengurangi konsentrasi kolesterol dalam darah. Beberapa studi mengindikasikan bahwa *Lactobacillus* yang dipindahkan dari media laboratorium (*in vitro*) ke dalam tubuh (*in vivo*) mempunyai potensi untuk mereduksi kolesterol dalam darah (Gilliland, 1997). Biodiversitas mikrobia Indonesia dan potensinya sebagai penghasil bahan bioaktif belum banyak diungkapkan. Penelitian dan pengembangan potensi *Lactobacillus* sebagai probiotik penurun kolesterol perlu dilakukan untuk menunjang kesehatan masyarakat. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan hiperkolesterolemia terhadap bobot badan (BB) tikus putih wistar yang diberi bakteri *Lactobacillus*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan uji, bakteri *Lactobacillus* dalam larutan fisiologis NaCl (*Lactobacillus* Mar 8); pakan standar; kuning telur; lemak kambing; minyak kelapa dan pakan standar sebagai bahan pembuatan pakan hiperkolesterolemia; PTU (propil tiourasil) 0,01%; dan bahan untuk analisis konsentrasi kolesterol Metode Lieberman-Burchard.

Cara kerja

Persiapan pengadaan tikus putih wistar. Tikus putih jantan galur wistar yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor dan diadaptasikan selama kurang lebih dua minggu terhadap makanan dan lingkungannya.

Persiapan kandang. Kandang yang digunakan adalah kandang individual berukuran 30 X 20 X 20 cm.

Persiapan pakan standar. Dibuat pakan standar dengan komposisi 26,5 kg jagung, 2 kg tepung ikan (45% protein), 11 kg bungkil kedelai, 2 kg Bbm, 2,5 kg minyak, 5 kg polar, 2 kg kalsium, dan 2 kg fosfor.

Persiapan pakan hiperkolesterolemia. Untuk meningkatkan kadar kolesterol darah hewan percobaan dibuat pakan hiperkolesterolemia yang mengandung kolesterol 1,5% dari kuning telur ayam, lemak kambing 10%, dan minyak kelapa 1%.

Analisis konsentrasi kolesterol kuning telur dan pakan. Analisis konsentrasi kolesterol kuning telur dengan metode Lieberman-Burchard dilakukan sebelum pembuatan pakan hiperkolesterolemia. Metode ini merupakan analisis konsentrasi kolesterol secara kimiawi (Cook, 1958). Prinsip metode Lieberman-Burchard adalah ekstrak kloroform yang berisi kolesterol akan bereaksi dengan asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat membentuk reaksi berwarna. Serapannya diukur pada panjang gelombang 420 nm. Besarnya serapan berbanding lurus dengan konsentrasi kolesterol.

Kuning telur yang telah dikukus dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C dilarutkan sebanyak 0,02 g dalam alkohol-eter (3:1). Tabung yang digunakan ditutup rapat, dikocok selama 1 menit, lalu didiamkan selama 30 menit. Disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 5000 rpm. Kemudian supernatan dituang ke dalam gelas piala, dan diuapkan pada penangas mendidih hingga kering. Residu yang terbentuk dilarutkan dengan kloroform hingga volume 5 ml. Disiapkan 5 ml standar kolesterol dan 5 ml blanko kloroform. Semua tabung ditambahkan 2 ml asetat anhidrida dan 0,1 ml asam sulfat pekat, lalu dikocok kuat. Tabung disimpan dalam ruang gelap selama 15 menit dan larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm. Dengan cara yang sama dilakukan analisis konsentrasi pakan hiperkolesterolemia dan pakan standar.

Percobaan *in vivo* terhadap tikus putih wistar. Tiga puluh ekor tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok I (kelompok kontrol negatif) yang diberi pakan standar dan larutan fisiologis. Kelompok II (kelompok kontrol positif) yang diberi pakan hiperkolesterolemia (Pakan Kolesterol 1,5%) dan larutan PTU 0,01% dengan dosis 0,5 mg/kg BB. Kelompok III (kelompok perlakuan) yang diberi pakan hiperkolesterolemia (pakan kolesterol 1,5%) dan larutan PTU 0,01% dengan dosis 0,5 mg/kg BB ditambahkan suspensi *Lactobacillus* secara oral sebanyak 2 ml/kg BB. Baik pakan standart maupun pakan hiperkolesterolemia diberikan sebanyak 20 g/ekor/hari. Setiap dua kali dalam seminggu selama masa perlakuan dilakukan penimbangan bobot badan (BB) tikus percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis konsentrasi kolesterol kuning telur menggunakan metode Lieberman-Burchard dilakukan untuk mengetahui jumlah kuning telur yang diperlukan untuk membuat pakan hiperkolesterolemia (pakan kolesterol 1,5%). Hasil analisis dan kurva standar pengukuran konsentrasi kolesterol disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Dari hasil analisis diketahui bahwa konsentrasi kolesterol rata-rata kuning telur pada penelitian adalah 13,12 mg/g kuning telur; artinya dalam setiap 1 g kuning telur terkandung 0,0369 g kolesterol. Dari nilai tersebut dapat diketahui jumlah total kolesterol pada kuning telur yang tersedia.

Analisis konsentrasi kolesterol pakan hiperkolesterolemia (pakan kolesterol 1,5%) dengan metode Lieberman-Burchard dilakukan untuk mengetahui apakah konsentrasi kolesterolnya sesuai dengan yang dimaksud yaitu 1,5%. Pakan kolesterol 1,5% berarti dalam setiap gram pakan tersebut mengandung 0,015 g kolesterol. Hasil analisis dan

kurva standar pengukuran konsentrasi kolesterol. Pakan hiperkolesterolemia disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2. Analisis konsentrasi kolesterol pakan hiperkolesterolemia rata-rata sebesar 13,12 mg/g pakan (Tabel 2); artinya dalam setiap 1 g pakan terkandung 0,013 g kolesterol. Pakan hiperkolesterolemia pada percobaan ini adalah pakan kolestrol 1,5%, berarti dalam setiap 100 g pakan terdapat 1,5 g kolesterol. Dalam setiap 1 g pakan kolesterol 1,5% terkandung 0,015 g kolesterol. Konsentrasi kolesterol dalam pakan tersebut kurang dari 0,002 g untuk setiap gramnya. Konsentrasi yang tidak sesuai ini dapat disebabkan selama pelarutan pakan dengan alkohol-eter, pakan tersebut tidak sepenuhnya larut, sehingga ketika disentrifugasi kemungkinan masih ada kolesterol yang tertinggal dalam endapan.

Analisis konsentrasi kolesterol pakan standar menggunakan metode Lieberman-Burchard, dilakukan untuk mengetahui selisih antara konsentrasi kolesterol yang terkandung dalam pakan hiperkolesterolemia dengan konsentrasi kolesterol pakan standar. Hasil analisis dan kurva standar konsentrasi kolesterol pakan standar disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 3. Dari hasil analisis diperoleh konsentrasi kolesterol pakan standar sebesar 8,09 mg/g pakan hiperkolesterolemia (Tabel 3).

Tabel 1. Pengukuran konsentrasi kolesterol kuning telur.

Ulangan ke-	Absorbansi	Faktor Pengenceran	Bobot Pakan (g)	Konsentrasi kolesterol (mg/g kuning telur)
1	0,5780	2,5	0,03	36,49
2	0,6620	2,5	0,03	40,63
3	0,5200	2,5	0,03	33,63
Rerata				36,92

Tabel 2. Pengukuran konsentrasi kolesterol pakan hiperkolesterolemia.

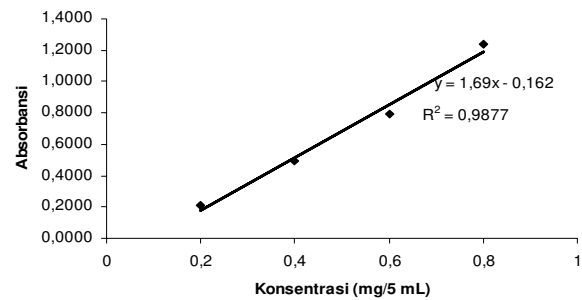
Ulangan ke-	Absorbansi	Faktor pengenceran	Bobot pakan (g)	Konsentrasi kolesterol (mg/g pakan)
1	0,4360	5	0,20	10,1200
2	0,7960	5	0,20	16,9450
3	0,5500	5	0,20	12,2850
Rerata				13,1170

Tabel 3. Pengukuran konsentrasi kolesterol pakan standar.

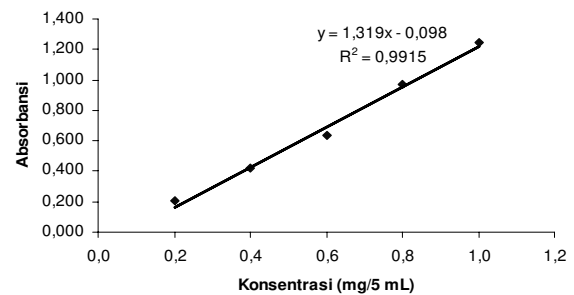
Ulangan ke-	Absorbansi	Faktor pengenceran	Bobot pakan (g)	Konsentrasi kolesterol (mg/g pakan)
1	0,1209	5	0,20	8,5025
2	0,1232	5	0,20	8,6925
3	0,1035	5	0,20	7,0625
Rerata				8,0858

Tabel 4. Konsumsi pakan harian perata tikus putih wistar selama masa perlakuan (g).

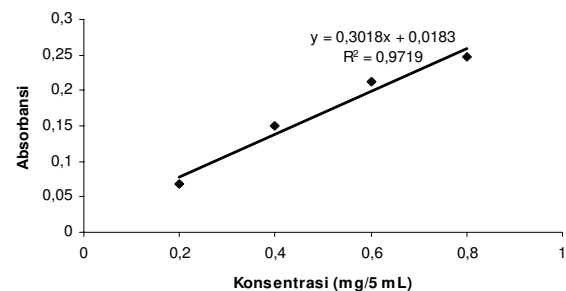
Kelompok	Rata-rata (g)	Standart deviasi
Kontrol (-)	17,98	3,42
Kontrol (+)	16,50	3,01
Perlakuan	16,40	3,03



Gambar 1. Kurva standar kolesterol pengukuran konsentrasi kolesterol kuning telur.



Gambar 2. Kurva standar kolesterol pengukuran konsentrasi kolesterol pakan hiperkolesterolemia.



Gambar 3. Kurva standar kolesterol pengukuran konsentrasi kolesterol pakan standar.

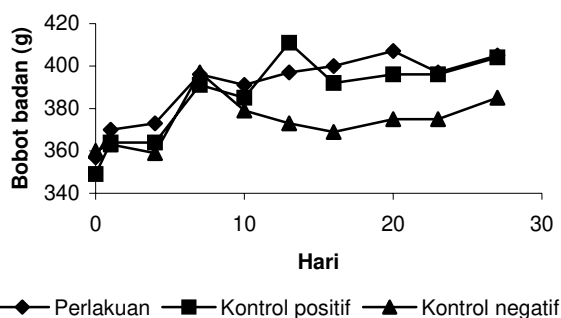
Selisih konsentrasi kolesterol antara pakan hiperkolesterolemia dengan pakan standar hanya 0,005 g. Pakan standar juga mengandung kolesterol cukup tinggi, tetapi konsentrasi tersebut kemungkinan juga dipengaruhi senyawa sterol lain yang ikut terbaca serapannya. Sterol tersebut kemungkinan terdapat dalam salah satu komponen penyusun pakan standar. Konsumsi pakan harian rata-rata hewan uji selama masa perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Pada kelompok perlakuan diperoleh angka rata-rata konsumsi pakan harian hewan uji sebesar 16,4 g. Pada kelompok kontrol negatif konsumsi pakan harian rata-rata sebesar 17,98 g dan kelompok kontrol positif sebesar 16,50 g. Konsumsi pakan harian rata-rata tertinggi adalah pada kelompok kontrol negatif yang diberi pakan standar. Dari Tabel 4 diketahui bahwa konsumsi pakan harian rata-rata selama masa perlakuan tidak sama untuk masing-masing kelompok. Kelompok kontrol negatif yang diberi pakan standar konsumsi pakannya lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan yang diberi pakan hiperkolesterolemia, sehingga hampir setiap hari pakanannya selalu habis. Konsumsi pakan rata-rata

kelompok perlakuan adalah 16,4 g/hari. Kelompok kontrol positif 16,5 g/hari dan kelompok kontrol negatif 17,98 g/hari. Sehingga dapat dikatakan bahwa tikus percobaan lebih menyukai pakan standar yang konsentrasi kolesteralnya lebih rendah.

Perkembangan bobot badan tikus selama masa perlakuan disajikan pada Gambar 4. Pada kelompok perlakuan bobot badan tikus selama masa percobaan rata-rata cenderung meningkat. Bobot badan tikus rata-rata pada kelompok perlakuan berkisar antara 357-407 g. Pada kelompok kontrol negatif bobot badan tikus rata-rata berkisar antara 359-397 g. Pada kelompok kontrol positif bobot badan rata-rata berkisar antara 349-404 g. Kenaikan bobot badan tertinggi adalah pada kelompok perlakuan, diikuti kelompok kontrol positif dan kemudian kelompok kontrol negatif.

Selama masa perlakuan bobot badan tikus menunjukkan kecenderungan naik. Pertumbuhan bobot badan kelompok perlakuan dan kontrol positif lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif. Hal ini disebabkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diberi pakan hiperkolesterolemia yang mengandung kolesterol 1,5% sehingga bobot badannya lebih besar dari kontrol negatif. Dari Gambar 4 diketahui bahwa kelompok kontrol negatif bobot badannya setelah hari ke-10 cenderung turun, kemudian naik kembali pada hari ke-16. Umur dari tikus yang dicobakan sekitar 3 bulan, kemungkinan tikus masih dalam masa pertumbuhan sehingga bobot badannya belum stabil.



Gambar 4. Perkembangan bobot badan tikus selama masa perlakuan.

Dari Gambar 4 terlihat bahwa kelompok perlakuan bobot badannya lebih tinggi daripada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti *Lactobacillus* tidak menekan perkembangan bobot badan tikus putih yang diberi pakan hiperkolesterolemia. Hasil ini berbeda dengan penelitian Hotimah (2003), yang menunjukkan bahwa konsumsi minuman benalu teh terfermentasi dapat menekan

perkembangan bobot badan tikus dengan pakan hiperkolesterolemia.

KESIMPULAN

Pemberian pakan hiperkolesterolemia berpengaruh meningkatkan perkembangan bobot badan tikus putih wistar, sedangkan pemberian bakteri *Lactobacillus* tidak menekan perkembangan bobot badan tikus putih wistar dengan pakan hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, M.S. and J.L. Goldstein. 1991. *Drugs Used in the Treatment of Hiperlipoproteinemia; Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8th edition. New York: Mc.Graw Hill Book.
- Cartney, M.M. 1997. *Enzymes, Probiotics and Antioxidant*. New York, USA: Mediterranean Synergy™ Awareness Corporation.
- Cook, R.P. 1958. *Cholesterol: Chemistry, Biochemistry and Pathology*. New York: Academic Press.
- Conway, P.L., S.L. Gorbach, and B.R. Goldin. 1987. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to internal cell. *Journal of Dairy Science* 70:1-12.
- Dalimartha, N.S. 2001. *36 Resep Tumbuhan untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Darnell, J., H. Lodish, and D. Baltimore. 1986. *Molecular Cell Biology*. New York: Scientific American Books Inc.
- Fox, S.M. 1988. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. *Veterinary Medicine*: 806-830.
- Ganong, W.F. 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi Ke-17. Penerjemah: Widjajakusuma, M.Dj. Jakarta: EGC.
- Gilliland, S.E. and M.W. Brashears. 1997. *Influence of pH During Growth on Removal of Cholesterol*. www.osu.com.html.
- Girindra, A. 1993. *Biokimia I*. Jakarta: Gramedia.
- Grundy, S.M. 1991. Multifactorial etiology of hipercholesterolemia; implication for prevention of coronary heart disease. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 11: 1619-1635.
- Gunawan. 2003. *Uji Kemampuan Probiosis Lactobacillus Strain lokal dan Analisis Asam Organik Yang Dihasilkan Dalam Menurunkan Kolesterol Secara In Vitro*. [Skripsi]. Purwokerto: Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman.
- Hotimah B. 2003. *Efek Pemberian Minuman Benalu Teh Terfermentasi Scurrula atropurpurea (BL.) Dans. Oleh Konsorsium Acetobacter-Saccharomyces terhadap Tikus Putih Hiperkolesterolemia*. [Skripsi]. Bogor: Jurusan Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Kartini T.A. 2002. *Potensi Probiotik Lactobacillus acidophilus dan Mikroflora Kefir sSebagai Antihiperkolesterolemia*. [Skripsi]. Bogor: Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Kuswinarti dan N.C. Sugiono. 1990. Efek Ekstrak Temu Giring (*Curcuma heyneae* Val. & v. Zijp) Terhadap Konsentrasi Kolesterol Darah Tikus Jantan. *Phyto Medica* 1:120-127.
- Lestari K. dan A. Muchtadi. 1997. *Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia) pada Tikus*. [Laporan Penelitian]. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, dan V.W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi ke-24. Jakarta: EGC.
- Usman and A. Hasono. 1999. Bile tolerance, taurocholate deconjugation and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri strain*. *Journal of Dairy Science* 82:243-248.
- Vodjani, A. 2003. *How Probiotics Help Lower Cholesterol*. www.natren.com.
- Voet, D., J.G. Voet, and C.W. Pratt. 1999. *Fundamentals of Biochemistry*. Brisbane: John Wiley and Sons.