

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tikus Sebagai Hewan Coba

Hewan percobaan adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut (Smith and Mangkoewidjojo, 1988). Penelitian menggunakan hewan coba dikarenakan sistem kerja tubuh hewan memiliki banyak kesamaan dengan manusia. Penelitian menggunakan hewan coba telah mengungkapkan informasi yang tidak bisa didapatkan dari sumber lain seperti: memahami bagaimana tubuh bekerja, menemukan pengobatan untuk suatu penyakit, menguji obat baru, dan mengevaluasi prosedur medis sebelum diaplikasikan ke manusia (*American Association for Laboratory Animal Science*, 2003). Selain itu, alasan tetap diperlukannya hewan coba pada penelitian adalah untuk meminimalisasi keragaman dari subjek penelitian, variabel penelitian lebih mudah dikontrol, daur hidup lebih pendek sehingga dapat dilakukan penelitian yang bersifat multigenerasi, pemilihan jenis hewan dapat disesuaikan dengan kepekaan hewan terhadap materi penelitian yang dilakukan, biaya relatif murah, dapat dilakukan pada penelitian yang berisiko tinggi, mendapatkan informasi lebih mendalam dari penelitian yang dilakukan karena dapat membuat seediaan biologi dari organ hewan yang digunakan, serta dapat digunakan untuk uji keamanan, diagnostik dan toksisitas (Rustiawan dan Vanda, 1990 dalam Ridwan, 2013). Hewan yang dapat digunakan sebagai hewan coba pada penelitian adalah hewan pengerat, anjing, kucing, kelinci, domba, babi, ikan, katak, burung, dan primata lain yang bukan manusia. Hewan pengerat seperti tikus dan

hamster merupakan hewan yang lebih sering digunakan sebagai *animal model* atau hewan coba. Lebih dari 90% penelitian menggunakan tikus dan hewan pengerat lainnya. Selain memiliki sistem kerja tubuh yang menyerupai manusia, hewan pengerat banyak dipilih karena ukurannya yang kecil, mudah penanganan dan perawatannya serta harganya tidak terlalu mahal (*American Association for Laboratory Animal Science*, 2003).

Saat ini, beberapa galur (*strain*) tikus digunakan dalam penelitian di laboratorium hewan coba di Indonesia, antara lain adalah *wistar* dan *sprague-dawley*. *Wistar* berasal dan dikembangkan di Institut Wistar sedangkan *sprague-dawley* merupakan tikus albino yang dihasilkan di tanah pertanian Sprague-Dawley (Marice, 2010 dalam Ridwan, 2013). Terdapat perbedaan antara tikus (*Rattus norvegicus*) galur *wistar* dan *sprague-dawley* yang diuraikan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Perbandingan tikus (*Rattus norvegicus*) galur *wistar* dan *sprague-dawley*

Perbandingan	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	
	<i>Sprague Dawley</i>	<i>Wistar</i>
Konsumsi pakan per hari	5g/100 g berat badan	
Usia dewasa	8 minggu	8 minggu
Aplikasi pada penelitian	<i>General multi purposes model</i> , pengujian keamanan dan zat gizi, <i>oncology</i>	<i>General multi purposes model</i> , pengujian penyakit infeksius, pengujian keamanan dan <i>efficacy</i>

(Charles River laboratories Inc; Nutrition. *et al.*, 1995)

Tikus yang biasa dipilih pada beberapa penelitian adalah tikus jantan galur *wistar* dengan alasan tikus galur *wistar* dapat digunakan pada penelitian metabolisme dan zat gizi (Janvier Labs, 2013). Selain itu tikus galur *wistar* juga dapat digunakan pada penelitian obesitas karena mudah untuk peningkatan berat badan dengan pemberian diet tinggi lemak (Angela and Gadja, 2008) Pemilihan jenis kelamin jantan karena tikus jantan tidak terpengaruh secara hormonal

(Kram, 2001 dalam Fridintya, 2011). Hormon yang dapat mempengaruhi induksi kolesterol adalah hormon esterogen (Wibowo, 2009). Usia tikus yang dipilih adalah 3 bulan karena pada usia 6 minggu, kadar serum kolesterol pada tikus akan meningkat dan kemudian dapat menurun lagi dalam beberapa minggu. Selain itu, kadar serum kolesterol mencapai kadar minimum pada usia 12 minggu dan setelah itu dapat meningkat lagi (Kritchevsky, 1993 dalam Wibowo, 2009).

2.2 Penelitian Menggunakan Hewan Coba

Dalam penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, perlu diterapkan prinsip 3 R dalam protokol penelitian, yaitu: *replacement*, *reduction*, dan *refinement* (Ball *et al.*, 1995). *Replacement* adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan. *Reduction* diartikan sebagai pemanfaatan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Jumlah minimum biasa dihitung menggunakan rumus *Frederer* yaitu $(n-1)(t-1) > 15$, dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan (Shaw *et al.*, 2002). *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi (*humane*), memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti hewan, serta meminimalisasi perlakuan yang menyakitkan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba sampai akhir penelitian. Pada dasarnya prinsip *refinement* berarti membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi yaitu bebas dari rasa lapar dan haus, dengan memberikan akses makanan dan air minum yang sesuai dengan jumlah yang memadai baik jumlah dan komposisi zat gizi untuk kesehatannya. Salah satu penerapan prinsip *refinement* adalah

dengan membebaskan dari rasa lapar dan haus melalui pemberian pakan (Horwitz, 2000; Bousfield, 2010).

2.3 Diet Standar untuk Hewan Coba

Diet standar untuk hewan coba dibuat untuk membantu penelitian pada hewan coba. Diet standar ini dibuat secara homogen untuk tiap perlakuan agar penelitian yang dijalankan tersebut dapat menghasilkan hasil yang akurat dan tidak bias. Selain itu, diet yang terstandar dapat digunakan sebagai acuan perlakuan untuk setiap hewan coba. Diet standar seharusnya diformulasikan dengan baik supaya dapat menunjukkan hasil yang valid pada percobaan toksisitas atau onkogenisitas pada laboratorium yang berbeda. Komposisi diet secara umum terdiri dari pati, lemak, antioksidan, protein, serat, mineral, dan vitamin (Reeves *et al.*, 1993).

Terdapat tiga jenis pakan umum yang diberikan untuk tikus laboratorium yaitu diet untuk perkembangbiakan, diet untuk pemeliharaan dan diet untuk perlakuan. Diet untuk perkembangbiakan mengandung protein dan energi yang cukup untuk fetus selama kehamilan dan untuk produksi susu selama laktasi (National Research Council, 1978; Weihe, 1989). Beberapa contoh dari diet untuk perkembangbiakan yaitu AIN-93 G (Reeves *et al.*, 1993;), PAR-S fase *layer* dan sebagainya (Muhammad, 2011). Diet untuk pemeliharaan adalah diet yang distandarisasi sesuai dengan kondisi dan kebutuhan tikus (National Research Council, 1978; Waihe, 1989). Beberapa contoh dari diet untuk pemeliharaan yaitu diet normal standar PAR-S (Muhammad, 2011), diet normal standar AIN-93M (Reeves *et al.*, 1993;), dan diet normal standar 2014S (Harlan Laboratories, 2014). Diet untuk perlakuan yaitu diet yang diberikan kepada hewan coba untuk membuat hewan coba berada dalam kondisi spesifik yang

diinginkan (Rita, 2001). Beberapa contoh dari diet untuk perlakuan yaitu diet standar tinggi karbohidrat, diet aterogenik, diet hiperkolesterol, diet tinggi lemak dan sebagainya. Diet standar tinggi karbohidrat merupakan formulasi dari diet normal standar PAR-S dengan penambahan glukosa (Tsalissavrina, 2006). Diet aterogenik merupakan formulasi dari diet normal standar PAR-S dengan penambahan kolesterol, asam kolat, dan minyak babi (Endang, 2009). Diet hiperkolesterol merupakan formulasi dari diet normal standar yang memiliki komposisi jagung, tepung ikan, bungkil kedelai, Mbm, polar, minyak, kalsium dan fosfor yang kemudian ditambahkan kolesterol, kuning telur ayam, lemak kambing dan minyak kelapa (Hardiningsih, 2006). Diet tinggi lemak merupakan formulasi dari diet normal standar AIN-93 M dengan penambahan *copha* dan *lard*, dan sebagainya (Handayani, 2011).

2.3.1 Diet Normal Standar PAR-S

Diet normal yang biasa digunakan di Indonesia sebagai pakan hewan coba tikus adalah produk *comfeed* PAR-S komersial yang dicampur dengan tepung terigu dan air. Komposisi dari diet normal standar PAR-S yaitu *comfeed* PAR-S dan tepung terigu dengan perbandingan 2 : 1 (Adi dkk, 2012). Kandungan gizi dari komposisi diet normal standar PAR-S terdapat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi Energi dan Zat Gizi per 100 gram Bahan

Zat Gizi	<i>Comfeed</i> PAR-S	Tepung Terigu
Energi (kkal)	344	340
Protein (gram)	19	11
Lemak (gram)	4	0,9
Karbohidrat (gram)	58	72

(Adi dkk, 2012)

Comfeed PAR-S yang diproduksi oleh PT. Wonokoyo Jaya Corporindo Surabaya memiliki kandungan zat gizi yang diuraikan pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi Zat Gizi PAR-S Komersial
Pakan Ayam Buras (Umur: Ayam Buras Dewasa)
Berat Bersih 50 kg

Zat Gizi	Persentase
Air	Maks. 12%
Protein kasar	12-14%
Lemak kasar	Min. 14%
Serat kasar	Maks. 6%
Abu	Maks. 7,5%
Kalsium	0,9-1,2%
Fosfor	0,6-0,8%

Bahan baku yang digunakan adalah jagung, katul, pollard, DDGS, vapeseed, copra meal, biji batu, CPO, vitamin dan mineral

(PT. Wonokoyo Jaya Corporindo, Surabaya)

Analisa komposisi atau kandungan yang terdapat dalam diet standar

PAR-S meliputi:

a) DDGS

DDGS (*Distiller's Dried Grains With Solubles*) merupakan produk yang diperoleh dari fermentasi jagung dengan *yeast* atau campurannya dimana jagung sebagai bahan utamanya (AAFCO, 1974 dalam Tangendjaja, 2008). DDGS memiliki komposisi kimia 3 kali lipat lebih banyak daripada komposisi jagung. Kandungan protein dalam DDGS mencapai 27%, lemak mencapai > 9%, kadar serat, mineral, natrium dan sulfurnya lebih tinggi dari jagung. DDGS juga dapat digunakan sebagai sumber energi. Kandungan fosfor dalam DDGS meningkat selama masa fermentasi (Tangendjaja, 2008).

Komposisi DDGS selalu bervariasi tergantung pabrik yang menghasilkannya. Kandungan *unidentified factors* pada DDGS digunakan untuk memacu pertumbuhan maupun meningkatkan daya tetas telur. Penggunaan DDGS dalam jumlah tinggi (sampai 30%) akan berpengaruh pada masa hidup yang lebih rendah. Selain itu, DDGS juga mengandung lemak yang tinggi yaitu > 9% dan jenis asam lemaknya kebanyakan

adalah asam lemak jenuh sehingga mudah teroksidasi (USGC, 2007 dalam Tangendjaja, 2008).

b) *Feed Additives*

Pakan ayam komersial (ayam broiler) selalu menggunakan *feed additives*, yang salah satu bahan utamanya adalah antibiotika. Pemberian antibiotika dalam pakan bertujuan untuk menambah berat badan dengan mekanisme merangsang pembentukan vitamin B kompleks dalam saluran pencernaan oleh mikroba (Chopra dan Robert, 2001). Antibiotika yang digunakan dapat meninggalkan residu dan dapat menimbulkan dampak negatif salah satunya adalah risiko karsinogenik (Wijayanti *dkk.*, 2009).

c) Jagung

Jagung merupakan salah satu sumber karbohidrat terbaik dan kandungan lemaknya membuat jagung terasa sedap. Kandungan lemak yang tinggi pada jagung mudah teroksidasi sehingga mempercepat terjadinya ketengikan (Subandiyono, 2009).

2.3.2 Diet Normal Standar AIN-93 M

AIN-93 merupakan pakan yang direkomendasikan oleh *American Institute of Nutrition* pada tahun 1993 sebagai pakan untuk tikus atau hewan pengerat pada penelitian laboratorium yang merupakan pembaruan dari standar diet AIN-76A. Pakan AIN-93 ini terdiri dari 2 macam : yaitu AIN-93 G dan AIN-93 M. AIN-93 G merupakan pakan yang digunakan untuk pertumbuhan saat hamil dan menyusui pada tikus. Sedangkan untuk AIN-93 M merupakan pakan yang digunakan untuk menjaga pertumbuhan tikus sampai dewasa (Reeves *et al.*, 1993). Perbedaan antara diet AIN-93 G dan diet AIN-93 M tidak terlalu berbeda

jauh. Keduanya hanya berbeda pada jumlah komposisi bahan-bahan yang digunakan seperti yang diuraikan pada tabel 2.4. Selain itu, untuk kandungan zat gizi yang ada dalam diet AIN-93 M diuraikan pada tabel 2.5.

Tabel 2.4 Perbandingan Komposisi Diet AIN-93 G dengan AIN-93 M

Komposisi	AIN-93 G g/kg diet	AIN-93 M g/kg diet
Cornstarch	397,486	465,692
Casein (≥ 85% protein)	200,000	140,000
Dextrinized cornstarch (90-94% tetrasaccharides)	132,000	155,000
Sucrose	100,000	100,000
Soy bean oil (no addictives)	70,000	40,000
Fiber	50,000	50,000
Mineral mix (AIN-93G-MX)	35,000	-
(AIN-93M-MX)	-	35,000
Vitamin mix (AIN-93-VX)	10,000	10,000
L-Cystine	3,000	1,800
Choline bitartrate (41.1% choline)	2,500	2,500
Tert-butylhydroquinone	0,014	0,008

(America Institute of Nutrition, 1993 dalam Reeves *et al.*, 1993)

Tabel 2.5 Kandungan Zat Gizi Diet AIN-93M

Zat gizi	Jumlah/kg diet	Zat Gizi
Total Energi	3601 kkal	Karbohidrat 80,79%
Lemak	40 g	Protein 13,97%
Karbohidrat	727,3 g	Lemak 9,99%
Protein	125,8	Energi 3,601 kkal/g pakan
Mineral	5000 mg	
Vitamin	30 mg	

(America Institute of Nutrition, 1993 dalam Reeves *et al.*, 1993)

Dalam komposisi AIN-93 M sudah disesuaikan dengan kebutuhan tikus atau hewan coba, sehingga AIN-93 M dapat digunakan sebagai pertimbangan standar diet untuk hewan coba. AIN-93 M memiliki kadar protein dan lemak yang rendah dan diberikan pada tikus yang tidak dalam kondisi khusus tertentu. AIN-93 M dapat dibuat dari bahan-bahan yang tersedia dengan biaya yang wajar dan dapat diproduksi untuk berbagai aplikasi penelitian (Reeves *et al.*, 1993).

Analisa kandungan zat gizi yang terdapat dalam diet standar AIN-93 M meliputi:

a) Karbohidrat

Sumber karbohidrat dalam AIN-93 M adalah *cornstarch* dan sukrosa. Bentuk karbohidrat yang digunakan sebagian besar adalah serat larut air. Selain itu *dextrinized starch* yang terkandung dalam *cornstarch* merupakan *cornstarch* yang terhidrolisa menjadi gula sederhana dan mengandung lebih dari 90% *tetrasaccharides*. Selain itu, ada penambahan sukrosa sebagai pemanis dan untuk meningkatkan cita rasa pakan (Reeves, 1997).

b) Protein

Sumber protein dalam AIN-93 M adalah *casein*, *isolated soybean protein*, *egg white solid*, *lactalbumin* dan *wheat gluten*. Penggunaan *casein* sebagai sumber protein dalam AIN-93 M karena komposisi asam amino yang lengkap, banyak tersedia dan harganya relatif lebih murah dari sumber yang lain. Namun dalam *casein* ini memiliki kandungan *sulfur amino acid* yang terbatas khususnya *cystine/cysteine* (Reeves, 1997). Penggunaan dari 140 g/kg *casein* dan 1,8 g/kg *L-cystein* dalam diet AIM-93M akan mencukupi *sulfur amino acid* untuk pemeliharaan hewan pengerat dewasa (Reeves, 1997).

c) Lemak

Sumber lemak dalam AIN-93 M adalah asam lemak esensial yaitu *linoleic* dan *linolenic*. Minyak kacang kedelai dapat mencukupi kebutuhan *linoleic* dan *linolenic*. Jumlah yang direkomendasikan untuk pakan AIN-93 M adalah 40 gram minyak kedelai per kg pakan (Reeves, 1997).

d) Antioksidan

Kandungan sumber lemak PUFA pada minyak kedelai dalam diet AIN-93 M mudah teroksidasi. Penggunaan *Tertiary-butylhydroquinone* (TBHQ) dalam diet AIN-93M berfungsi dalam mencegah terjadinya oksidasi. Rekomendasi penggunaan *Tertiary-butylhydroquinone* (TBHQ) dalam diet AIN-93 M adalah 200 mg/kg minyak kedelai (Reeves, 1997).

e) Serat

Serat bermanfaat dalam mengatur mikroflora yang ada di usus. Kandungan serat di dalam AIN-93 M mengandung 50 g per kg diet. Mineral yang terkandung dalam serat diantaranya adalah zat besi. Zat besi yang direkomendasikan oleh *The Solka Floct (FS & the copper status of animals, especially when copper is limiting D, St. Louis, MO)* adalah sekitar 100 mg per 1 kg serat (Reeves, 1997).

f) Vitamin dan mineral

Vitamin pada diet mudah teroksidasi sehingga harus benar-benar dijaga pada saat persiapan dan penyimpanan. Mineral mix AIN 93 ditambahkan untuk membantu proses metabolisme spesifik yang ada dalam tubuh (Reeves, 1997). Komposisi vitamin dan mineral dari diet AIN-93 M diuraikan pada tabel 2.6.

Tabel 2.6 Komposisi Mineral dan Vitamin Diet AIN-93M per 1kg diet

Mineral		Vitamin	
Kandungan AIN-93M	Jumlah Kandungan	Kandungan AIN-93M	Jumlah Kandungan
Kalsium	5000 mg	Nicotinic acid	30 mg
Phosporus	3000 mg	Ca panthotenate	15 mg
Magnesium	511 mg	Pyridoxine	6 mg
Sodium	1033 mg	Thiamin	5 mg
Pottasium	3600 mg	Riboflavin	6 mg
Chloride	1613 mg	Folic	2 mg
Sulfur (inorganic)	300 mg	Biotin	0,2 mg
Iron	45 mg	Vitamin B12	25 µg
Zinc	35 mg	Vitamin K	860 µg
Manganese	10 mg	Vitamin E	75 IU
Copper	6 mg	Vitamin A	4000 IU
Iodine	0,2 mg	Vitamin D	1000 IU
Molybdenum	0,15 mg	Other nutrients	
Selenium	0,17 mg	Choline	1000 mg
Silicon	5 mg		
Chromium	1 mg		
Fluoride	1 mg		
Nickel	0,5 mg		
Boron	0,5 mg		
Lithium	0,1 mg		
Vanadium	0,1 mg		

(*America Institute of Nutrition*, 1993 dalam *Reeves et al.*, 1993)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani *et al.* (2011), dan Handayani *et al.* (2012) dengan memodifikasi dari pembuatan diet normal standar AIN-93 M oleh *America Institute of Nutrition* (1993) dalam *Reeves et al.* (1993) mempunyai komposisi yaitu seperti yang diuraikan pada tabel 2.7.

Tabel 2.7 Komposisi Pakan Standar Normal Modifikasi AIN-93M (g/kg)

Nama Bahan	g/kg	Nilai Gizi
Tepung jagung	620	Karbohidrat: 74% total energi
Sucrose	100	Lemak: 9% total energi
Soybean oil	40	Protein: 15% total energi
Gelatin	65	<i>Energy density: 3,9 kcal/g</i>
Casein	80	
Bran (CMC)	50	
Mineral Mix-AIN	35	
Vitamin Mix-AIN	10	

(Handayani *et al.*, 2011; Handayani *et al.*, 2012)

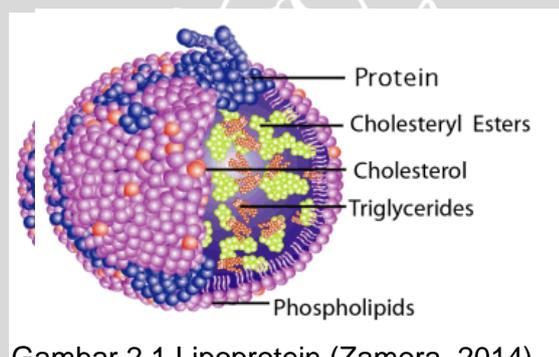
2.4 Lemak

Klasifikasi lemak atau lipida ada dua, yaitu berdasarkan komposisi kimia dan berdasarkan fungsi biologiknya. Klasifikasi lemak berdasarkan komposisi kimia terdiri dari (1) lemak sederhana yaitu lemak netral dan ester asam lemak dengan alkohol berberat molekul tinggi, (2) lemak majemuk yaitu fosfolipida dan lipoprotein, (3) lemak turunan yaitu asam lemak dan sterol, dan (4) vitamin larut lemak. Klasifikasi lemak menurut fungsi biologiknya di dalam tubuh dibedakan menjadi dua yaitu: (1) lemak simpanan yang terdiri dari trigliserida dan disimpan dalam depot-depot jaringan tumbuhan maupun hewan. Lemak ini merupakan simpanan energi paling utama di dalam tubuh manusia dan hewan serta merupakan sumber zat gizi esensial. Komposisi asam lemak trigliserida yang disimpan dalam tubuh tergantung pada susunan makanan yang dimakan. (2) lemak struktural yang terutama terdiri atas fosfolipida dan kolesterol. Di dalam jaringan lunak lemak struktural ini, merupakan ikatan struktural penting setelah protein. Di dalam otak, lemak struktural terdapat dalam konsentrasi tinggi. Lemak larut dalam pelarut non polar seperti etanol, eter, kloroform, dan benzena (Almatsier, 2009). Lemak plasma bila diekstraksi dengan pelarut lemak terjadi pemisahan berbagai kelompok, yaitu; triasilgliserol, fosfolipid, kolesterol bebas

dan ester kolesterol dan juga fraksi asam lemak rantai panjang yang tidak teresterifikasi (Murray *et al.*, 2003).

2.4.1 Lipoprotein

Lipoprotein merupakan suatu kompleks molekul dari lemak dan protein yang beredar dalam darah, suatu makromolekul yang berbentuk bola, dan bagian dalamnya terdiri dari lemak-lemak netral, seperti trigliserida dan ester kolesterol, dan dikelilingi oleh bagian permukaan yang bersifat polar dan terdiri dari apolipoprotein, fosfolipid, dan kolesterol bebas. Adanya komponen yang polar inilah yang menyebabkan lipoprotein dapat larut dalam plasma (Sofian, 2011).



Gambar 2.1 Lipoprotein (Zamora, 2014)

Terdapat lima kelas utama lipoprotein yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL). Kilomikron, VLDL dan IDL merupakan partikel yang kaya akan trigliserida. Kilomikron berfungsi membawa lemak eksogen dari usus ke semua sel, sedangkan VLDL membawa lemak endogen dari hati ke sel. Selain kaya trigliserida, VLDL juga mengandung apolipoprotein B (apoB), apolipoprotein C (apo C) dan apolipoprotein E (apo E). IDL adalah lipoprotein yang terbentuk pada saat konversi VLDL menjadi LDL. Lipoprotein ini hanya terdapat untuk sementara dan tidak dapat dideteksi pada plasma normal. Lipoprotein dibentuk di usus dan hati. Lipoprotein akan mengalami modifikasi

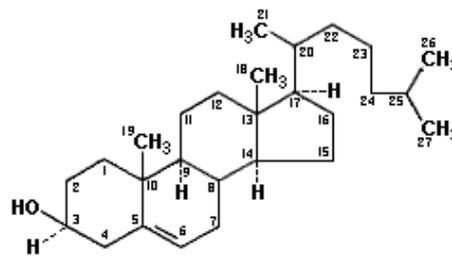
oleh enzim setelah disekresi, dan *remnant* yang terbentuk diambil oleh reseptor pada permukaan sel. Proses ini diatur oleh komponen protein yang terdapat pada partikel yang disebut apolipoprotein (Pusparini, 2006).

Kelas lipoprotein yang lebih kecil dan sebagian besar terdiri dari kolesterol adalah HDL dan LDL. LDL dibentuk dari VLDL dan IDL, berfungsi untuk membawa kolesterol ke sel, sedangkan HDL berfungsi membawa kolesterol dari sel ke hati. LDL dibentuk melalui jalur endogen. Hati merupakan sumber utama lemak endogen. Kolesterol dapat berasal dari hati atau dari lipoprotein seperti *remnant* kilomikron. Lemak ini dibawa dari hati dalam bentuk VLDL yang mengandung apo B, apo C dan apo E. Setelah disekresi VLDL akan mendapat tambahan apo C dari HDL. Pada jaringan perifer, trigliserida VLDL berkurang karena dihidrolisis oleh lipoprotein lipase. *Remnant* VLDL atau IDL yang mengandung trigliserida dan kolesterol selain apo B dan apo E, dapat dengan segera diambil oleh hati atau menjadi LDL akibat hilangnya trigliserida dan apo E. LDL akan bertahan lebih lama dalam plasma. Lipoprotein ini akan melekat pada reseptor spesifik pada permukaan sel (reseptor LDL atau reseptor apo B/E). Reseptor ini terdapat di semua sel tetapi yang paling banyak adalah di hati. Setelah masuk ke dalam sel, partikel LDL akan dipecah oleh lisosom dan kolesterol yang dilepaskan digunakan untuk pembentukan membran sel atau untuk sintesis steroid (Pusparini, 2006).

2.4.2 Kolesterol

Kolesterol adalah salah satu sterol yang termasuk dalam kelompok lemak yang terdapat dari luar tubuh berupa bahan makanan (kolesterol eksogen) dan dibentuk di dalam tubuh (kolesterol endogen) melalui biosintesis kolesterol. Kolesterol terdapat di jaringan dan plasma sebagai kolesterol bebas atau dalam

bentuk simpanan, yang berikatan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesteril. Ester kolesteril dalam makanan dihidrolisa menjadi kolesterol yang kemudian diserap oleh usus. Bersamaan dengan kolesterol yang disintesis di usus, kolesterol ini kemudian dimasukkan ke dalam kilomikron. Dari kolesterol yang diserap, 80-90% mengalami esterifikasi dengan asam lemak rantai panjang di mukosa usus. Sembilan puluh lima persen kolesterol kilomikron disalurkan ke hati dalam bentuk sisa kilomikron (*chylomicron remnants*), dan sebagian besar kolesterol yang diekskresikan di hati dalam bentuk VLDL dipertahankan selama pembentukan IDL dan akhirnya LDL. Kolesterol dari makanan dan dari sintesa di usus dapat mempengaruhi kadar kolesterol total (Murray *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Kolesterol (Zamora, 2014)

Pada tubuh manusia kolesterol banyak dijumpai dalam darah, empedu, bagian luar kelenjar adrenal, dan jaringan saraf (Lubis, 2009). Sedangkan pada bahan makanan yang mengandung tinggi kolesterol adalah kuning telur, daging merah, otak dan hati. Kolesterol tidak disintesis oleh tumbuhan, sayur dan buah-buahan (Manurung, 2004). Kolesterol memiliki fungsi penting bagi tubuh yaitu:

- a. Pengaturan struktur dan fungsi sel membran.

Molekul kolesterol yang rigid mengeraskan (menjadikan kaku) bilayer fosfolipid dan menjadikannya kurang permeabel terhadap molekul-molekul kecil. Pada beberapa sel membran plasmanya mengandung kolesterol sebanyak 25 % (Manurung, 2004).

- b. Sintesis asam empedu yang menguraikan lemak-lemak dalam pencernaan.
Hati mensintesis asam empedu (garam-garam) dari kolesterol, menyimpannya dalam kantung empedu dan melepaskannya ke usus halus untuk melarutkan atau mengadsorpsi lemak-lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak. Struktur kolesterol mirip dengan asam empedu kolat dan glikolat (Manurung, 2004).
- c. Produksi macam-macam hormon steroid
Kolesterol adalah prekursor beberapa hormon-hormon steroid yang bertanggung jawab pada perkembangan seksual dan kontrol metabolisme. Kolesterol adalah prekursor vitamin D. Vitamin D mengontrol kadar kalsium dalam aliran darah (Manurung, 2004).

2.4.3 Biosintesis Kolesterol

Sekitar separuh kolesterol tubuh berasal dari proses sintesis (sekitar 700 mg/hari) dan sisanya diperoleh dari makanan. Hati dan usus masing-masing menghasilkan sekitar 10% dari sintesis total pada manusia. Hampir semua jaringan yang mengandung sel berinti mampu membentuk kolesterol, yang berlangsung di retikulum endoplasma dan sitosol. Karbohidrat, protein, dan lemak dikatabolisme membentuk Acetyl-CoA yang merupakan komponen penting untuk biosintesis kolesterol. Terlalu banyak energi yang dikonsumsi terutama dari karbohidrat dan lemak dapat membentuk Acetyl-CoA yang lebih banyak pula sehingga meningkatkan proses biosintesis kolesterol. Selain itu, asam lemak non esensial, asam lemak *trans*, dan lemak jenuh merupakan sumber Acetyl-CoA yang berlebihan dan meningkatkan proses biosintesa kolesterol (Bloch and Langdon, 1952 in Thomas *et al.*, 2012). Tahapan biosintesis kolesterol adalah:

- (1) Sintesis mevalonat dari asetil-KoA,
- (2) Pembentukan unit isoprenoid dari

mevalonat melalui pengeluaran CO₂, (3) Kondensasi isoprenoid untuk membentuk skualen, (4) Siklisasi skualen menghasilkan steroid induk, lanosterol, (5) Pembentukan kolesterol dari lanosterol. Peningkatan kolesterol sel terjadi karena penyerapan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor, sintesis kolesterol, dan hidrolisis ester kolesteril oleh enzim ester kolestril hidrolase. Penurunan disebabkan oleh efluks kolesterol dari membran ke HDL melalui *ATP-Binding Cassette Transporter A1* (ABCA-1) atau *Scavenger Receptor class B type I* (SR-B1), esterifikasi kolesterol oleh *Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase* (ACAT), dan pemakaian kolesterol untuk membentuk steroid lain misalnya hormon, atau asam empedu di hati (Murray *et al.*, 2009).

Kelebihan kolesterol diekskresikan dari hati dalam empedu sebagai kolesterol atau garam empedu. Sebagian besar garam empedu yang diekskresikan diserap kembali ke dalam sirkulasi porta dan dikembalikan ke hati sebagai bagian dari sirkulasi enterohepatik. Peningkatan kadar kolesterol yang terdapat di VLDL, IDL, atau LDL menyebabkan aterosklerosis, sedangkan HDL dalam kadar tinggi memberikan efek protektif (Murray *et al.*, 2009).

2.4.4 Faktor yang Mempengaruhi Kadar Kolesterol

Kadar kolesterol di dalam darah manusia dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: penyakit degeneratif, gaya hidup, jenis kelamin, herediter, makanan, lingkungan dan stress emosional. Penyakit yang menyebabkan peningkatan berkepanjangan kadar VLDL, IDL, sisa kilomikron, dan LDL dalam darah (misal: diabetes mellitus, nefrosis lipid, hipotiroidisme, dan penyakit hiperlipidemia lainnya) sering disertai oleh aterosklerosis yang bersifat prematur dan lebih parah. Juga terdapat hubungan terbalik antara kadar HDL dan penyakit jantung koroner. Faktor yang berperan dalam penyakit jantung koroner adalah tekanan

darah tinggi, merokok, jenis kelamin laki-laki, obesitas (terutama obesitas abdominal), kurang berolahraga, dan kebiasaan minum air yang kurang mengandung mineral. Faktor herediter memiliki peran paling besar dalam menentukan kadar kolesterol serum seseorang, namun faktor makanan dan lingkungan juga berperan. Cara untuk mengontrol makanan adalah dengan mengganti asam lemak jenuh dengan asam lemak tak jenuh ganda dan asam lemak tak jenuh tunggal. Dibandingkan dengan karbohidrat lain, sukrosa dan fruktosa menimbulkan efek yang lebih besar dalam meningkatkan kadar lipid darah terutama triasilgliserol. Faktor yang menyebabkan peningkatan *Free Fatty Acid* (FFA) plasma diikuti oleh meningkatnya pembebasan triasilgliserol dan kolesterol ke dalam sirkulasi VLDL adalah stress emosional dan minum kopi (Murray *et al.*, 2009).

Faktor yang mempengaruhi kadar kolesterol tikus selain diet (kolesterol eksogen) dan biosintesis (kolesterol endogen) adalah hormon tiroid. Tikus relatif resisten terhadap perubahan profil lipid karena tikus cenderung hipertiroid. Hormon tiroid akan mengaktifkan hormon sensitif lipase sehingga proses katabolisme lipid dalam tubuh tikus tinggi (Murray *et al.*, 2003). Selain itu, penggunaan *growth hormone* (GH) dalam jangka panjang akan menurunkan kadar kolesterol dan sintesa kolesterol hati (Verhelst, 2009).

Comfeed PARS pada diet normal standar PARS memiliki komposisi DDGS dengan kandungan lemak tinggi >9% yang sebagian besar merupakan lemak jenuh dan *feed additives* yang salah satu bahan utamanya adalah antibiotika dapat menambah berat badan (USGC, 2007). Diet normal standar AIN 93 M memiliki komposisi minyak kedelai (*soybean oil*) yang merupakan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dan sumber lemak esensial yaitu *linoleic* dan

linolenic. Selain asupan lemak, asupan serat juga dapat mempengaruhi kadar kolesterol total pada serum. Berdasarkan manfaat serat makanan bagi kesehatan yang diakui oleh *The Food and Drug Administration* (FDA) yang didukung oleh berbagai penelitian terkait serat makanan, serat larut telah terbukti dapat meningkatkan *fecal bulking* dan viskositas dan meningkatkan ekskresi empedu sehingga dapat mengurangi kadar total kolesterol dan LDL pada serum. Selain itu, serat yang difermentasi di usus besar menghasilkan *short chain fatty acid* (SCFA). SCFA khususnya propionat telah terbukti dapat menghambat sintesis kolesterol (Lattimer and Haub, 2010).

Perbedaan komposisi dari dua standar diet yang diberikan kepada tikus diduga dapat mempengaruhi kadar kolesterol tikus. Kadar normal kolesterol total manusia adalah ≤ 200 mg/dL ($\leq 5,2$ mmol/L) (DiaSys, 2009). Sedangkan kadar kolesterol tikus berdasarkan beberapa penelitian dengan menggunakan diet normal standar PAR-S terdapat pada tabel 2.8 dan menggunakan diet normal standar AIN-93 M pada tabel 2.9. Kadar kolesterol tikus jantan berdasarkan umur terdapat pada tabel 2.10.

Tabel 2.8 Kadar Kolesterol Total Tikus Wistar dengan Diet Normal Standar PAR-S

Waktu Perlakuan	Kadar Kolesterol Total (mg/dL)	Sumber
4 minggu	56,66	Zubaidah dkk, 2014
8 minggu	60,62	Murwani dkk, 2006
9 minggu	105,80	Adiputro dkk, 2013

Tabel 2.9 Kadar Kolesterol Total Tikus Wistar dengan Diet Normal Standar AIN-93 M

Waktu Perlakuan	Kadar Kolesterol Total (mg/dl)	Sumber
4 minggu	71,85	Jariyah <i>et al.</i> , 2013
12 minggu	49,4	Aparicio <i>et al.</i> , 2013
12 minggu	100,15	Pisulewski <i>et al.</i> , 2005

Tabel 2.10 Kadar Kolesterol Total Tikus Jantan Berdasarkan Umur

Umur	Kadar Kolesterol Total (mg/dL)			
	N	Mean	S.D	Range
8-16 minggu	165	58	13	37-85
≥ 17 minggu	68	59	15	37-95

(Giknis and Clifford, 2008)

