

**PENGARUH SUPLEMENTASI POLISAKARIDA *H. NOBILIS*
PADA TIKUS HIPERKHOLESTEROLEMIA TERHADAP
GAMBARAN LEUKOSIT**

*The effect of *H. nobilis* Polysaccharide Supplementation on
Hypercholesterolemic Rat's Leukocyte*

Vegi Rismonika¹, Tutik Wresdiyati², Damiana Rita Ekastuti^{3*}

¹ Mahasiswa Program Sarjana Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

² Staf pengajar Divisi Anatomi Histologi dan Embriologi, Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

³ Staf Pengajar Divisi Fisiologi, Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

*Corresponding author, email: damiana62@yahoo.com

ABSTRACT

*Hypercholesterolemia increases xanthine oxidoreductase (XO) which produces free radicals that trigger inflammation, increase leukocyte, atherosclerosis, aging, ischemia, hemolysis, stroke and death. This study aimed to analyze the effect of *H. nobilis* polysaccharide as an antihypercholesterolemic on the leukocyte profile of hypercholesterolemic rats. This study used randomized design experiment with for treatments and three repetition. 12 male rats of the Sprague Dawley strain into four groups: the (hypercholesterolemic) **K+** group (standart diet plus 1% cholesterol); the **PCh** group who were fed standard diet+ 1% cholesterol + *H. nobilis* polysaccharide at a dose of 400 mg/kg BW for 28 days simultaneously; the **Ch** group which was fed with 1% cholesterol for 28 days and then continued with standard feed and the **ChP** group which was fed 1% cholesterol for 28 days then continued with *H. nobilis* polysaccharide 400 mg/kg BW until the 56th day. White Blood Cell and differentiation leukocyte were analyzed at the end of treatment. The result showed that supplementation *H. nobilis* polysaccharide, significantly decrease leucocyte but did not affect the differentiation of leucocyte.*

*Keywords: *H. nobilis*, , hypercholesterolemia, leukocyte, polysaccharide*

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkholesterolemia dapat menimbulkan banyak masalah (Siswono 2012), menyebabkan peningkatan xanthine oxidoreductase yang akan menghasilkan radikal bebas dan memicu terjadinya peradangan dan peningkatan jumlah leukosit. Penumpukan kolesterol dapat menyebabkan penyempitan dan penyumbatan pada pembuluh darah (Loos 2008). Berdasarkan laporan Badan Kesehatan Dunia (WHO) tahun 2002, tercatat sebanyak 4,4 juta kematian akibat hiperkolesterolemia atau sebesar 7,9% dari jumlah total kematian. Hiperkolesterolemia ditandai dengan adanya peningkatan kadar kolesterol dalam darah melebihi batas normal ≥ 200 mg/dL. Kondisi hiperkolesterolemia terutama fraksi LDL dapat menyebabkan menempelnya monosit masuk ke dinding pembuluh darah (Silverthorn *et al.* 2002) dan terbentuknya plak aterosklerosis pada lapisan dinding pembuluh darah arteri yang menyebabkan pengerasan pembuluh darah sehingga menjadi kaku dan dapat menghambat aliran darah (Loos 2008).

Kadar kolesterol dalam darah dapat diturunkan dengan mengurangi makanan dengan kadar kolesterol tinggi (kolesterol eksogen) dan mengonsumsi sayur, buah, dan makanan yang mengandung asam lemak esensial. Selain itu, sintesis kolesterol (kolesterol endogen) dapat dihambat dengan mengonsumsi obat-obatan kimia seperti golongan asam fibrat, resin, penghambat *Hidroksi Metilglutaril Ko-enzim A* (HMG CoA) reduktase (statin) dan asam nikotinat (niasin) (Adesta 2010), dan juga pemanfaatan hasil pertanian seperti daun kelor, dan pemanfaatan hasil laut seperti teripang (Kharisma 2012).

Pemanfaatan teripang sebagai antihiperkolesterolemia sudah dipelajari oleh Windari (2017) dan Fitrah *et al.* (2019). Mekanisme kerja teripang dalam menurunkan hiperkolesterolemia adalah melalui perannya sebagai antioksidan dan penghambat HMG CoA reduktase. Pengaruh suplementasi teripang pada tikus hiperkolesterolemia terhadap gambaran profil leukosit belum pernah diteliti.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan menganalisis profil leukosit tikus hiperkolesterolemia yang diberi polisakarida teripang *H. nobilis*.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah profil leukosit tikus hiperkolesterolemia yang diberi polisakarida teripang *H. nobilis*.

II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2017 hingga Agustus 2018 di Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB University. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan atas perlakuan etik dari Komisi Etik Hewan IPB dengan no: 91-2018IPB

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus dengan perlengkapannya, sonde lambung; alat untuk menghitung jumlah lekosit meliputi: syring, tabung berantikoagulan EDTA, pipet leukosit, kamar hitung *Neubauer*, mikroskop cahaya, dan hand counter. Bahan yang digunakan: pakan standard tikus, kolesterol, polisakarida teripang *H. nobilis*, ketamine, xylazin, larutan Turk, methanol dan pewarna Giemsa.

2.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus jantan strain *Sprague Dawley* sebanyak 12 ekor ($250 \pm 15g$) umur 2.5 bulan. Tikus diaklimatisasi selama 14 hari. Tikus tersebut dibagi dalam empat kelompok:

Kelompok pencegahan:

K+ : Kelompok pencegahan (kontrol positif) hiperkolesterolemia, tikus diberi pakan standar +kolesterol 1% selama 28 hari

PCh : Kelompok pencegahan hiperkolesterolemia yang diberi pakan standar + Kolesterol 1% dan polisakarida *H. nobilis* dosis 400 mg/kg BB secara bersamaan selama 28 hari.

Kelompok pengobatan:

Ch : Kelompok pengobatan kontrol hiperkolesterolemia, yang diberi pakan standar+ 1% kolesterol selama 28 hari pertama dan dilanjutkan dengan pakan standar pada 28 hari berikutnya

ChP : Kelompok pengobatan hiperkolesterolemia yang diberi pakan standar + kolesterol 1% selama 28 hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian polisakarida *H. nobilis* 400 mg/kg BB selama 28 hari berikutnya.

3.3.1 Pengambilan Sampel Darah

Tikus pada hari ke-28 untuk kelompok pencegahan dan hari ke-56 untuk kelompok pengobatan dianestesi menggunakan kombinasi ketamine (70 mg/kg BB) dan xylazin (10 mg/kg BB). Tikus diposisikan pada arah dorsal rekumbensi dan jantung tikus diketahui letaknya dengan palpasi. Darah diambil melalui prosedur kardiocentesis, karena penelitian ini merupakan bagian penelitian lain yang memerlukan organ untuk pengamatan, jadi setelah tikus dianestesi, diambil sampel darahnya. Sampel darah kemudian ditampung dalam tabung *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) untuk selanjutnya dihitung jumlah leukosit dan diferensiasinya.

3.3.2 Perhitungan leukosit

Darah diambil sampai tanda 0.5 pada pipet pengencer leukosit. Larutan Turk dihisap sampai tanda 11 pada ujung pipet. Pipet diangkat dari cairan, pipet dikocok selama 30 detik. Kamar hitung diletakkan mendatar di atas meja dengan kaca penutup. Pipet dikocok selama 3 menit dan buang cairan dalam batang kapiler sebanyak 3 tetes. Ujung pipet disentuhkan dengan sudut 30 derajat pada permukaan hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Leukosit dihitung pada 4 kotak kamar hitung. Hasil penghitungan akhir yaitu jumlah seluruh sel leukosit dari 4 kotak (n butir) dikalikan dengan 50 per mm³.

3.3.3 Perhitungan Diferensial Leukosit

Sampel darah diteteskan pada kaca preparat dan diratakan menggunakan kaca preparat lain di depan tetesan darah tersebut dengan sudut 40 derajat. Kaca preparat kedua didorong ke depan hingga membentuk apus tipis. Setelah kering, preparat apus tersebut difiksasi dengan metanol selama 3 menit dibiarkan mengering di udara. Preparat kemudian diwarnai dengan larutan pewarna Giemsa selama 30 menit. Selanjutnya preparat dicuci dengan air mengalir sampai pewarna tidak larut lagi dan dibiarkan mengering di atas rak. Setelah kering preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 100x.

2.3 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA), bila perlakuan berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil.

III HASIL DAN PEMBAHASAN

Data pengaruh pemberian polisakarida *H. nobilis* terhadap jumlah leukosit disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh suplementasi polisakarida teripang *H. nobilis* terhadap jumlah Leukosit

	K+	PCh	Ch	ChP
Jumlah leukosit (butir/mm ³)	8883± 2413 ^a	7883 ± 728 ^a	5900 ± 1829 ^{ab}	3950±975 ^b

Keterangan

Superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata.

K : Kelompok pencegahan (kontrol positif) hiperkolesterolemia, tikus diberi pakan standar + kolesterol 1% selama 28 hari

PCh : Kelompok pencegahan hiperkolesterolemia yang diberi pakan standar + Kolesterol 1% dan polisakarida *H. nobilis* dosis 400 mg/kg BB secara bersamaan selama 28 hari.

Ch : Kelompok pengobatan, kontrol hiperkolesterolemia, yang diberi pakan standar+ 1% kolesterol selama 28 hari pertama dan dilanjutkan dengan pakan standard pada 28 hari berikutnya

ChP : Kelompok pengobatan hiperkolesterolemia yang diberi pakan standar + kolesterol 1% selama 28 hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian polisakarida *H. nobilis* 400 mg/kg BB selama 28 hari berikutnya.

Suplementasi polisakarida teripang *H. nobilis*, berpengaruh nyata terhadap jumlah leukosit tikus hiperkolesterolemia ($P < 0.05$). Pada kelompok pencegahan, tidak ada perbedaan yang nyata antara tikus yang tidak diberi polisakarida teripang *H. nobilis* (K+) yakni sebesar 8883 ± 2413 butir/mm³, dengan tikus yang diberi polisakarida teripang *H. nobilis* (PCh) sebesar 7883 ± 728 butir/mm³. Ini berarti bahwa pemberian polisakarida teripang *H. nobilis* tidak efektif digunakan bersamaan dengan pakan tinggi kolesterol.

Pada kelompok pengobatan, pemberian polisakarida teripang *H. nobilis* setelah tikus mengalami hiperkolesterolemia, menurunkan jumlah leukosit sebesar 1950 butir/mm³, pada tikus hiperkolesterolemia yang tidak diberi polisakarida teripang (Ch = 5900 ± 1829 butir/mm³), dan yang diberi polisakarida teripang (ChP = 3950 ± 975 butir/mm³), walau secara statistik tidak nyata. Hal ini bisa disebabkan karena ulangan yang sangat kecil (3) atau standard deviasi atau keragaman data yang sangat besar.

Pada Ch (tikus yang diberi tambahan kolesterol selama 28 hari, kemudian diberhentikan pemberian kolesterolnya) dan kelompok ChP, yang diberi tambahan kolesterol selama 28 hari, dihentikan pemberian kolesterolnya, diberi polisakarida teripang; kedua kelompok ini jumlah leukositnya lebih rendah daripada kelompok pencegahan. Hal ini diduga, pada saat pemberian kolesterolnya dihentikan, maka tubuh tikus akan melakukan relasi untuk menurunkan kolesterol darahnya, dengan menggunakan kolesterol yang dimakan menjadi hormone steroid atau mengeluarkannya menjadi garam empedu. Penurunan kadar kolesterol darah juga akan berdampak penurunan jumlah leukosit.

Pemberian suplementasi polisakarida teripang *H. nobilis* sangat nyata menurunkan jumlah leukosit, menjadi sebesar 3950 ± 975 butir/mm³ sangat nyata lebih rendah daripada jumlah leukosit hiperkolesterolemia (K+) sebesar 8883 ± 2413 butir/mm³. Hal ini berarti bahwa pemberian polisakarida teripang *H. nobilis*, efektif dilakukan bila terjadi peningkatan kadar kolesterol. Artinya

pemberian polisakarida *H. nobilis* bisa digunakan untuk pengobatan tingginya kadar kolesterol di dalam darah.

Pemberian polisakarida teripang *H. nobilis* berpengaruh nyata terhadap penurunan jumlah leukosit. Penurunan leukosit yang terjadi disebabkan oleh kemampuan antihiperkolesterolemia yang dimiliki oleh teripang dalam menurunkan kadar kolesterol di dalam darah (Windari 2015). Fitrah *et al* (2019) menyebutkan bahwa kelompok tikus yang diberi polisakarida teripang *H. nobilis* memiliki tingkat kolesterol yang lebih rendah. Pemberian teripang akan menyebabkan penurunan jumlah LDL di dalam darah sehingga apabila jumlah LDL di dalam darah menurun maka reaksi peradangan akan menurun dan hal ini menyebabkan jumlah leukosit di dalam darah juga akan ikut menurun. Penurunan kolesterol juga dapat dilakukan dengan cara menghambat kerja dari enzim HMG KoA reduktase dimana pembentukan kolesterol dimulai dari perubahan asetil koA menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril- KoA (HMG-KoA), kemudian HMG-KoA akan diubah menjadi asam mevalonat setelah itu asam mevalonat akan menjadi bahan pembentukan kolesterol setelah melalui proses oksidasi dan reduksi lebih lanjut sehingga terbentuklah kolesterol (Murray *et al.*2009). Enzim yang bertugas sebagai katalisator adalah enzim HMG KoA reduktase, dengan pemberian teripang proses pengubahan HMG KoA menjadi asam mevalonat akan terhambat karna enzim HMG KoA reduktase yang seharusnya berikatan dengan HMG KoA akan cenderung berikatan dengan teripang. Fitrah *et al.* (2019) menyebutkan bahwa bentuk polisakarida dari teripang hampir mirip dengan HMG KoA sehingga menyebabkan enzim HMG KoA reduktase lebih memilih berikatan dengan teripang dari pada HMG KoA. Teripang merupakan inhibitor kompetitor HMG KoA untuk berikatan dengan enzim HMG KoA reduktase, hal ini yang menyebabkan proses pembentukan asam mevalonat menjadi terhambat sehingga pembentukan kolesterol juga ikut terhambat.

Pemberian polisakarida *H.nobilis* yang digunakan sebagai pengobatan lebih efektif dari pada digunakan sebagai pencegahan. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada Tabel 1 dimana pada kelompok pengobatan (ChP) leukosit tikus hiperkolesterolemia mengalami penurunan lebih banyak dari pada kelompok pengobatan (PCh). Hal ini karena pada kelompok pengobatan, kolesterol yang ada di dalam darah diturunkan melalui proses penghambatan kerja enzim HMG KoA Reduktase (Murray 2009) dan hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitrah *et al.* (2019)

Pada saat kondisi hiperkolesterolemia, jumlah LDL akan meningkat pada pembuluh darah. Peningkatan ini akan menyebabkan terbentuknya plak pada epitel pembuluh darah sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan pada dinding epitel pembuluh darah. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan terjadinya peradangan, sehingga ketika terjadi peradangan maka jumlah leukosit di dalam darah akan mengalami peningkatan (Hazen 2010).

Tabel 2. Pengaruh polisakarida *H. nobilis* terhadap diferensiasi leukosit

	Normal *	K+	Pch	Ch	Chp
Limfosit(%)	66,6 – 90,3	74±4 ^a	66±12.6 ^a	70±12 ^a	61.7±10 ^a
Neutrofil(%)	6,2 – 26,7	24±4.5 ^a	33±11.5 ^a	27±12 ^a	36.7±9.5 a
Monosit (%)	0,8 – 3,8si	1±0.6 ^a	1.3±0.6 ^a	2±1 ^a	2±0 ^a
Eusinoofil(%)	0,2 – 3,5	0	1.3±2 ^a	1±1 ^a	0.7±0.6 ^a
Basofil (%)	0 – 0,8	0	0	0	0

Keterangan: * = referensi Giknis dan Clifford (2008),

- K+ : Kelompok pencegahan (kontrol positif) hiperkolesterolemia, tikus diberi pakan standar + kolesterol 1% selama 28 hari.
- PCh : Kelompok pencegahan hiperkolesterolemia yang diberi pakan standar + Kolesterol 1% dan polisakarida *H. nobilis* dosis 400 mg/kg BB secara bersamaan selama 28 hari.
- Ch : Kelompok pengobatan, kontrol hiperkolesterolemia, yang diberi pakan standar + 1% kolesterol selama 28 hari pertama dan dilanjutkan dengan pakan standard pada 28 hari berikutnya.
- ChP : Kelompok pengobatan hiperkolesterolemia yang diberi pakan standar + kolesterol 1% selama 28 hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian polisakarida *H. nobilis* 400 mg/kg BB selama 28 hari berikutnya.

Pada Tabel 2 tampak bahwa pada setiap data jenis leukosit, superscriptnya sama, ini berarti bahwa suplementasi polisakarida teripang *H. nobilis* tidak berpengaruh terhadap diferensiasi leukosit. Persentase dari setiap jenis leukosit, masih dalam kisaran normal. Ini berarti bahwa suplementasi polisakarida *H. nobilis* tidak mengganggu komposisi jenis jenis leukosit (diferensiasi leukosit).

Pada kelompok pencegahan, didapatkan hasil limfosit kelompok K+ sebesar ($74 \pm 4\%$) dan kelompok PCh sebesar ($66 \pm 12.6\%$). Pada neutrofil didapatkan hasil neutrofil kelompok K+ sebesar ($24 \pm 4.5\%$) dan kelompok PCh sebesar ($33 \pm 11.5\%$). Pada monosit diperoleh hasil kelompok K+ sebesar ($1 \pm 0.6\%$) dan kelompok PCh sebesar ($1.3 \pm 0.6\%$). Pada eosinofil diperoleh hasil kelompok K+ sebesar (0 ± 0) dan kelompok PCh sebesar ($1.3 \pm 0.6\%$).

Pada kelompok pengobatan, diperoleh hasil limfosit kelompok Ch sebesar ($70 \pm 12\%$) dan kelompok ChP sebesar ($61.7 \pm 10\%$). Pada neutrofil didapatkan hasil kelompok Ch sebesar ($27 \pm 12\%$) dan kelompok ChP sebesar ($36.7 \pm 9.5\%$). Pada monosit didapatkan hasil kelompok Ch sebesar (2 ± 1) dan kelompok ChP sebesar ($2 \pm 0\%$). Pada eosinofil didapatkan hasil kelompok Ch sebesar (1 ± 1) dan kelompok Ch% sebesar ($0.7 \pm 0.6\%$).

IV SIMPULAN DAN SARAN

4.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian polisakarida teripang *H. nobilis* berpengaruh nyata terhadap jumlah leukosit. Suplementasi polisakarida teripang *H. nobilis* menurunkan jumlah leukosit pada tikus hiperkholesterolemia. Hal ini sejalan dengan penurunan kadar kolesterol di dalam darahnya. Polisakarida teripang *H. nobilis* lebih efektif digunakan sebagai pengobatan dari pada pencegahan. Pemberian polisakarida teripang *H. nobilis* tidak berpengaruh nyata terhadap diferensiasi leukosit.

4.2 Saran

Perlu penelitian lebih komprehensif dalam pemanfaatan polisakarida teripang *H. nobilis*. Dari penelitian ini dapat disarankan penggunaan polisakarida teripang *H. nobilis* lebih baik untuk mengobati hiperkholesterolemia daripada mencegah terjadinya hiperkholesterolemia.

V DAFTAR PUSTAKA

- Adesta, FEA. 2010. Pengaruh Pemberian Simvastatin Terhadap Fungsi Memori Jangka Pendek Tikus Wistar Hiperlipidemia. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Semarang.
- Bantas EK, Agustina FMT, Zakiyah D. 2012. Risiko Hiperkolesterolemia pada Pekerja di Kawasan Industri Hyperkolesterolemia Risk on Workers in Industrial. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 6(5):219-224.
- Fitrah, Winarto, Wresdiyati 2019. The profile of superoxida dismutase and malondialdeyde level in the liver tissue of hyperkolesterolemia rats treated with holothuria nobilis polysaccharide. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 13(2):37-44
- Fox JG, Anderson LC, Otto GM, Corning KRP, Whary MT. 2015. *Laboratory Animal Medicine*. 3rd Ed. Oxford (UK): Elsevier Inc. hlm 159–173

- Hazen SL. 2010. Neutrophils, hypercholesterolemia and atherogenesis. *NIH Public Access*. 2; 122(18): 1786-1788.
- Kharisma H. 2012. Pengaruh Ekstrak Air Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Kolesterol Total Pada Tikus Hiperlipidemia [Skripsi]. Surakarta (ID): Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Loos RJ, Bouchard C. 2008. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity, *Obes Rev* 9 (3): 246–50
- Murray RK, Grammer DK, Rodwell VW. 2009. Biokimia Harper. Pendit BU, penerjemah; Wulandari N, Rendy L, Dwijayanthi L, Liena, Dany F, Rachman LY, editor. Jakarta (ID): EGC. Terjemahan dari: Harper's Illustrated Biochemistry. Ed ke-27.
- Silverthorn DU, Johnson BR, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC. 2002. Fisiologi Manusia Edisi 6. Jakarta (ID): EGC
- Siswono. 2012. Kolesterol Tinggi Bukan untuk ditakuti. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Windari HAS. 2017. Aktivitas antioksidan dan hepatoprotektor sediaan spirulina (*Spirulina platensis*) dan teripang (*Stichopus hermanii*) pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.