

PENGARUH PEMBERIAN KITOSAN TERHADAP KADAR MINERAL DAN KOLESTEROL SERUM KELINCI

I NYOMAN SUARSANA
LABORATORIUM BOKIMIA, FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS UDAYANA DENPASAR, BALI

ABSTRAK

Kitosan adalah polimer polisakarida merupakan suplemen diet yang telah luas digunakan di bidang kedokteran untuk penurun kolesterol dan mengurangi berat badan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsumsi kitosan terhadap kadar kolesterol, trigliserida, kadar glukosa darah serta terhadap kadar mineral kalsium dan fosfat dalam serum. Sebanyak 12 ekor kelinci jantan ras *New Zealand white* berumur 5 bulan dengan bobot badan antara 1,5 – 1,6 kg telah digunakan dalam penelitian ini. Hewan percobaan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok I (kontrol negatif), kelompok II-IV, yaitu kelompok perlakuan yang diberi kitosan masing-masing 1, 2, dan 4%. Kadar total kolesterol dan trigliserida serum di analisis menggunakan metode kalorimetri enzimatis, kadar glukosa darah dianalisis dengan metode biosensor glukose oksidase, kadar kalsium metode *spektrofotometri* serapan atom (AAS), dan fosfat dengan metode *spektrofotometri*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kitosan 2% dan 4% dapat menurunkan kadar total kolesterol, trigliserida, kalsium, dan fosfat serum serta berbeda nyata ($P < 0,05$) dibanding dengan kontrol negatif, dan tidak berpengaruh terhadap kadar glukosa darah.

Kata kunci: *kitosan, kolesterol, trigliserida, kalsium, fosfat, kelinci.*

THE EFFECT OF ADMINISTRATION CHITOSAN ON MINERAL AND CHOLESTEROL CONCENTRATION SERUM IN RABBITS

ABSTRACT

Chitosan is a polysaccharide polymer is a dietary supplement that has been widely used in medicine for lowering cholesterol and reducing weight. This study aims to determine the effect of chitosan intake on cholesterol, triglycerides, blood glucose levels as well as the minerals calcium and phosphate levels in serum. A total of 12 male rabbits of New Zealand white 5 months old with body weight between 1.5-1.6 kg were used in this study. The animals were randomly divided into four treatment groups: group I (negative control), group II-IV, namely chitosan treatment group were given respectively 1%, 2%, and 4%. Levels of total serum cholesterol and triglycerides in analysis kalorimetri enzymatic method, blood glucose analysis by glucose oxidase biosensor method, calcium by atomic absorption spectrophotometri method (AAS), and phosphate spectrophotometri method. The results showed that administration of chitosan 2% and 4% can reduce total cholesterol, triglycerides, calcium, and phosphate and serum significantly

different ($P < 0.05$) compared with negative control, and no effect on blood glucose levels.

Key words: *chitosan, cholesterol, triglycerides, calcium, phosphate, rabbit*

PENDAHULUAN

Kitosan merupakan polimer polisakarida, secara luas terdistribusi di alam sebagai material eksoskeleton pada udang, kepiting, lobster, dan serangga serta jumlahnya berlimpah kedua setelah selulosa (Nunthanid *et al.*, 2001; Tajik *et al.*, 2008).

Secara kimia kitosan dapat dibuat dari khitin melalui reaksi *N-deasetilasi* (proses deasetilasi) menggunakan larutan basa kuat (Fan *et al.*, 2006). Proses deasetilasi ini secara alami terjadi di dalam tubuh, yaitu mulai dari lambung terjadi pengasaman kemudian berlanjut ke dalam usus terjadi proses deasetilasi, namun derajat deasetilasi rendah sehingga kitosan yang dihasilkan tidak optimal. Oleh karena itu pakan ternak yang mengandung tepung dari kitin akan mengalami ini.

Kitosan menjadi bahan yang sangat menarik karena mempunyai banyak kegunaan dalam aplikasi di bidang farmasi dan kedokteran disebabkan karena kemampuannya mudah dicerna dan toksisitasnya sangat rendah (Singla *et al.*, 2001). Kitosan telah digunakan secara luas karena memperlihatkan aksi biologis di berbagai macam bidang mulai dari manajemen limbah dengan menyerap logam berat, industri pengolahan pangan, bidang kedokteran, dan kesehatan (Singla and Chawla, 2001; Lifeng *et al.*, 2005).

Dalam bidang kesehatan kitosan banyak digunakan sebagai penyerap lemak (Singla and Chawla, 2001; Ueno *et al.*, 2001), dan hipokolesterolemia (Antoni, 2005). Penelitian secara *invitro* menunjukkan bahwa bila kitosan dicampur dengan kolesterol akan terjadi reaksi pengikatan, sehingga kolesterol tidak lagi bebas (Hawab, 2002). Terikatnya molekul kolesterol oleh kitosan diharapkan dapat mengurangi masuknya kolesterol berlebih ke dalam peredaran darah.

Kolesterol baru menjadi masalah bila kadarnya di dalam darah melebihi kadar normal dan berlangsung lama. Kondisi kelebihan kolesterol atau disebut

hiperkolesterolemia tentu menjadi perhatian serius terutama karena berhubungan dengan kesehatan khususnya penyakit jantung. Banyak bahan alami maupun sintesis telah digunakan sebagai penurun kadar kolesterol, diantaranya kitosan. Kitosan dikembangkan sebagai bahan farmasi digunakan sebagai hipolipidemia, akan tetapi penggunaan kitosan juga mempunyai efek terhadap makro maupun mikro nutrien.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian suplementasi kitosan pada pakan kelinci. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsumsi kitosan terhadap kadar kolesterol, trigliserida, kadar glukosa darah serta pengaruhnya terhadap kadar mineral kalsium dan fosfat dalam serum.

MATERI DAN METODE

Materi

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan ras *New Zealand white* berumur 5 bulan dengan bobot badan antara 1,5-1,6 kg, kandang pemeliharaan kelinci individu yang terbuat dari besi, ransum standar kelinci dengan kandungan nutrisi dalam 100 g pakan, yaitu lemak (7,77 g), protein (17,81 g), karbohidrat (58,35 g), serat kasar (10,42 g) dan energi (374,5 Kal). Kitosan, kit analisis kolesterol, alkohol, kuvet, spektrofotometer New Gene Sys™ 20, spektrophotometer serapan atom (AAS), sentrifuse, *spoit disposable syringe* 0,5 - 2 cc, *Blood glucose Test Meter GlucoDr™* model AGM-2100, tabung reaksi yang berisi EDTA, kuvet, kuvet mikro, mikropipet, dan alat-alat gelas.

Metode

Pemeliharaan hewan percobaan

Kelinci jantan ras *New Zealand white* sebanyak 12 ekor dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan. Kelompok I adalah kelompok kontrol negatif, yaitu tidak diberi kitosan. Kelompok II, III dan IV adalah kelompok yang masing-masing diberi kitosan 1%, 2% dan 4%. Masa adaptasi dilakukan selama 10 hari dengan memberi ransum standar dan air secara *ad libitum*. Perlakuan dilaksanakan selama 1 bulan. Pada akhir percobaan darah diambil dari *vena auricularis* untuk diambil serum. Serum darah dianalisis kadar kolesterol, dan kadar mineral kalsium dan

fosfat. Kadar glukosa darah diukur langsung dari darah (*whole blood*) vena auricularis.

Analisis kadar glukosa darah.

Sebelum pengukuran kadar glukosa darah, hewan coba dipuasakan 12 jam. Pengambilan darah dilakukan di vena telinga (*Vena auricularis*) dengan menusuk vena dengan jarum kecil no 23. Kadar glukosa darah diukur dengan menggunakan *Blood glucose Test Meter GlucoDr™* model AGM-2100 sesuai prosedur alat. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *GlucoDr™* setelah 11 detik dan kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg/dl.

Analisis kolesterol

Analisis total kolesterol ditentukan dengan uji klorometri enzimatis (metode CHOD-PAP) dan analisis trigliserida dengan metode GPO-PAP menggunakan kit analisis kolesterol dari produk Human (Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH-Germany).

Analisis kalsium serum

Sebanyak 0,1 ml sampel serum ditambahkan dengan 5000 µg/ml potasium sampai volume larutan menjadi 5 ml. Larutan kemudian dipipet dan disemprotkan ke alat spektrophotometer serapan atom (AAS) untuk dibaca konsentrasi sampel tersebut. Kadar kalsium didapat dengan memasukkan hasil absorbansi sampel pada persamaan regresi linier standar yang didapat dari data standar kalsium. Larutan standar kalsium (Ca) dibuat konsentrasi 0, 1, 2, 3 dan 4 µg/ml Ca dan masing-masing konsentrasi mengandung 5000 µg/ml potasium (Na).

Analisis kadar phosphor pada serum

Sampel serum dipipet sebanyak 0,2 ml kedalam tabung reaksi, kemudian ditambah aquadest sebanyak 1 ml lalu ditambah 2,5 ml larutan *trichloroacetic acid* (TCA) 17 %. Larutan sampel divortex (dihomogenkan), dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Filtrat yang dihasilkan dipipet sebanyak 3 ml kedalam tabung reaksi kemudian ditambah larutan A sebanyak 2 ml. Larutan A terdiri atas 10 gr ammonium molibdat ditambah 60 ml aquadest, kemudian

ditambah 28 ml H₂SO₄ 96-98% dan 5 g FeSO₄.7H₂O dan dijadikan 100 ml dengan aquadest. Lalu dibaca segera (5 menit-2 jam) pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm. Hal yang sama dilakukan pula pada larutan standar phosphor dengan konsentrasi mulai 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm dan blanko.

Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Jika perlakuan memberikan pengaruh yang nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan uji beda Duncan pada taraf 5% (Steel dan Torrie, 1993) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

HASIL

Hasil analisis kadar *kolesterol*, mineral dan kadar glukosa darah diperlihatkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Nilai kadar kolesterol, trigliserida, glukosa darah, kalsium, dan fosfat serum kelinci yang diberi kitosan.

Paramater yang diamati (mg/dl)	Kelompok dan % pemberian kitosan dalam ransum			
	KI: 0%	KII: 1%	KIII: 2%	KIV: 4%
Kadar total kolesterol	50,76 ^a	51,05 ^a	44,37 ^b	39,03 ^b
Kadar trigliserida	127,67 ^a	126,41 ^a	125,17 ^a	118,52 ^b
Kadar glukosa darah	92,3 ^a	90,6 ^a	91,3 ^a	89,7 ^a
Kadar Kalsium	11,3 ^a	10,8 ^a	8,9 ^b	6,3 ^c
Kadar Fosfat	6,5 ^a	6,1 ^a	5,1 ^b	3,7 ^c

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil uji berbeda nyata (P<0,05).

Pada Tabel 1 terlihat bahwa, kadar total kolesterol serum kelinci pada kelompok kontrol (KI) sebesar 50,76 mg/dl. Pada pemberian kitosan, terlihat bahwa kolesterol menurun seiring dengan semakin besarnya persentase kitosan yang diberikan. Pada pemberian 2% dan 4% menyebabkan kadar kolesterol lebih rendah (masing-masing 44,37 dan 39,03 mg/dl) dibanding dengan kontrol negatif dan berbeda nyata (P<0,05). Hasil analisis kadar trigliserida menunjukkan bahwa perlakuan kontrol negatif memiliki kadar sebesar 127,67 mg/dl. Pemberian

kitosan sebesar 4% menyebabkan kadar trigliserida lebih rendah (118,52 mg/dl) dibanding kelompok negatif dan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Pemberian kitosan sampai 4% tidak berpengaruh terhadap kadar glukosa darah. Kadar glukosa darah pada ke empat kelompok perlakuan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Kadar kalsium serum pada kelompok negatif sebesar 11,3 mg/dl. Pada pemberian kitosan 2% dan 4% menyebabkan kadar kalsium menurun masing-masing 8,9 dan 6,3 mg/dl lebih rendah dibanding dengan kelompok negatif dan berbeda nyata ($P < 0,05$). Fenomena yang sama juga terjadi pada fosfat, pada kelompok perlakuan negatif kadar fosfat sebesar 6,5 mg/dl dan menurun setelah diberikan kitosan 2% dan 4% masing-masing sebesar 5,1 dan 3,7 mg/dl lebih rendah dibanding kelompok negatif dan berbeda nyata ($P < 0,05$).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis data pada Tabel 1, menunjukkan bahwa pemberian kitosan 2% dan 4% mampu menurunkan kadar total kolesterol serum kelinci pada keadaan normal dan berbeda nyata ($P > 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol (kelompok perlakuan KI), bahkan pada pemberian kitosan 4% kadar kolesterol (39,03 mg/dl) sangat menurun mendekati nilai normal terendah, tetapi masih dalam batas normal. Hal ini karena kitosan merupakan polimer polisakarida, polimer alami yang mengandung serat kasar yang diketahui mempunyai pengaruh fisiologi dapat menurunkan kolesterol (Bennekum *et al.*, 2007).

Serat, terutama serat larut dapat menurunkan kadar kolesterol dengan mengikat asam empedu di dalam usus halus yang menyebabkan meningkatnya ekskresi asam empedu fekal dan sintesis asam empedu primer, serta peningkatan *pool* asam empedu (Wolover *et al.*, 1997).

Penelitian *invitro* yang dilakukan oleh Hawab (2002), dengan mencampurkan 10 mg kolesterol dengan 150 mg kitosan, ternyata kitosan secara *invitro* pada lingkungan pH 1-2 mampu mengikat molekul kolesterol sebesar 18,06%. Fenomena ini kemungkinan juga terjadi pada penelitian ini. Ransum dan kitosan dicerna di dalam lambung dalam kondisi lingkungan asam. Kitosan

kemungkinan mengikat molekul kolesterol sehingga tidak diabsorpsi oleh mukosa usus, sehingga menyebabkan rendahnya kadar total kolesterol serum *postprandial* (setelah makan).

Hasil penelitian Zhang *et al.* (2008), menyatakan kitosan tidak mempengaruhi asupan makanan, tetapi mampu menurunkan berat badan dan secara signifikan meningkatkan ekskresi lemak fekal dan kolesterol, mengurangi kadar lemak dalam plasma dan hati, dan meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase.

Hasil analisis kadar trigliserida menunjukkan, kelompok perlakuan kitosan 4% memiliki kadar trigliserida lebih rendah dari kelompok perlakuan negatif dan berbeda nyata ($P < 0,05$). Mekanisme penurunan trigliserida oleh kitosan sama dengan mekanisme penurunan kolesterol. Kitosan dapat menyerap lemak (Xu *et al.*, 2007) dan meningkatkan ekskresinya ke dalam feses, sehingga penyerapan menjadi lebih rendah. Beberapa studi hewan dan manusia telah melaporkan bahwa pemberian kitosan dapat mengurangi kadar lipid dalam darah (hipolipidemia) dan menurunkan berat badan (Neyeinck *et al.*, 2009).

Hasil analisis kadar kalsium dan fosfat serum menunjukkan bahwa, pemberian kitosan 2% dan 4% dapat menurunkan kadar kedua mineral tersebut dan lebih rendah dibanding dengan kelompok kontrol negatif dan berbeda nyata ($P < 0,05$). Mekanisme kerja kitosan menurunkan kalsium dan fosfat, diduga melalui mekanisme pengkelat logam (*agent chelating*). Menurut (Fan *et al.*, 2006), menyatakan kitosan bersifat polikationik sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen penggumpal dalam penanganan limbah terutama limbah protein yang selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Pada penanganan limbah cair, kitosan sebagai *chelating agent* yang dapat menyerap logam beracun seperti merkuri, timah, tembaga dan kobalt dalam perairan dan untuk mengikat zat warna tekstil dalam air limbah.

Kitosan pada pemberian 2% dan 4% sudah dapat menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, kalsium dan fosfat serum sampai pada batas normal terendah, tetapi kitosan tidak mempengaruhi kadar glukosa darah. Menurut Malole dan Pramono (1989), pada kelinci kadar normal kolesterol 35-53 mg/dl,

trigliserida 124-156 mg/dl, kalsium 5,6-12,5 mg/dl, fosfat 4,0-6,2 mg/dl dan glukosa darah 75-150 mg/dl.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian kitosan kadar 2% dan 4% dapat menurunkan kadar total kolesterol, trigliserida, kadar kalsium, serta fosfat serum kelinci dan tidak berpengaruh terhadap kadar glukosa darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Antoni, N. 2005. Chitosan Medical Dressings. *Fibres and Textiles in eastern europe* 13(6):16-18
- Bennekum, A.M., Nguyen, D.V., Schulthess, G., Hauser, H., and Phillips, M.C. 2007. Mechanisms of cholesterol-lowering effects of dietary insoluble fibres:relationships with intestinal and hepatic cholesterol parameters. *British J. of Nutr.* 94, 331–337
- Fan, D., Zhu, X., Xu, M., and Yan, J. 2006. Adsorption properties of Chromium (VI) by chitosan coated montmorillonite. *J. of Biol Sci.* 6(5):941-945.
- Hawab, H.M. 2002. Kitosan dapat mengikat Molekul Kholesterol. *Nusa Kimia.* 2(1): 25-31
- Li-Feng Qi, Zi-Rong Xu, Yan Li, Xia Jiang, Xin-Yan Han. 2005. In vitro effects of chitosan nanoparticles on proliferation of human gastric carcinoma cell line MGC803 cells. *World J Gastroenterol.* 11(33):5136-5141
- Malole, M.B.M., dan Pramono, C.S.U. 1989. Penggunaan Hean-Hewan Percobaan di Laboratorium. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Hal.:64-65.
- Neyrinck, A.M., Bindels, L.B., De Backer, F., Pachikian, B.D., Cani, P.D., Delzenne, N.M. 2009. Dietary supplementation with chitosan derived from mushrooms changes adipocytokine profile in diet-induced obese mice, a phenomenon linked to its lipid-lowering action. *Int Immunopharmacol.* 9:767–773.
- Nunthanid, J., Puttipipatkachorn, S., Yamamoto, K. and Peck, G.E. 2001. Physical Properties and Molecular Behavior of Chitosan Films. *Drug Dev Ind Pharm.* 27 (2): 143-157.
- Singla, A.K. and Chawla, M. 2001. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects-an update. *J Pharm Pharmacol.*, 53 (8): 1047-1067

- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1989. Prinsip dan Prosedur Statistika (Terjemahan). Edisi 2. Penerbit PT. Gramedia, Jakarta.
- Tajik H, Moradi M, Rohani, S.M.R., Erfani, A.M., and Jalali, F.S.S. 2008. Preparation of Chitosan from Brine Shrimp (*Artemia urmiana*) Cyst Shells and Effects of Different Chemical Processing Sequences on the Physicochemical and Functional Properties of the Product. *Molecules*. 13: 1263-1274.
- Ueno, H., Mori, T. and Fujinaga, T. 2001. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Adv Drug Del Rev*. 52 (2): 105-115.
- Wolever, T.M.S., Hegele, R.A., Connelly, P.W., Ranson, T.P.P., Story, J.A., Furumoto, E.J. and Jenkins, D.J.A. 1997. Long-term effect of soluble fibre foods on postprandial fat metabolism in dyslipidemic with Apo E3 and Apo E4 genotypes. *Am. J. Nutr.* 66:584-590.
- Xu, G., Huang, X., Qiu, L., Wu, J., and Hu, Y. 2007. Mechanism study of chitosan on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*. 16 (Suppl 1):313-317
- Zhang, J., Liu, J., Li, L., and Xia, W. 2008. Dietary chitosan improves hypercholesterolemia in rats fed high-fat diets. *Nutr. Res. Jun.* 28(6):383-90.