

Pengaruh Level Protein, Vitamin A dan Vitamin E terhadap Pertambahan Bobot Badan dan Beberapa Fungsi Reproduksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Yudi^a & A. Parakkasi^b

^aBagian Reproduksi, Kebidanan dan Kemajiran,
Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Bogor 16680

^bDepartemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga, Fakultas Peternakan, IPB Bogor 16680
(Diterima 17-02-2005; disetujui 21-07-2005)

ABSTRACT

Protein has the role in the development of physiological structure and body immunity system. Reproductive hormones, gametogenesis and fetus development are very much affected by the content of protein, vitamin A and E. Vitamin A is known to have a role in the integrity of epithel tissue, thus it has a great effect on the process of gametogenesis and embryogenesis. Vitamin E is recognized as an anti-sterility vitamin because of its important role as an intercellular antioxidant, in absorbing and storing vitamin A. This research was intended to determine the effect of protein content (15%, 18% and 21%), vitamin A (2000 IU/kg of feed), and vitamin E (30 mg/kg of feed) on body weight and some characteristics of reproduction of white mice (*Rattus norvegicus*). The reproduction characteristics observed on female were the litter size and their body weight at birth, whereas those on male were fertility and morphology of spermatozoa. The research results showed that there were some effects of protein, vitamin A and E on increased body weight of female. The best result with a significant change ($P < 0.05$) was with treatment of 18% protein with vitamin A (32.00 ± 5.32 g/week) and 15% protein with controlled (30.25 ± 2.29 g/week). The increased body weights of female and male were respectively 24.45 ± 4.52 and 25.54 ± 1.83 g/week. However, other characteristics did not show any significant change. In all treatments, male were able to mate with female and make them pregnant. The morphology of spermatozoa showed a long curved head with a long tail.

Key words: protein, vitamin A and E, body weight, reproduction, white mice

PENDAHULUAN

Penelitian pada bidang fisiologi, farmakologi, biokimia, reproduksi dan ilmu kedokteran secara umum memerlukan hewan percobaan yang tepat untuk pengaruh berbagai bahan kimia (obat, hormon, vitamin, mineral, lipid, protein, dan lain-

lain). Walaupun hewan tertentu membutuhkan lingkungan dan komposisi pakan yang optimal untuk pertumbuhan dan perkembangannya, penelitian pengaruh kedua faktor tersebut masih banyak diteliti terutama sebagai model untuk efek yang sama pada manusia. Studi tentang pengaruh protein, vitamin dan bahan kimia lain terhadap fungsi reproduksi

berkembang sejak diketahui banyak gangguan fungsi reproduksi pada manusia berkaitan dengan pola makan yang tidak sehat. Pada sapi, fungsi reproduksi sangat erat kaitannya dengan kecukupan nutrisi, kondisi lingkungan, infeksi agen penyakit, umur, dan kelainan bawaan (Hafez & Hafez, 2000).

Protein berfungsi pada pembangunan dan pemeliharaan jaringan tubuh, sintesis hormon dan dalam kondisi tertentu dapat sebagai sumber energi. Defisiensi protein dapat menurunkan fungsi reproduksi berupa kawin berulang, anestrus, kematian embrio dini, anak lahir lemah dan prematur (Hardjopranjoto, 1995). Protein tertentu, misalnya protein kedelai dapat meningkatkan pembentukan triiodotironin sehingga menurunkan konsentrasi triasilgliserol dan menekan sintesis asam lemak (Iritani *et al.*, 1996).

Retinol atau metabolit aktifnya, yaitu asam retinoat berperan pada proliferasi dan diferensiasi sel sehingga penting pada perkembangan vertebrata. Vitamin A mempengaruhi jumlah reseptor hormon tiroid, dengan demikian penting pada metabolisme karbohidrat dan lipid (Audouin-Chevallier *et al.*, 1993). Defisiensi vitamin A pada hewan betina menyebabkan keratinisasi lapisan epitel uterus sehingga akan menurunkan kesuburan karena angka implantasi menurun, sedangkan pada hewan jantan defisiensi vitamin A akan diikuti penurunan spermatogenesis dan libido karena pengaruh penurunan sekresi hormon gonadotropin sehingga fungsi testis menurun (Hardjopranjoto, 1995).

Berbagai penelitian telah menunjukkan peranan vitamin E pada perkembangan fetus, pertumbuhan dan sebagai antioksidan, baik pada manusia maupun hewan (Brigelius-Flohe *et al.*, 2002). Vitamin E diketahui sebagai antioksidan alami yang melindungi karoten dan nutrisi lain yang mudah teroksidasi. Vitamin E mampu menekan peroksidasi lipid pada membran sel sehingga akan melindungi membran dari kerusakan (Omara *et al.*, 1993). Vitamin A dan vitamin E sebagai antioksidan berperan pada penangkapan radikal bebas pada semua jaringan sehingga membantu menjaga

keutuhan membran yaitu pada arsitektur fosfolipid (Anonimus, 2004). Tikus setidaknya memerlukan protein 20%, vitamin A 4000 IU/kg dan vitamin E 30 mg/kg dalam pakan (Smith & Mangunwidjojo, 1988).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh level protein, vitamin A dan vitamin E terhadap penambahan bobot badan dan beberapa fungsi reproduksi tikus putih. Selanjutnya ingin diketahui kombinasi perlakuan dengan pengaruh terbesar.

MATERI DAN METODE

Materi

Pakan tikus yang mengandung energi total 2800 Kkal, dengan level protein berbeda, yaitu 15%, 18% dan 21%. Formulasi dan komposisi ransum dasar seperti pada Tabel 1. Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dan betina lepas sapih dipilih masing-masing sebanyak 27 ekor.

Metode

Tikus lepas sapih yang sudah diseleksi ditempatkan ke dalam kandang (3 ekor per kandang). Kelompok tikus pada masing-masing kandang adalah sebagai kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan diberi pakan dengan kandungan protein 15%, 18% dan 21% sebagai faktor pertama, dan vitamin A (2000 IU/kg), vitamin E (30 mg/kg) dan kontrol sebagai faktor kedua. Ketika sudah mencapai kematangan seksual, sampel tikus dari semua kelompok perlakuan dikawinkan untuk mengetahui fertilitasnya. Parameter yang diukur pada tikus betina adalah penambahan bobot badan, *litter size*, dan bobot anak, sedangkan pada tikus jantan adalah penambahan bobot badan, uji fertilitas dan gambaran spermatozoa.

Pertambahan Bobot Badan

Seluruh tikus jantan dan betina dilakukan penimbangan bobot badan awal, dan selanjutnya

Tabel 1. Formulasi ransum dasar pakan tikus

Bahan makanan (%)	Perlakuan		
	Formulasi I	Formulasi II	Formulasi III
Komposisi bahan makanan			
Jagung kuning	48	40	32
Bungkil kedelai	13	21	28
Tepung ikan	5	5	8
Dedak	30	30	28
Minyak goreng	2	2	2
Kapur	1,5	1,5	1,5
Premiks	0,5	0,5	0,5
Zat makanan *)			
Energi total (Kkal)	2800	2800	2800
Protein (%)	15	18	21
Pro-vitamin A(IU/kg)	--	--	--
Vitamin E (mg/kg)	19,51	20,07	19,72

Keterangan: *) hasil perhitungan berdasarkan tabel NRC (1985).

setiap seminggu untuk mengetahui pertambahan bobot badan. Penimbangan dilakukan sampai tikus sampel dari masing-masing perlakuan dikawinkan (dipisahkan dari kelompok).

Perkawinan Tikus Jantan dan Betina

Perkawinan tikus jantan dan betina dilakukan pada saat keduanya sudah mencapai *sexual maturity*. Perkawinan dilakukan dengan rasio jantan dan betina 1 : 1. Tikus pejantan dipisah setelah diketahui tikus betina bunting.

Litter Size dan Bobot Badan Lahir Anak

Pada tikus betina yang dikawinkan dihitung jumlah anak (*litter size*) dan rata-rata bobot lahir anak dalam satu kelahiran.

Pemeriksaan Sperma Tikus Jantan

Semen tikus diambil dari *cauda epididymis* segera setelah tikus dietanasi. Semen dikoleksi dalam larutan fisiologis PBS (*phosphate buffer saline*). Selanjutnya spermatozoa dievaluasi morfologisnya dengan mikroskop yang dilengkapi

kamera. Pengamatan sperma dilakukan dalam bentuk preparat natif yang diberi pewarna eosin negrosin 2%.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial 3x3, dengan 9 kombinasi perlakuan. Faktor pertama adalah level protein, dan faktor kedua adalah vitamin. Data diolah dengan analisis ragam (Anova) menggunakan program SAS ($\alpha = 5\%$), perbedaan antar perlakuan diuji dengan Uji Tukey (Steel & Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertambahan Bobot Badan

Rataan pertambahan bobot badan tikus jantan dan betina disajikan pada Tabel 2. Berbagai kombinasi perlakuan berpengaruh terhadap rata-rata pertambahan bobot badan pada tikus betina ($P < 0,05$). Hasil terbaik adalah kombinasi protein 18% - vitamin A ($32,00 \pm 5,32$ g/minggu) dan protein 15% - kontrol ($30,25 \pm 2,29$ g/minggu).

Tabel 2. Rataan pertambahan bobot badan (g/minggu)

Perlakuan	Rataan pertambahan bobot badan	
	Tikus betina	Tikus jantan
Protein 15%, Kontrol	30,25 ± 2,29 ^{ab}	26,27 ± 1,41 ^a
Protein 15%, Vitamin A	22,58 ± 2,55 ^{abc}	28,47 ± 5,66 ^a
Protein 15%, Vitamin E	26,25 ± 2,78 ^{abc}	26,53 ± 2,14 ^a
Protein 18%, Kontrol	18,46 ± 3,38 ^c	26,60 ± 4,61 ^a
Protein 18%, Vitamin A	32,00 ± 5,32 ^a	22,60 ± 5,52 ^a
Protein 18%, Vitamin E	19,42 ± 3,63 ^{bc}	25,80 ± 3,33 ^a
Protein 21%, Kontrol	23,25 ± 4,75 ^{abc}	24,00 ± 4,28 ^a
Protein 21%, Vitamin A	25,08 ± 2,67 ^{abc}	26,13 ± 3,93 ^a
Protein 21%, Vitamin E	22,75 ± 5,20 ^{abc}	23,47 ± 5,60 ^a
Rataan	24,45 ± 4,52	25,54 ± 1,83

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Perlakuan protein 18% - kontrol menghasilkan pertambahan bobot badan paling sedikit ($18,46 \pm 3,38$ g/minggu). Walaupun tidak konsisten, nampak ada interaksi antara protein, vitamin A dan vitamin E. Hal ini mungkin karena kandungan protein, vitamin A dan vitamin E pakan cukup untuk kebutuhan biologis tikus.

Vitamin A mempengaruhi jumlah reseptor hormon tiroid, dengan demikian penting pada metabolisme karbohidrat dan lipid. Pemberian pakan defisien vitamin A kepada tikus-tikus percobaan menghasilkan rata-rata bobot badan yang lebih rendah dibanding kontrol ($P < 0,05$) (Audouin-Chevallier *et al.*, 1993). Protein kedelai dilaporkan mampu menekan ekspresi gen lipogenik atau produksi triiodotironin sehingga menurunkan konsentrasi triasilgliserol, sintesis asam lemak dan menstimulasi lipolisis (Iritani *et al.*, 1996). Dengan demikian protein dan vitamin A mampu menjaga bobot badan berada pada selang normal.

Namun, pada tikus jantan, semua perlakuan memberikan respon tidak berbeda nyata. Hal ini mungkin disebabkan oleh level protein, dan vitamin A dan E yang diberikan masih mendekati kebutuhan dasarnya sehingga dapat ditoleransi. Tikus

membutuhkan protein 20%-25% (12% jika mengandung 20 asam amino), lemak 5%, pati 45%-50%, serat kasar 5%, vitamin A 4000 IU/kg, vitamin D 1000 IU/kg dan vitamin E 30 mg/kg dalam pakannya (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

Namun demikian pertambahan bobot badan tikus jantan lebih tinggi daripada tikus betina, masing-masing adalah $25,54 \pm 1,83$ dan $24,45 \pm 4,52$ g/minggu. Hal ini diduga karena terdapat perbedaan hormon dan metabolisme tubuh, sehingga hewan jantan subur mempunyai pertambahan bobot badan lebih cepat daripada hewan jantan yang dikubiri atau betina (Parakkasi, 1983). Disamping itu tikus betina mungkin lebih sensitif terhadap efek protein kedelai dalam menekan aktivitas enzim lipogenik.

Litter Size dan Bobot Lahir

Rataan jumlah anak seperanakan adalah $8,85 \pm 0,60$ ekor dengan rata-rata bobot lahir adalah $5,13 \pm 0,55$ gram (Tabel 3). Berbagai kombinasi perlakuan pada studi ini tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Rataan jumlah anak lahir tikus adalah 6-12 (Malole & Pramono, 1998).

Tabel 3. Rataan *litter size* (ekor) dan bobot badan lahir anak (g)

Perlakuan	Litter size	Bobot lahir anak
Protein 15%, Kontrol	9,00 ± 1,41	5,03 ± 1,73
Protein 15%, Vitamin A	10,00 ± 1,41	4,29 ± 0,99
Protein 15%, Vitamin E	8,67 ± 1,15	5,36 ± 0,80
Protein 18%, Vitamin A	9,00 ± 1,17	4,91 ± 0,47
Protein 18%, Vitamin E	9,00 ± 2,00	5,11 ± 0,89
Protein 21%, Kontrol	8,33 ± 1,53	5,89 ± 1,41
Protein 21%, Vitamin A	9,33 ± 2,08	5,03 ± 1,00
Protein 21%, Vitamin E	8,00 ± 4,00	5,97 ± 1,98
Rataan	8,85 ± 0,60	5,13 ± 0,55

Sedangkan rata-rata bobot lahir anak tikus adalah 5,0-6,0 gram (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

Pada Tabel 3 terlihat bahwa walaupun hewan percobaan baru pertama beranak, jumlah anak sekelahiran berada pada selang normal. *Litter size* akan meningkat mulai kelahiran kedua, dan menurun kembali mulai kelahiran kedelapan (Malole & Pramono, 1998). Rataan bobot badan pada seluruh perlakuan juga berada pada selang normal. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan yang diberikan dapat ditoleransi oleh tikus betina. Hewan betina bunting sangat adaptif terhadap defisiensi nutrisi termasuk protein sehingga lebih efisien dalam menggunakan protein, oleh karena terjadi perubahan hormonal dan metabolisme sehubungan dengan kebuntingan (Parakkasi, 1983). Dengan demikian tingkat kesuburan semua kelompok tikus tidak terpengaruh oleh perlakuan.

Berbeda dengan tikus, defisiensi protein pada sapi betina dapat menyebabkan pubertas yang tertunda, berahi yang lemah, anestrus, perkawinan berulang (*repeat breeder*), kematian embrio dini, absorpsi embrio, dan kelahiran prematur atau lemah. Pada babi, pemberian ransum tanpa protein selama kebuntingan menurunkan 20% berat lahir fetus (Hardjopranojoto, 1995).

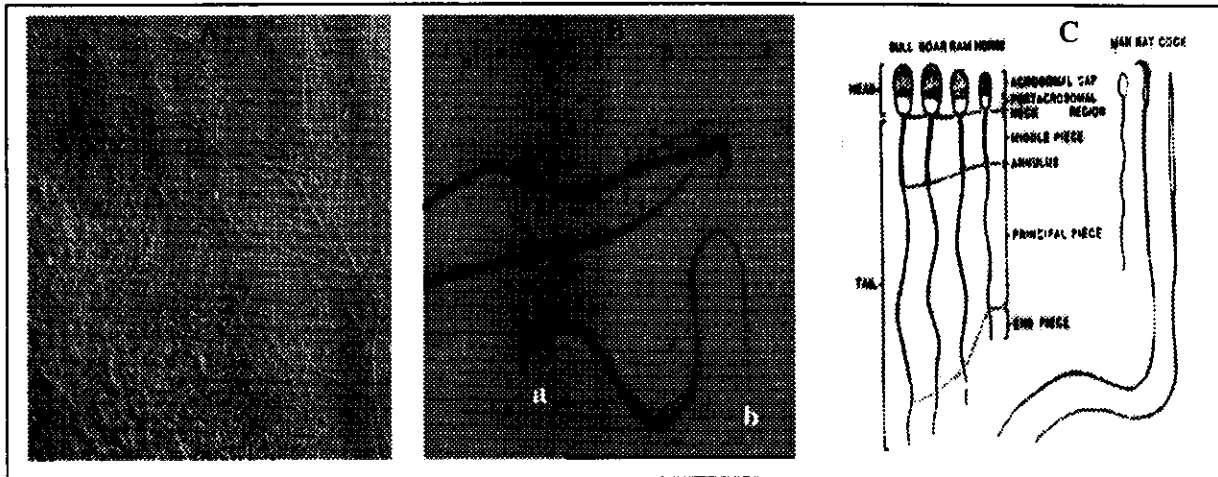
Besenfelder *et al.* (1996) pada sebuah penelitiannya mengungkapkan bahwa penambahan beta-karoten sintetis sebanyak 40 ppm, dan 15.000

IU/kg pada pakan standar tidak memberi pengaruh terhadap peningkatan *litter size* tikus yang disuperovulasi. Walaupun demikian, suplementasi beta-karoten alami pada pakan meningkatkan *litter size*. Suplementasi provitamin A pada pakan dapat menurunkan jumlah pelayanan perkawinan tiap kebuntingan secara nyata, dan meningkatkan angka kelahiran pada sapi perah (Robinson, 1990). Defisiensi vitamin A pada sapi betina dapat menyebabkan tidak timbulnya estrus, kegagalan implantasi, abortus, atau anak lahir lemah. Efek-efek tersebut terjadi karena vitamin A berfungsi pada keutuhan lapisan epitel, termasuk pada jaringan reproduksi (Parakkasi, 1983).

Defisiensi vitamin E pada tikus betina dapat menyebabkan kematian fetus dan penyerapan kembali fetus awal oleh dinding uterus (Hardjopranojoto, 1995). Metabolisme protein, vitamin A dan vitamin E sangat berkaitan. Defisiensi protein akan diikuti oleh gangguan pada metabolisme vitamin A, sedangkan absorpsi vitamin A juga bergantung pada keberadaan vitamin E.

Uji Fertilitas dan Evaluasi Sperma

Semua pejantan yang dijadikan pemacek berhasil mengawini dan membuat bunting pasangannya. Pada penelitian ini seluruh perlakuan tidak mempengaruhi tingkat kesuburan tikus jantan. Morfologi sperma tikus seperti diperlihatkan pada



Gambar 1. A) sperma tikus tanpa pewarnaan (10 x 10); B) sperma tikus dengan pewarnaan eosin negrosin 2% (10 x 40), a) bagian kepala, b) bagian ekor;. C) perbandingan sperma dari beberapa spesies (Hafez & Hafez, 2000).

Gambar 1. Terlihat bahwa bentuk kepala memanjang, runcing, melengkung, dan bagian ekor yang panjang. Gambaran ini berbeda bila dibandingkan dengan sperma sapi, domba atau bahkan manusia, dimana bagian kepala relatif bulat dan bagian ekor tidak terlalu panjang (Hafez & Hafez, 2000).

Defisiensi protein pada hewan jantan dapat menyebabkan kemajiran karena gangguan pada spermatogenesis dan sintesis hormon reproduksi (Hardjopranjoto, 1995). Vitamin E akan berperan sebagai antioksidan pada plasma semen ayam, hewan lain dan manusia (Hardjopranjoto, 1995; Surai *et al.*, 1999). Pada tikus jantan defisiensi vitamin E dapat menyebabkan degenerasi testis yang diikuti oleh kemajiran permanen. Defisiensi vitamin A pada sapi jantan dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis dan libido yang rendah (Hardjopranjoto, 1995).

KESIMPULAN

Terjadi interaksi antara protein dan vitamin terhadap pertambahan bobot badan tikus betina, dimana hasil terbaik adalah perlakuan dengan

protein 18% - vitamin A ($32,00 \pm 5,32$ g/minggu) dan protein 15% - kontrol ($30,25 \pm 2,29$ g/minggu). Pertambahan rata-rata bobot badan tikus betina dan jantan masing-masing adalah $24,45 \pm 4,52$ dan $25,54 \pm 1,83$ g/minggu. Rataan litter size adalah $8,85 \pm 0,60$ ekor dengan berat lahir rata-rata adalah $5,13 \pm 0,55$ gram. Morfologi sperma tikus yaitu, bentuk kepala memanjang, runcing, melengkung, dan bagian ekor yang panjang, tidak seperti sperma sapi, domba atau bahkan manusia, yang bagian kepalanya relatif bulat dan bagian ekor tidak terlalu panjang.

DAFTAR PUSTAKA

- Audouin-Chevallier, I., P. Higuere, V. Pallet, D. Higuere & H. Garcin. 1993. Dietary vitamin A modulates the properties of retinoic acid and glucocorticoid receptors in rat liver. *The Journal of Nutrition* 123 (7): 1195-1202.
- Anonimus. 2004. Vitamin E. www.asft.ttu.edu/anse5308/lecture-4.pdf. [26 April 2004].
- Besenfelder, U., L. Solti, J. Seregi, M. Muller & G. Brem. 1996. Different roles for α -carotene and vitamin A in the reproduction of rabbits. *Theriogenology* 46 (3): 1583-1591.

- Brigelius-Flohe, R., F. J. Kelly, J. T. Salonen, J. Neuzil, J. M. Zingg & A. Azzi.** 2002. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. www.ajcn.org/cgi/content/full/76/4/703#Rg. [26/04/04].
- Hafez, E. S. E. & B. Hafez.** 2000. *Reproduction in Farm Animals*, 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Hardjoprano, S.** 1995. *Ilmu Kemajiran pada Ternak*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Iritani, N., H. Hosomi, H. Fukuda, K. Tada & H. Ikeda.** 1996. Soybean protein suppresses hepatic lipogenic enzyme gene expression in Wistar fatty rats. *The Journal of Nutrition* 126 (2): 380-388.
- Malole, M. B. M. & C. S. U. Pramono.** 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Pusat Antar-Universitas Bioteknologi, Bogor.
- National Research Council.** 1985. *Nutrient requirements of sheep*. National Academic Press, Washington.
- Omara, F. O. & B. R. Blakley.** 1993. Vitamin E is protective against iron toxicity and iron-induced hepatic vitamin E depletion in mice. *The Journal of Nutrition* 123 (10): 1649-1654.
- Parakkasi, A.** 1988. *Ilmu Gizi dan Makanan Ternak Monogastrik*. Angkasa, Bandung.
- Robinson, J. J.** 1990. *Nutrition in the Reproduction of Farm Animals*. In: J.N.T. Dickerson, A.G. Low, J.C. Mathers, D.J. Millword & R. H. Smith (Eds.). *Nutrition Research Reviews*. Vol. 3. Cambridge University Press, Cambridge.
- Smith, J. B. & S. Mangkoewidjojo.** 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Steel, R. G. D. & J. H. Torrie.** 1980. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill, Inc., Philadelphia.