

C/PHP
2001
0014

**PEMANFAATAN KHITOSAN
SEBAGAI PENURUN KADAR KOLESTEROL TOTAL
SERUM DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) STRAIN *Wistar***

**Oleh :
SUSIYANTI
C03496010**

SKRIPSI
**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana
pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2001**



Kata keramat - Kalpa sepuasa kasari anggap! Cerau zirik (mendaki)
 kalina - kalina - kalina, anggap kalubeh kasari itu
 Sa'atun kalas (dajal) kalina kalina & kalina,
 mas'atun kalas dajal (dajal) anggap kalubeh kasari itu.
 (KATA KERAMAT)

Karya kecil ini kupersembahkan untuk
Bapak, Ibu, Mas Wyan, Mbak Wilen, Entol dan Anto
 dan kponakanku (Am & Aksan)
 serta orang-orang yang kusayang

Susiyanti. C03496010. Pemanfaatan Khitosan sebagai Penurun Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain *Wistar*. Dibawah bimbingan **Pipih Suptijah sebagai ketua dan **Desniar** sebagai anggota.**

RINGKASAN

Khitosan merupakan produk diasetilasi khitin yang dapat diperoleh dari isolasi kulit udang. Kulit udang lebih mudah didapatkan dari pada sumber khitin lainnya karena tersedia dalam jumlah besar sebagai limbah hasil industri pengolahan udang. Khitosan merupakan senyawa yang tidak beracun sebagai unsur serat makanan dari hewan dan dapat menurunkan kadar kolesterol.

Pemanfaatan khitosan telah banyak dikembangkan dalam berbagai bidang antara lain pertanian, peternakan, industri pangan, pengolahan limbah, kosmetik dan kesehatan. Dalam bidang kesehatan khitosan dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol.

Dengan semakin meningkatnya gaya hidup dan kesejahteraan, konsumsi makanan siap saji dan makanan import yang mempunyai kadar lemak dan kolesterol tinggi semakin berkembang. Konsumsi makanan-makanan tersebut secara berlebihan dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Tingginya kadar kolesterol dalam darah berhubungan dengan timbulnya aterosklerosis yaitu timbulnya timbunan lemak (plak) pada pembuluh darah sehingga dapat menyumbat aliran darah. Aterosklerosis yang terjadi pada pembuluh darah jantung dikenal sebagai penyakit jantung koroner.

Penggunaan obat-obat penurun kolesterol yang sudah banyak beredar memberikan efek yang merugikan seperti golongan statin dapat menimbulkan kanker. Khitosan merupakan salah satu bahan alami yang aman digunakan sebagai penurun kadar kolesterol darah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik khitosan hasil isolasi dari kulit udang dan kemampuannya sebagai penurun kadar kolesterol total serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*.

Pada penelitian tahap pertama dilakukan isolasi khitosan dari kulit udang yang meliputi demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Untuk mengetahui karakteristik khitosan hasil isolasi, dilakukan analisis kadar air, kadar abu, kadar total nitrogen dan derajat deasetilasinya. Pada penelitian tahap kedua digunakan tikus putih sebagai hewan percobaan. Pada penelitian ini digunakan empat macam perlakuan berdasarkan perbedaan ransum yang diberikan. Kontrol negatif (C-) merupakan kelompok perlakuan dengan ransum biasa, kontrol positif (C+) merupakan kelompok perlakuan dengan ransum biasa yang ditambah dengan 12.5% lemak kambing, sedangkan kelompok perlakuan khitosan meliputi khitosan mutu dua (P1) dan khitosan mutu satu (P2) merupakan kelompok perlakuan dengan ransum seperti kontrol positif dan ditambah khitosan 50 mg.

Dari isolasi yang dilakukan, dihasilkan dua jenis khitosan yang dikelompokkan menjadi khitosan mutu satu dan mutu dua. Khitosan mutu satu mempunyai kadar air 10.46%, kadar abu 0.08%, kadar total nitrogen 4.26% dan derajat deasetilasi 89.06%. Sedangkan khitosan mutu dua mempunyai kadar air 8.67%, kadar abu 0.11%, kadar total nitrogen 4.39% dan derajat deasetilasi 81.51%.

Adanya perbedaan perlakuan yang diberikan selama tujuh hari memberikan pengaruh terhadap berat konsumsi ransum. Kelompok C- paling besar dalam mengkonsumsi ransum yaitu 12.89 gram/ekor/hari, sedangkan kelompok C+, P1 dan P2 masing-masing 11.30 gram/ekor/hari, 9.74 gram/ekor/hari dan 10.17 gram /ekor/hari. Berat ransum yang dikonsumsi tikus percobaan pada tiap perlakuan berhubungan dengan berat feses dan berat badannya. Semakin besar konsumsi ransumnya semakin besar pula berat feses dan berat badannya. Berat feses kelompok C-, C+, P1 dan P2 adalah 9.39 gram/ekor/hari, 5.81 gram/ekor/hari, 4.74 gram/ekor/hari dan 4.76 gram/ekor/hari. Berat badan kelompok C- dan C+ mengalami kenaikan sebesar 2.04 gram/ekor/hari dan 0.24 gram/ekor/hari. Sedangkan untuk kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan berat badan sebesar 12.25 gram/ekor/hari dan 1.42 gram/ekor/hari.

Kelompok C- menunjukkan konsumsi ransum terbesar dibanding kelompok lainnya, sehingga berat feses dan kenaikan berat badannya juga paling besar. Untuk

kelompok P1 dimana merupakan kelompok dengan konsumsi ransum terkecil juga menghasilkan berat feses paling kecil dan mengalami penurunan berat badan terbesar.

Terjadinya kenaikan kadar kolesterol total serum darah yang terjadi pada kelompok C+ karena adanya penambahan lemak kambing pada ransum, kenaikan ini besarnya 44.84% pada hari keempat dan 22.84% pada hari ketujuh. Pemberian khitosan mutu satu (P2) dapat menurunkan kadar kolesterol total serum darah tikus lebih baik dari kelompok perlakuan lainnya yaitu sebesar 6.20% pada hari keempat dan 38.66% pada hari ketujuh. Kelompok P1 memberikan penurunan kadar kolesterol total sebesar 15.62% pada hari ketujuh. Kelompok C- juga menunjukkan penurunan tetapi tidak sebesar P1 dan P2 yaitu sebesar 2.04% pada hari keempat dan 10.30% pada hari ketujuh. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin baik mutu khitosan yang digunakan semakin baik pula efek penurunannya terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus percobaan.

SKRIPSI

Judul Skripsi : Pemanfaatan Khitosan sebagai Penurunan Kadar Kolesterol
Total Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Strain *Wistar*.
Nama Mahasiswa : Susiyanti
Nomor Pokok : C03496010
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

Disetujui :

I. Komisi Pembimbing

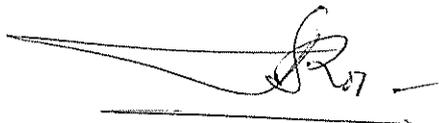


Dra. Pipih Suptijah, MBA.
Ketua



Desniar, SPi
Anggota

II. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB



Ir. Ruddy Suwandi MS. MPhil
Ketua Program Studi



Dr. Ir. Indra Jaya, MSc
Pembantu Dekan 1

Tanggal Lulus : 10 April 2001

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pekalongan, Jawa Tengah pada tanggal 19 Maret 1978 sebagai anak ketiga dari lima bersaudara pasangan Bapak Kasnawi dan Ibu Waryati.

Pendidikan Sekolah Dasar penulis dimulai pada tahun 1984, di SD Muhammadiyah Kajen, Pekalongan sampai tahun 1990. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan SLTP di SMP N 1 Kajen, Pekalongan sampai tahun 1993. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan ke SMA N 1 Kajen, Pekalongan dan lulus pada tahun 1996.

Penulis diterima sebagai mahasiswa IPB melalui jalur USMI (Undangan Masuk Seleksi IPB) Jurusan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan pada tahun 1996. Selama kuliah penulis pernah menjadi pengurus HIMASILKAN (Himpunan Mahasiswa Pengolahan Hasil Perikanan) tahun 1998-1999, SASIMI (Sanggar Aktifitas dan Silaturahmi) THP tahun 1997-1999 dan FPC (*Fisheries Processing Club*) tahun 1998-1999.

Penulis menyusun skripsi berjudul **Pemanfaatan Khitosan Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar**, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Penulis dinyatakan lulus pada tanggal 10 April 2001.

KATA PENGANTAR

Adalah suatu kebahagiaan tersendiri bagi penulis dengan selesainya penulisan skripsi ini, untuk itu puji dan syukur semoga selalu penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya yang selalu tercurah. Skripsi ini berjudul Pemanfaatan Khitosan sebagai Penurun Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain *Wistar* yang membahas tentang isolasi khitosan dari limbah kulit udang dan kemampuannya untuk menurunkan kadar kolesterol total serum darah tikus percobaan. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan yang berbahagia ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

- ❖ Ibu Dra. Pipih Suptijah, MBA dan Ibu Desniar, Spi sebagai dosen pembimbing atas kesediaannya memberikan bimbingan, masukan, saran dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Bapak Ir. Djoko Poernomo, BSc atas kesediaannya sebagai dosen penguji dan atas saran serta masukannya untuk kesempurnaan penyusunan skripsi ini.
- ❖ Kedua orang tuaku, kakak dan adikku tercinta (Mas Iwan. Mbak Wien, Ento' dan Anto') serta kedua keponakanku tersayang (Aam dan Akhsan) atas limpahan kasih sayang, perhatian, kepercayaan, doa dan dukungannya baik moral maupun materiil yang sangat berarti bagi penulis.
- ❖ Bapak Drh. Yulvian Sani, Ibu Sukati dan Bu Dewi yang telah rela menyediakan tempat, fasilitas dan meluangkan waktunya untuk membantu penulis selama penelitian.
- ❖ Teman, sahabat dan saudaraku (Rie, Vien, dan Inoeng). Atas perhatian, kasih sayang, saran, motivasi, persahabatan, persaudaraan dan kebersamaan kalian selama ini. Kalian telah banyak memberi arti “rasa syukur” bagiku dan semoga jarak dan waktu tidak melegamkan kebersamaan dan persauraan kita, Amien.

- ❖ Dodo, Moel atas bantuan, saran dan motivasinya. Teman sepenelitianku “Ipoel” atas kebersamaanya selama penelitian dan buat Asep atas Tustelnya.
- ❖ Tari dan Mas Dino serta buah hati yang masih dinantikan untuk “petuah bijak” dan bantuannya.
- ❖ Teman-teman THP’33 (Brenda, Sunardi, Iza, Luluk, Tati, Wendi dan teman-teman yang lain) atas kekompakannya.
- ❖ Penghuni “Afra atas” (Yenny² atas keceriaannya, M’ Inung atas editannya, Enno, M’ Santy, Ei dan Henny) dan “Afra bawah” (Mbak Liest, Mbak Lia, Mbak Fiet, Mia, Wied dan Henny) atas *supportnya*.
- ❖ Natsir, Ojan, Mohtar dan Must atas kepeduliannya.
- ❖ Warga “ Kurnia” (Pipit dan temen-temen) atas bantuannya, warga “NF” (Lily “untuk alat bedahnya” dan Ema)
- ❖ Semua pihak yang telah membantu yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun akan penulis terima dengan senang hati dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri dan terutama bagi pembaca.

Bogor April 2001

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Waktu dan Tempat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Khitin dan Khitosan	4
2.1.1 Sumber khitin dan khitosan.....	4
2.2.2 Sifat fisika kimia khitosan	4
2.2.3 Isolasi khitosan	7
2.2 Kolesterol.....	8
2.2.1 Sintesis kolesterol	9
2.2.2 Absorpsi kolesterol	12
2.2.3 Kadar kolesterol darah	12
2.3 Khitosan sebagai Penurun Kolesterol	15
2.3.1 Khitosan sebagai serat dari hewan	15
2.3.2 Khitosan sebagai Penurun kolesterol	16
2.4 Tikus Percobaan	18
III METODOLOGI	20
3.1 Alat dan Bahan	20
3.1.1 Alat	20
3.1.2 Bahan	20
3.2 Metode Kerja	21

3.2.1 Pembuatan khitosan	21
3.2.2 Pembuatan ransum	21
3.2.3 Pemeliharaan hewan percobaan	21
3.3 Parameter yang Diamati	23
3.3.1 Berat ransum yang dikonsumsi	23
3.3.2 Berat feses	23
3.3.3 Berat badan	23
3.3.4 Kadar kolesterol total serum darah tikus percobaan	23
3.4 Analisa Data	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Isolasi Khitosan	26
4.1.1 Kadar air	26
4.1.2 Kadar abu	27
4.1.3 Kadar total nitrogen	27
4.1.4 Derajat deasetilasi	27
4.2 Berat Ransum	28
4.3 Berat Feses	30
4.4 Pertambahan Berat Badan	32
4.5 Kadar Kolesterol Total	35
V. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Standar Mutu Khitin	5
2.	Standar Mutu Khitosan	6
3.	Komposisi Berbagai Jenis Lipopotein	14
4.	Jenis Ransum yang Diberikan Selama Perlakuan	22
5.	Karakteristik Khitosan Hasil Isolasi	26
6.	Berat Ransum yang Dikonsumsi Selama Perlakuan	29
7.	Berat Feses Tikus Percobaan Selama Perlakuan	31
8.	Pertambahan Berat Badan Tikus Percobaan Selama Perlakuan	32
9.	Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus Percobaan	35

DAFTAR GAMBAR

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Struktur Kimia Kolesterol	8
2.	Jalur Biosintesis Isoprenoid	9
3.	Biosintesis Kolesterol Tingkat Kedua	10
4.	Biosintesis Kolesterol Tingkat Pertama	11
5.	Biosintesis Kolesterol Tingkat Ketiga	11
6.	Struktur Berulang Khitin	15
7.	Struktur Berulang Selulosa	15
8.	Struktur Berulang Khitosan	16
9.	Berat Ransum yang Dikonsumsi selama Perlakuan	29
10.	Berat Feses selama Perlakuan	31
11.	Pertambahan Berat Badan Tikus Percobaan selama Perlakuan	33
12.	Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus Percobaan	36

DAFTAR LAMPIRAN

No.		Halaman
1.	Diagram Alir Pembuatan Khitosan	45
2.	Komposisi Reagen Kit Kolesterol	46
3.	Berat Badan Tikus Percobaan Selama Perlakuan	47
4.	Berat Feses Tikus selama Perlakuan	48
5.	Berat Konsumsi Ransum Selama Perlakuan	49
6.	Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Kontrol Negatif	50
7.	Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Kontrol Positif	51
8.	Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Khitosan Mutu 2	52
9.	Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Khitosan Mutu 1	53
10.	Gambar Kandang Tikus Percobaan selama Perlakuan	54
11.	Gambar Penimbangan Tikus dan Pemberian Khitosan secara Oral	55

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Khitosan merupakan produk deasetilasi khitin yang merupakan komponen organik penting penyusun kerangka pada krustacea, insekta dan moluska serta penyusun dinding sel mikroba. Khitosan merupakan polimer dari 2-deoksi 2-amino glukosa yang terangkai dengan ikatan glikosida $\beta(1-4)$. Dari beberapa sumber tersebut kulit udang lebih mudah didapatkan dan tersedia dalam jumlah besar sebagai limbah hasil industri pengolahan udang yang banyak terdapat di Indonesia.

Pemanfaatan khitosan semakin berkembang dalam berbagai bidang seperti pertanian, peternakan, industri pangan, penanganan limbah, kosmetik dan kesehatan. Dalam bidang kesehatan khitosan dapat dimanfaatkan sebagai penurun kadar kolesterol darah.

Indonesia termasuk negara berkembang dimana telah mengalami perbaikan di segala bidang yang mengakibatkan kondisi sosial ekonomi semakin baik, umur harapan hidup (*life expecting*) yang semakin meningkat dan perubahan pola penyakit menular ke arah penyakit degeneratif. Dengan semakin meningkatnya kemakmuran, menyebabkan perubahan gaya hidup. Penggunaan makanan siap saji dan makanan import yang mempunyai kadar lemak dan kolesterol tinggi serta miskin serat semakin berkembang.

Salah satu penyakit degeneratif yang banyak diderita masyarakat perkotaan adalah penyakit kardiovaskular. Untuk itu diperlukan upaya untuk menekan jumlah penderita penyakit kardiovaskular. Bentuk penyakit kardiovaskular antara lain aterosklerosis, penyakit jantung koroner, serangan jantung (*heart attack*), stroke, hipertensi, kegagalan jantung kongestif dan penyakit vaskuler perifer.

Aterosklerosis adalah suatu penyakit yang berhubungan dengan tingginya kadar kolesterol dalam darah sehingga menimbulkan timbunan lemak pada dinding pembuluh darah yang disebut plak. Plak dapat menghambat atau menyumbat aliran darah di berbagai bagian tubuh dan menimbulkan gangguan kesehatan yang serius.

Aterosklerosis yang terjadi pada pembuluh darah jantung dikenal sebagai penyakit jantung koroner.

Faktor resiko penyakit kardiovaskular menurut Herman (1991) dibagi menjadi dua kelompok, yaitu faktor resiko primer yang meliputi hipertensi, merokok, tingginya kadar kolesterol darah dan tingginya LDL (*Low Density Lipoprotein*), dan faktor resiko sekunder yang meliputi obesitas (berat badan > 20% berat ideal), diabetes, stres, kurangnya kegiatan fisik, keturunan (genetik), jenis kelamin (pria), trigliserida darah meninggi dan meningkatnya umur.

Selama bertahun-tahun diet rendah kolesterol direkomendasikan sebagai pencegahan terhadap terjadinya aterosklerosis. Disamping itu penggunaan obat-obat penurun kolesterol yang banyak beredar memberikan efek yang merugikan seperti diungkapkan dalam *journal of the America Medical Association*, bahwa obat penurun dari keluarga *statin* dapat menimbulkan kanker pada uji coba dengan tikus percobaan (Sudarisman, 1996). Dengan semakin berkembangnya pengertian mengenai aspek-aspek biokimia kolesterol, upaya pencegahan terhadap terjadinya aterosklerosis dapat dicegah dengan diet yang mengandung serat.

Khitosan yang merupakan deasetilasi khitin dari limbah udang dapat dimanfaatkan sebagai unsur serat makanan yang tidak beracun. Khitosan mempunyai gugus amina sebagai gugus fungsional sehingga mempunyai derajat reaksi kimia yang tinggi. Khitosan akan bermuatan positif dalam larutan asam karena adanya gugus amin yang dapat mengikat ion positif tidak seperti polisakarida yang lain yang pada umumnya bermuatan negatif atau netral.

Khitosan termasuk ke dalam serat makanan yang berasal dari hewan dengan rumus kimia mirip dengan selulosa, bedanya terletak pada rantai C-2. Gugus hidroksil C-2 pada selulosa diganti gugus amin pada khitosan. Menurut Purnamawati (1997), khitosan digolongkan ke dalam bahan makanan yang berserat tinggi (> 26%), karena kandungan total serat makanannya sebesar 72.25%. Dan bila khitosan 10.50% dicampur ke dalam minuman saribuah nenas maka kadar total serat meningkat hingga 23.75%.

Serat makanan dapat mengikat asam empedu yang berfungsi sebagai pengemulsi lemak. Dengan diikatnya asam empedu oleh serat, maka lemak tidak terurai mejadi asam lemak yang dapat diserap tubuh. Karena serat tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan, maka asam empedu diekskresikan melalui feses bersama serat. Semakin banyak serat makanan, semakin banyak pula asam empedu yang dibuang, sehingga kolesterol yang dikeluarkan melalui feses bertambah banyak. Peningkatan ekskresi ini dapat menurunkan kadar kolesterol serum karena asam empedu yang terikat tidak dapat diserap kembali dan hampir tidak berfungsi lagi sebagai pengemulsi lemak.

1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik khitosan hasil isolasi dari kulit udang dan pemanfaatannya sebagai penurun kadar kolesterol total serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*.

1.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan melalui dua tahap. Tahap yang pertama adalah pembuatan khitosan di Laboratorium Fisika Kimia Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB pada bulan Mei 2000. Sedangkan tahap kedua merupakan penelitian utama dilakukan di Laboratorium Histologi dan Toksikologi, Balai Penelitian Veteriner Bogor dan analisa kadar kolesterol total di Laboratorium Biokimia Puslitbang Gizi, Bogor pada bulan Desember 2000 sampai bulan Januari 2001.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Khitin dan Khitosan

2.1.1 Sumber khitin dan khitosan

Khitin adalah substansi organik kedua yang paling banyak ditemukan di alam setelah selulosa, terdapat dalam berbagai spesies binatang (Suptijah, 1992). Menurut Knorr (1982), khitin merupakan komponen organik penting penyusun kerangka krustacea, insekta dan moluska serta penyusun dinding sel mikroba.

Limbah udang merupakan sumber bagi khitin dan khitosan karena kulit udang mengandung khitin sebesar 20-30% dari berat keringnya dan keberadaannya bergabung dengan unsur-unsur lain seperti protein, kalsium karbonat, magnesium karbonat dan pigmen karotenoid (Johnson dan Peniston, 1982). Kulit udang lebih mudah didapatkan dibanding sumber khitin yang lain dan tersedia dalam jumlah yang besar sebagai limbah hasil industri pengolahan udang yang banyak terdapat di Indonesia (Purwantiningsih, 1993).

2.1.2 Sifat fisiko kimia khitosan

Khitin adalah biopolimer polisakarida dengan rantai lurus yang tersusun oleh 2000-3000 monomer N-asetil-D-glukosamin (2-asetamido-2-dioksi-D-glukosa), yang terangkai dengan ikatan glikosida $\beta(1-4)$ (Bought, 1975). Menurut Brzeski (1987), khitin merupakan polimer alami terbesar setelah selulosa. Struktur kimia khitin menyerupai struktur selulosa yaitu polisakarida. Selulosa mengandung monomer glukosa yang terikat dalam bentuk $\beta(1-4)$ sedangkan khitin mengandung monomer N-asetil-D-glukosamin (Ornum, 1992).

Khitin berwarna putih, berbentuk kristal dengan berat molekul 1.036×10^{-6} gram, tidak larut dalam air, tidak larut dalam asam organik encer, asam organik, basa pekat dan pelarut organik (Knorr, 1984). Khitin dapat larut dalam asam pekat seperti asam sulfat, asam nitrat, asam fosfat dan asam formiat anhidrida. Khitin dapat pula dilarutkan dalam LiCl, mudah mengalami degradasi secara biologis

dan tidak beracun (Muzarelli, 1977). Menurut Rudal dalam Bastaman (1989), khitin adalah polisakarida yang membentuk kristal.

Mutu khitin dan khitosan yang diperdagangkan tergantung dari penggunaannya, misalnya pada penanganan limbah tidak diperlukan khitosan dengan kemurnian tinggi sedangkan untuk obat-obatan diperlukan khitosan dengan kemurnian yang tinggi. Mutu khitin dan khitosan dipengaruhi oleh beberapa parameter seperti kadar air, kadar abu, kelarutan, derajat deasetilasi, viskositas dan berat molekul (Bastaman, 1989). Tabel 1 menunjukkan standar mutu khitin.

Tabel 1. Standar Mutu Khitin

Sifat	Ciri atau nilai
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Kadar air (% bk)	≤ 10.0
Kadar abu (% bk)	≤ 2.0
Derajat deasetilasi (%)	≥ 15
Warna larutan	jernih
Viskositas (cps)	
- Rendah	< 200
- Sedang	200 – 799
- Tinggi	800 – 2000
- Sangat tinggi	>2000

Sumber : Protan Laboratories Inc. dalam Suptijah *et al.*, 1992

Khitosan merupakan produk deasetilasi khitin dengan basa kuat. Menurut Knorr (1982), khitosan adalah polimer dari 2-deoksi 2-amino glukosa yaitu khitin yang terdeasetilasi, semakin banyak gugus asetil yang hilang dari polimer khitin, semakin kuat interaksi antar ion dan ikatan hidrogen dari khitosan.

Bobot molekul khitosan sekitar 1.036×10^5 Dalton (Knorr, 1984). Berat molekul khitosan tergantung dari degradasi yang terjadi pada saat proses pembuatan khitosan. Sifat dan kelarutan khitosan dipengaruhi oleh bobot molekul, derajat daasetilasi dan derajat putar spesifik yang dapat beragam tergantung dari sumber dan metoda isolasinya (Austin, 1984). Khitosan dapat larut dalam beberapa larutan asam organik tetapi tidak larut dalam pelarut organik. Selain itu, khitosan tidak larut pada larutan yang mengandung konsentrasi ion hidrogen di atas pH 6.5

tetapi khitosan dapat larut dalam asam hidroklorat dan asam nitrat pada konsentrasi 0.15 – 1.1 % dan tidak larut pada konsentrasi asam 10 %. Khitosan juga tidak larut dalam asam sulfur tapi larut sebagian pada asam ortofosfat dengan konsentrasi 0.5 %, pelarut yang sering digunakan adalah asam asetat (Ornum, 1992).

Menurut Knorr (1982), khitosan mempunyai gugus amino bebas sebagai polikationik, pengkelat dan pembentuk dispersi dalam larutan asam asetat. Bough (1975), menambahkan bahwa karakter khitosan sebagai polielektrolit dapat digunakan untuk bahan pengkoagulasi dalam sistem pengolahan limbah secara fisik-kimia. Tabel 2 menunjukkan standar mutu khitosan.

Tabel 2. Standar Mutu Khitosan

Sifat	Ciri atau Nilai
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Kadar air (% bk)	≤ 10.0
Kadar abu (% bk)	≤ 2.0
Derajat deasetilasi (%)	> 70
Warna larutan	jernih
Viskositas (cps)	
- Rendah	< 200
- Sedang	200 – 799
- Tinggi	800 – 2000
- Sangat tinggi	>2000

Sumber : Protan Laboratories Inc. *dalam* Suptijah *et al.*, 1992

Khitosan dapat digunakan dalam berbagai bidang seperti pertanian, peternakan, industri pangan dan kesehatan. Dalam bidang pertanian, menurut Brzeski (1987), khitosan dapat digunakan sebagai pelapis benih sehingga terhindar dari jamur tanah pada gandum, sorgum dan padi dan meningkatkan produksi sampai 30%. Dalam bidang peternakan khitosan dapat digunakan sebagai bahan tambahan ransum bagi ayam petelur dan dapat meningkatkan produksi sampai 8.8% di Jepang (Brzeski, 1987).

Sedangkan dalam bidang industri pangan, khitosan digunakan sebagai bahan penyaring tanin kopi (Brzeski, 1987) dan dapat digunakan untuk memurnikan anggur, bir dan juice (Knorr, 1984). Dalam bidang kesehatan, dapat digunakan sebagai bahan

pembungkus kapsul karena memiliki kemampuan untuk melepaskan obat ke dalam tubuh secara terkontrol dan sebagai bahan anti tumor karena khitosan mempunyai sifat antibakterial dan antikoagulan dalam darah serta dapat menggumpalkan sel-sel leukimia (Brzeski, 1987).

2.1.3 Isolasi khitosan

Khitosan merupakan produk deasetilasi khitin dengan menggunakan alkali (Johnson dan Peniston, 1992). Khitin berikatan kovalen dengan sebagian protein dan berasosiasi dengan unsur mineral membentuk mukopolisakarida yang berfungsi sebagai material pelindung pada udang. Karena keberadaan khitin di alam bergabung dengan bahan-bahan lain seperti protein, mineral dan pigmen maka untuk memperoleh khitin yang murni perlu dilakukan isolasi dengan cara demineralisasi dan deproteinasi.

Proses demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan senyawaan anorganik yang ada pada kulit udang, ion Ca^{2+} merupakan ion logam yang paling banyak terdapat pada limbah udang windu (40.08 ppm) yang berasosiasi menjadi CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Purwantiningsih, 1993). Menurut Karmas *dalam* Purwantiningsih (1993), asam yang biasa digunakan untuk menghilangkan mineral adalah asam klorida dan asam sulfat.

Proses deproteinasi dilakukan untuk menghilangkan protein. Proses ini dilakukan dengan menggunakan alkali yang akan masuk ke celah-celah kulit udang untuk memutuskan ikatan antara protein dan khitin. Menurut Purwantiningsih (1993), limbah udang windu memiliki kandungan protein sebesar 90.38% dengan kandungan asam amino tertinggi tirosin (12.13%).

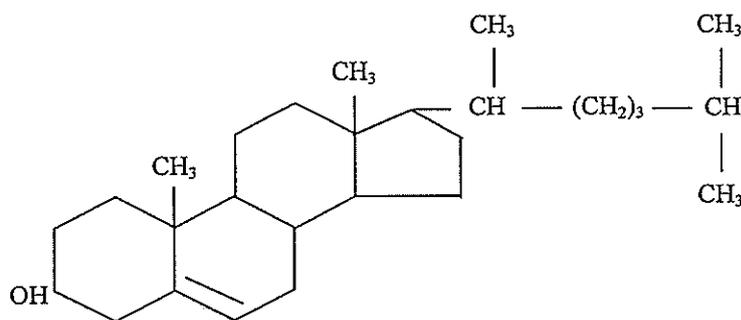
Adanya pigmen karotenoid pada kulit udang menyebabkan warna yang kurang menarik pada khitin, untuk itu perlu dilakukan pemucatan yang dapat dilakukan dengan menggunakan H_2O_2 dengan konsentrasi 1.5% (Saleh *et al.*, 1994).

Proses deasetilasi dilakukan untuk menghilangkan gugus asetil pada khitin sehingga dihasilkan khitosan. Menurut Suptijah *et al.* (1992), khitosan diperoleh dengan proses deasetilasi terhadap khitin dengan menggunakan larutan NaOH 50%.

2.2 Kolesterol

Menurut Guyton (1992), kolesterol dalam tubuh berasal dari absorpsi saluran cerna yang disebut kolesterol eksogen dan sintesis dalam hati yang disebut kolesterol endogen. Kolesterol merupakan lipid sterol yang bentuknya seperti lilin dan terdapat dalam sel hewan. Kolesterol juga merupakan bagian penting struktur membran sel, sebagai prekursor hormon steroid dalam kelenjar adrenal, dan sebagai prekursor asam empedu di hati (Marinetti, 1990).

Kolesterol dinyatakan sebagai 3 hidroksi 5,6 – kolesten yang memiliki gugus hidroksil pada atom karbon 5 dan 6, serta percabangan pada karbon 10, 13 dan 17 (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur Kimia Kolesterol (Guyton, 1992)

Kolesterol yang terdapat dalam jaringan tubuh berada dalam dua bentuk, yaitu dalam keadaan bebas atau dalam gabungan ester dengan asam lemak tidak jenuh bermolekul tinggi. Tujuh puluh persen kolesterol plasma berada dalam bentuk ester kolesterol (Guyton, 1992).

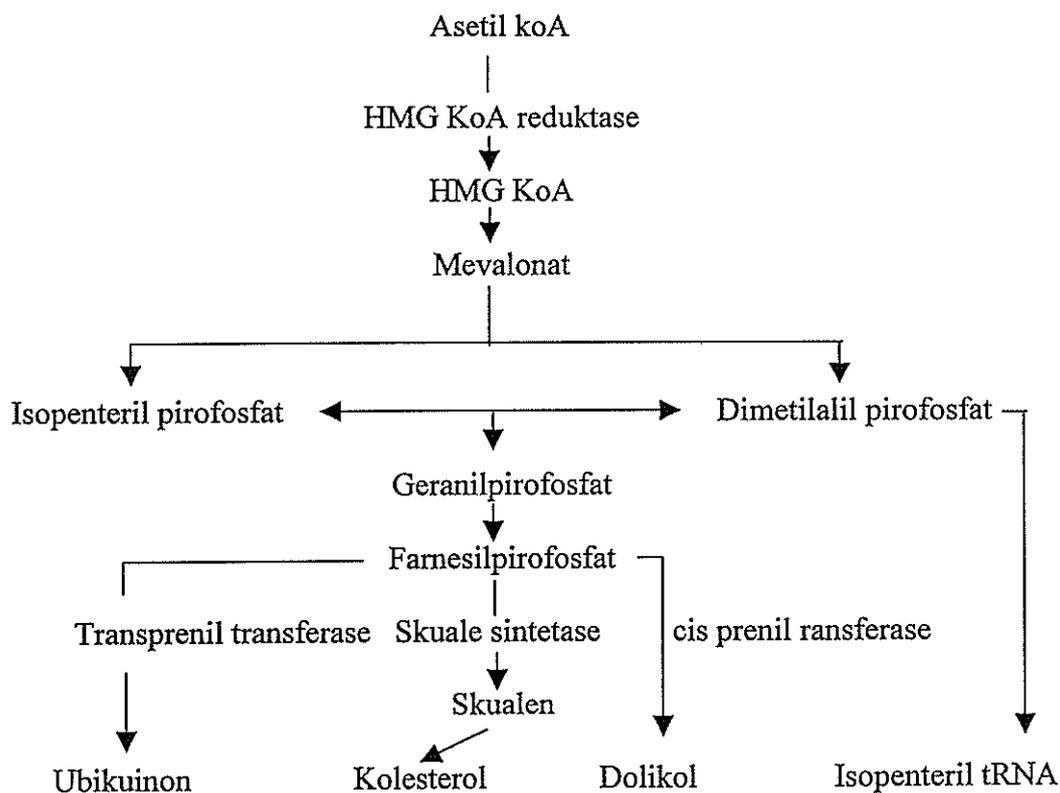
Kolesterol tubuh yang berasal dari hati yang besarnya sekitar 1 gram/hari merupakan bagian terbesar dibandingkan yang berasal dari makanan yang hanya 0,3 gram/hari (Mayes *et al.*, 1995). Di dalam tubuh terdapat sistem pengaturan umpan balik intrinsik, apabila jumlah kolesterol yang dikonsumsi kecil maka sintesis kolesterol endogen akan meningkat dan sebaliknya (Guyton, 1992).

Guyton (1992), menyatakan fungsi utama kolesterol dan lipida lainnya adalah mengatur penyerapan zat yang larut dalam air dan penguapan air dari kulit. Sekitar 80% kolesterol tubuh digunakan oleh hati untuk membentuk asam empedu yang

penting dalam pencernaan dan penyerapan lemak. Kolesterol juga berperan dalam pengangkutan asam lemak melalui dinding usus ke limpa dan merupakan bahan baku untuk pembentukan hormon yang dihasilkan oleh korteks adrenal, testis dan ovarium.

2.2.1 Sintesis kolesterol

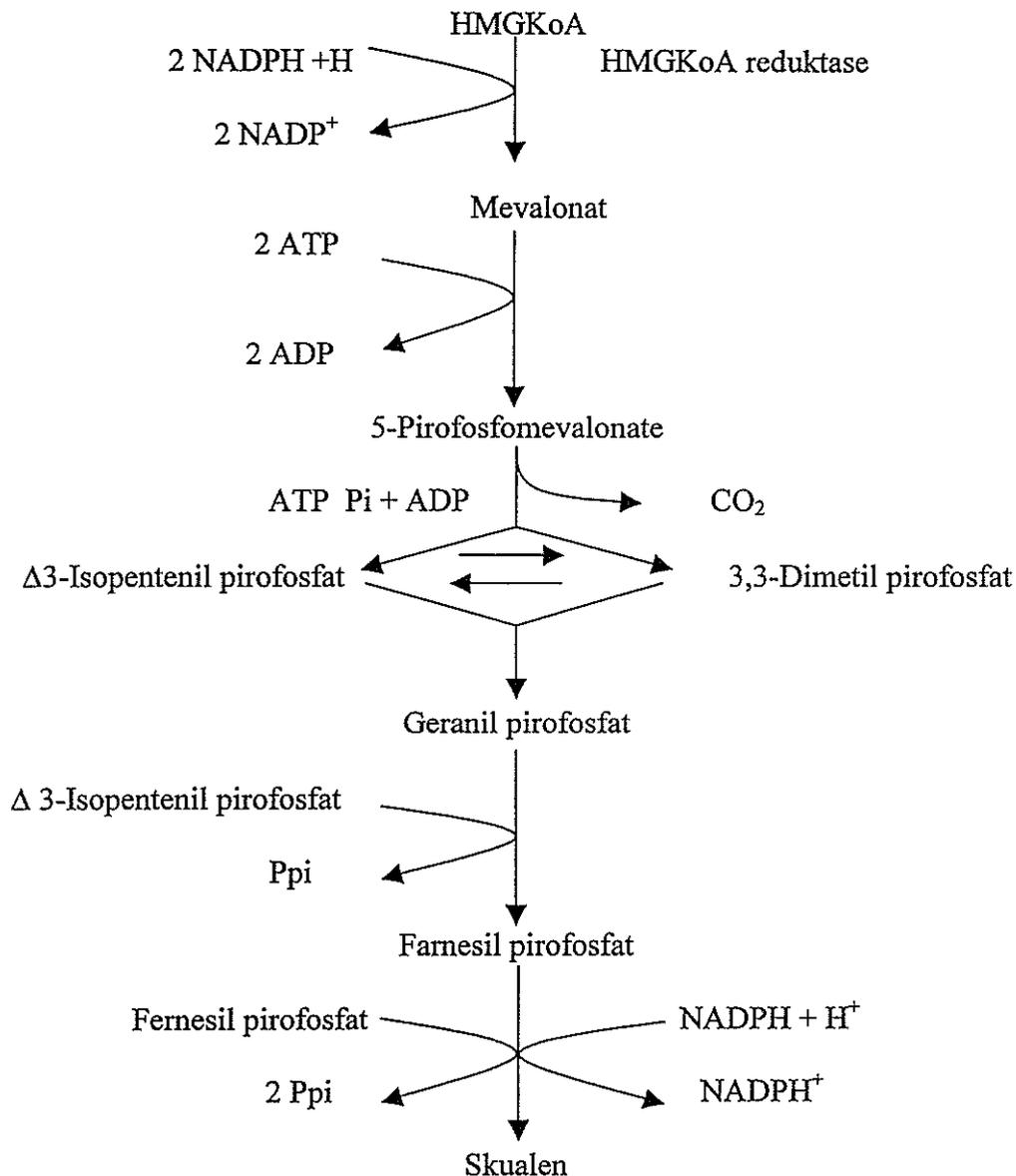
Disamping kolesterol yang diabsorpsi setiap hari dari saluran cerna yang dinamakan kolesterol eksogen, dalam jumlah besar kolesterol dibentuk dalam sel tubuh yang disebut kolesterol endogen (Guyton, 1992). Gambar 2 berikut menunjukkan biosintesis isoprenoid.



Gambar 2. Jalur Biosintesis Isoprenoid

Kolesterol disintesis dari asetil KoA yang dapat berasal dari karbohidrat, asam amino dan lemak. Hati merupakan tempat utama sintesis kolesterol disamping usus dan kelenjar-kelenjar yang memproduksi hormon steroid misalnya korteks adrenal, testis dan ovarium. Semua reaksi sintesis berlangsung dalam kompartemen sitoplasma sel (Montgomery *et al.*, 1983).

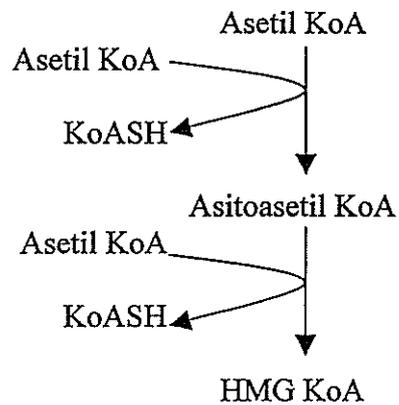
Gambar 3 di bawah ini menunjukkan biosintesis kolesterol tingkat kedua yang melibatkan perubahan HMG KoA menjadi skualen.



Gambar 3. Biosintesis Kolesterol Tingkat Kedua

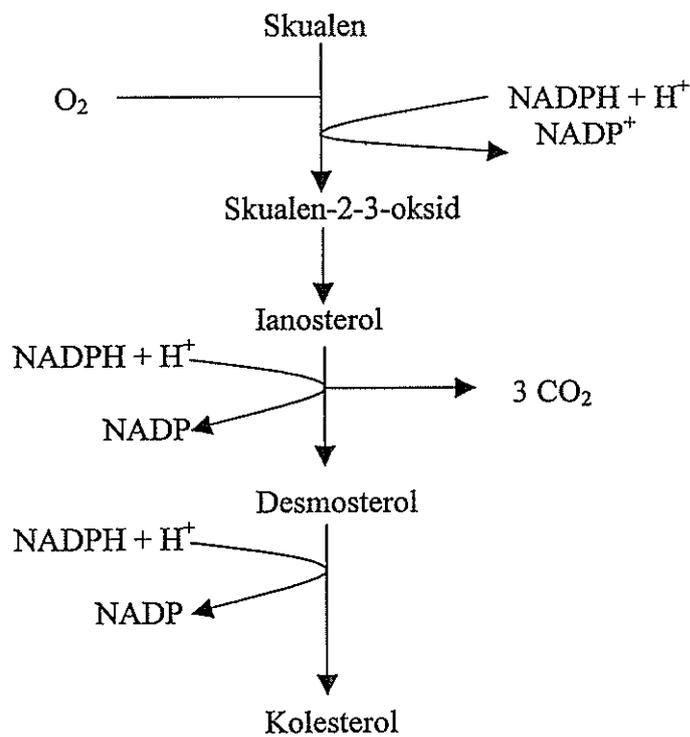
Biosintesis kolesterol berlangsung melalui jalur biosintesis isoprenoid. Jalur ini terdiri dari 3 tingkat. Tingkat pertama adalah pengubahan asetil KoA menjadi 3-hidroksi - 3 metil glutaril KoA atau HMG KoA, tingkat kedua melibatkan perubahan HMG KoA menjadi skualen dan pada tahap terakhir skualen dikonversi

menjadi kolesterol. Gambar 4 berikut merupakan jalur biosintesis kolesterol tingkat pertama yaitu perubahan asetil KoA menjadi 3-hidroksi - 3 metil glutaril KoA atau HMG KoA.



Gambar 4. Biosintesis Kolesterol Tingkat Pertama

Gambar 5 merupakan biosintesis kolesterol tingkat tiga atau terakhir yaitu perubahan skualen menjadi kolesterol.



Gambar 5. Biosintesis Kolesterol Tingkat Tiga

2.2.2 Absorpsi Kolesterol

Menurut Guyton (1992), kolesterol dalam makanan diabsorpsi dalam usus bersama-sama lipid lain termasuk kolesterol yang disintesis dalam usus, kemudian digabungkan ke dalam kilomikron dan *very low density lipoprotein* (VLDL).

Heslet (1997), menyatakan kolesterol yang masuk dalam plasma terutama dalam bentuk kilomikron dan lipoprotein yang dibentuk di dalam hati seperti LDL dan HDL yang berfungsi sebagai pengangkut lemak dan kolesterol. Intestinum hanya mempunyai kemampuan terbatas dalam penyerapan kolesterol dan ester kolesterol dari makanan, hanya kira-kira 20-50% dari *intake* kolesterol yang bisa diserap usus. Penyerapan kolesterol tersebut juga dipengaruhi oleh lemak, yaitu kalau dimakan bersama lemak penyerapannya akan lebih baik sehingga konsumsi lemak terutama lemak jenuh akan menaikkan kadar kolesterol darah (Heslet, 1997).

Kolesterol yang tidak diabsorpsi akan diekskresikan dengan dua cara. Pertama pembentukan asam empedu selanjutnya diekskresikan sebagai sterol netral dalam feses. Kedua untuk sintesis steroid pemecahan dikeluarkan melalui urine (Muchtadi, 1989).

Menurut Muchtadi *et al.* (1993), jalur utama ekskresi kolesterol adalah melalui konversi oleh hati menjadi asam empedu, yaitu asam kolat dan asam khenodeoksikolat yang berikatan dengan glisin atau taurin menjadi garam empedu. Senyawa tersebut diekskresi di dalam dan bersama-sama dengan kolesterol bebas dialirkan melalui saluran empedu ke dalam duodenum sebanyak 600 mg/hari. Jalur minornya melalui sintesis hormon steroid (40 mg/hari), urin (1mg/hari) dan sekitar 50 mg/hari diekskresikan sebagai keringat atau hilang melalui rambut atau kulit.

2.2.3 Kadar kolesterol darah

Menurut Wilbraham (1992), sekitar 90% kolesterol yang disintesis oleh mamalia dibentuk di hati dan disebar ke plasma darah dan jaringan lain, kolesterol plasma ini terikat pada lipoprotein. Kolesterol dalam darah terdapat dalam dua bentuk yaitu dalam bentuk bebas dan ester dengan asam lemak, kira-kira 70% kolesterol plasma berada dalam bentuk ester kolesterol.

Di dalam tubuh kolesterol diangkut ke dalam darah oleh suatu jenis lemak yang disebut lipoprotein (Soegih, 1995). Lipoprotein plasma terdiri dari lipid polar dan non polar. Trigliserida dan ester kolesterol termasuk lipid non polar sedangkan fosfolipid dan kolesterol termasuk lipid polar (Lehninger, 1992). Lipid non polar tersebut diikat oleh lipid polar membentuk kompleks lipoprotein (Linder, 1992).

Tingginya kadar kolesterol dalam darah disebabkan oleh beberapa faktor seperti *up-take* (pengambilan) kolesterol dari lipoprotein oleh reseptor (reseptor LDL), *up-take* kolesterol bebas dari lipoprotein oleh sel membran, peningkatan pembentukan kolesterol dan hidrolisis kolesterol ester oleh kolesterol ester hidrolase. Di samping itu juga disebabkan oleh faktor genetik dan faktor lain seperti jenis kelamin, umur, diet, berat badan, aktivitas tubuh, stres dan faktor patologis (Sastri dan Sahim, 1988 dalam Yani, 1990).

Menurut Mayes *et al.* (1995), densitas protein meningkat saat kadar protein meningkat dan kadar lipid menurun serta ukuran partikel menjadi lebih kecil, sebaliknya densitas protein berkurang apabila lemak murni kurang padat daripada air sehingga proporsi lipid terhadap protein dalam lipoprotein meningkat.

Agar dapat diangkut oleh darah, maka kolesterol bergabung dengan protein sebagai lipoprotein, jenis lipoprotein yang termasuk lipoprotein antara lain kilomikron yang berasal dari penyerapan usus, VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) yang berasal dari hati untuk eksport trigliserida, HDL (*High Density Lipoprotein*) yang terikat dalam metabolisme VLDL dan kilomikron dan LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang menunjukkan stadium akhir pada katabolisme (Sulistiorini, 1995).

Lemak jenuh, terutama berasal dari produk hewan cenderung meningkatkan kolesterol darah. Lemak tidak jenuh terutama berasal dari produk nabati cenderung untuk menurunkan kolesterol darah. Demikian juga lemak nabati yang jenuh, yang membeku pada suhu kamar, mempunyai pengaruh yang sama seperti lemak hewan dalam meningkatkan kadar kolesterol darah (Heslet, 1997).

Menurut Lehniger (1982), lipoprotein berdasarkan densitas menunjukkan kandungan lipida molekul kilomikron, VLDL, LDL, dan HDL. *High Density*

Lipoprotein (HDL) merupakan partikel lipoprotein yang paling kecil yang dibuat dalam hati. HDL berfungsi mengangkut kelebihan kolesterol yang tidak dapat diambil lagi oleh kolesterol reseptor untuk di bawa kembali ke hati dan kemudian dibuang melalui kantung empedu, HDL mengirimkan kolesterol dari jaringan tubuh dan dari daerah-daerah yang terpengaruh oleh aterosklerosis dan kembali ke hati untuk dipisahkan kolesterolnya (Heslet, 1997).

LDL (*Low Density Lipoprotein*) merupakan lipoprotein yang mempunyai densitas rendah, berfungsi membawa kolesterol dari hati menuju jaringan (Lawson, 1995). Menurut Lawson (1995) konsumsi kolesterol mempunyai peranan paling besar terhadap kadar LDL. Kelebihan LDL yang tidak digunakan menyebabkan terbentuknya aterosklerosis pada dinding arteri yang akan menghambat aliran darah (Heslet, 1997). Pada Tabel 3 ditunjukkan kandungan lipid dan protein berbagai lipoprotein (Soegih, 1995)

Kilomikron adalah lipoprotein dengan kandungan lemak lebih banyak tetapi dengan protein yang lebih sedikit, merupakan pengangkut lemak yang paling penting dalam darah (Heslet, 1997).

VLDL merupakan lipoprotein terbesar kedua, dengan protein yang paling kecil tetapi terkonsentrasi dan mempunyai kandungan lemak terbesar tapi hanya satu (Heslet, 1997).

Tabel 3. Komposisi Berbagai Jenis Lipoprotein

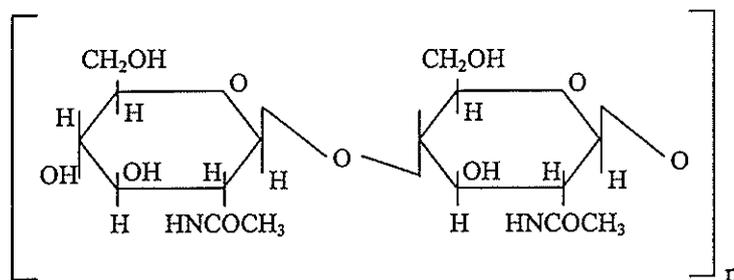
Lipoprotein	Kolesterol (%)	Trigliserida (%)	Fosfolipid (%)	Protein (%)
Kilomikron	5	90	4	1
VLDL	13	65	12	10
LDL	43	10	22	25
HDL	28	2	30	30

Sumber : Soegih, 1995

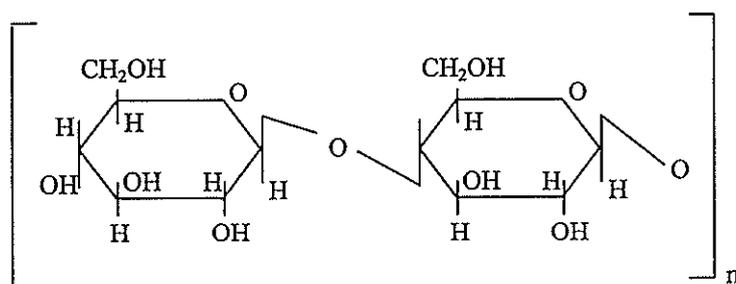
2.3 Khitosan sebagai Penurun Kolesterol

2.3.1 Khitosan sebagai serat dari hewan

Menurut Schneeman (1986), serat makanan merupakan komponen bahan pangan nabati yang penting dan tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pada sistem pencernaan manusia. Serat dalam makanan digolongkan menjadi 2 golongan, yaitu serat yang larut air dan serat yang tidak larut dalam air. Serat larut air meliputi pektin, gel, mucilages yang banyak terdapat pada buah-buahan, dan gum yang banyak terdapat pada biji-bijian dan padi-padian. Sedangkan serat yang tidak larut dalam air meliputi selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa sebagai serat banyak terdapat pada jenis sayur-sayuran, biji-bijian dan kacang-kacangan. Sedangkan lignin banyak terdapat pada sayuran dan biji-bijian (Wirakusumah, 1993). Gambar 6 dan 7 menunjukkan struktur khitin dan selulosa.



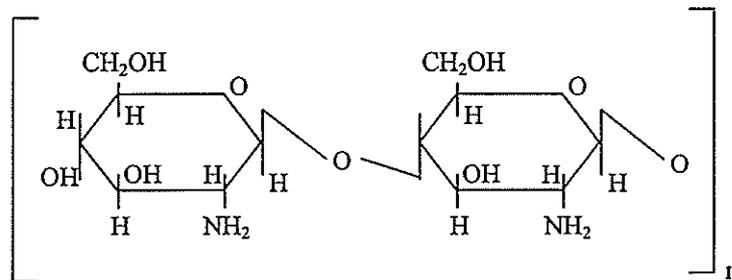
Gambar 6. Struktur Berulang Khitin (Bastaman, 1989)



Gambar 7. Struktur berulang Selulosa (Bastaman, 1989)

Khitosan adalah merupakan nama umum untuk kelompok khitin deasetilasi yang larut dalam asam lemah. Struktur kimia dari khitosan sama dengan selulosa yang ada pada serat makanan (Maezaki *et al.*, 1993). Menurut Bastaman (1989), khitin mempunyai bentuk molekul yang sama dengan selulosa, bedanya terletak pada gugus rantai C-2. Gugus hidroksil C-2 pada khitin digantikan dengan asetilamino (NHCOCH_3).

Pada khitosan gugus asetilamino digantikan dengan gugus amonium (NH_2), seperti pada Gambar 8 (Bought, 1975). Khitosan tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan pada manusia, oleh karena itu diklasifikasikan sebagai suatu serat makanan yang berasal dari hewan. Tetapi khitosan mempunyai polimer kation yang mempunyai gugus amino dalam struktur kimianya yang mempunyai perbedaan karakteristik terbesar dari serat makanan yang lain (Maezaki *et al.*, 1993).



Gambar 8. Struktur Berulang Khitosan (Korr, 1984)

Serat yang tidak larut dalam air tidak dapat menyerap air dengan baik, serat tersebut dapat melunak dan terpecah melalui panas, tetapi proses pemasakan serat yang tidak larut tidak akan memberikan pengaruh yang banyak terhadap tubuh (Holman, 1987).

2.3.2 Khitosan sebagai penurun kolesterol

Menurut Siswandono (1995), serat merupakan senyawa dengan berat molekul tinggi, digunakan sebagai antihiperlipidemia karena mempunyai sifat melarutkan asam empedu dan sterol netral pada saluran usus. Serat makanan dalam hubungannya dengan reaksi fisiologis dalam tubuh ternyata memiliki kemampuan untuk

meningkatkan massa feses, menurunkan kadar kolesterol plasma dan menurunkan respon glikemik dari makanan (Schneeman, 1986).

Selain itu, Williams (1985) juga menyatakan bahwa serat memiliki sifat mengikat bahan organik lain, misalnya asam empedu yang kemudian akan terbuang bersama dengan feses. Asam empedu bertugas mengemulsikan lemak hingga terurai menjadi asam lemak yang akan diserap tubuh. Agar sistem metabolisme lemak tidak terganggu, harus tersedia asam empedu dalam sistem pencernaan. Dengan adanya serat makanan yang mengikat asam empedu, maka jumlah asam empedu bebas akan berkurang, sehingga perlu dibuat asam empedu baru. Asam empedu baru ini dibentuk dari kolesterol yang ada dalam darah. Dengan demikian konsentrasi kolesterol dalam darah akan menurun.

Bila makanan yang dikonsumsi banyak mengandung serat, maka serat akan lebih kuat mengikat asam empedu yang kemudian dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk kotoran, sehingga lemak dan bermacam-macam sterol juga dikeluarkan (Muchtadi *et al.*, 1992).

Knorr (1984), menyatakan bahwa khitin dan khitosan merupakan senyawa yang tidak beracun sebagai unsur serat makanan dan dapat menurunkan kadar kolesterol, selain itu khitosan juga diketahui tidak alergi dan dapat memacu pertumbuhan bakteri penghasil enzim laktase yang biasa hidup dalam organ pencernaan bayi (Austin *et al.*, 1984). Senyawa khitin sulit dicerna oleh tubuh karena berupa polimer glukosa, namun dapat mengikat racun dan glukosa di dalam tubuh. Glukosa yang terdapat pada khitin tidak berubah menjadi glukosa darah sehingga tidak menambah produksi kolesterol. Khitin dapat digunakan sebagai obat antikolesterol (Dirjen Perikanan, 1989).

Ikeda *et al.* (1989), menyatakan bahwa khitosan mampu menurunkan absorpsi kolesterol lebih efektif daripada selulosa pada tikus yang diberi asam oleat tinggi. Khitosan juga mempunyai potensi sebagai hipokolesterolemik yang tinggi serta digesti dan absorpsi lemak dalam traktus intestinal berinteraksi dengan pembentukan misela atau emulsifikasi lipid pada fase absorpsi (Deuchi *et al.*, 1994).

Menurut Ikeda *et al.* (1993), hidrolisat khitosan dengan berat molekul 5000 – 20000 dan viskositas rendah dapat menyerap kolesterol tikus *Sprague Dawley* jantan. Di samping itu pemberian khitin pada konsentrasi 5 % dapat mengabsorpsi kolesterol pada tikus *Wistar* jantan, dengan diet yang mengandung 7 % daging sapi dan 1 % kolesterol (Ikeda *et al.*, 1993). Sedangkan menurut Maezaki (1993), pengaruh khitosan terhadap hipokolesterolemik pada manusia, jika 3-6 gram khitosan perhari diberikan kepada diet 8 orang laki-laki sehat dapat menurunkan kadar kolesterol serum; meningkatkan HDL-kolesterol; meningkatkan pengeluaran asam empedu, asam kholat dan asam khenodeoksikolat dalam feses.

2.4 Tikus Percobaan

Terdapat 5 macam *Basic Stock* tikus putih (*Albino Normal rat, Rattus norvegicus*) yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium yaitu *Long Evans, Osborne Mendel, Sherman, Sprague Dawley* dan *Wistar*. Tikus banyak digunakan sebagai hewan model pada berbagai penelitian, misalnya penelitian mengenai metabolisme lemak (Malole *et al.*, 1989). Sifat yang membedakan dari hewan percobaan lain adalah tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat oesophagus bermuara ke dalam lambung dan tidak mempunyai kantung empedu (Smith, 1988). Disamping itu menurut Malole *et al.* (1989), tikus juga telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna dan mudah dipelihara dan merupakan hewan percobaan untuk berbagai penelitian. Menurut Muchtadi (1989), tikus percobaan mempunyai beberapa karakteristik antara lain *nocturnal*, aktif pada malam hari dan tidur pada siang hari dan tidak pernah berhenti tumbuh walaupun kecepatannya menurun setelah berumur 100 hari.

Zat-zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan tikus hampir sama dengan manusia yaitu : (1) karbohidrat terdiri dari pati, gula dan selulosa, (2) minyak/lemak essensial terutama linoleat dan linolenat, (3) protein terutama asam amino essensial, (4) mineral-mineral elemen mikro dan (5) vitamin-vitamin baik yang larut lemak maupun larut air (Muchtadi, 1989).

Menurut Malole *et al.* (1989), kebutuhan makanan tikus per hari adalah 5 gram dan 10 ml air per 100 gram berat badan. Makanan tikus dapat diganti dengan makanan ayam petelur karena kandungan proteinnya sudah mencukupi yaitu 17%, sedangkan tikus membutuhkan sekitar 12% protein (Malole *et al.*, 1989). Tingkat konsumsi ransum dipengaruhi oleh temperatur kandang, kelembaban, kesehatan dan kualitas makanan.

Sebelum percobaan dimulai harus dilakukan masa adaptasi selama 4 – 5 hari untuk membiasakan tikus dalam lingkungan laboratorium (Muchtadi, 1989). Kandang tikus harus terbuat dari bahan yang tidak mudah berkarat (*galvanized steel* atau *stainless steel*). Kandang tikus harus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut, dan terjaga dari asap industri atau polutan lainnya. Lantai ruangan harus mudah dibersihkan dan disanitasi. Suhu optimum untuk tikus adalah 22–24⁰C dan kelembaban udara 50 – 60 %, dengan ventilasi yang cukup (Muchtadi, 1989).

3. METODOLOGI

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat pembuatan khitosan, alat pembuat ransum, alat pemelihara tikus, alat bedah tikus dan alat alat yang digunakan untuk analisa kolesterol total serum darah tikus.

Alat yang digunakan dalam pembuatan khitosan : pemanas, alat pencuci, alat penyaring, pengaduk dan termometer. Untuk membuat ransum diperlukan peralatan seperti *blender*, penggiling, pan dan oven.

Sedangkan untuk memelihara tikus percobaan diperlukan peralatan antara lain kandang dari *stainless stell* dengan alas dan penutup seperti jeruji dan dilengkapi tempat minum dari botol dan tempat makan, timbangan tikus dan timbangan ransum.

Proses pembedahan tikus memerlukan peralatan antara lain toples bius, alat bedah (gunting, pinset, alat bedah), papan pembedahan, *syringe* dan *spuit* serta tabung penampung darah. Sedangkan untuk analisa kolesterol total serum darah tikus digunakan sentrifuse, mikropipet, tabung reaksi, vorteks dan spektrofotometer.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan khitosan antara lain kulit udang, HCl, NaOH dan H₂O₂. Ransum standar (kontrol negatif) dan lemak kambing yang diperoleh dari Pasar Anyar Bogor.

Sebagai hewan percobaan digunakan tikus putih betina strain *Wistar* berumur empat bulan sebanyak 36 ekor yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Sedangkan untuk pembedahan dan analisis sampel digunakan bahan-bahan seperti dietil eter, kolesterol standar, dan kit kolesterol dari Boehringer Mannheim, dengan kandungan seperti pada lampiran 2.

3.2 Metode Kerja

3.2.1 Pembuatan khitosan

Tahap pertama pembuatan khitosan yaitu proses demineralisasi. Limbah udang yang telah kering dicampur dengan larutan HCl 0,1 N dengan perbandingan 1:7. HCl ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk, kemudian dibiarkan sampai semalam. Setelah dibiarkan kemudian dipanaskan selama satu jam pada suhu 90⁰C yang kemudian disaring dan dicuci dengan air sampai netral.

Tahap berikutnya yaitu deproteinasi. Pada tahap ini, bahan yang telah mengalami demineralisasi dicampur dengan NaOH 3,5 % dengan perbandingan 1:10 selama satu jam pada suhu 90⁰C. Setelah itu bahan kembali disaring dan dicuci dengan air sampai netral sehingga dihasilkan khitin.

Tahap ketiga yaitu pemutihan atau bleaching dengan larutan H₂O₂ 1,5 % selama 2 jam dan kemudian ditiriskan.

Tahap selanjutnya deasetilasi yaitu mengubah khitin menjadi khitosan dengan cara menambahkan NaOH 50 % dengan perbandingan 1:20 yang dipanaskan selama dua jam dengan suhu 110⁰C. Khitosan dihasilkan setelah bahan disaring, dicuci dan dikeringkan. Pembuatan khitosan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Untuk mendapatkan khitosan dengan mutu yang lebih baik, maka dilakukan proses pemanasan dengan NaOH 4 N dengan perbandingan 1 : 10 selama 1 jam pada suhu 110⁰C.

3.2.2 Pembuatan ransum

Ransum untuk perlakuan kontrol positif dan kelompok perlakuan khitosan dibuat dengan cara mencampur 12.5% lemak kambing dengan ransum kontrol negatif (ransum standar) untuk kemudian dipeletkan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 80⁰C selama 1 jam.

3.2.3 Pemeliharaan hewan percobaan

Sebelum tikus diambil dari tempat asalnya, dilakukan persiapan kandang, peralatan makan dan minum serta ruangan yang akan digunakan untuk memelihara

selama 7 hari perlakuan. Kemudian tikus mulai dipelihara dengan masa adaptasi terlebih dahulu selama 4 hari untuk menyesuaikan kondisi fisiologis, nutrisi dan lingkungan.

Dalam penelitian ini terdapat empat perlakuan yaitu perlakuan kontrol negatif (C-), kontrol positif (C+), perlakuan khitosan mutu 2 (P1) dan perlakuan khitosan mutu 1 (P2) yang diberi selama 7 hari perlakuan. Untuk lebih jelasnya lihat Tabel 4.

Tabel 4. Jenis Ransum Selama Perlakuan

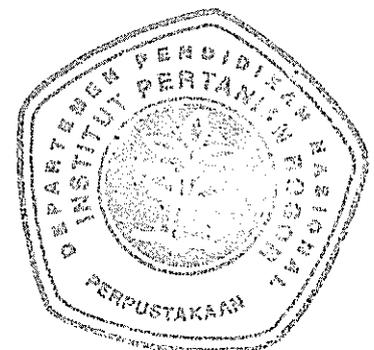
Perlakuan	Jenis pakan
C-	Ransum Standar (RS)
C+	RS + Lemak Kambing (LK) 12.5%
P1	RS + LK + 50 mg Khitosan mutu 2
P2	RS + LK + 50 mg Khitosan mutu 1

Keterangan :

RS mengandung protein > 12%

Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 kandang dimana setiap kandang terdiri dari 3 ekor tikus, sehingga tikus yang dibutuhkan berjumlah 36 ekor. Pemberian ransum dilakukan sesuai dengan perlakuan secara *ad libitum* yaitu tikus-tikus diberi keleluasaan makan dan minum kapan saja dan dalam jumlah yang tidak terbatas.

Untuk khitosan diberikan secara oral setiap hari dalam bentuk larutan, yaitu dilarutkan dalam asam asetat 1% sebanyak 3 tetes dan diencerkan dengan aquades hingga 3 ml. Larutan ini mempunyai pH 6 dan diberikan secara oral dengan menggunakan *syringe* tanpa jarum agar tidak melukai mulut tikus dan diganti dengan selang kecil yang agak kaku.



3.3 Parameter yang Diamati

3.3.1 Berat ransum yang dikonsumsi

Ransum dan air minum diberikan secara *ad libitum* setiap hari. Untuk mengetahui jumlah ransum yang dikonsumsi maka dilakukan penimbangan terhadap sisa ransum yang tidak dikonsumsi.

3.3.2 Berat feses

Berat feses ditimbang tiap hari, dalam penelitian ini penimbangan dilakukan terhadap berat kering feses. Pengambilan feses dilakukan dengan memberi alas koran pada kandang tikus, sehingga feses terkumpul dalam koran karena alas kandang berbentuk jeruji dari besi.

3.3.3 Berat badan

Berat badan ditimbang setiap hari selama 7 hari pengamatan. Karena setiap kandang terdapat 3 ekor tikus maka untuk menghindari kemungkinan tertukarnya antar individu dalam satu kandang, maka ekor tikus diberi tanda dengan spidol permanen.

3.3.4 Kadar kolesterol total serum darah tikus

Pengambilan darah tikus dilakukan sebanyak 3 kali yaitu hari pertama, hari ke-4 dan hari ke-7 masing-masing 3 kali ulangan. Pengambilan darah dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum dibedah tikus di-*eutisasi* dengan pembiusan ringan terlebih dahulu dengan dietil eter. *Eutisasi* dilakukan dengan cara memasukkan tikus ke dalam toples pembiusan yang telah berisi kapas yang dibasahi dietil eter. Setelah tikus pingsan kemudian dikeluarkan dan dibedah dengan dimulai dari perut bagian bawah. Darah diambil dari jantung dengan *syringe* dan dipindahkan ke dalam tabung dan ditutup.

Setelah darah terkumpul dalam tabung kemudian disentrifuse untuk memisahkan serumnya dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Serum yang terpisah dipipet ke dalam tabung yang lain untuk dianalisa kolesterol totalnya.

Analisa kolesterol total serum darah tikus dilakukan dengan metode CHOD-PAP pedoman kerja Boehringer Mannheim Indonesia (1993).

Penentuan Kandungan Kolesterol serum (Metode Boehringer Mannheim, 1993)

Kolesterol ditentukan setelah hidrolisis dan oksidasi. Indikator quinoneimine bentuk dari hidrogen peroksida dan 4-aminoantipyrin dengan adanya fenol dan peroksidase.

Komposisi

RI : 4 x 250, atau 4 x 100 ml Reagen

STR : 3 ml standar 200 mg/dL atau 5.17 mmol/L

Persiapan Reagen

Reagen dan standar siap pakai tanpa pengenceran

Stabilitas Reagen

Reagen stabil sampai masa kadaluarsa bila disimpan dalam 2-8°C. Setelah dibuka reagen stabil sampai masa kadaluarsa bila kontaminasi dapat dihindarkan.

Prosedur

Panjang gelombang : Hg 546 (500 nm)

Tebal kuvet : 1 cm

Temperatur : 20-25°C

Pengukuran terhadap : Blanko Reagen

	RB	Standar	Sampel
Sampel (µL)	-	-	10
Standar (µL)	-	10	-
Reagen (µL)	1000	1000	1000
Campur, diinkubasi 20 menit, diukur absorbansi standar (Astd) dan sampel (Aspl) terhadap blanko reagen (RB) dalam waktu 60 menit			

Sampel

Serum, plasma heparin atau EDTA

Kalkulasi dengan Standar

C (mg/dL) : $200 \times d \text{ Aspl/dA}$, atau

C (mmol/L) : $5.17 \times d \text{ Aspl/d std}$

3.4 Analisa Data

Pada penelitian ini data dianalisis dengan analisis deskriptif dengan menggunakan grafik dan diagram batang untuk membandingkan hubungan antara hari dan perbedaan perlakuan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Khitosan

Dari proses isolasi yang dilakukan terhadap kulit udang kering diperoleh karakteristik khitosan seperti tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik Khitosan Hasil Isolasi

Parameter	Khitosan	
	Mutu 2	Mutu 1
Kadar air (%)	8.67	10.46
Kadar abu (%)	0.11	0.08
Derajat Deasetilasi (%)	81.51	89.06
Warna larutan	Jernih	Jernih
Kadar total N (%)	4.39	4.26

4.1.1 Kadar air

Kadar air merupakan salah satu parameter yang ditetapkan pada standar mutu khitosan. Khitosan bermutu baik jika kadar airnya tidak lebih dari 10%. Dari hasil isolasi khitosan yang dilakukan, untuk khitosan mutu 2 telah memenuhi syarat karena kadar airnya 8,67%, sedangkan untuk khitosan mutu 1 kadar airnya 10.46%, nilai ini belum memenuhi standar mutu.

Kadar air khitosan tidak dipengaruhi oleh perlakuan yang diberikan, tetapi tergantung dari proses pengeringan yang dilakukan selama isolasi. Hal tersebut dapat terlihat bahwa adanya pemanasan tambahan dengan NaOH 4N yang dilakukan tidak memperkecil kadar air karena diduga setelah proses penambahan pemanasan, pengeringan yang dilakukan kurang sempurna. Disamping itu wadah penyimpanan yang kurang tertutup juga dapat menyebabkan penyerapan air dari lingkungan oleh khitosan karena khitosan bersifat higroskopis. Menurut Sudarmadji (1989), suatu

bahan yang telah mengalami pengeringan ternyata lebih bersifat higroskopis dibanding bahan asalnya.

4.1.2 Kadar abu

Abu merupakan unsur-unsur mineral yang tidak dapat dibakar yang masih terdapat dalam suatu bahan. Pada isolasi khitosan yang dilakukan, baik mutu 1 maupun mutu 2 menghasilkan kadar abu yang telah memenuhi standar mutu. Kadar abu khitosan mutu 2 dan mutu 1 masing-masing 0.11% dan 0.08%. Dari Hasil tersebut menunjukkan bahwa proses pemanasan tambahan dengan NaOH 4N yang dilakukan dapat menurunkan kadar abu pada khitosan mutu 1.

4.1.3 Kadar total nitrogen

Kadar total nitrogen hasil proses deproteinasi yang dilakukan pada khitosan mutu 2 dan mutu 1 masing-masing 4.39% dan 4.26%. Dari nilai tersebut dapat diketahui bahwa proses pemanasan tambahan dengan larutan NaOH 4N dapat menurunkan kadar total nitrogen sebesar 2.96%.

Kemampuan larutan NaOH mengisolasi protein dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu isolasinya, semakin tinggi konsentrasinya dan makin lama waktunya semakin besar kemampuan isolasinya. Dengan adanya pemanasan tambahan dengan larutan NaOH 4N selama 1 jam dapat menurunkan kandungan total nitrogen dalam khitosan, karena protein yang bereaksi dengan NaOH membentuk ester yang semakin sempurna sehingga semakin besar pula protein yang dapat dihilangkan.

4.1.4 Derajat deasetilasi

Karena khitosan merupakan produk deasetilasi khitin, maka semakin banyak gugus asetil yang dapat dihilangkan dari khitin makin tinggi mutu khitosan yang dihasilkan. Presentasi gugus asetil yang bisa dihilangkan dari khitin pada proses deasetilasi disebut derajat deasetilasi. Menurut standar mutu yang ada, derajat deasetilasi khitosan yang memenuhi syarat adalah lebih besar dari 70%. Dari isolasi khitosan baik mutu 2 maupun mutu 1 nilainya telah memenuhi standar, karena masing-masing nilainya 81.51% dan 89.06%.

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa dengan adanya pemanasan tambahan dengan larutan NaOH 4N dapat meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 9.26%. Derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan kemurnian khitosan yang dihasilkan. Semakin banyak gugus asetil yang hilang dari polimer khitin, maka semakin kuat interaksi antar ion dan ikatan hidrogen dari khitosan.

4.2 Berat Ransum

Untuk mengetahui berat ransum yang dikonsumsi pada tiap perlakuan, tikus diberi ransum secara *ad libitum* yaitu memberi keleluasaan pada tikus-tikus untuk makan dan minum kapan saja dan dalam jumlah yang tidak terbatas. Ransum dan minuman diganti setiap hari, dan untuk mengetahui berat yang dikonsumsi tiap hari maka sisa ransum ditimbang untuk setiap kandang.

Dari hasil pengamatan selama tujuh hari, konsumsi ransum untuk masing-masing perlakuan yang terdiri dari perlakuan kontrol negatif, perlakuan kontrol positif, perlakuan 50 mg khitosan mutu 2 dan perlakuan 50 mg khitosan mutu 1 masing-masing bernilai 12.89, 11.30, 9.74 dan 10.17 gram per ekor per hari.

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan kontrol negatif menyebabkan berat konsumsi ransum terbesar dibanding perlakuan yang lain dan perlakuan khitosan mutu 2 menyebabkan berat konsumsi ransum terkecil.

Untuk kontrol negatif, dimana berisi ransum standar menunjukkan konsumsi ransum tertinggi dibanding perlakuan yang lain yaitu sebesar 12.89 gram per ekor per hari. Sedangkan untuk kontrol positif dimana ransum standar ditambah lemak kambing sebesar 12.5%, menunjukkan konsumsi yang lebih kecil dibanding kontrol negatif yaitu sebesar 11.30 gram per ekor per hari. Tetapi nilai ini masih lebih besar dibanding berat ransum yang dikonsumsi kelompok perlakuan khitosan mutu 2 dan khitosan mutu 1 yang masing-masing sebesar 9.74 dan 10.17 gram per ekor per hari.

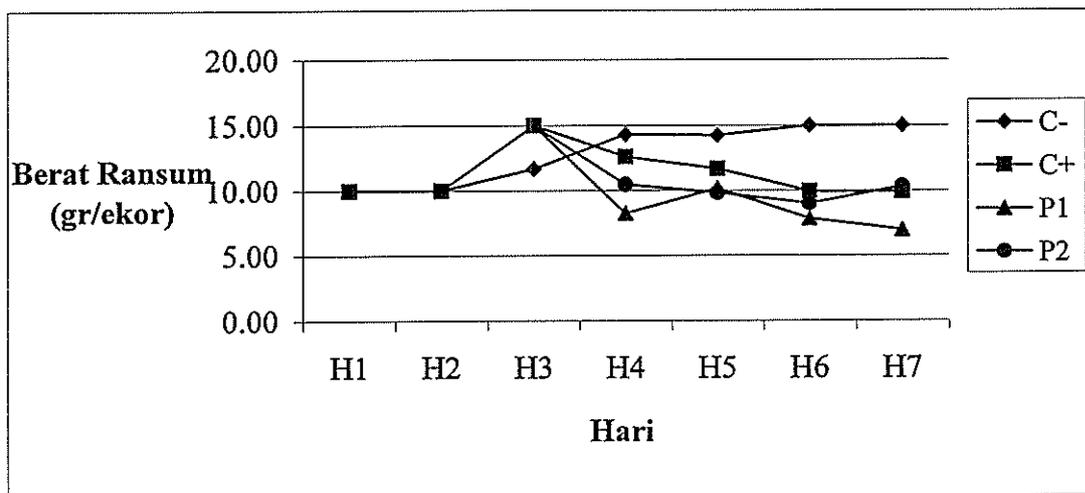
Adanya penambahan lemak kambing sebesar 12.5% menyebabkan berat ransum yang dikonsumsi lebih kecil dari kontrol negatif. Lemak gajah yang diperoleh dari jaringan lemak yang banyak terdapat dalam rongga perut, mempunyai

sifat-sifat seperti tekstur, cita rasa dan bau yang tidak seragam. Disamping itu lemak gajah cepat menjadi tengik sehingga mempengaruhi aroma dan cita rasa dari ransum yang dihasilkan (Winarno, 1996)

Tabel 6 Menunjukkan berat ransum yang dikonsumsi untuk tiap perlakuan. Dari tabel tersebut diketahui bahwa ransum yang diberikan secara *ad libitum* pada tikus-tikus menyebabkan perbedaan berat ransum yang dikonsumsi tiap ekor. Sedangkan Gambar 9 dapat memperjelas perbedaan konsumsi ransum tiap perlakuan.

Tabel 6. Berat Ransum yang Dikonsumsi selama Perlakuan

Perlakuan	Hari (gr/ekor)							
	1	2	3	4	5	6	7	Rata-rata
C-	10.00	10.00	11.67	14.31	14.24	15.00	15.00	12.89
C+	10.00	10.00	15.00	12.59	11.67	9.94	9.91	11.30
P1	10.00	10.00	15.00	8.25	10.17	7.83	6.95	9.74
P2	10.00	10.00	15.00	10.46	9.83	9.00	10.33	10.17



Gambar 9. Berat Ransum yang Dikonsumsi selama Perlakuan

Dari Gambar 9 dapat diketahui bahwa pada hari kesatu sampai ketiga menunjukkan berat konsumsi ransum yang sama untuk C+, P1 dan P2 sedangkan untuk C- menunjukkan jumlah konsumsi ransum yang lebih kecil terutama untuk hari kedua sampai hari ketiga. Hal ini diduga karena kelompok C+, P1 dan P2 berisi ransum yang sama sehingga menunjukkan konsumsi yang cenderung sama pada hari pertama sampai ketiga, dimana hari tersebut kemungkinan merupakan masa adaptasi terhadap ransum yang diberikan. Untuk kelompok C- konsumsi ransumnya naik secara perlahan tanpa pernah mengalami penurunan karena berisi ransum standar yang biasa dikonsumsi sehingga tidak memerlukan masa adaptasi lagi.

Kecilnya konsumsi ransum pada perlakuan baik khitosan mutu 2 maupun mutu 1 disebabkan karena bahan-bahan tersebut termasuk ke dalam kelompok serat dari hewan yang tidak larut karena mempunyai struktur kimia yang hampir sama dengan selulosa sehingga mempunyai efek mengenyangkan bila dikonsumsi. Menurut Purnamawati (1997), khitosan termasuk ke dalam kelompok makanan yang mempunyai kadar serat tinggi karena mempunyai kandungan total serat makanan sebesar 72.52%. Disamping itu, kecilnya konsumsi ransum pada perlakuan khitosan dimungkinkan adanya *aftertaste* yang kurang enak yaitu adanya rasa sepat dan bahkan mungkin pahit. Kemungkinan penyebabnya adalah gugus amin yang terikat pada khitosan yang terlepas akibat reaksi dengan asam organik atau disebabkan oleh produk hasil degradasi protein akibat pemanasan yang tinggi selama proses ekstraksi bahan dari bahan baku.

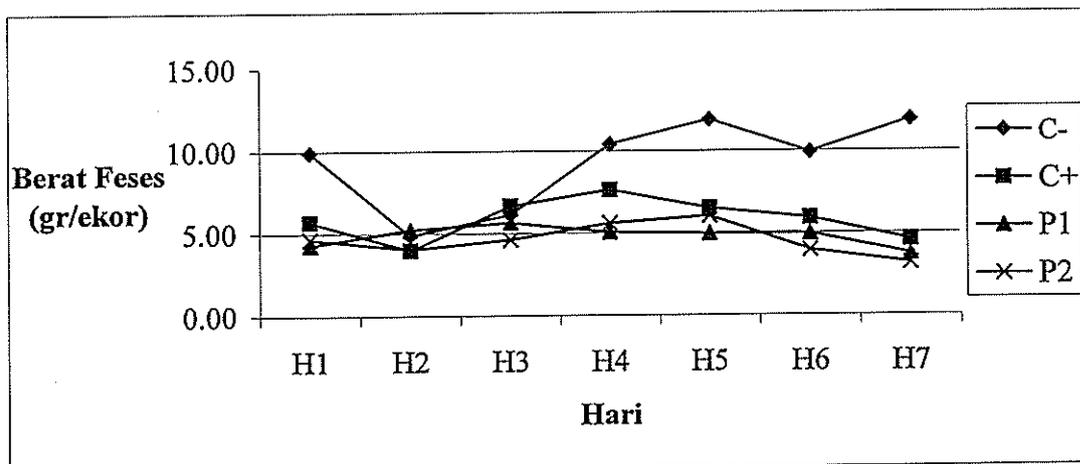
4.3 Berat Feses

Kelompok kontrol negatif mempunyai berat rata-rata feses yang lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan yang lain, yaitu sebesar 9.38% per ekor per hari. Kemudian berat rata-rata dari kelompok perlakuan kontrol positif, perlakuan khitosan mutu 2 dan khitosan mutu 1 masing-masing 5.81, 4.74 dan 4.76 gram per ekor per hari.

Pada Tabel 7 dapat dilihat berat feses per ekor per hari selama 7 hari perlakuan. Dari hasil tersebut, bila dihubungkan dengan jumlah konsumsi ransum dapat diketahui bahwa berat rata-rata feses tikus per hari berhubungan dengan berat konsumsi ransumnya. Hal ini bisa dilihat dari konsumsi ransum kontrol negatif yang mempunyai nilai terbesar akan menghasilkan berat feses yang juga terbesar. Sedangkan untuk konsumsi ransum terkecil yaitu kelompok perlakuan khitosan mutu 2 menghasilkan berat feses yang juga terkecil.

Tabel 7. Berat Feses Tikus Percobaan selama Perlakuan

Perlakuan	Hari (gr/ekor)							Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	
C-	10.69	4.86	6.12	10.41	11.88	9.92	11.88	9.38
C+	5.44	3.98	6.65	7.62	6.49	5.91	4.58	5.81
P1	3.65	5.23	5.64	5.06	4.97	4.96	3.72	4.74
P2	5.98	4.04	4.61	5.60	6.03	3.96	3.16	4.76



Gambar 10. Berat Feses Tikus Percobaan selama Perlakuan

Dari Gambar 10 dapat dilihat bahwa berat feses mengalami penurunan pada hari kedua karena adanya penyesuaian terhadap ransum yang diberikan. Pada hari kedua sampai hari keempat mengalami kenaikan dan kembali mengalami penurunan sampai hari ke-7, kecuali untuk perlakuan kontrol negatif yang justru mengalami

kenaikan. Penurunan pada ketiga perlakuan ini diduga berhubungan dengan jenis ransum yang diberikan, yaitu dengan adanya penambahan lemak kambing pada kontrol positif dan khitosan untuk perlakuan P1 dan P2.

Sifat serat dalam meningkat massa feses berhubungan dengan kemampuan daya serap air serat tersebut. Khitosan yang serupa dengan selulosa mempunyai kapasitas yang terbatas dalam menyerap air. Tetapi hal ini tidak berarti bahwa zat yang terdapat dalam feses seperti asam empedu, lemak dan kolesterol juga kecil, karena semakin banyak serat yang dikonsumsi semakin banyak pula asam empedu, lemak dan kolesterol yang dikeluarkan tubuh bersama feses.

4.4 Pertambahan Berat Badan

Penimbangan berat badan dilakukan tiap hari selama satu minggu perlakuan tiap individu dengan tujuan untuk mengetahui pertambahan berat badan.

Tabel 8. Pertambahan Berat Badan Tikus Percobaan selama Perlakuan

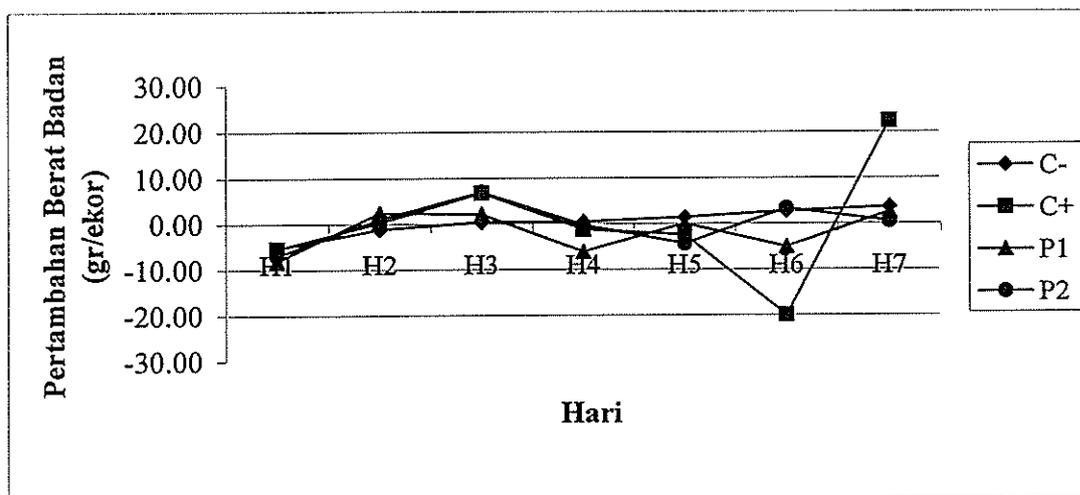
Perlakuan	Hari (gr/ekor)							Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	
C-	-5.32	-1.18	0.38	0.42	1.37	2.70	3.67	2.04
C+	-5.43	0.18	6.77	-1.28	-2.40	-20.00	22.40	0.24
P1	-8.14	2.45	2.07	-6.12	0.03	-5.07	2.53	-12.25
P2	-6.93	1.03	7.03	-0.30	-4.37	3.67	0.47	-1.42

Pada Tabel 8 menunjukkan pertambahan berat badan dan rata-rata pertambahan berat badan semua kelompok perlakuan. Dari tabel tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan kontrol negatif (pakan standar) mengalami pertambahan berat badan tertinggi yaitu sebesar 2.04 gram per ekor per hari. Sedangkan kelompok perlakuan kontrol positif (pakan standar ditambah dengan lemak kambing 12.5%) mengalami pertambahan berat badan sebesar 0.24 gram per ekor per hari.

Adanya penambahan berat badan terbesar untuk kelompok perlakuan kontrol negatif, mungkin berhubungan dengan konsumsi ransum kelompok ini yang juga terbesar dibanding kelompok perlakuan lainnya. Disamping itu, karena kontrol negatif berisi ransum standar, maka ada kemungkinan kelompok perlakuan ini sudah terbiasa dengan konsumsi ransum yang disediakan sehingga berat badan selama perlakuan cenderung meningkat.

Dengan adanya penambahan lemak sebesar 12.5% pada kelompok perlakuan kontrol positif, menyebabkan berkurangnya konsumsi ransum yang berakibat kenaikan berat badan yang lebih kecil dibanding kontrol negatif.

Gambar 11 menunjukkan penambahan berat badan untuk masing-masing perlakuan. Kelompok C+ mengalami penurunan berat badan yang drastis pada hari ke-5 sampai hari ke-6 dibanding perlakuan yang lain. Hal ini diduga karena kondisi internal tikus baik kondisi fisik maupun kondisi psikologis seperti adanya stres dan pengaruh konsumsi ransum yang ditambah lemak yang terakumulasi pada hari ke-5 sampai hari ke-6 menyebabkan berat badan menurun secara drastis.



Gambar 11. Pertambahan Berat Badan Tikus Percobaan selama Percobaan

Pada hari keenam sampai hari ketujuh kelompok C+ mengalami kenaikan berat badan lebih besar dibanding perlakuan lainnya yang dimungkinkan karena kondisinya telah normal kembali.

Jika kelompok perlakuan kontrol negatif dan positif mengalami penambahan berat badan, kelompok perlakuan khitosan justru mengalami penurunan berat badan. Pada kelompok perlakuan khitosan mutu 1, penurunan berat badan tidak begitu besar yaitu 1.42 gram per ekor per hari. Sedangkan kelompok perlakuan khitosan mutu 2 terjadi penurunan berat badan yang cukup besar yaitu 12.25 gram per ekor per hari.

Secara umum, energi yang berasal dari bahan makanan digunakan untuk mempertahankan suhu tubuh, gerakan otot, mengganti sel yang rusak pada orang dewasa dan pertumbuhan sel pada anak. Bila asupan lemak, protein dan karbohidrat sebanding dengan energi yang keluar, maka bahan-bahan tersebut sudah habis terpakai sebelum sediaan yang baru datang. Dengan demikian berat badan dapat dipertahankan konstan.

Menurut Smith dan Soesanto (1988), kecepatan pertumbuhan tikus adalah lima gram/hari. Jika dihubungkan dengan pernyataan tersebut, menunjukkan bahwa pertumbuhan kelompok perlakuan kontrol negatif dan positif cenderung konstan selama tujuh hari pengamatan. Pertambahan berat badan kedua kelompok ini lebih kecil dari lima gram/hari diduga karena umur hewan percobaan yang sudah mencapai seratus hari. Hal ini sesuai pernyataan Muchtadi (1989) bahwa tikus tidak pernah berhenti tumbuh walaupun kecepatannya menurun setelah berumur 100 hari.

Dari hasil selama seminggu perlakuan, baik khitosan mutu 1 maupun khitosan mutu 2 mengalami penurunan berat badan tetapi efek penurunannya lebih besar pada kelompok perlakuan khitosan mutu 2. Efek penurunan berat badan ini diduga berkaitan dengan konsumsi ransum yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol.

Khitosan termasuk ke dalam makanan yang berkadar serat tinggi (72.52%) (Purnamawati, 1997). Adanya penambahan bahan-bahan tersebut ke dalam ransum bisa menyebabkan pengikatan zat-zat gizi tertentu seperti vitamin, mineral dan protein yang diperlukan dalam proses metabolisme (Muchtadi, 1989). Protein yang kurang dicerna oleh tubuh selanjutnya dapat berpengaruh pada penurunan jumlah asam-asam amino yang dapat diserap dan digunakan, karena sebagian besar akan

dibuang melalui feses. Sehingga walaupun jumlah ransum yang dikonsumsi banyak, tapi pertumbuhan berat badannya semakin rendah.

Serat makanan juga dapat mempengaruhi enzim-enzim protease baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada hewan percobaan dan mengganggu penyerapan lemak, karena serat dapat meningkatkan ekskresi asam empedu yang berperan dalam penyerapan lemak.

4.5 Kadar Kolesterol Total

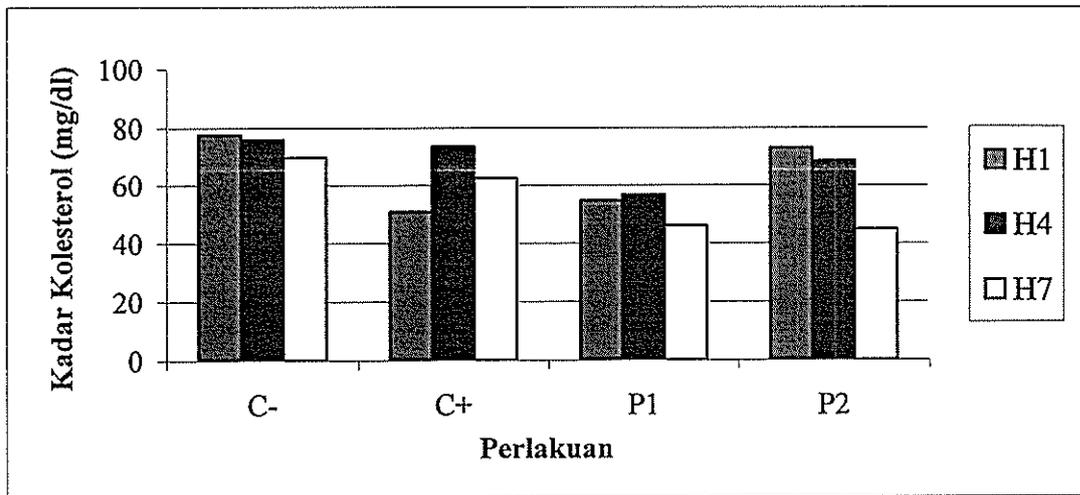
Untuk mengetahui efek kelompok perlakuan terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus, maka dilakukan tiga kali analisis yaitu hari ke-1, hari ke-4 dan hari ke-7.

Pada kelompok perlakuan kontrol negatif, terjadi penurunan kolesterol total selama seminggu perlakuan. Pada hari ke-4 pengamatan terjadi penurunan kadar kolesterol total sebesar 2.04%, sedangkan hari ke-7 terjadi penurunan sebesar 10.30% dibanding hari pertama. Penurunan kolesterol total pada kelompok ini dimungkinkan karena kecilnya kadar kolesterol dan lemak yang ada dalam ransum, sehingga sebagian besar kolesterol yang ada dalam darah berasal dari sintesis endogen dari tubuh yang terjadi terutama dalam hati disamping dalam usus dan kelenjar-kelenjar yang memproduksi hormon steroid lainnya seperti korteks adrenal, testis dan ovarium. Kadar kolesterol total tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus

Perlakuan	Hari		
	1	4	7
C-	77.80	76.21	69.79
C+	50.91	73.74	62.54
P1	54.62	56.66	46.09
P2	73.18	68.64	44.89

Gambar 9 menjelaskan perbedaan kadar kolesterol total antar perlakuan pada pengamatan hari pertama, keempat dan ketujuh.



Gambar 12. Kadar Kolesterol Total Serum Darah Tikus Percobaan

Untuk kelompok perlakuan kontrol positif, terjadi kenaikan kadar kolesterol total selama seminggu pengamatan sebesar 22.84%. Selama tiga kali analisis, kadar kolesterol terbesar terjadi pada hari ke-4 pengamatan dengan kenaikan sebesar 44.84% terhadap hari pertama. Pada hari ke-7 pengamatan terjadi penurunan 20.61% dibanding hari ke-4. Tetapi kadar kolesterol hari ke-7 masih lebih tinggi 22.84% dibanding hari pertama.

Kenaikan kadar kolesterol total pada kelompok ini, diduga karena adanya penambahan lemak kambing sebesar 12.5% pada ransum. Karena lemak kambing merupakan salah satu lemak jenuh yang di dalamnya terkandung asam-asam lemak seperti asam miristat (14 : 0) sebesar 5%, asam stearat (18 : 0) sebesar 30% dan asam palmitat (16 : 0) sebesar 25% (Buckle *et al.*, 1988). Menurut Herman (1991), konsumsi asam lemak jenuh tinggi akan menaikkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam darah, asam palmitat dan asam miristat merupakan asam lemak yang paling kuat mempengaruhi konsentrasi kolesterol. Sehingga mekanisme tubuh untuk mengatur keseimbangan produksi kolesterol dalam hati tidak bekerja secara efektif.

Untuk kelompok perlakuan khitosan mutu 2 secara umum mengakibatkan penurunan kolesterol total serum darah sebesar 15.62% selama seminggu perlakuan. Pada hari ke-4 analisis terjadi sedikit kenaikan kadar kolesterol sebesar 2.64% dibanding hari pertama dan kembali mengalami penurunan pada hari ke-7 pengamatan. Adanya kenaikan kadar kolesterol hari ke-4 pada kelompok perlakuan khitosan mutu 2 ini diduga karena kecilnya kadar kolesterol total pada hari pertama. Adanya kenaikan pada hari keempat ini sebenarnya sudah menunjukkan efek pemberian khitosan, hal ini bisa dilihat jika dibandingkan dengan kelompok C+ yang berisi ransum yang sama dengan P1. Pada hari keempat kelompok C+ mengalami kenaikan kadar kolesterol yang jauh lebih besar dibanding P1. Pengaruh pemberian khitosan mutu 2 semakin terlihat pada hari ke-7 dengan adanya penurunan kadar kolesterol total sebesar 15.62%.

Pada kelompok perlakuan pemberian khitosan mutu 1, terjadi penurunan kadar kolesterol total serum darah sebesar 38.66% selama seminggu perlakuan. Penurunan ini terjadi baik pada hari ke-4 maupun hari ke-7 pengamatan. Pada hari ke-4 terjadi penurunan sebesar 6.20%, sedangkan hari ke-7 sebesar 34.60% terhadap hari ke-4. Dari hasil di atas ternyata khitosan dengan mutu yang lebih baik dapat memberikan efek yang lebih besar pada penurunan kadar kolesterol total serum darah tikus percobaan.

Seperti telah diketahui bahwa khitosan termasuk ke dalam kelompok serat dari hewan yang memiliki struktur mirip selulosa dan menurut Purnamawati (1997) bahwa kadar total serat makanan sebesar 72.52% sehingga dikelompokkan ke dalam makanan dengan kadar serat tinggi. Kemampuan serat untuk menurunkan kadar kolesterol darah berkaitan dengan sifat daya ikatnya terhadap bahan organik termasuk asam empedu. Asam empedu berfungsi untuk mengemulsikan lemak menjadi asam lemak yang dapat diserap oleh tubuh. Dengan diikatnya asam empedu oleh serat, maka jumlah asam empedu bebas akan berkurang dan memacu dibentuknya asam empedu baru dari kolesterol yang ada dalam darah sehingga konsentrasi kolesterol dalam darah akan menurun. Karena serat tidak dapat dicerna maka bersama asam empedu akan diekskresikan bersama feses.

Disamping itu serat merupakan media efektif fermentasi bagi mikroba anaerobik seperti bakterioades yang mampu memfermentasi serat larut air dalam usus besar. Fermentasi ini akan menghasilkan asam-asam lemak rantai pendek seperti asam propionat, asam asetat dan asam butirat. Asam lemak propionat dapat menekan pembentukan kolesterol karena fungsinya sebagai inhibitor enzim 3-hidroksi-3-metil glutaril Ko-A reduktase yang merupakan enzim pembentukan kolesterol dalam hati. Dengan mekanisme tersebut di atas, khitosan merupakan bahan antilipemik yang mempercepat ekskresi lipid dan menghambat penyerapan kolesterol.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Isolasi khitosan dari kulit udang yang meliputi proses demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi menghasilkan khitosan mutu 2 dengan kadar air 8,67%, kadar abu 0,11%, total nitrogen 4,39% dan derajat deasetilasi 91,06%. Sedangkan dengan adanya proses penambahan pemanasan dengan larutan NaOH 4N selama 1 jam pada suhu 110°C menghasilkan khitosan mutu 1 dengan kadar air 10,46%, kadar abu 0,08%, kadar protein kasar 26,62% dan derajat deasetilasi sebesar 89,06%. Hasil tersebut telah memenuhi standar mutu khitosan, kecuali untuk kadar air pada khitosan mutu 1. Kadar air standar mutu khitosan adalah $\leq 10\%$. Lebih tingginya kadar air khitosan yang dihasilkan bisa disebabkan oleh kurang sempurnanya proses penjemuran dan penyerapan air dari lingkungan pada waktu penyimpanan.

Pemberian khitosan mutu 1 dan khitosan mutu 2 sebesar 50 mg per ekor per hari pada tikus percobaan dapat menurunkan konsumsi ransum, menurunkan berat badan, menurunkan berat feses dan menurunkan kadar kolesterol total serum darah tikus percobaan.

Pemberian khitosan 50 mg per ekor per hari selama 7 hari perlakuan dapat menurunkan konsumsi ransum dibanding perlakuan kontrol negatif (ransum standar) dan perlakuan kontrol positif (ransum ditambah 12,5% lemak kambing). Berat rata-rata konsumsi ransum untuk perlakuan kontrol negatif, perlakuan kontrol positif, perlakuan khitosan mutu 2 dan perlakuan khitosan mutu 1 masing-masing adalah 12,89, 11,30, 9,74 dan 10,17 gram per ekor per hari. Dari hasil ini terlihat bahwa khitosan mutu 2 memberikan efek penurunan konsumsi ransum lebih besar dibanding perlakuan yang lain.

Berat rata-rata feses tikus percobaan per ekor per hari selama 7 hari untuk perlakuan kontrol negatif, perlakuan kontrol positif, perlakuan khitosan mutu 2 dan perlakuan khitosan mutu 1 masing-masing adalah 9,38, 5,81, 4,74 dan 4,76 gram per ekor per hari. Perlakuan kontrol negatif mempunyai berat feses terbesar karena

konsumsi ransumnya juga paling tinggi. Berat feses perlakuan khitosan mutu 2 lebih kecil dari perlakuan lainnya karena konsumsi ransumnya juga lebih kecil.

Perlakuan khitosan mutu 1 dan khitosan mutu 2 memberikan efek penurunan berat badan tikus percobaan selama 7 hari perlakuan. Efek penurunan terbesar pada perlakuan khitosan mutu 2. Penurunan berat badan perlakuan khitosan mutu 1 dan khitosan mutu 2 masing-masing 12.25 dan 1.42 gram per ekor per hari. Sedangkan untuk perlakuan kontrol negatif dan positif memberikan efek pertambahan berat badan masing-masing 2.04 dan 0.24 gram per ekor per hari.

Perlakuan khitosan mutu 1 memberikan efek penurunan kadar kolesterol terbesar dibanding perlakuan yang lain. Perlakuan kontrol positif mengalami kenaikan kadar kolesterol baik pada hari ke-4 maupun hari ke-7 dengan nilai masing-masing 44.84% dan 22.84%, sedangkan untuk tiga perlakuan lainnya mengalami penurunan. Untuk kontrol negatif mengalami penurunan kadar kolesterol yang lebih kecil dibanding perlakuan khitosan. Penurunan kadar kolesterol perlakuan kontrol negatif hari ke-4 dan hari ke-7 adalah 2.04% dan 10.30%. Perlakuan khitosan mutu 1 memberikan efek penurunan sebesar 6.20% pada hari ke-4 dan 38.66% pada hari ke-7. Untuk perlakuan khitosan 2 mengalami penurunan kadar kolesterol sebesar 15.62% pada hari ke-7, tetapi mengalami kenaikan kolesterol sebesar 2.64% pada hari keempat, hal ini diduga karena rendahnya kadar kolesterol pada hari pertama. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa khitosan dengan mutu yang lebih baik akan menurunkan kadar kolesterol total serum darah tikus yang lebih besar.

5.2 Saran

Untuk menjaga mutu khitosan, terutama kadar airnya disarankan dilakukan pengemasan yang baik dan untuk lebih memperjelas efek penurunan kadar kolesterol darah yang disebabkan oleh perlakuan khitosan disarankan untuk dilakukan juga pengukuran terhadap kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan HDL (*High Density Lipoprotein*) serum darah tikus percobaan. Mengingat efek hipokolesterolemia pada khitosan disarankan aplikasi baik dalam makanan atau minuman kaya serat maupun sebagai obat penurun kolesterol dan penurun berat badan.

DAFTAR PUSTAKA

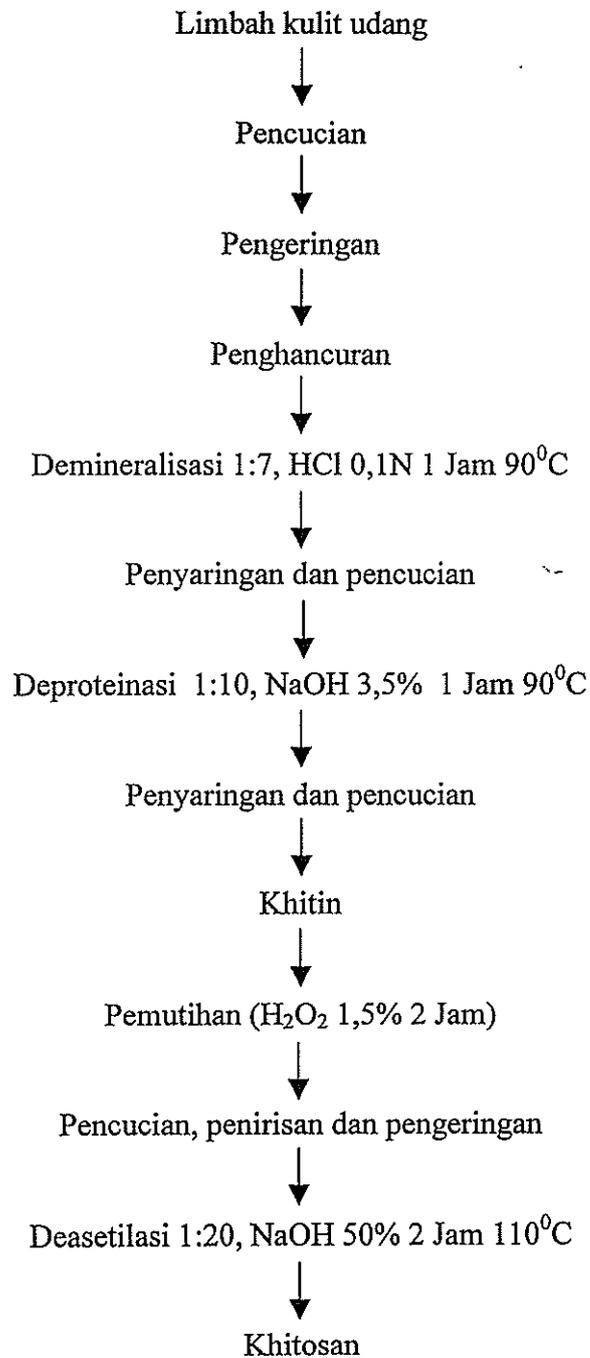
- Austin, P.A. 1984. Chitin Solven and Solibility Parameters. U.S. Departement of Commerse. The University of Dewalare.
- Bastaman, S. 1989. Studies on Degradation and extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shell (*Nephrops Norregicus*). Thesis. The Department of Mechanical, Manufacturing, Aeronaufical and Chemical Engineering, Faculty of Engineering The Queen's University of Belfast.
- Bough, W.A. 1975. Coagolation with Chitosan and Aid to Recovery of by Products from Egg Breaking Wastes. Poultry Sci. J. 54:1904.
- Brine, C. J, P. A. Sanford dan J. P. Zikakis. 1992. Advances In Chitin and Chitosan. Elsevier Applied Science. London and New York.
- Brzeski, M.M. 1987. Chitin and Chitosan Putting Waste to Good Used. Infofish 5.
- Buckle, K. A., R.A. Edwards, G.H. Fleet., M. Woolton. 1987. Ilmu Pangan. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono. UI Press. Jakarta.
- Deuchi, K., O. Kanauchi, Y. Imasoto dan E. Kobayashi. 1994. Decreasing Effect of Chitosan on the Apparent Fat Digestibility By Fats Fed of a High Fat Diet. Biosci. Biotech. Biochem. 58:1613 - 1616.
- Direktorat Jendral Perikanan. 1989. Pemanfaatan Kepala dan Kulit Udang sebagai Sumber Khitin. Buletin Warta Mina, Agustus. Jakarta.
- Eschleman, M.M. 1984. Introductory Nutrition and Diet Therapy. J.B. Lippincott Company, Philladelphia.
- Guyton, A.C. 1992. Fisiologi Kedokteran. Penerjemah A. Dharma dan P. Lukmanto. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Herman, S. 1991. Pengaruh Gizi terhadap Penyakit Kardiovaskular. Cermin Dunia Kedokteran No. 73:12-35
- Heslet, L. 1997. Kolesterol yang Perlu Anda ketahui. Penerjemah A. Adiwiyoto. Megapoint Divisi Kesaint Blanc. Jakarta.
- Holman, S. R. 1987. Essentials of Nutrition for the Health Professions. J. B. Lippincont Company. Philadelphia.

- Ikeda, I., Y. Tomari dan M. Sugano. 1989. Interrelated Effects of Dietary Fiber and Fat on Lymphatic Cholesterol and Triglyceride Absorption In Rats. *Journal of Nutrition* Vol. 119 : 1383-1387
- Ikeda, I., M. Sugano, K. Yoshida, E. Sasaki, Y. Iwamoto dan K. Hatano. 1993. Effects of Chitosan Hydrolysates on Lipid Absorption and on Serum and Liver Lipid Concentration in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Volume 41 No 3. P 431-435
- Inglett, G.E. dan I. Fakhag (Eds). 1979. *Dietary Fiber : Chemistry and Nutrition*. 49-55p. Academic Press.
- Johnson, E. I. dan Q. P. Peniston. 1982. *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Product*. The AVI Publ. Company. Connecticut. 415-422.
- Knorr, D. 1982. Function Properties Chitin and Chitosan. *J. Food Science* Volume 48 : 36-41p.
- Knorr, D. 1984. The Use of Chitinous Polymers in Food. *Food Tech. J.* 85-94.
- Lawson, H. 1995. *Food, Oil, and Fats*. Chapman and Hall, New York.
- Lehninger. 1992. *Principles of Biochemistry* Worth Publisher, Inc., New York. Penerjemah Thenawijaya, M. *Dasar-Dasar Biokimia*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Linder, M. C. 1992. *Biokimia Nutrisi Metabolisme dengan Pemakaian secara Klinis*. UI Press. Jakarta.
- Maezaki, Y., K. Tsuji, Y. Nakagawa, Y. Kawai, Makimoto, T. Tsugita, W. Takekawa, A. Terada, H. Hara dan T. Mitsuoka. 1993. Hypocholesterolemic Effect of Chitosan In Adult Males. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57:1439-1444
- Malole, M. B. M. dan C. S. U. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor.
- Marinetti, G.V. 1990. *Disorders of Lipid Metabolism*. Plenum Press. New York and London.
- Mayes, P.A., D.W. Martin dan F.W. Rodwel. 1995. *Review of Biochemistry*. Lange Medical Publication, California.
- Montgomery, R., R.L. Dryer, T.W. Conway, A.A. Spector. 1983. *Biokimia suatu Pendekatan Berorientasi Kasus*. Jilid 2. Ed. 4. Gajah Mada University. Yogyakarta.

- Muchtadi, D. 1989. Evaluasi Nilai Gizi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Muchtadi, D., N. S. Palupi dan M. Astawan. 1992. Metode Kimia, Biokimia dan Biologi dalam Evaluasi Nilai Gizi Pangan Olahan. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Muchtadi, D., N.S. Palupi dan M. Astawan. 1993. Metabolisme Zat Gizi. Pusat Antar Universitas. IPB.
- Muzarelli, R. A. A. 1977. Chitin. Pergamon Press. Oxford
- Ornum, J. 1992. Shrimp Waste Must it be Wanted ?. Infofish 6:48-51p.
- Peniston, Q.P. dan E.L. Johnson. 1975. U.S. Pat. No.3,862. 122.
- Purnamawati, D. 1997. Pemanfaatan Khitosan Udang Windu (*Penaeus monodon*) dalam Minuman Kaya Serat Makanan. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian. IPB.
- Purwantiningsih. 1993. Isolasi Khitin dan Senyawaan Kimia dari Limbah Udang Windu (*Panaeus monodon*). Buletin Kimia Bulan Juni No. 8. Jurusan Kimia. FMIPA. IPB. Bogor.
- Saleh, M., R. Abdilah, E. Suherman, J. Basmal dan N. Indriati. 1994. Pengaruh Suhu, Waktu dan Konsentrasi Pelarut pada Ekstraksi Khitosan dari Limbah Pengolahan Udang Beku terhadap Beberapa Parameter Mutu Khitosan. Jurnal Penelitian Pasca Panen Perikanan. No. 81
- Schneeman, B. O. 1986. Dietary Fiber : Phisycal and Chemical Properties, Methods of and phisicological Effect. J. Food Tehnology, Vol. 40 (2) : 104.
- Siswandono, B. Soekardjo. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya.
- Smith, J. B. dan S. Mankoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. UI Press. Jakarta.
- Soegih, R. 1995. Gangguan Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah. Sadar pangan dan Gizi. Bul. 4 (3) : 2-3.
- Sudarisman, T. 1996. Obat-Obat Anti-Kolesterol Amankah ?. Warta Konsumen Bulan Mei No. 5 : 22-24.

- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Sulistiorini. 1995. Kolesterol dan Lemak. Sadar Pangan dan Gizi. Bul. 4 (3) :3-4.
- Suptijah, P., E. Salamah, H. Sumaryanto, S. Purwaningsih dan J. Santoso. 1992. Pengaruh Berbagai Isolasi Khitin Kulit Udang terhadap Mutunya. Laporan Penelitian Jurusan PHP, Fakultas Perikanan, IPB. Bogor.
- Wilbraham, A. C., M. S. Matta. 1992 Pengantar Kimia Organik dan Hayati. Penerbit ITB. Bandung.
- Williams, S. R. 1985. Nutrition and Diet Theraphy. Times Mirrir Mosby College Publishing. St Louis.
- Winarno, F. G. 1996. Kimia Pangan. PT. Gramedia. Jakarta.
- Wirakusumah, E. S. 1993. Serat Makanan dan Manfaatnya. Majalah Femina, April. 15-21.
- Yani, N.E. 1990. Hubungan Konsumsi Makanan dengan Kadar Kolesterol Darah. Skripsi Jurusan GMSK, Fakultas Pertanian, IPB. Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Pembuatan Khitosan.

Lampiran 2. Komposisi Reagen Kit Kolesterol.

1. Buffer fosfat pH 6.5	100 mmol/L
2. 4 – aminofenazon	0.25 mmol/l
3. fenol	25 mmol/L
4. Peroksidase	> 5 KU/L
5. Kolesterolsterase	> 150 U/L
6. Kolesteroloksidase	> 100 U/L
7. Sodium azide	0.05 %

Lampiran 3. Berat Badan Tikus Percobaan selama Perlakuan.

Perlakuan	Hari (Gram/ekor)							
	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
C-	151.1	150.6	-	-	-	-	-	-
	210.4	200.5	-	-	-	-	-	-
	189.5	181.7	-	-	-	-	-	-
	160.6	150.8	147.5	148	147	-	-	-
	76.0	74.0	74.8	76.0	75.3	-	-	-
	141.3	144.5	140.4	143.0	143.4	-	-	-
	147.6	136.4	136.3	132.0	138.5	139.5	141.3	145
	86.5	81.6	82.3	85.0	84	86.4	90.7	95.5
	147.4	142.8	141.7	145.0	143.3	144	146.0	148.5
C+	145.5	136.4	-	-	-	-	-	-
	128.1	126.4	-	-	-	-	-	-
	151.7	144.8	-	-	-	-	-	-
	111.0	101.6	100.5	109.5	108	-	-	-
	127	118.5	117.2	130.5	128.6	-	-	-
	124	122.6	123.8	126.5	124.6	-	-	-
	136.3	129.5	129.1	137.1	138.4	136.2	121.2	140.3
	119.5	120.3	123.3	127.2	124.3	121.0	75.9	123
	145.5	139.6	139.3	143.0	142.2	140.5	140.5	141.5
P1	157.7	144.9	-	-	-	-	-	-
	114.7	110.7	-	-	-	-	-	-
	138.9	127.2	-	-	-	-	-	-
	119.5	112.6	113.2	114	99	-	-	-
	129.5	115.8	127.3	126	114.5	-	-	-
	104.9	103.8	105.2	106.0	98.1	-	-	-
	104.0	96.2	97.7	99.4	98.5	100.2	96.0	95.0
	148.4	136.3	136.9	141.5	140.0	140.4	134.1	139.0
	146.9	143.7	142.8	148.6	148.7	146.5	141.8	145.5
P2	111.6	93.4	-	-	-	-	-	-
	140.5	131.2	-	-	-	-	-	-
	111.4	105.1	-	-	-	-	-	-
	141.5	138.7	136.5	140.5	142.6	-	-	-
	100.5	97.4	95.7	99.8	97.2	-	-	-
	119.3	114.8	118.4	118.9	122.1	-	-	-
	122.4	105.1	115.6	122.5	122.5	120	120.3	120
	117.5	114.4	118.8	122.5	124.2	123.5	123.1	123.5
	97.5	90.5	95.3	98.0	97.0	96.3	94.9	95.6

Lampiran 4. Berat Feses Tikus selama Perlakuan.

Perlakuan	Hari (Gram/kandang)						
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
C-	35.63	16.62	14.01	30.42	35.65	29.77	35.63
	23.86	12.54	22.63	32.07	-	-	-
	36.72						
C+	18.68	11.43	21.34	22.54	19.48	17.72	13.73
	15.53	12.46	18.53	23.21	-	-	-
	14.76						
P1	12.38	12.46	14.48	10.03	14.91	14.89	11.16
	13.35	18.09	19.33	20.32	-	-	-
	7.15						
P2	8.07	14.02	18.59	16.33	18.09	11.87	9.47
	19.92	10.25	19.08	17.22	-	-	-
	25.87						

Lampiran 5. Berat Konsumsi Ransum selama Perlakuan.

Perlakuan	Hari (gram/kandang)						
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
C-	30.00	-	-	-	-	-	-
	30.00	30.00	35.00	45.00	-	-	-
	30.00	30.00	35.00	40.48	42.71	45.00	45.00
C+	30.00	-	-	-	-	-	-
	30.00	30.00	45.00	35.04	-	-	-
	30.00	30.00	45.00	40.52	35.00	29.83	29.74
P1	30.00	-	-	-	-	-	-
	30.00	30.00	45.00	14.75	-	-	-
	30.00	30.00	45.00	34.76	30.50	23.49	20.86
P2	30.00	-	-	-	-	-	-
	30.00	30.00	45.00	29.14	-	-	-
	30.00	30.00	45.00	33.59	29.49	26.99	20.74

Lampiran 6. Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Kontrol Negatif.

Ulangan	Hari (mg/dL)		
	H1	H4	H7
1.	63.07	95.30	34.57
2.	93.26	67.65	78.51
3.	77.08	65.68	96.30
Rata-rata \pm SD	77.80 \pm 15.11	76.21 \pm 16.56	69.79 \pm 31.77

Lampiran 7. Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Kontrol Positif.

Ulangan	Hari (mg/dL)		
	H1	H4	H7
1.	48.51	73.08	68.14
2.	45.28	73.08	68.14
3.	58.94	75.06	51.36
Rata-rata \pm SD	50.91 \pm 7.14	73.74 \pm 1.14	62.54 \pm 9.69

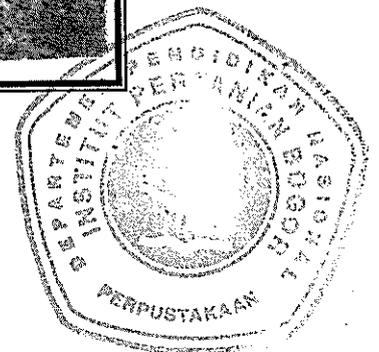
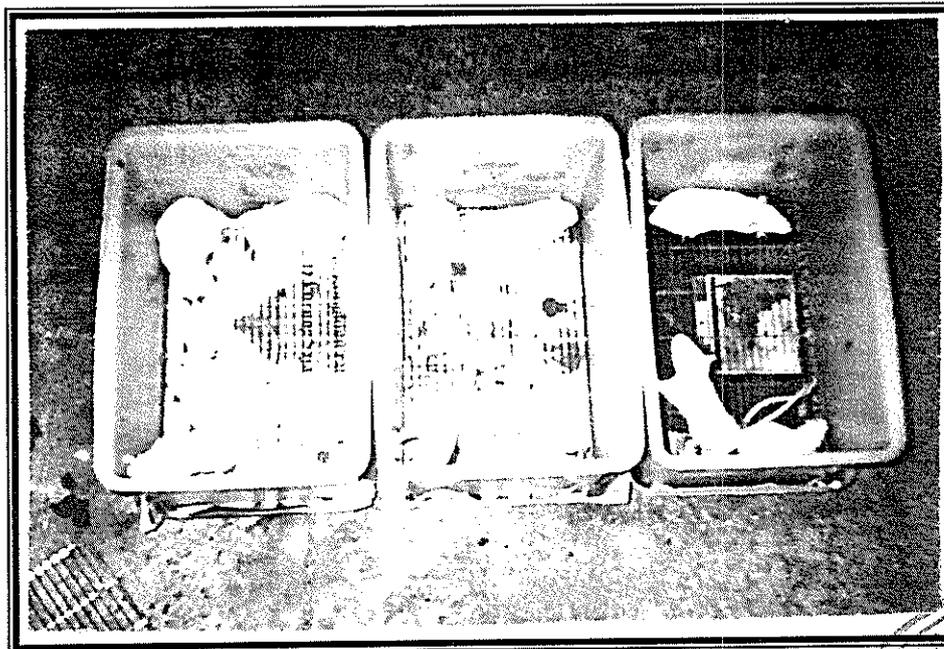
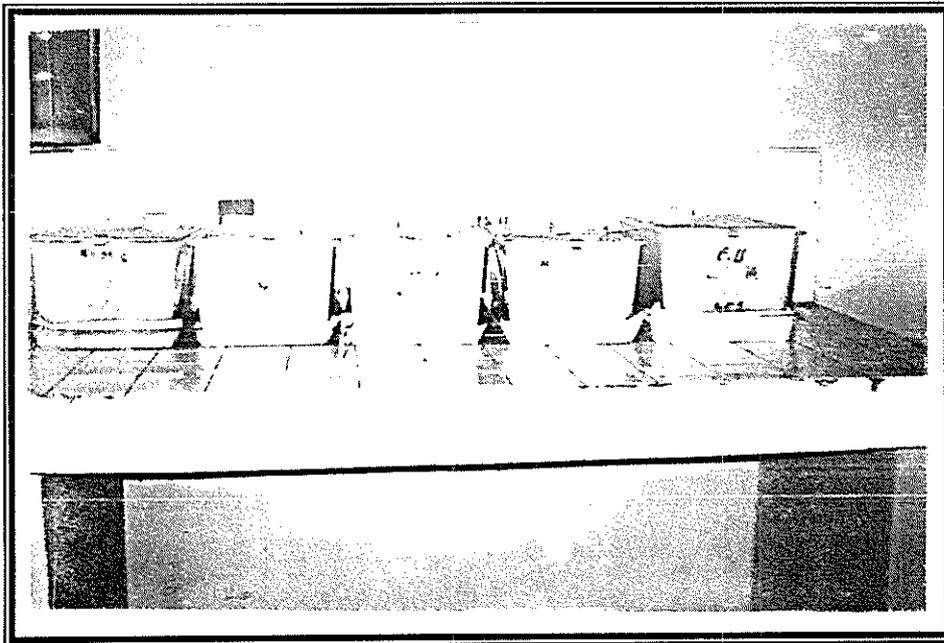
Lampiran 8. Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Khitosan Mutu 2.

Ulangan	Hari (mg/dL)		
	H1	H4	H7
1.	88.94	51.58	40.99
2.	35.57	28.43	26.17
3.	39.35	87.90	71.11
Rata-rata \pm SD	54.62 \pm 29.97	56.06 \pm 29.98	46.09 \pm 22.90

Lampiran 9. Rekapitulasi Kadar Kolesterol Total Perlakuan Khitosan Mutu 1.

Ulangan	Hari (mg/dL)		
	H1	H4	H7
1.	76.01	73.08	27.99
2.	67.52	80.00	76.54
3.	76.01	52.83	30.12
Rata-rata \pm SD	73.18 \pm 4.90	68.64 \pm 14.12	44.89 \pm 29.15

Lampiran 10. Gambar Kandang Tikus Percobaan Selama Perlakuan



Lampiran 11. Gambar Penimbangan Tikus dan Pemberian Khitosan secara Oral

