

**EFEK RANSUM KOLESTEROL TINGGI TERHADAP RASIO OKSIDAN DAN ANTIOKSIDAN PADA  
TIKUS *Sprague Dawley***

**THE EFFECT OF HIGH CHOLESTEROL DIET ON THE RATIO  
BETWEEN OXIDANT AND ANTIOXIDANT OF *Sprague Dawley* RATS**

**Guntari Titik Mulyani dan Hastari Wuryastuti**

**Staff Edukatif Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKH UGM**

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ransum kolesterol tinggi terhadap kadar oksidan (lipid peroksida) dan antioksidan dalam darah tikus putih *Sprague Dawley*. Empat puluh ekor tikus putih jantan ras *Sprague Dawley* umur 3 bulan dengan berat badan 150-200 gram digunakan dalam penelitian ini. Tikus dibagi secara acak menjadi 2 kelompok, masing-masing 20 ekor. Tikus kelompok pertama diberi ransum basal (kolesterol 0,5%), sedangkan kelompok kedua diberi ransum kolesterol tinggi (Kolesterol 4,5%). Pada minggu kedua, 5 ekor tikus dari masing-masing kelompok diambil sample darahnya guna pemeriksaan kadar *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS) dan *total antioxidant status* (TAS). Perlakuan yang sama diulang pada minggu ke 4, ke 8 dan ke 16. Rasio oksidan dan antioksidan diperoleh dengan membagi nilai TBARS dengan TAS. Analisis statistik untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan dilakukan dengan *Multifactorial Randomized Design*. Hasil pengukuran terhadap kadar TBARS menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Hasil pengukuran terhadap kadar TAS menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok perlakuan. Rasio oksidan dan antioksidan antara kedua kelompok perlakuan berbeda secara signifikan. Rasio tertinggi diperoleh dari kelompok tikus yang mendapatkan ransum kolesterol tinggi selama 2 minggu dan menurun sejalan dengan waktu perlakuan. Analisis statistik dengan *Split plot* memberi gambaran bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ransum dengan kadar kolesterol 4,5% yang diberikan sampai 16 minggu akan menurunkan rasio oksidan (lipid peroksida) dan antioksidan (antioksidan total) dalam darah tikus putih *Sprague Dawley*. Pemberian ransum kolesterol tinggi dalam jangka waktu yang lebih lama tidak selalu menurunkan rasio oksidan dan antioksidan.

**Kata kunci:** Kolesterol *Sprague Dawley* Oksidan Antioksidan

**Abstract**

The objective of the investigation was to study the effect of high cholesterol diet on the level of oxidant (lipid peroxidation) and antioxidant (total antioxidant status). Forty male *Sprague Dawley* rats, 150-200 grams of body weight and three months of age are used in this research. The rats were randomly allotted into 2 groups, 20 of each. Group I as control was fed normal diet (0.5% cholesterol) and group II was fed high cholesterol diet (4.5% cholesterol). After 2 weeks, the blood sample were taken out from 5 rats of each group for measuring thio barbituric acid reactive substance (TBARS) and total antioxidant status (TAS). The same procedure were respectively after 4 weeks, 8 weeks and 16 weeks. All of the data were statistically analyzed using *Multifactorial Randomized Design*. Statistically there were significant differences in the ratio between oxidant and antioxidant among the groups. The highest level of ratio oxidant and antioxidant were showed by the rats that were fed high cholesterol diet for 2 weeks. Analysis of data using *Split plot* showed that there were no significans among the groups. Base upon experimental result, it can be concluded that high cholesterol diet (4.5% cholesterol) that was fed until 16 weeks decreased the ratio between oxidant and antioxidant. High cholesterol diet that was fed for along time (more than 16 weeks) may influence the ratio between oxidant and antioxidant.

**Key words:** Cholesterol *Sprague Dawley* oxidant - antioxidant

## PENGANTAR

Kolesterol adalah suatu alkohol padat dengan molekul yang tinggi. Di dalam tubuh kolesterol dapat berasal dari dua sumber, yaitu dari makanan dan biosintesa *denovo*. Produk dari hewan terutama daging, kuning telur, hewan laut dan produk-produk dari ternak banyak mengandung kolesterol. Kolesterol tidak hanya dibutuhkan dalam pembentukan membran sel, tetapi juga dalam beberapa jalur metabolisme seperti sintesa vitamin D, sintesa hormon steroid dan metabolisme asam empedu (Linder, 1985).

Kolesterol dalam plasma diangkut dalam bentuk ester kolesterol yang bergabung dengan lipoprotein. *Low Density Lipoprotein* (LDL) merupakan lipoprotein pembawa kolesterol terbanyak dalam plasma. *Hyperkolesterolemia* merupakan salah satu faktor primer penyebab aterosklerosis dan penyakit jantung koroner, dan beberapa peneliti mendiskusikan bahwa produk oksidasi kolesterol berperan pada tahap inisiasi pembentukan lesi aterosklerosis (Ross, 1993). *Hiperkolesterolemia* dapat disebabkan karena faktor eksogen (makanan) dan endogen (mekanisme pengaturan metabolik endogen). Kuantitas kolesterol yang dikonsumsi dan kombinasi konsumsi bahan pangan yang dipergunakan dapat menyebabkan *hiperkolesterolemia*. Brown (1986) melaporkan bahwa ancaman terhadap penyakit jantung koroner meningkat 2 kali lipat lebih besar apabila kadar kolesterol pada manusia berkisar antara 200-240 mg% yang umumnya disebabkan karena kesalahan diet. Individu penderita *hiperkolesterolemia* mempunyai kadar LDL yang meningkat dan kadar HDL yang menurun (Linder, 1985). Sampai saat ini pengaruh langsung dari konsumsi kolesterol dan lemak terhadap kejadian aterosklerosis masih sarat kontroversi dan banyak diperdebatkan. Purnamaningsih (1998) melaporkan bahwa kadar kolesterol total, trigliserid, HDL dan LDL bukan merupakan indikator untuk menilai resiko terhadap aterosklerosis karena tingkat korelasinya rendah.

Lipid peroksida terbentuk dari proses autooksidasi atau dari peroksidasi lemak karena adanya penyerangan oleh radikal bebas (Peck, 1994). Membran biologis dan lipoprotein peka terhadap lipid peroksida. Efek dari lipid peroksida adalah: penurunan stabilitas membran, oksidasi dari kelompok thiol oleh enzim pada membran dan pembebasan dari pemecahan produk (seperti malondialdehid [MDA]) yang mengakibatkan pengerusakan (Peck, 1994). Menurut Steinberg (1993) oksidasi LDL oleh radikal bebas akan menyebabkan kerusakan jaringan pembuluh darah.

Walaupun produk oksidasi oleh radikal bebas itu berbahaya, namun juga diperlukan dalam jumlah tertentu karena sangat bermanfaat. Misalnya lipid peroksida yang diduga merupakan satu-satunya bahan yang mengkoordinir kehidupan sel; radikal superoksida

yang terbentuk karena adanya radikal bebas juga berperan dalam proses fagositosis untuk membunuh bakteri.

Antioksidan adalah suatu bahan yang mencegah system biologi dari efek merugikan yang timbul dari proses atau reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan (Keen dan Cherr, 1994). Packer (1994) membedakan antioksidan endogenus (*glutathion peroxidation* [GSH], *superoksida dismutase* SOD), ubiquinol dan lain-lain) dan eksogenus (vitamin C, vitamin E, karotenoid dan lain-lain). Pada kondisi normal, aktivitas metabolisme dalam sel dapat mengontrol dan mencegah efek oksidasi yang berlebihan, namun pada kondisi dimana antioksidan menurun, stress oksidatif (ketidakseimbangan nutrisi, lingkungan, keturunan dll) meningkat atau kombinasi keduanya kerusakan sel yang irreversible dapat terjadi (Chow, 1994). Jika produk oksidasi di dalam tubuh berlebihan, tubuh akan berusaha menekannya. Imbangan antara oksidan dan antioksidan harus senantiasa terjaga agar tubuh selalu dalam keadaan sehat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ransum kolesterol tinggi terhadap imbalan kadar oksidan dan antioksidan tikus putih serta gambaran kerusakan jaringan yang mungkin ditimbulkan kerana imbalan tersebut. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh suatu gambaran seberapa jauh efek buruk dari ransum kolesterol tinggi terhadap tubuh konsumen.

## MATERI DAN METODE

Empat puluh ekor tikus ras *Sprague Dawley* berumur 3 bulan digunakan sebagai hewan percobaan. Tikus dikelompokkan ke dalam dua kelompok, masing-masing 20 ekor. Kelompok I sebagai kontrol diberi pakan norma (mengandung 0,5% kolesterol) dan kelompok II sebagai kelompok perlakuan diberi pakan yang mengandung kadar kolesterol tinggi (4,5% kolesterol). Setelah 2 minggu, darah diambil dari 5 ekor tikus pada masing-masing kelompok untuk mengukur kadar *thio barbituric acid reactive substance* (TBARS) dan *total antioxidant status* (TAS). Prosedur yang sama diulang setelah 4 minggu, 8 minggu dan 16 minggu. Perbandingan oksidan dan antioksidan didapatkan dengan membagi nilai TBARS dengan TAS.

Konsentrasi dari produk oksidan (lipid peroksida) didapatkan dengan mengukur kadar malondialdehid dalam plasma dengan metode ekstraksi asam thiobarbiturat C-18. Metode ekstraksi asam thiobarbiturat merupakan metode yang umum digunakan untuk mendeteksi lipid peroksida (Gutteridge dan Halliwell, 1990). Konsentrasi antioksidan (TAS) dianalisis secara spektrofotometri menggunakan kit komersial dari Randox Laboratories. Jaringan hati, jantung dan ginjal diperiksa secara histopatologis.

Data dari hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan *Multifactorial Randomized Design*. Perbedaan data dianggap bermakna pada tingkat  $p < 0,05$  (Gill, 1981).

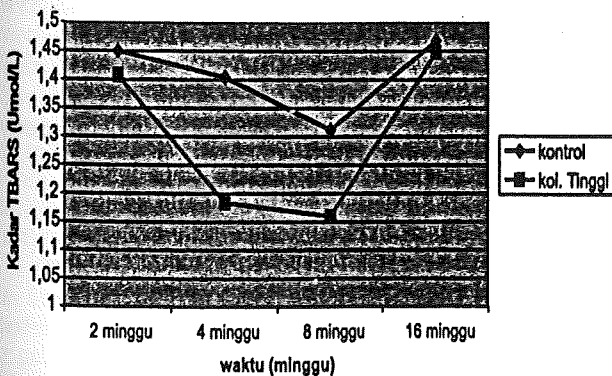
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Efek diet terhadap kadar thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) disajikan pada gambar 1. Dari analisis statistik yang dilakukan diperoleh hasil bahwa tidak terdapat efek yang signifikan dari perlakuan pakan yang diberikan ( $p < 0,05$ )

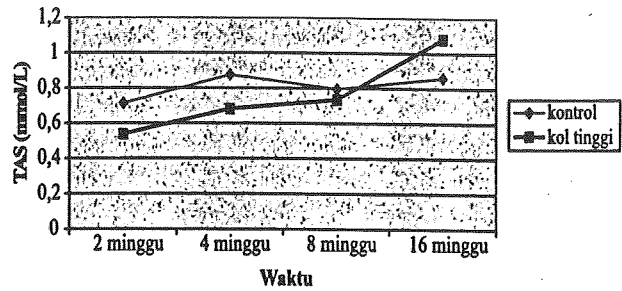
Dari hasil pengukuran terhadap kadar TBARS tampak bahwa pada 2 minggu setelah pemberian ransum kolesterol tinggi kadar TBARS kedua kelompok hampir sama. Pada kelompok yang diberi ransum kolesterol tinggi selama 4 dan 8 minggu, kadar TBARS menurun dan lebih rendah dari kelompok kontrol.

Kaplan (1983) menyebutkan bahwa masukan kolesterol yang tinggi dapat mengakibatkan peningkatan kolesterol total. Di dalam tubuh tidak ada *system counter balance* terhadap kondisi hiperkolesterol ini, yang ada adalah "system regulasi" yang berupa : membatasi sintesa kolesterol oleh hati dengan menghambat HMGCoA yang esensial untuk biosintesa kolesterol; meningkatkan enzim *Cholesterol Acyl Transferase* (ACAT) yang akan menyimpan kelebihan kolesterol ini menjadi ester kolesterol atau menurunkan sintesa reseptor LDL untuk mengurangi pemasukan kolesterol dan proteksi dari akumulasi yang berlebihan dari kolesterol (Stein, 1986; Balcavage dan King, 1995). Hennig (1995) dalam percobaannya menambahkan kolesterol pada minyak jagung untuk kelinci percobaannya. Dari penelitian Hennig ini justru kadar TBARS-nya jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok yang mendapatkan ransum tanpa penambahan kolesterol.

Ransum dengan kolesterol tinggi yang diberikan dalam jangka waktu yang lama, tampaknya tidak lagi dapat diatasi oleh "system regulasi" yang



Gambar 1. Efek diet kolesterol tinggi selama 2, 4, 8 dan 16 minggu terhadap kadar *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS).



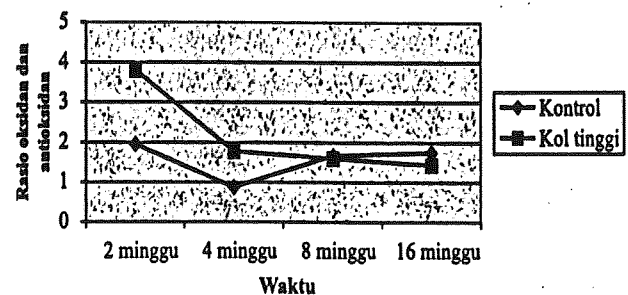
Gambar 2. Efek diet kolesterol tinggi selama 2, 4, 8 dan 16 minggu terhadap kadar *total antioxidant status* (TAS).

ada. Hal ini terbukti dengan meningkatkan kadar TBARS yang cukup tinggi pada minggu ke 16.

Efek ransum kolesterol tinggi terhadap kadar *Total antioxidant status* disajikan pada gambar 2. Analisis statistik yang dilakukan memberikan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap perlakuan yang diberikan.

Dari data tersebut tampak bahwa makin lama kolesterol diberikan, kadar antioksidan total makin meningkat.

Packer (1995) menjelaskan bahwa ada beberapa faktor pengikat yang penting untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan biologik, yaitu : absorpsi, bioavailabilitas (efektivitas konsentrasi pada sisi reaksi), spesifitas dari quenching radikal bebas, kecepatan dari reaksi radikal bebas, lokasi, mobilitas pada daerah hidrofobik, masa hidup, kecepatan regenerasi atau aktivitas kembali siklus dan interaksi dengan antioksidan lain. Smith (1991) melaporkan penelitiannya yang menambahkan kolesterol dalam diet yang mengandung minyak jagung bahwa kadar *low density lipoprotein* (LDL) teroksidasi menurun. Hal ini memberikan gambaran bahwa dengan penambahan kolesterol tingkat stress oksidatif menurun dan hal ini mendukung hipotesa bahwa kolesterol dapat bertindak sebagai antioksidan. Merindo dkk (1998) mengemukakan pendapat dari hasil penelitiannya bahwa diet kolesterol tinggi akan meningkatkan aktivitas kekebalan sel dan kadar vitamin E dan *glutathion peroxidation* (GSH).



Gambar 3. Efek diet kolesterol tinggi selama 2, 4, 8 dan 16 minggu terhadap rasio oksidan dan antioksidan pada tikus putih *Sprague Dawley* jantan.

Efek ransum kolesterol tinggi terhadap rasio oksidan dan antioksidan disajikan pada gambar 3.

Analisis statistik yang dilakukan memberikan gambaran bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap perlakuan yang diberikan. Pada 2 minggu pemberian ransum kolesterol tinggi tampak bahwa rasio oksidan dan antioksidan kelompok perlakuan jauh lebih tinggi dari pada kelompok kontrol. Hal ini dapat terjadi karena pada saat tersebut kadar antioksidan total paling rendah. Sejalan dengan waktu tampak bahwa rasio oksidan dan antioksidan kelompok tikus yang diberi ransum kolesterol tinggi lebih rendah dari kontrol. Ini berarti bahwa ransum kolesterol tinggi yang diberikan justru akan menurunkan rasio oksidan dan antioksidan. Untuk mengetahui hubungan waktu pemberian terhadap rasio oksidan dan antioksidan dilakukan analisis statistik *Split plot* dengan  $p < 0,05\%$ .

Hasil analisis statistik dengan *Split plot* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok perlakuan. Hal ini berarti bahwa pemberian pakan kolesterol tinggi pada tikus dalam jangka waktu yang lama tidak selalu menyebabkan rasio oksidan dan antioksidan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan pakan normal.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ransum kolesterol tinggi (4,5%) yang diberikan pada tikus putih *Sprague Dawley* selama 16 minggu akan menurunkan kadar rasio oksidan dan antioksidan. Namun pemberian ransum kolesterol tinggi pada tikus putih *Sprague Dawley* dalam jangka waktu yang lebih lama tidak selalu menurunkan kadar rasio oksidan dan antioksidan. Ini berarti bahwa konsumsi pakan yang mengandung kolesterol tinggi tidak berbahaya bagi kesehatan kalau masa konsumsi tidak panjang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Balcavage W.X. and King M.W. 1995. *Examination and Broad Review Biochemistry*. 1 ed., pp. 210-221. Appleton and Lange, East Norwalk, Connecticut.
- Brown, M.G. 1986. *A Receptor Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis*. Science: 232-234.
- Chow, C.K. 1994. *Vitamin and related compounds in free-radical defense in Antioxidant and Free Radicals*, pp. 795-793. Proceeding of the XV International Congress of Nutrition : Iuns Adelaide.
- Gill, J.L. 1981. *Design and Analysis of Experiments in Animal and Medical Sciences*. Vol. 3. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Gutteridge, J.M.C. and Halliwell, B. 1990. *The Measurement and Mechanism of Lipid peroxidation in Biological System*. Trends Biochem Sci. 15:129-135.
- Hennig, B.; Toborek, M.; Biossonneault, G.A.; Shantha, N.C.; Decker, E.A. and Oeltgen P.R. 1995. *Animal and Plant Fats Selectively Modulate Oxidizibility of Rabbit LDL and LDL-Mediated Disruption of Endothelial Barrier Function*. J. Nutr., 125:2045-2054.
- Kaplan, M.D., 1983. *Prevention of Coronary Heart Disease in Principal Management of the risk factor*. W.B. Saunders Company, Philadelphia. P.A. 19105
- Keen, C.L. and Cheer, Z. 1994. *Trace Element and Vitamin Interaction in Free Radicals Defense in Antioxidants and Free Radicals*. Pp. 799-803. Proceeding of the XV International Congress of Nutrition : Iuns Adelaide.
- Linder, M.C. 1985. *Nutritional Biochemistry and Metabolism in Clinical Application*. Pp. 687-733. Elsevier Science Publishing Company, New York.
- Packer L. 1995. *Antioxidant Defenses in Biological System : An Overview in Proceedings of International Symposium on Natural Antioxidants Molecular Mechanism and Health Effect*. Pp. 9-23. AOCS Press, Champaign, Illinois, USA.
- Peck M.D. 1994. *Interaction of Lipid with Immune Function I : Biochemical Effects of Dietary Lipid on Plasma Membranes*. J. Nutr. Biochem., 5:466-467.
- Ross, R. 1993. *Atherosclerosis : A Defense Mechanism Gone Awry*. American Journal of Pathology, vol. 143, 4:987-1002.
- Stein, E.A. 1986. *Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins in Textbook of Clinical Chemistry*. Pp. 829-844. W.B. Saunders Company, Philadelphia.