

**PENGARUH PEMBERIAN KITOSAN TERHADAP
KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS (*Sprague-dawley*)
YANG DIBERI PAKAN TINGGI ASAM LEMAK TRANS**

AGUSTINA



**DEPARTEMEN GIZI MASYARAKAT
FAKULTAS EKOLOGI MANUSIA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN
SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA***

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul Pengaruh Pemberian KITOSAN terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus (*Sprague-dawley*) yang Diberi Pakan Tinggi Asam Lemak Trans adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2014

Agustina
NIM 114100034

ABSTRAK

AGUSTINA. Pengaruh Pemberian Kitosan terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus (*Sprague-dawley*) yang Diberi Pakan Tinggi Asam Lemak Trans. Dibimbing oleh LEILY AMALIA FURKON,S.TP,M.Si dan Dr PIPIH SUPTIJAH,MBA.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pemberian kitosan terhadap kadar kolesterol total plasma dan bobot tubuh tikus *Sprague-dawley* yang diberi pakan tinggi asam lemak trans. Tikus dibagi ke dalam satu kelompok kontrol (K) dan tiga kelompok perlakuan yang menerima kitosan 35 mg (0.175% berat pakan) (P1), 45 mg (0.225% berat pakan) (P2) dan 55 mg (0.275% berat pakan) (P3). Tikus diberi diet tinggi lemak (>30%) dengan komposisi 34.1% dari kebutuhan energi, terdiri atas 19.9% lemak dari pakan dan 14.2% lemak dari margarin dicairkan sebagai sumber asam lemak trans. Pengamatan dilakukan selama 14 dan 28 hari. Pengukuran kadar kolesterol total darah dilakukan pada akhir pengamatan (hari ke-14 dan ke-28) dengan menggunakan darah yang diambil dari jantung tikus, setelah sebelumnya tikus dimatikan dengan cara *euthanasi*. Sementara itu, bobot tubuh diukur dengan cara penimbangan yang dilakukan setiap tiga hari sekali. Kadar kolestrol total tikus P3 pada minggu kedua (71.3 ± 7.0 mg/dL) dan minggu keempat (42.0 ± 5.6 mg/dL) secara signifikan ($p=0.045$) lebih rendah dibandingkan kelompok K pada minggu kedua (88.3 ± 11.9 mg/dL) dan minggu keempat (61.3 ± 11.5 mg/dL). Sementara pada kelompok P1 dan P2 tidak terlihat perbedaan signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Dengan demikian, kitosan dengan dosis 55 mg (P3) diduga mampu menurunkan kadar kolesterol tikus setelah dua minggu konsumsi. Selain itu, pada kelompok P3 terjadi penghambatan peningkatan bobot tubuh tikus sejak hari ketiga pengamatan. Dosis kitosan 45 mg (P2) tidak terlihat pengaruhnya secara signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol, tetapi dapat menghambat peningkatan bobot tubuh tikus secara signifikan sejak hari ke-10 pengamatan. Adapun pada kelompok P1 tidak ditemukan adanya perbedaan signifikan dengan kelompok K dalam menghambat peningkatan bobot tubuh maupun menurunkan kadar kolesterol.

Kata kunci: kitosan, kolesterol total, asam lemak trans

ABSTRACT

AGUSTINA. *Chitosan Effects to Total Cholesterol Levels in Rats (Sprague-dawley) Fed with High Trans Fatty Acid*. Dibimbing oleh LEILY AMALIA FURKON,S.TP,MSi dan Dr PIPIH SUPTIJAH,MBA.

This study was aimed to analyze provision of chitosan on plasma total cholesterol levels in rats (Sprague-dawley) fed by high content of trans

fatty acids. Rats were divided into one control group (C) and three treatment groups which received chitosan as many as 35 mg (0.175% of fed weight) (P1), 45 mg (0.225% of fed weight) (P2) and 0.055 g (0.275% of fed weight) (P3). Rats were given a high-fat diet (> 30%) with fat composition 34.1% of energy needs; consisted of 19.9% of standard diet-fat and 14.2% of melted margarine fat as a source of trans fatty acids. Intervention was carried out for 14 and 28 days. Measurement of total cholesterol was done at the end of the intervention (day 14th and 28th) with rats prior to death before blood drawn through the heart. Meanwhile, weighing done once every three days. Total cholesterol levels in the second week of P3 rats (71.3 ± 7.0 mg / dL) and fourth week (42.0 ± 5.6 mg / dL) was significantly ($p = 0.045$) lower than group C during the second week (88.3 ± 11.9 mg / dL) and fourth weeks (61.3 ± 11.5 mg / dL). While the P1 and P2 groups do not show significant difference compared to the control group. Thus, chitosan at a dose of 55 mg (P3) allegedly capable of lowering cholesterol levels of rats after two weeks of consumption. In addition, the P3 group occurred inhibitory rat body weight increase since the third day of observation. Dose of 45 mg chitosan (P2) does not significantly influence visible in lowering cholesterol levels, but it can inhibit the increase in body weight of rats was significantly since the 10th day of observation. As for the P1 group did not reveal any significant differences with the group C in inhibiting the increase in body weight and lowering cholesterol levels.

Keywords: chitosan, total cholesterol, trans fatty acid

**PENGARUH PEMBERIAN KITOSAN TERHADAP
KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS (*Sprague-dawley*)
YANG DIBERI PAKAN TINGGI ASAM LEMAK TRANS**

AGUSTINA

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Gizi
dari Program Studi Ilmu Gizi pada
Departemen Gizi Masyarakat

**DEPARTEMEN GIZI MASYARAKAT
FAKULTAS EKOLOGI MANUSIA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

Judul Skripsi: Pengaruh Pemberian Kitosan terhadap Kadar Kolesterol Total
Tikus (*Sprague-dawley*) yang Diberi Pakan Tinggi Asam
Lemak Trans

Nama : Agustina
NIM : I14100034

Disetujui oleh

Leily Amalia Furkon, S.TP, MSi
Pembimbing I

Dr Pipih Suptijah, MBA
Pembimbing II

Diketahui oleh

Dr Rimbawan
Ketua Departemen

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan dengan baik. Penelitian yang dilaksanakan dari bulan Maret hingga Juni 2014 ini mengangkat tema tentang efektivitas kitosan dalam menurunkan kolesterol serta pengaruh konsumsi asam lemak trans terhadap kolesterol total. Tema tersebut terangkum dalam penelitian yang berjudul Pengaruh Pemberian Kitosan terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus (*Sprague-dawley*) yang Diberi Pakan Tinggi Asam Lemak Trans.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Leily Amalia Furkon, STP, M.Si dan Ibu Dr Pipih Suptijah, MBA selaku pembimbing atas saran, ilmu dan masukannya yang sangat membangun serta kontribusinya selama proses penelitian dan penulisan karya ilmiah ini dilakukan. Selain itu, penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh laboran di Laboratorium Biokimia dan Percobaan Hewan Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor, yang telah memberikan bantuannya selama melaksanakan analisis dalam penelitian ini. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada Mama, Papa, Oktaviani dan semua sahabat (Zahra Musthafavi, Marisyah Fitriyani, Raden April, Abdurahman Ali, Ayu Helmi, dan Fitriana), serta Antonius Wahyu Laymina atas segala doa, dukungan dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, Agustus 2014

Agustina

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vi
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Perumusan Masalah	2
Tujuan Penelitian	2
Hipotesa	2
METODE	3
Alat	3
Bahan	3
Pengelompokan Tikus	4
Teknik Pemberian Pakan	4
Teknik Pengumpulan Data	6
Teknik Pengukuran Kadar Asam Lemak Trans dalam Margarin	8
Prosedur Analisis Data	9
HASIL DAN PEMBAHASAN	9
Kandungan Asam Lemak Trans dalam Margarin yang Dicairkan	9
Konsumsi Pakan	11
Pertambahan Bobot Tubuh	12
Kolesterol Total Plasma	16
SIMPULAN DAN SARAN	18
Simpulan	18
Saran	18
DAFTAR PUSTAKA	18
LAMPIRAN	21
RIWAYAT HIDUP	31

DAFTAR TABEL

1	Komposisi Kit Pereaksi Kolesterol Rajawali	5
2	Kandungan nutrisi pakan komersial Bravo-512	5
3	Kandungan gizi margarin yang dicairkan per 25 g takaran saji	6
4	Kandungan gizi pakan <i>Comfeed PARS</i> diet normal tikus	6
5	Komposisi pakan tikus selama masa pengamatan	6
6	Pengujian asam lemak trans pada margarin cair	10
7	Rata-rata persentase konsumsi pakan tikus per tiga hari	12
8	Rata-rata bobot tubuh awal tikus	12
9	Persentase penambahan bobot tubuh tikus (%)	13
10	Rata-rata total penambahan bobot tubuh tikus (g)	13
11	Rata-rata kadar kolesterol total tikus antar kelompok	16

DAFTAR GAMBAR

1	Grafik penambahan bobot tubuh tikus selama pengamatan	15
2	Proses pengambilan darah tikus	30
3	Peralatan dan sampel uji	30

DAFTAR LAMPIRAN

1	Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kontrol (K) selama pengamatan	21
2	Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kitosan 35 mg (P1) selama pengamatan	22
3	Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kitosan 45 mg (P2) selama pengamatan	23
4	Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kitosan 55 mg (P3) selama pengamatan	24
5	Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kontrol (K) selama pengamatan	25
6	Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kitosan 35 mg (P1) selama pengamatan	26
7	Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kitosan 45 mg (P2) selama pengamatan	27
8	Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kitosan 55 mg (P3) selama pengamatan	28
9	Hasil pengukuran kadar kolesterol total tikus pada semua kelompok selama pengamatan	29
10	Foto proses pengambilan darah tikus dan alat uji yang digunakan	30
11	Salinan Surat Ethical Clearance	

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Gangguan kardiovaskuler, seperti penyakit jantung koroner, merupakan penyebab kematian utama di beberapa negara berkembang. Hal tersebut berkaitan dengan perubahan kebiasaan sebagian besar masyarakat di negara berkembang yang perlahan mulai mengganti penggunaan lemak tradisional dengan produk lemak nabati yang terhidrogenasi sebagian, seperti margarin (Baylin *et al.* 2003). Peningkatan konsumsi margarin pada masyarakat di Indonesia terlihat dalam data konsumsi margarin SUSENAS tahun 2007, yakni sebesar 22.925 g per kapita per minggu, lebih tinggi dibandingkan konsumsi margarin pada tahun 2002 sebesar 0.4 g di pedesaan dan 3.2 g di perkotaan, dan tahun 1999, yaitu 0.3 g di pedesaan dan 1.6 di perkotaan (Marliyati *et al.* 2010).

Margarin umumnya dapat dikonsumsi secara langsung dengan cara dioleskan pada bahan makanan maupun diolah terlebih dahulu lewat pemanasan. Ketika dipanaskan, margarin akan menimbulkan rasa gurih dan aroma yang lezat sehingga membuat bahan makanan yang diolah dengan menggunakan margarin tersebut akan terasa lebih nikmat. Sayangnya, ketika margarin dipanaskan pada suhu tinggi kemungkinan besar akan terbentuk asam lemak trans dalam margarin tersebut (Tuminah 2009).

Asam lemak trans memiliki efek merugikan terhadap profil lipoprotein darah maupun peningkatan resiko terserang penyakit jantung koroner, baik pada individu maupun populasi (WHO 2003; Nishida *et al.* 2004). Asam lemak trans yang terkandung dalam margarin akan menurunkan kadar HDL sekaligus meningkatkan kadar LDL dalam tubuh. Kondisi tersebut akan meningkatkan rasio perbandingan antara kolesterol dan HDL dalam tubuh, sehingga akan meningkatkan kadar kolesterol total dalam tubuh (de Roos *et al.* 2001).

Salah satu zat yang dikenal mampu menurunkan kadar kolesterol adalah kitosan. Kitosan dapat diperoleh dari limbah kulit udang maupun rajungan, yang kitin dalam jumlah yang cukup tinggi (Kurita 2006; Yin *et al.* 2009). Kitosan dibuat dengan mendeasetilasi kitin, hingga membentuk aminopolisakarida dengan ikatan 1,4- β dari residu glukosamin, yang ditemukan pada dinding sel fungi dan eksoskeleton dari berbagai jenis crustacea dan arthropoda (Muzzarelli *et al.* 1994). Kitosan juga mempunyai daya pengikatan lemak yang lebih tinggi jika dibandingkan serat sehingga mampu menghambat absorpsi lemak tubuh dan mencegah terjadinya peningkatan kadar kolesterol tubuh, serta diyakini juga dapat menurunkan bobot tubuh (Silvani *et al.* 2006).

Beberapa penelitian tentang kemampuan hipokolesterolemik dari kitosan yang telah dilakukan selama ini hanya menggunakan sumber kolesterol dari lemak hewani, baik terhadap hewan coba seperti tikus (Maho & Kimura 2006; Jiali *et al.* 2008; Hong-liang *et al.* 2011) maupun terhadap manusia (Gades & Stern 2005). Hingga saat ini belum ada penelitian terkait efek hipokolesterolemik kitosan yang menggunakan asam lemak trans

dalam memicu kenaikan kolesterol. Selain itu, efektifitas kitosan dalam menurunkan bobot tubuh dan kadar total kolesterol masih belum sepenuhnya jelas. Penelitian lanjutan tentang kemampuan kitosan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan menggunakan jenis lemak yang berbeda, seperti asam lemak trans yang mulai banyak dikonsumsi masyarakat saat ini, juga diperlukan untuk mengetahui efektifitas kitosan sebagai agen hipokolesterolemik.

Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan tersebut dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana efek pemberian kitosan pada kadar total kolesterol plasma tikus (*Sprague-dawley*) yang diberi pakan tinggi asam lemak trans dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Bagaimana efek pemberian kitosan terhadap bobot tubuh tikus (*Sprague-dawley*) yang diberi pakan tinggi asam lemak trans dibandingkan dengan kelompok kontrol?

Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian kitosan dalam menurunkan kadar kolesterol total plasma dan bobot tubuh pada tikus *Sprague-dawley* yang diberi pakan tinggi asam lemak trans.

Tujuan Khusus

1. Menganalisis kadar asam lemak trans dalam margarin yang dicairkan.
2. Menganalisis konsumsi pakan tikus selama pengamatan.
3. Menganalisis pengaruh pemberian kitosan terhadap kadar kolesterol plasma tikus (*Sprague-dawley*) yang diberi pakan tinggi asam lemak trans.
4. Menganalisis pengaruh pemberian kitosan terhadap peningkatan bobot tubuh tikus (*Sprague-dawley*) yang diberi pakan tinggi asam lemak trans.

Hipotesa

1. Kitosan memiliki pengaruh dalam menurunkan kadar kolesterol total plasma tikus (*Sprague-dawley*) yang diberi pakan tinggi asam lemak trans.
2. Kitosan memiliki pengaruh dalam menghambat pertambahan bobot tubuh tikus (*Sprague-dawley*) yang diberi pakan tinggi asam lemak trans.

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimen laboratorium dengan desain *Randomized Post Test Only Control Group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Tikus (cek nama yang tertulis di pintu lab) dan Laboratorium Biokimia, Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia. Pengujian kadar kolesterol total plasma tikus dilakukan di Laboratorium Poliklinik Umum (PKU) Muhammadiyah Laladon, sementara pengujian kadar asam lemak trans dalam margarin yang dicairkan dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu Pasca Sarjana, FMIPA, Institut Pertanian Bogor. Waktu penelitian dimulai pada 1 April hingga 24 Juni 2014. Penelitian ini telah mendapat *ethical approval* dari Komisi Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor dengan nomor 4 - 2014 IPB (Lampiran 11).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis kitosan yang diberikan kepada masing-masing kelompok perlakuan, sementara variabel terikatnya adalah kadar kolesterol total darah dan bobot tubuh tikus. Variabel kendali yang dilakukan peneliti adalah membuat tikus berada dalam kondisi homogen, baik lingkungan, kondisi fisik tikus, maupun pakan dengan tambahan asam lemak trans yang diberikan.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan *Mettler PJ600* yang memiliki ketelitian 0.1 g untuk menimbang bobot tubuh tikus, komposisi pakan dan pakan sisa. Alat yang digunakan dalam proses pengambilan darah tikus adalah spuit, tabung EDTA, kapas, *chamber* tertutup, sentrifus, dan tabung *ependrof*. Alat yang digunakan dalam analisis kolesterol total plasma darah tikus adalah spektrofotometer *Vicco MD-150A Biochemical Analyzer*. Alat yang digunakan dalam pengujian asam lemak trans pada margarin yang dicairkan adalah gas kromatografi.

Bahan

Sampel penelitian yang digunakan adalah 24 ekor tikus (*Sprague-dawley*) lepas sapih berusia 2 bulan yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan untuk pakan dalam penelitian ini meliputi pakan Bravo-512, margarin produksi PT Salim Ivomas Pratama Tbk, kitosan rajungan, asam asetat 1%, dan akuades. Bahan yang digunakan dalam proses pengambilan darah tikus adalah kloroform. Pengujian kolesterol total dilakukan dengan menggunakan kit pereaksi kolesterol total produksi PT Rajawali Nusindo dengan keterangan komposisi kit yang tersaji pada Tabel 1.

Pengelompokan Tikus

Tikus dalam penelitian ini dikelompokkan menjadi empat kelompok, yakni satu kelompok kontrol (K) dan tiga kelompok perlakuan (P) yang diberi kitosan sebanyak 35 mg (P1), 45 mg (P2), serta 55 mg (P3). Kriteria inklusi tikus yang digunakan adalah berjenis kelamin jantan, dengan usia 2—3 bulan, bobot tubuh berkisar antara 180—250 gram, berbulu kemerahan (segar) dan lincah yang menandakan bahwa tikus berada dalam kondisi sehat serta bergizi baik (Luthfiyah & Widjajanto 2011). Tikus yang tidak mau makan dan mengalami penurunan kondisi fisik, atau bahkan mati, akan masuk kriteria eksklusi.

Besar sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer dalam Maryanto (2013). :

$$(n - 1) \times (t - 1) \geq 15$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

t = Jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan rumus tersebut dapat dilakukan perhitungan besar sampel sebagai berikut :

$$\begin{aligned} t &= 4 \\ (n - 1) (4 - 1) &\geq 15 \\ (n - 1) 3 &\geq 15 \\ (n - 1) &\geq 15 : 3 \\ (n - 1) &\geq 5 \\ n &\geq 5 + 1 \\ n &\geq 6 \end{aligned}$$

Perhitungan dengan rumus tersebut menunjukkan bahwa sampel minimal dalam satu kelompok perlakuan dalam eksperimen ini adalah enam, sehingga secara total keseluruhan jumlah tikus minimal yang diperlukan serta digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor. Masing-masing tikus ditempatkan dalam kandang terpisah. Masing-masing kelompok tikus (kontrol maupun perlakuan) dibagi menjadi 2 sub-kelompok masa pengamatan, yaitu 14 hari dan 28 hari. Dengan demikian, masing-masing kelompok tikus terdiri atas 3 ekor dengan masa pengamatan 14 hari dan 3 ekor dengan masa pengamatan 28 hari.

Teknik Pemberian Pakan

Selama tujuh hari masa adaptasi, tikus diberikan pakan standar Bravo-512 sebanyak 20 g per ekor per hari dengan kandungan nutrisi tersaji pada Tabel 2. Selama 14 dan 28 hari masa perlakuan, tikus diberikan pakan standar dengan tambahan margarin yang telah dicairkan sebagai sumber asam lemak trans secara *ad libitum*. Diet tikus merupakan diet tinggi lemak (>30% sumber energi), yaitu kandungan lemak 34.1% dari kebutuhan energi

total sehari, terdiri atas 19.9% lemak dari pakan dan 14.2% lemak dari margarin yang dicairkan. Kebutuhan energi tikus dalam diet dihitung berdasarkan banyak pakan yang biasa diberikan kepada tikus berusia dua bulan, yakni sebanyak 20 g, sesuai dengan penelitian Hernowati *et al.* (2009), lalu dikali dengan kandungan energi pakan *Comfeed PARS* yang menjadi pakan standar untuk tikus. Tikus yang diberikan pakan standar sebanyak 20 gram memerlukan energi sebesar 68.8 kkal. Kebutuhan energi tersebut diperoleh melalui perhitungan kandungan energi dalam 20 g pakan standar *Comfeed PARS*.

Tabel 1 Komposisi Kit Pereaksi Kolesterol Rajawali

Konten Pereaksi	Komposisi	Kuantitas
R1 (4 x 100 ml enzyme reagent)	Buffer fosfat (pH 6.5)	100 mmol/l
	4-aminophenazone	0.25 mmol/l
	Fenol	5 mmol/l
	Peroksidase	>5 KU/l
	Kolesterol esterase	>150 U/l
	Kolesterol oksidase	>100 U/l
	Sodium azide	0.05%
Standar Kolesterol 3 ml	Kolesterol	200 mg/dl atau 5.17 mmol/l

Tabel 2 Kandungan nutrisi pakan komersial Bravo-512

Nutrisi Pakan	Pakan Bravo-512	
	Kadar (%)*	Kadar (%)**
Kadar air	13	10.49
Protein	19—21	20.67
Lemak	5—8	7.6
Serat	5	1.94
Abu	7	-
Kalsium	0.9	-
Phospor	0.6	-

* PT. Charoen Pokphand Indonesia, KIM Medan (produsen)

**Laboratorium Nutrisi Non Ruminansia Fak. Peternakan Unand (Luthfiah & Widjajanto 2011)

Pakan standar yang diberikan, yakni Bravo-512, mengandung 7.6% lemak dari total berat pakan, sehingga dalam 20 g pakan yang diberikan terdapat 1.52 g lemak atau setara 13.7 kkal dan memenuhi 19.9% dari total kebutuhan energi harian tikus. Guna memenuhi kebutuhan 34.1% lemak dari total kebutuhan energi harian tikus dalam diet tinggi lemak yang diberikan maka ditambahkan margarin yang telah dicairkan sebanyak 1.7 g per ekor per hari. Label pangan yang tertera pada kemasan mencantumkan bahwa dalam 25 g margarin terdapat 20 g lemak, sehingga dalam 1.7 g margarin terdapat 1.36 g lemak atau setara 9.8 kkal dan memenuhi 14.2% kebutuhan energi harian tikus. Kandungan gizi margarin yang digunakan dan kandungan gizi pakan *Comfeed PARS* tersaji pada Tabel 3 dan 4.

Pemilihan pakan Bravo-512 didasarkan pada kemudahan akses mendapatkannya, serta kemiripan persentase kandungan zat gizi dalam pakan tersebut dengan pakan standar *Comfeed PARS*. Bravo-512 biasa

diberikan kepada hewan ternak yang masih dalam masa pertumbuhan, sama halnya dengan tikus yang digunakan dalam penelitian ini. Selain itu, sejak lepas sapih tikus dalam penelitian ini sudah diberi pakan Bravo-512 sehingga sudah terbiasa mengonsumsi pakan tersebut dan diharapkan daya terimanya juga lebih baik selama pengamatan berlangsung.

Tabel 3 Kandungan gizi margarin per 25 g berdasarkan label pangan

Zat Gizi	Jumlah
Energi total	180 kkal
Lemak total	20 g
Lemak trans	0 g
Kolesterol	0 mg

Tabel 4 Kandungan gizi pakan *Comfeed PARS* diet normal tikus

Kandungan Gizi <i>Comfeed PARS</i> / 100 g	
Energi	344 kkal
Protein	19 g
Lemak	4 g
Karbohidrat	58 g

*Laboratorium Farmakologi FKUB dalam Luthfiyah & Widjajanto (2011)

Pakan yang diberikan kepada kelompok perlakuan juga dicampur dengan kitosan cair sesuai dosis yang telah ditetapkan di masing-masing kelompok perlakuan. Kitosan cair dibuat dengan melarutkan kitosan ke dalam asam asetat 1% hingga tepat jenuh dan diencerkan hingga volumenya mencapai 100 ml menggunakan akuades. Kitosan sebanyak 1 gram akan tepat jenuh bila dilarutkan dalam asam asetat 1% sebanyak 20 ml, maka untuk melarutkan kitosan sebanyak 35 mg, 45 mg dan 55 mg diperlukan asam asetat 1% sebanyak 0.7 ml, 0.9 ml dan 1.1 ml. Pakan standar, margarin yang dicairkan maupun kitosan cair kemudian diaduk hingga rata dengan menggunakan *blender* hingga adonan membentuk pasta. Pakan tinggi lemak dengan campuran kitosan cair tersebut diberikan satu kali sehari dengan komposisi sebagaimana disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5 Komposisi pakan tikus selama masa pengamatan

	K	P1	P2	P3
Pakan Bravo-512	18.3 g	18.3 g	18.3 g	18.3 g
Margarin Cair	1.7 g	1.7 g	1.7 g	1.7 g
Kitosan	0	35 mg	45 mg	55 mg
Asam Asetat 1% $\frac{v}{v}$	0	0.7 ml	0.9 ml	1.1 ml

Teknik Pengumpulan Data

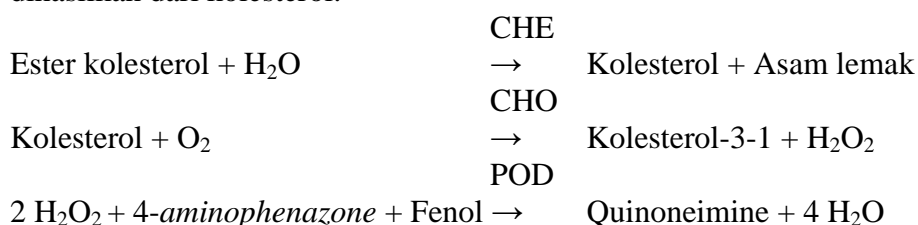
Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer, terdiri dari kadar asam lemak trans pada margarin yang dicairkan, kadar kolesterol total plasma, bobot tubuh dan berat pakan yang diberikan dan pakan sisa. Bobot tubuh tikus ditimbang setiap 3 hari sekali, sementara berat pakan ditimbang setiap hari. Kolesterol total plasma diukur pada minggu

kedua masa perlakuan dan di akhir masa perlakuan, yakni pada minggu keempat, dengan metode enzimatik kolorimetri CHOD-PAP dan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm.

Teknik Pengukuran Kolesterol

Setelah masa pengamatan 14 atau 28 hari, tikus dimatikan dengan cara di-*euthanasi* menggunakan kloroform pada kapas yang ditempatkan pada *chamber*. Tikus yang telah mati kemudian diambil darah sebanyak 3 ml dari organ jantung dengan menggunakan spuit. Darah kemudian ditempatkan pada tabung EDTA. EDTA digunakan untuk menghindarkan darah dari pembekuan. Tabung berisi darah tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Proses sentrifugasi ditujukan untuk memisahkan sel darah yang dengan berat jenis lebih besar, dan plasma darah yang berwarna lebih bening serta memiliki berat jenis lebih kecil. Plasma kemudian dipindahkan dari tabung EDTA ke tabung *ependrof* untuk dianalisis kadar kolesterol total.

Pengujian kadar kolesterol total dilakukan dengan menggunakan kit pereaksi kolesterol PT. Rajawali Nusindo. Prinsip pengukuran kolesterol total plasma berdasarkan petunjuk yang tertera dalam kemasan menyatakan bahwa kit pereaksi tersebut menggunakan metode enzimatik kolorimetrik CHOD-PAP dalam mengukur kadar kolesterol dengan mengukur kadar Quinoneimine yang terbentuk dari 4-*aminophenazone* dan fenol dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm. 4-*aminophenazone* dan fenol merupakan produk dari hasil katalitik hidrogen peroksida dibawah pengaruh enzim, sementara hidrogen peroksida sendiri dihasilkan dari kolesterol.



Kit pereaksi kolesterol bekerja dengan menggunakan enzim kolesterol esterase untuk memecah ester kolesterol menjadi kolesterol dan asam – asam lemak, seperti yang terjadi secara *in vivo* dalam duodenum tubuh. Selanjutnya, kolesterol akan dioksidasi oleh enzim kolesterol oksidase membentuk *cholesterole-3-one* dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida bereaksi dengan fenol dan 4-*aminophenazone*, yang terkandung dalam pereaksi, membentuk *quinoneimine* dengan bantuan enzim peroksidase. *Quinoneimine* akan membentuk warna merah muda yang dapat dibaca secara fotometrik dengan menggunakan spektrofotometer. Kit pereaksi kolesterol total PT. Rajawali Nusindo juga mengandung buffer fosfat untuk menjaga pH larutan sebesar 6.5 untuk menciptakan pH optimal bagi enzim kolesterol esterase dalam melakukan esterifikasi.

Tahap awal pengujian dilakukan dengan menyiapkan larutan blanko, larutan standar dan larutan sampel terlebih dahulu. Larutan blanko berisi

akuades 10 µl dan kit pereaksi kolesterol sebanyak 1000 µl, larutan standar berisi kit pereaksi standar kolesterol 200 mg/dl sebanyak 10 µl dan kit pereaksi kolesterol sebanyak 1000 µl, sementara larutan sampel berisi plasma darah tikus yang hendak diuji sebanyak 10 µl dan kit pereaksi kolesterol sebanyak 1000 µl. Larutan-larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil berukuran 3 ml dan dicampurkan hingga larutan homogen dengan menggunakan vorteks. Selanjutnya, ketiga larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer *Viccos MD-150A Biochemical Analyzer* pada panjang gelombang 546 nm.

Teknik Pengukuran Kadar Asam Lemak Trans dalam Margarin

Asam lemak trans dalam margarin yang dicairkan diukur dengan menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC-FID). Metode pengukuran asam lemak trans dengan menggunakan gas kromatografi terdiri atas beberapa tahapan, yakni hidrolisis lemak dan asam lemak dari bahan pangan, ekstraksi asam lemak ke dalam bentuk eter, metilasi untuk mengubah eter menjadi *fatty acid methyl ester* (FAME) dan diakhiri dengan pengukuran FAME secara kuantitatif menggunakan gas kromatografi (Sartika 2009).

Tahap hidrolisis dimulai dengan melakukan penimbangan sampel dan menambahkan metanol serta 1 ml NaOH 0.5 N ke dalam labu *Mojonnier*. Sampel dihidrolisis pada suhu 70—80 °C dengan memasukkan labu ke dalam *water bath* selama 20 menit. Selanjutnya, ditambahkan 2 ml BF₃ 16% dan 5 mg/ml standar internal ke dalam sampel lalu dipanaskan kembali selama 20 menit untuk mengekstraksi asam lemak dan mengubahnya ke dalam bentuk eter (metilasi). Labu kemudian dikeluarkan dari *water bath* dan didinginkan dalam suhu ruang.

Sampel yang telah dingin ditambahkan 2 ml NaCl jenuh dan 1 ml heksana. Lapisan heksana dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 0.1 g Na₂SO₄ anhidrat dan dibiarkan selama 15 menit sehingga diperoleh FAME. Fase cair dari FAME dipisahkan dan diinjeksikan ke gas kromatografi.

Analisis komponen asam lemak, sebagai FAME dengan alat kromatografi gas, kolom cyanopril methyl sil (*capillary column*). Kondisi alat diatur sebagai berikut: dimensi kolom (p = 60 m; \hat{A} dalam = 0.25 mm, 0.25 $\hat{1}$ $\frac{1}{4}$ *Film Thickness*); laju alir N₂: 20 mL/menit; laju alir H₂: 30 mL/menit; laju alir udara: 200 \hat{A} “ 250 mL/menit; suhu injektor: 200 \hat{A} °C; suhu detektor: 230 \hat{A} °C; suhu kolom: program temperature (kolom temperatur: awal 190°C diam 15 menit, akhir 230°C diam 20 menit dan rate 100°C/menit); ratio = 1:8; inject volum: 1 $\hat{1}$ $\frac{1}{4}$ L; linier velocity: 20 cm/sec (Sartika 2009).

Analisis dimulai dari injeksi pelarut (1 \hat{A} µL) ke dalam kolom untuk memperoleh *baseline*, kemudian dilanjutkan dengan menginjeksi 5 \hat{A} µL campuran standar FAME. Bila semua puncak sudah keluar baru kemudian sampel diinjeksikan sebanyak 5 \hat{A} µL. Waktu retensi dan puncak sampel

diukur untuk masing-masing komponen dibandingkan dengan standar dan dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$C_x = \frac{A_x \cdot R \cdot C_s}{A_s}$$

keterangan:

- C_x : Konsentrasi komponen X
 C_s : Konsentrasi standar internal
 A_x : Luas puncak komponen X
 A_s : Luas puncak standar internal
 R : Respon

Prosedur Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan program PASW 18.0. Data kadar kolesterol total antar perlakuan diuji beda dengan *One-Way ANOVA*. Antar waktu pengamatan 14 dan 28 hari, kadar kolesterol total diuji beda dengan *Independent Sample T-Test*. Data bobot tubuh, baik saat antar perlakuan (dalam satu waktu) dan antar waktu (dalam satu perlakuan) diuji beda dengan *One-Way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Asam Lemak Trans dalam Margarin yang Dicairkan

Kandungan asam lemak trans dalam margarin cukup beragam, tergantung jenis margarin itu sendiri. Margarin dibedakan menjadi dua, yakni *hard-margarine* atau margarin batangan dan *soft-margarine* atau margarin oles yang biasa dikemas dalam kemasan plastik. Kandungan asam lemak trans pada *hard-margarine* menurut *Food and Drug Association* (FDA) rata-rata lebih tinggi dibandingkan dengan *soft-margarine*. Kandungan asam lemak trans dalam margarin mencapai 11—49%, namun saat ini telah banyak beredar produk margarin yang mencantumkan klaim bebas asam lemak trans dalam kemasannya (Tuminah 2009).

Jenis margarin yang digunakan dalam penelitian ini adalah *soft-margarine* dengan klaim bebas asam lemak trans dalam label pangannya. Penggunaan *soft-margarine* dalam penelitian ini berdasarkan pertimbangan bahwa jenis margarin tersebut lebih mudah ditemukan diberbagai toko, swalayan, maupun warung kecil sehingga penggunaannya di masyarakat pun lebih luas. Margarin dalam penelitian ini dicairkan terlebih dahulu dengan menggunakan metode pemanasan konvensional, yakni menggunakan kompor, dengan suhu pemanasan diatas 100°C. Pemanasan dilakukan hingga seluruh margarin berubah menyerupai minyak nabati atau telah mencapai titik lelehnya secara sempurna lalu dicampurkan ke dalam pakan tikus. Pengujian kadar asam lemak trans dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Hasil pengujian

kadar asam lemak trans dari margarin yang telah dicairkan dapat dilihat pada Tabel 6.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa ditemukan asam lemak trans yang terbentuk dalam margarin yang dicairkan dengan total sebanyak 1.58% w/w, melebihi nilai normal total kandungan asam lemak trans dalam bahan pangan berdasar acuan dari data laboratorium, yakni sebesar 0—1,0% w/w. Hal ini mungkin saja terjadi karena suhu pemanasan margarin yang tinggi. Hasil penelitian yang ditemukan oleh Tuminah (2009) menunjukkan bahwa ketika dipanaskan hingga 280°C asam lemak dalam margarin akan mengalami perubahan konfigurasi isomer asam lemak dari “cis” menjadi “trans” sebanyak 3—6%. Selain itu, menurut Fennema dalam Sartika (2009), reaksi oksidasi terhadap asam oleat, asam lemak tak jenuh yang banyak terkandung dalam minyak kelapa sawit bahan dasar margarin, pada suhu 25°C akan menghasilkan senyawa radikal intermediate, yaitu cis dan trans.

Tabel 6 Pengujian asam lemak trans pada margarin cair

No.	Parameter	Unit	Hasil
1.	C18:2n9t (asam linolelaidat)	% w/w	0.17
2.	C18:1n9t (asam elaidat)	% w/w	1.41
Total			1.58

Faktor lain yang dapat menyebabkan terbentuknya asam lemak trans dalam margarin adalah kemungkinan produsen menggunakan metode hidrogenasi sebagian dalam proses pembuatan margarin. Tuminah (2009) menjelaskan bahwa proses hidrogenasi sebagian melibatkan tiga hal, yakni temperatur tinggi, tekanan dan katalis. Minyak kelapa sawit, salah satu minyak nabati yang digunakan sebagai bahan dasar margarin, kaya akan asam lemak tidak jenuh, khususnya asam lemak oleat, sehingga pada proses hidrogenasi sebagian asam lemak tidak jenuh tersebut akan berikatan dengan permukaan katalis tepat pada ikatan rangkap yang terbuka. Guna memperoleh tekstur margarin yang semi-padat pada suhu ruang, seperti pada produk mentega yang terbuat dari lemak hewani, maka perlu dilakukan penjenuhan terhadap ikatan rangkap yang terdapat pada lemak nabati sebagai bahan dasar margarin. Penjenuhan dilakukan dengan membuat ikatan antara permukaan katalis dengan ikatan rangkap terbuka pada asam lemak tidak jenuh. Selanjutnya, hidrogen ditambahkan pada ikatan rangkap tersebut, sehingga berubah sifatnya menjadi jenuh. Namun, ikatan yang terbentuk antara asam lemak tersebut dengan katalis bersifat tidak stabil dan mudah teregenerasi melalui ikatan “cis” maupun “trans” ketika ikatan asam lemak dan permukaan katalis terlepas sebelum penjenuhan terjadi. Proses hidrogenasi sebagian selama pembuatan margarin dari minyak-minyak nabati juga menggunakan temperatur tinggi guna menghilangkan aroma yang tidak diinginkan dari minyak nabati dan proses pemanasan tersebut dapat mengubah isomer asam lemak dari “cis” menjadi “trans” (Tuminah 2009).

Pembentukan asam lemak trans dalam pembuatan margarin bisa dihindari dengan menggunakan metode pembuatan margarin selain

hidrogenasi sebagian, seperti interesterifikasi. Interesterifikasi merupakan reaksi pertukaran atau penataan ulang secara acak (randomisasi) gugus asil antar dua buah ester antar molekul dalam trigliserida. Penggunaan metode interesterifikasi telah digunakan dalam pembuatan *cocoa butter* oleh Soekopitojo *et al.* (2008). Asam lemak dalam trigliserida akan mengalami redistribusi selama proses interesterifikasi sehingga komposisi asam lemak serta jenisnya dalam trigliserida pun akan berubah. Hal tersebut akan mengubah sifat fisik dari minyak dan lemak, baik sifat pelelehannya maupun kristalisasinya (Soekopitojo *et al.* 2008). Interesterifikasi lebih menguntungkan jika menggunakan substrat berbasis kelapa sawit karena kandungan trigliserida POP (*palmitate-oleat-palmitate*) yang tinggi sehingga mudah dimodifikasi menjadi trigliserida POS (*palmitate-oleat-stearin*) dan SOS (*2-oleoyl-distearin*) sebagai komponen dalam pembuatan *cocoa butter equivalent*. Serupa dengan pembuatan *cocoa butter*, pembuatan *soft-margarine* yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan bahan dasar kelapa sawit dikutip dari produsen margarin tersebut, yakni PT Salim Ivomas Pratama Tbk. Dalam penjelasannya, Divisi Minyak dan Lemak Nabati dari perusahaan tersebut menyuling *Crude Palm Oil* (CPO) menjadi RBD (*Refined, Bleached, Defined*) *Palm Oil* yang kemudian diproses kembali menjadi RBD (*Refined, Bleached, Defined*) Olein dan RBD (*Refined, Bleached, Defined*) Stearin, bahan baku pembuatan produk margarin mereka.

Konsumsi Pakan

Rata-rata persentase konsumsi pakan dibuat per tiga hari mengikuti jadwal penimbangan bobot tubuh yang juga dilakukan setiap tiga hari sekali, sehingga dapat diketahui pengaruh kuantitas konsumsi pakan tikus terhadap kenaikan bobot tubuh. Konsumsi pakan tikus di tiap kelompok dipantau setiap harinya dengan mencatat berat pakan yang diberikan dan menimbang berat pakan yang tersisa. Data berat pakan yang disediakan maupun yang tersisa kemudian diolah agar diperoleh persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan setiap hari untuk semua tikus di masing-masing kelompok, kemudian diolah lebih lanjut secara deskriptif dengan menghitung rata-rata persentase konsumsi pakan per tiga hari. Rata-rata persentase konsumsi pakan dibuat per tiga hari mengikuti jadwal penimbangan bobot tubuh yang juga dilakukan setiap tiga hari sekali, sehingga dapat diketahui pengaruh kuantitas konsumsi pakan tikus terhadap kenaikan bobot tubuhnya, diluar adanya pengaruh kitosan dalam menghambat penambahan bobot tubuh tikus itu sendiri. Rata-rata konsumsi pakan tikus di masing-masing kelompok perlakuan yang dihitung setiap tiga hari tersaji pada Tabel 7.

Persentase konsumsi pakan tikus P2 mengalami penurunan dan selalu lebih rendah dibandingkan dengan K maupun P1 dan P3 sejak hari ke-10. Rata-rata persentase konsumsi pakan tikus P2 mencapai puncak terendah di hari ke-28. Hal tersebut disebabkan karena ada satu tikus dalam kelompok tersebut yang mengalami penurunan konsumsi pakan hingga rata-rata konsumsinya hanya mencapai 60.8%. Hasil akhir rata-rata persentase konsumsi pakan selama pengamatan pun menunjukkan bahwa tikus P2

memiliki persentase konsumsi pakan paling rendah diantara semua kelompok perlakuan, sementara persentase konsumsi pakan paling tinggi selama pengamatan ada di kelompok P3.

Tabel 7 Rata-rata persentase konsumsi pakan tikus per tiga hari

Hari ke-	% Konsumsi Kelompok Perlakuan			
	K	P1	P2	P3
4	96.0	97.5	97.6	97.9
7	96.8	97.8	99.2	98.2
10	97.3	96.4	94.6	96.5
13	95.0	97.3	94.2	97.7
16	95.4	97.3	92.4	94.5
19	96.5	96.6	95.3	98.5
22	97.9	99.7	94.5	99.1
25	92.8	93.2	81.9	95.5
28	96.2	99.7	89.7	97.8
Rata-rata	96.0	97.0	93.7	97.2

Pertambahan Bobot tubuh

Penimbangan bobot tubuh pertama kali dilakukan pada hari pertama pengamatan. Bobot awal tikus digunakan sebagai dasar pengelompokan tikus ke dalam masing-masing kelompok perlakuan, sesuai dengan dosis kitosan yang ditetapkan selama pengamatan. Tikus K memiliki bobot tubuh paling rendah di antara tikus kelompok perlakuan lainnya, sementara tikus dengan bobot tubuh terbesar menerima dosis kitosan paling tinggi, yakni sebesar 55 mg. Rata-rata bobot tubuh awal tikus di awal pengamatan pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8 Rata-rata bobot tubuh awal tikus

Kelompok perlakuan	Bobot tubuh (g)
K	198.6 ± 9.1 ^a
P1	217.9 ± 6.9 ^b
P2	241.1 ± 6.3 ^c
P3	251.8 ± 5.7 ^d

Ket : huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan ($p < 0.05$).

Penimbangan selanjutnya dilakukan setiap tiga hari untuk mengetahui besar perubahan bobot tubuh tikus selama masa perlakuan. Hasil persentase dan rata-rata total pertambahan bobot tubuh tikus per tiga hari pengamatan tersaji pada Tabel 9 dan 10. Hasil penimbangan pada hari keempat pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata pertambahan bobot tubuh tikus terbesar ada pada kelompok K dan yang paling kecil ada pada kelompok P3. Uji beda menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata pertambahan bobot tubuh tikus secara nyata antara P3 dengan K ($p = 0.024$).

Tabel 9 Persentase pertambahan bobot tubuh tikus (%) menurut kelompok per 3 hari pengamatan

Hari ke-	K	P1	P2	P3
4	10.7	8.3	5.7	4.7
7	17.9	14.4	11.5	9.0
10	24.1	19.1	15.3	13.2
13	28.9	26.4	20.3	18.0
16	35.0	31.4	23.4	22.3
19	38.9	36.3	25.3	26.0
22	41.7	40.7	26.1	27.8
25	45.1	44.2	27.8	31.4
28	42.4	43.4	25.4	29.8

Tabel 10 Rata-rata pertambahan kumulatif bobot tubuh tikus (g) menurut kelompok per 3 hari pengamatan

Hari ke-	K	P1	P2	P3
4	21.25 ± 10.84 ^{a*}	18.08 ± 3.83	13.58 ± 3.90	11.80 ± 5.60 ^{a*}
7	36.98 ± 13.15 ^{a*}	32.48 ± 6.28	28.38 ± 7.99	23.30 ± 6.72 ^{a*}
10	51.87 ± 15.70 ^{ab*}	44.13 ± 6.04 [*]	38.77 ± 9.75 ^b	34.72 ± 7.57 ^{a*}
13	63.75 ± 16.81 ^{a*}	63.03 ± 8.25 ^{c*}	52.87 ± 12.67 [*]	48.53 ± 4.08 ^{ac*}
16	86.00 ± 10.20 ^{ab*}	73.57 ± 10.25 [*]	56.97 ± 20.54 ^{b*}	57.83 ± 6.85 ^{a*}
19	97.00 ± 10.21 ^{ab*}	80.37 ± 12.95 [*]	62.53 ± 23.11 ^{b*}	69.37 ± 6.60 ^{a*}
22	105.33 ± 13.11 ^{ab*}	93.23 ± 12.02 [*]	65.43 ± 21.57 ^{b*}	75.17 ± 14.53 ^{a*}
25	115.50 ± 10.70 ^{b*}	104.03 ± 9.59 [*]	70.80 ± 27.37 ^{b*}	86.63 ± 12.13 [*]
28	107.20 ± 12.33 ^{b*}	101.53 ± 6.5 ^{c*}	63.63 ± 32.06 ^{bc*}	81.40 ± 9.82 [*]

Ket : huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan beda nyata antar perlakuan ($p < 0,05$); tanda bintang dalam kolom yang sama menunjukkan beda nyata antar waktu pengamatan ($p < 0,05$).

Tikus ditimbang kembali pada hari ketujuh pengamatan dengan hasil penimbangan yang tidak jauh berbeda dengan hasil penimbangan sebelumnya. Rata-rata pertambahan bobot tubuh tikus terbesar masih terdapat pada K, sementara P3 memiliki rata-rata pertambahan bobot tubuh paling kecil. Berdasarkan hasil uji beda, terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata pertambahan bobot tubuh tikus K dengan P3 ($p=0.016$).

Dosis kitosan 45 mg mulai menunjukkan adanya perbedaan nyata dalam menghambat pertambahan bobot tubuh tikus pada penimbangan hari kesepuluh pengamatan. Rata-rata pertambahan bobot tubuh tikus P2 secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan pertambahan bobot tubuh tikus K ($p=0.042$). Demikian pula dengan pertambahan bobot tubuh tikus P3 yang juga menunjukkan beda nyata dengan K ($p=0.010$).

Hasil penimbangan hari ke-13 menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara rata-rata pertambahan bobot tubuh tikus P2 dengan K, seperti hasil penimbangan pada tiga hari sebelumnya. Data penimbangan hari ke-13 ini hanya menunjukkan adanya perbedaan nyata antara P3 dengan K dan P1. Artinya, pada dua minggu pertama masa pengamatan, hanya tikus P3 saja yang secara kontinyu signifikan memiliki pertambahan bobot tubuh lebih rendah dari K.

Penimbangan hari ke-16 pengamatan menunjukkan hasil yang serupa dengan penimbangan hari kesepuluh pengamatan. Baik P2 ($p=0.026$)

maupun P3 ($p=0.029$) memiliki pertambahan bobot tubuh yang signifikan lebih rendah dibanding K. Hasil penimbangan serupa juga terjadi pada penimbangan hari ke-19 (P2 [$p=0.020$] dan P3 [$p=0.049$]) dan hari ke-22 (P2 [$p=0.015$] dan P3 [$p=0.047$]). Sejak penimbangan hari ke-16 hingga ke-22, rata-rata total pertambahan bobot tubuh tikus dalam kelompok P2 selalu lebih rendah dibandingkan dengan P3 berdasarkan analisis deskriptif. Persentase pertambahan bobot tubuh P2 mulai menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan P3 pada hari ke-19.

Penimbangan dihari ke-25 masa pengamatan menunjukkan P2 memiliki pertambahan bobot tubuh yang secara signifikan lebih rendah dibanding K ($p=0.011$), sementara P3 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap K. Selain itu, P2 juga menunjukkan perbedaan pertambahan bobot tubuh signifikan dengan P1 ($p=0.040$). Pada penimbangan ini terdapat satu tikus yang mengalami penurunan berat badan sebanyak 2.1 g pada kelompok P2. Hal ini disebabkan tikus tersebut selama 3 hari tidak menghabiskan pakannya. Rata-rata persentase tingkat konsumsi pakan tikus tersebut tiga hari sebelum penimbangan hanya mencapai 60.8%, sehingga diperkirakan penurunan bobot tubuh tikus ini lebih disebabkan adanya penurunan asupan pakan.

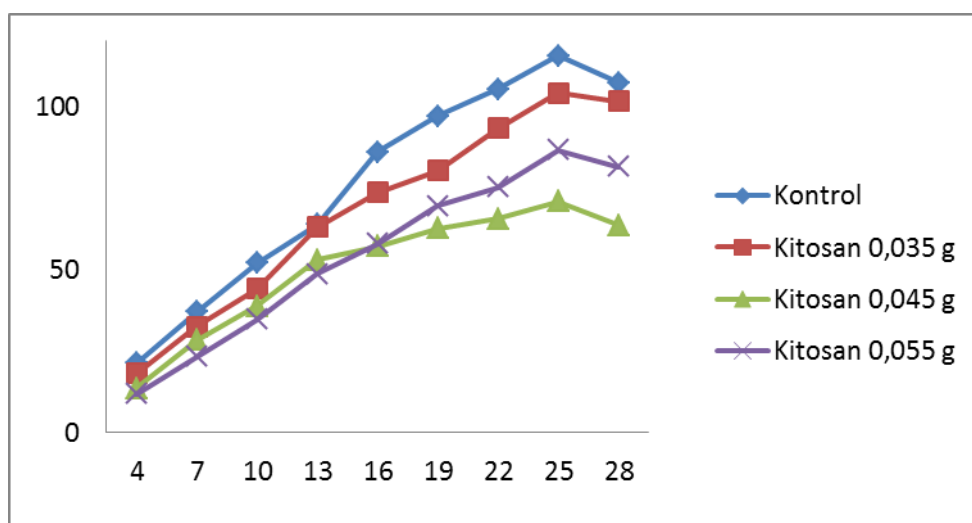
Hasil penimbangan hari ke-28 menunjukkan P2 memiliki rata-rata pertambahan bobot tubuh terendah dan secara signifikan berbeda nyata dengan K ($p=0.021$) serta P1 ($p=0.038$). Rata-rata pertambahan bobot tubuh kumulatif tikus P3 juga lebih rendah dibandingkan dengan K, namun berdasarkan hasil uji beda tidak ada perbedaan yang signifikan diantara dua kelompok ini.

Pertambahan bobot tubuh kumulatif tikus pada kelompok K adalah 107.20 ± 12.33 g dalam empat minggu atau setara 26.8 g per minggu, hampir sama dengan pertambahan bobot tubuh tikus yang diberi pakan kolesterol 1.5% dan larutan PTU (propil tiourasil) 0.01% selama 3 minggu, yakni sebesar 26.7 g per minggu, dalam penelitian Kasim *et al.* (2006). Tikus putih yang diberi pakan dengan tambahan margarin yang dicairkan sebanyak 1.7 g dan tambahan kitosan sebanyak 35 mg (P1), 45 mg (P2), dan 55 mg (P3), secara berturut-turut memiliki pertambahan bobot tubuh per minggu sebesar 25.4 g (P1); 15.9 g (P2); 20.4 g (P3). Secara normal, pertambahan bobot tubuh tikus jantan adalah 22.8 g (Putri 2014), sementara hasil penelitian Trisviana (2012) menunjukkan bahwa tikus putih yang diberi pakan standar dengan tambahan margarin yang tidak dicairkan sebanyak 7.2 g mengalami peningkatan bobot tubuh sebesar 15.3 g per minggu. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan tambahan margarin yang dicairkan sebanyak 1.7 g per hari pada tikus tanpa tambahan kitosan dapat meningkatkan pertambahan bobot tubuh kumulatif hingga 175.74% bila dibandingkan dengan pemberian pakan dengan tambahan margarin yang tidak dicairkan sebanyak 7.2 g, serta 117.54% lebih tinggi dari pertambahan bobot tubuh tikus jantan dalam kondisi normal. Tikus yang mendapat dosis kitosan 45 mg dan 55 mg memiliki pertambahan bobot tubuh sebesar 69.8% dan 89.3% jika dibandingkan dengan pertambahan bobot tubuh normal tikus jantan. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsumsi margarin yang dicairkan berpotensi meningkatkan pertambahan

bobot tubuh tikus melebihi pertambahan bobot tubuh normalnya, namun konsumsi kitosan dengan dosis 45 mg dan 55 mg mampu menekan pertambahan bobot tubuh tikus hingga dibawah kondisi normal.

Pertambahan bobot tubuh tikus P1 selama pengamatan memiliki rata-rata pertambahan kumulatif yang selalu lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, berdasarkan hasil uji beda tidak terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan diantara kedua kelompok tersebut, dari awal hingga akhir pengamatan. Tikus P2 memiliki hasil akhir rata-rata kumulatif pertambahan bobot tubuh yang paling rendah diantara semua kelompok perlakuan, yakni sebesar 63.63 ± 32.06 g, namun belum dapat disimpulkan bahwa dosis kitosan inilah yang berperan dalam menghambat laju pertambahan bobot tubuh tikus. Hal ini disebabkan adanya penurunan konsumsi pakan pada tikus P2. Penurunan konsumsi pakan diketahui bahwa terjadi sejak pengamatan hari ke-10, demikian pula penurunan laju pertambahan bobot tubuh tikus P2 secara signifikan juga mulai terlihat lebih rendah dibandingkan dengan K sejak pengamatan di hari ke-10, dan menjadi paling rendah diantara semua kelompok sejak hari ke-16. Besar kemungkinan penurunan konsumsi pakan juga menjadi faktor penyebab penurunan laju pertambahan bobot tubuh tikus tersebut.

Dosis kitosan 55 mg atau setara 0.275% dari berat total pakan yang diberikan pada tikus secara nyata mampu menghambat pertambahan bobot tubuh tikus sejak hari ketiga pengamatan. Meskipun pada penimbangan hari ke-25 dan ke-28 tidak ditemukan perbedaan nyata pertambahan bobot tubuh antara P3 dengan K, namun tren pertambahan bobot tubuh kelompok perlakuan tersebut masih tetap lebih rendah dibandingkan dengan kelompok K. Perbedaan yang tidak terlalu signifikan dalam hal konsumsi pakan antara K dan P3 mengindikasikan bahwa faktor konsumsi pakan dapat diabaikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa faktor yang membuat pertambahan bobot tubuh tikus P3 lebih rendah dibandingkan dengan K adalah konsumsi kitosan dalam dosis tersebut. Grafik pertambahan bobot tubuh tikus sejak awal hingga akhir pengamatan dilakukan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Grafik pertambahan bobot tubuh tikus selama pengamatan

Data hasil penelitian ini menegaskan bahwa kitosan mampu menghambat peningkatan bobot tubuh tikus. Kitosan yang diasup, bersama dengan pakan atau sesudah konsumsi pakan, akan membentuk suatu lapisan HCl dalam lambung. Kitosan dalam bentuk partikel terkapsulasi akan bergerak ke duodenum dan bersama lapisan HCl yang terbentuk akan terdilusi serta membentuk suatu aglomerat dengan asam lemak dan kolesterol, sehingga akan mengurangi penyerapan lemak dari saluran pencernaan. Penelitian pada primata telah menunjukkan bahwa kitosan dapat meningkatkan jumlah lemak yang dieliminasi dalam feses (Ebihara & Schneeman 1989). Kitosan juga memiliki kemiripan karakteristik dengan serat pangan, karena kitosan serupa dengan polisakarida yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan mamalia, bahkan memiliki daya daya pengikatan lemak yang lebih tinggi jika dibandingkan serat (Guangfei *et al.* 2007).

Kolesterol Total Plasma

Kadar kolesterol total plasma menjadi salah satu indikator resiko penyakit jantung koroner maupun gangguan kardiovaskuler lainnya. Kadar kolesterol total normal untuk manusia berkisar kurang dari 200 mg/dl, sementara kadar kolesterol total untuk tikus menurut Malole & Pramono (1989) berkisar antara ≤ 130 mg/dl dan nilai rujukan kolesterol puasa tikus menurut Rahayu (2011) adalah ≤ 89 mg/dl. Kadar kolesterol total tikus yang diberi pakan dengan tambahan margarin dicairkan selama pengamatan dalam penelitian ini diukur pada hari terakhir pengamatan (hari ke-14 dan ke-28). Rata-rata hasil kadar kolesterol total tikus antar kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11 Rata-rata kadar kolesterol total tikus antar kelompok

Hari ke-	K	P1	P2	P3
14	88.3 ± 11.9^{a1}	$81.7 \pm 10.4^{a,b1}$	$77.7 \pm 2.5^{a,b1}$	71.3 ± 7.0^{b1}
28	61.3 ± 11.5^{a2}	$55.7 \pm 10.7^{a,b2}$	$54.0 \pm 11.8^{a,b2}$	42.0 ± 5.6^{a2}

Ket : Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata antar kelompok perlakuan ($p < 0.05$); angka yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan beda nyata antar kelompok waktu ($p < 0.05$)

Hasil pengukuran kadar kolesterol total pada hari ke-14 masa pengamatan menunjukkan bahwa tikus disemua kelompok perlakuan memiliki kolesterol dalam batas normal. Rata-rata kadar kolesterol tikus P1, P2, dan P3 lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata kadar kolesterol tikus K. Kadar kolesterol total terendah dimiliki oleh tikus P3. Rata-rata kolesterol total P3 juga memiliki perbedaan signifikan dibandingkan dengan K ($p = 0.045$).

Pengukuran kadar kolesterol total tikus pada hari ke-28 juga menunjukkan hal yang serupa. Tikus P3 memiliki rata-rata kadar kolesterol total terendah dan secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan K ($p = 0.049$). Bila dilihat secara keseluruhan, tikus putih di semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar kolesterol total pada pengukuran hari

ke-28 jika dibandingkan dengan pengukuran di hari ke-14. Hal ini terjadi karena adanya perlakuan puasa selama satu malam yang diberikan kepada seluruh tikus sebelum pengukuran profil lipidnya pada hari ke-28.

Diet tinggi lemak (>30%) dan asam lemak trans yang diberikan kepada tikus tidak terbukti meningkatkan kadar kolesterol total darah tikus hingga mencapai kondisi hiper-kolesterolemia (kolesterol total >130 mg/dl dalam kondisi tidak dipuasakan dan >89 mg/dl dalam kondisi dipuasakan) dalam empat minggu masa pengamatan. Hal ini mungkin terjadi karena waktu pengamatan yang kurang panjang. Penelitian Murwani *et al.* (2006) menunjukkan bahwa kondisi hiperkolesterolemia pada tikus baru tercapai setelah pemberian pakan aterogenik selama 8 minggu.

Kadar kolesterol total tikus yang mengonsumsi kitosan jauh lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang tidak mengonsumsi kitosan. Dosis kitosan 35 mg dan 45 mg berdasarkan analisis deskriptif terhadap rata-rata kadar kolesterol total plasma tikus masih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol, walaupun tidak berbeda nyata. Kitosan 55 mg atau 0.275% dari berat total pakan yang dikonsumsi terbukti efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total tikus pada analisis kolesterol total di hari ke-14 masa pengamatan.

Kitosan mampu menurunkan kadar kolesterol total maupun tikus karena kitosan berperan dalam menghambat absorpsi lemak yang dikonsumsi dalam pakan. Penelitian yang dilakukan Sugano *et al.* (1980) dan Gallaher *et al.* (2000), menyatakan bahwa kitosan memiliki efek hipokolesterolemik dengan meningkatkan ekskresi sterol netral serta mereduksi kolesterol hati pada tikus. Kitosan mempunyai sifat penukar anion dan mempunyai viskositas tertentu dalam larutan asam sehingga dalam penggunaannya harus dilarutkan terlebih dahulu dalam asam asetat 1%. Sifat ini dapat memberikan efek hipokolesterolemik, sama dengan *cholestyramine*, penukar anion komersial, yang digunakan sebagai obat penurun kolesterol. Selain itu, kitosan dapat menurunkan penyerapan kolesterol dengan meningkatkan ekskresi asam empedu. Peningkatan ekskresi asam empedu dapat menurunkan konsentrasi kolesterol karena kolesterol dalam plasma atau hati akan digunakan untuk mempertahankan konsentrasi pool asam empedu. Selain itu, pengikatan asam empedu oleh resin dalam usus halus dapat menghancurkan pembentukan misel sehingga menurunkan kemampuannya untuk melarutkan kolesterol dan selanjutnya menurunkan penyerapan kolesterol (Gallaher *et al.* 2000).

Kitosan yang merupakan hasil deasetilasi kitin, berupa sebuah aminopolisakarida alami dengan ikatan β -1.4 residu glukosamin, juga aman dikonsumsi. Walaupun bukan derivat dari tanaman, kitosan memiliki kesamaan karakteristik dengan serat pangan karena berupa aminopolisakarida yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan mamalia, sehingga akan diekskresikan keluar tubuh melalui urin dan feses (Guangfei *et al.* 2007; Muzzarelli *et al.* 1994).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Margarin yang dicairkan mengandung asam lemak trans sebesar 1.58% w/w, lebih tinggi dari batas normal yang seharusnya (0—1.0 %). Dosis kitosan yang secara efektif mampu menghambat pertambahan bobot tubuh tikus adalah 45 mg, sejak hari ke-10 pengamatan, dan 55 mg, sejak hari ke-3 pengamatan. Kolesterol total tikus dapat diturunkan dalam dua minggu pertama pengamatan dengan pemberian kitosan sebanyak 55 mg. Tidak ada peningkatan kadar kolesterol darah melebihi batas normal, yakni 130 mg/dl bila tidak dipuaskan dan 89 mg/dl bila dipuaskan, selama konsumsi margarin cair sebesar 14.2% dari total kebutuhan dalam diet tinggi lemak yang dijalani tikus selama empat minggu pengamatan.

Saran

Perlu dilakukan pengujian kadar kolesterol-LDL dan kolesterol-HDL dengan dipuaskan untuk mengetahui efek konsumsi asam lemak trans terhadap keduanya dan pengaruh kitosan terhadap kedua variabel tersebut. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang efektifitas kitosan dengan dosis 45 mg dalam menurunkan berat badan tanpa faktor pengurangan kuantitas konsumsi pakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Baylin A, Edmond KK, Alberto A, Donna S dan Hannia C. 2003. High 18:2 *trans*-fatty acids in adipose tissue are associated with increased risk of nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rican adults. *J. Nutr.* 133: 1186-1191.
- de Roos NM, Michiel LB, Martijn BK. 2001. Replacement of dietary saturated fatty acids by *trans* fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Vol. 21:1233-1237
- Ebihara K, Barbara OS. 1989. Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglycerides with dietary fibers in the small intestine of rats. *J. Nutr.* Vol. 119:1100-1106.
- Gades MD dan Stern JS. 2005. Chitosan supplementation does not affect fat absorption in healthy males fed a high-fat diet, a pilot study. *Journal of American Dietetics Association.* Vol. 105(1):72-77. doi:10.1016/j.jada.2004.10.004
- Gallaher CM, Jessa M, Robert H, John W, Daniel DG. 2000. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in

- cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *Jurnal of Nutrition*. Vol. 130(1):2753-2759. doi : 0022-3166/00
- Guangfei X, Xiaodong H, Lianglin Q, Jinbiao W dan Yinqing H. 2007. Mechanism study of chitosan on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*. 16 (Suppl 1):313-317
- Hernowati ET, Therik JW, Hendra. 2009. *Efek Nutritional Tepung Daun Kelor (Moringa oleifera) Varietas NTT terhadap Status Gizi Tikus Wistar KEP*. [Tesis]. Malang(ID):Universitas Brawijaya.
- Hong-liang Z, Yi T, Jiao G, Yin-ming H, dan Zheng-quan S. 2011. Hypolipidemic effects of chitosan nanoparticles in hyperlipidemia rats induced by high fat diet. *International Immunopharmacology*. Vol. 11(4):457–461
- Jiali Z, Jingna L, Ling L, Wenshui X. 2008. Dietary chitosan improves hypercholesterolemia in rats fed high-fat diets. *Nutrition Research*. Vol. 28(6):383–390
- Kasim E, Yety K, Novik N. 2006. Pemanfaatan isolat lokal *Monascus purpureus* untuk menurunkan kolesterol darah pada tikus putih galur Sprague-dawley. *Biodiversitas*. Vol. 7(2):123–126.
- Kurita K. 2006. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*. 8: 203 – 211.
- Luthfiyah F dan Eddy W. 2011. *Serbuk daun kelor memulihkan kondisi fisik gizi buruk pada tikus model kurang energi protein*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. 26 (3) : 131 – 135.
- Maho S dan Kimura Y. 2006. Low molecular weight chitosan inhibits obesity induced by feeding a high-fat diet long-term in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 58(2):201–207
- Malole MBM, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor (ID) : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral dan Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Marliyati SA, Hidayat S, Deddy M, Latifah KD, Rimbawan. 2010. Suplementasi sterol lembaga gandum (*Triticum sp.*) pada margarin. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. Vol. XXI(1):73-79
- Maryanto S. 2013. The effects of red guava (*Psidium guajava* L) fruits on lipid peroxidation in hypercholesterolemic rats. *Basic Res. J. Med. Clin. Sci*. Vol. 2(11):116-121
- Murwani S, Mulyohadi A, Ketut M. 2006. Diet atherogenik pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai model hewan aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. XXII(1):120–123
- Muzzarelli RA, Ilari P, Petrarulo M. 1994. Solubility and structure of n-carboxymethylchitosan. *Int. J. Biol. Macromol*. Vol. 16:177-180.

- Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P. 2004. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases : process, product and policy implications. *Public Health Nutr.* Vol. 7:245S-250S.
- Putri ASS. 2014. Perbandingan Laju Pertambahan Berat Badan Tikus Jantan dan Betina serta Kadar Hormon Triiodotironin dan Tiroksin dalam Darah. [Skripsi]. Yogyakarta (ID) : Universitas Gajah Mada.
- Rahayu M. 2011. *Pengaruh Pemberian Folat Terhadap Kadar Homosistein dan Profil Lipid pada Tikus Diabetes.* [Thesis]. Semarang(ID):Universitas Diponegoro
- Sartika RAD. 2009. Pengaruh suhu dan lama proses menggoreng (*deep frying*) terhadap pembentukan asam lemak trans. *MAKARA SAINS.* Vol. 13(1):23-28
- Silvani MD, Imam P, Ambar S. 2006. *Potensi Kitosan sebagai Produk Olahan Limbah Industri Udang di Bidang Kesehatan.* [Karya Tulis] Surakarta(ID):Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Soekopitojo Soenar, Purwiyatno Hariyadi, Tien R. Muchtadi, dan Nuri Andarwulan. 2008. *Interesterifikasi enzimatis campuran minyak sawit untuk produksi cocoa butter equivalent: analisis komposisi triasilgliserol dan solid fat content.* *Prosiding Seminar PATPI* : 1081 – 1089.
- Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y. 1980. A novel use of chitosan as hypocholesterolemic agent in rats. *Am J Clin Nutr.* Vol. 33:787-93.
- Trisviana O. 2012. *Pengaruh Pemberian Margarin terhadap Berat Badan dan Kadar Trigliserida Serum Tikus Sprague Dawley.* [Skripsi]. Semarang (ID) : Universitas Diponegoro.
- Tuminah S. 2009. Efek asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh “trans” terhadap kesehatan. *Media Penelit. dan Pengembang. Kesehat.* Vol. XIX:S13-S20
- WHO. 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases : report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series No. 916. Geneva (SA) : World Health Organization
- Yin H, Du Y, Zhang J. 2009. Low molecular weight and oligomeric chitosans and their bioactivities. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 9 : 1546-1559.

Lampiran 1 Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok standar selama pengamatan

Rata-rata % Konsumsi Hari ke-	Tikus							Rata-rata % Konsumsi per 3 hari
	21	19	15 ^a	4	5 ^a	9 ^a	25*	
4	95,2	95,2	89,8	100,0	96,0	100,0	-	96,0
7	99,2	99,2	83,2	100,0	99,2	100,0	-	96,8
10	99,7	99,7	84,6	100,0	98,7	98,7	100,0	97,3
13	94,6	94,6	84,5	100,0	97,8	95,0	98,4	95,0
16	92,6	92,6	-	100,0	-	-	96,4	95,4
19	97,4	97,4	-	95,1	-	-	96,3	96,5
22	97,3	97,3	-	97,4	-	-	99,6	97,9
25	89,5	89,5	-	94,3	-	-	98,0	92,8
28	91,4	93,2	-	100,0	-	-	100,0	96,2

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 2 Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kitosan 35 mg selama pengamatan

Rata-rata % Konsumsi Hari ke-	Tikus							Rata-rata % Konsumsi per 3 hari
	17	20	7 ^a	3 ^a	10	22 ^a	26 ^{a*}	
4	97,7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	84,6	97,5
7	100,0	100,0	97,5	100,0	100,0	100,0	86,8	97,8
10	100,0	100,0	90,7	100,0	100,0	96,0	88,4	96,4
13	99,5	100,0	97,1	96,4	100,0	97,0	91,4	97,3
16	100,0	100,0	-	-	97,0	-	92,3	97,3
19	100,0	96,7	-	-	93,2	-	-	96,6
22	100,0	100,0	-	-	99,1	-	-	99,7
25	93,1	97,5	-	-	89,0	-	-	93,2
28	99,0	100,0	-	-	100,0	-	-	99,7

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 3 Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kitosan 45 mg selama pengamatan

Rata-rata % Konsumsi Hari ke-	Tikus							Rata-rata % Konsumsi per hari
	23 ^a	18	8	16	2 ^a	12 ^a	27 ^{a*}	
4	100,0	100,0	99,4	98,8	100,0	100,0	84,9	97,6
7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	94,5	99,2
10	100,0	100,0	98,8	86,7	93,2	98,6	85,1	94,6
13	100,0	100,0	99,2	86,0	87,9	93,6	92,7	94,2
16	-	94,5	95,9	89,2	-	-	90,1	92,4
19	-	100,0	96,9	89,1	-	-	-	95,3
22	-	93,2	96,9	93,4	-	-	-	94,5
25	-	100,0	84,8	60,8	-	-	-	81,9
28	-	100,0	87,9	81,3	-	-	-	89,7

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 4 Rata-rata persentase konsumsi pakan terhadap ketersediaan dari tikus kelompok kitosan 55 mg selama pengamatan

Rata-rata % Konsumsi Hari ke-	Tikus							Rata-rata % Konsumsi per hari
	11	13 ^a	14 ^a	24	6 ^a	1	28*	
4	100,0	97,5	96,7	97,5	100,0	95,5	-	97,9
7	100,0	94,0	95,9	100,0	100,0	99,2	-	98,2
10	100,0	91,8	92,5	100,0	100,0	100,0	91,3	96,5
13	99,3	92,3	94,9	100,0	100,0	100,0	97,1	97,7
16	98,7	-	-	96,1	-	97,6	85,7	94,5
19	100,0	-	-	99,3	-	100,0	94,7	98,5
22	99,2	-	-	100,0	-	100,0	97,1	99,1
25	91,0	-	-	100,0	-	97,6	93,3	95,5
28	92,4	-	-	99,1	-	100,0	99,7	97,8

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 5 Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok standar selama pengamatan

Kode Tikus	Bobot Tubuh Tikus Hari Ke-									
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28
T21	186,5	209,2	225,9	236,7	252,8	262,3	272,4	276,7	289,7	280,9
T19	205,6	238,6	257,5	277,6	289,6	301,8	311,6	318,3	326,2	313,8
T15 ^a	201,5	202,4	213,7	225,3	236,4	-	-	-	-	-
T04	200,5	220,9	238,4	254,4	260,1	286,5	299,6	313,6	323,2	319,5
T05 ^a	188,5	213,4	228,3	244,3	264,2	-	-	-	-	-
T09 ^a	208,9	234,5	249,6	264,4	270,9	-	-	-	-	-
T28*	-	-	124,7	161,2	184,7	203,3	217,3	230,9	247,4	248,4

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 6 Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kitosan 35 mg selama pengamatan

Kode Tikus	Berat Badan									
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28
T17	213,9	232,7	242,1	253,4	266,5	281,4	288,5	299,7	309,8	309,6
T20	223,9	236,2	251,9	264,6	278,1	291,7	295,2	310,7	325,5	324,2
T07 ^a	214,4	229,6	239,2	252	282,6	-	-	-	-	-
T03 ^a	214,6	232,9	250,3	265,4	283,4	-	-	-	-	-
T10	211,5	232,7	251,5	255,7	284,1	296,9	306,7	318,6	326,1	320,1
T22 ^a	228,9	251,6	267,1	280,9	290,7	-	-	-	-	-
T27*	-	-	-	136,8	157,9	178,4	195,6	208,5	222,7	-

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 7 Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kitosan 45 mg selama pengamatan

Kode Tikus	Berat Badan									
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28
T23 ^a	245,1	259,1	280,3	292,3	308,9	-	-	-	-	-
T18	231,4	248,7	269,7	282,9	298,8	311,8	320,6	321,7	333,1	330,5
T08	246,1	254,1	263,4	270,7	280,2	288,2	294,6	300,4	307,2	301,2
T16	235,2	252,6	264,6	271,3	277,9	283,6	285,1	286,9	284,7	271,9
T02 ^a	242,4	257,4	271,2	282,5	294,7	-	-	-	-	-
T12 ^a	246,3	256,1	267,6	279,4	303,2	-	-	-	-	-
T26*	-	-	146,5	170,3	190	201,9	212,5	225,9	-	-

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 8 Hasil penimbangan bobot tubuh tikus kelompok kitosan 55 mg selama pengamatan

Kode Tikus	Berat Badan									
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28
T11	246,8	249,7	260,7	272,3	289,8	297,8	309,4	310,2	324,3	317
T13 ^a	262,4	278,4	290,3	302,9	312,8	-	-	-	-	-
T14 ^a	247,4	264,6	279,4	291,8	297,5	-	-	-	-	-
T24	250,9	260,9	269,9	278	298,4	315,6	326,7	342,3	351,3	346,9
T06 ^a	253,4	269,4	280,2	291,6	308	-	-	-	-	-
T01	249,9	258,6	270,1	282,5	295,5	307,7	319,6	320,6	331,9	327,9
T25*	-	-	162,7	182,7	203,4	218,7	236,2	255,4	266,3	265,9

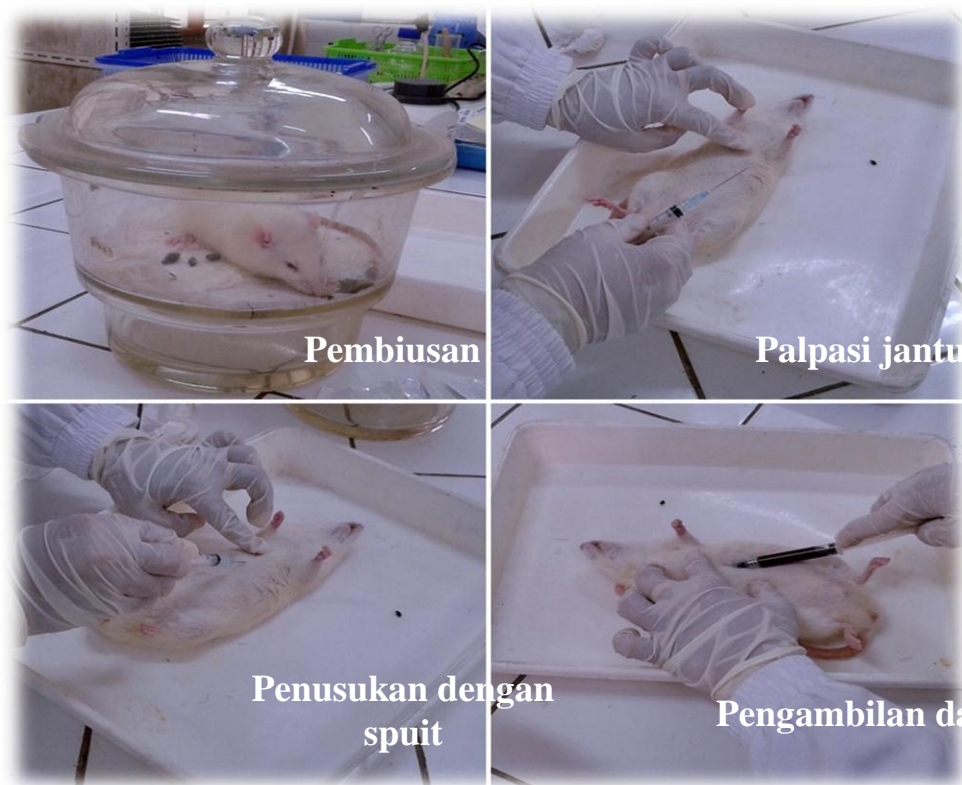
Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan; tanda () menunjukkan tikus yang menjadi cadangan*

Lampiran 9 Hasil pengukuran kadar kolesterol total tikus antar kelompok perlakuan selama pengamatan

Kelompok Perlakuan											
Kode Tikus	Kontrol		Kitosan 35 mg			Kitosan 45 mg			Kitosan 55 mg		
	Minggu ke-II	Minggu ke-IV	Kode Tikus	Minggu ke-II	Minggu ke-IV	Kode Tikus	Minggu ke-II	Minggu ke-IV	Kode Tikus	Minggu ke-II	Minggu ke-IV
T21	-	50	T17	-	90	T23 ^a	80	-	T11	-	36
T19	-	61	T20	-	70	T18	-	57	T13 ^a	64	
T15 ^a	92	-	T07 ^a	49	-	T08	-	41	T14 ^a	78	
T04	-	73	T03 ^a	50	-	T16	-	64	T24	-	43
T05 ^a	98	-	T10	-	85	T02 ^a	78	-	T06 ^a	72	
T09 ^a	75	-	T22 ^a	68	-	T12 ^a	75	-	T01	-	47

Ket : superskrip "a" menunjukkan tikus yang dimatikan pada minggu kedua masa pengamatan

Lampiran 10 Foto proses pengambilan darah tikus dan alat uji yang digunakan



Gambar 2 Proses pengambilan darah tikus



Gambar 3 Peralatan dan sampel uji

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan putri pertama dari pasangan Lioe Hap Sen dan Linda, yang lahir pada tanggal 31 Agustus 1992 di Sungailiat, Bangka Belitung. Penulis memulai pendidikan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Yos Sudarso, Bandar Jaya, pada tahun 2004. Penulis kemudian melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN I) Terbanggi Besar pada tahun 2007. Selepas menempuh pendidikannya di SMAN I Terbanggi Besar tersebut, penulis berhasil diterima di Institut Pertanian Bogor melalui jalur USMI (Undangan Seleksi Masuk IPB) pada tahun 2010, dan menempuh pendidikan di Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia.

Selama menempuh pendidikan di Institut Pertanian Bogor, penulis sempat terlibat dalam beberapa Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM). Pada tahun 2010 – 2012, penulis menjadi pengurus aktif dalam Keluarga Mahasiswa Katolik IPB (KeMaKI) di divisi Pendidikan dan Pengembangan. Di tahun 2012 – 2013, penulis bergabung bersama tim redaksi dari Majalah Emulsi, yakni majalah pangan dan gizi yang dinaungi oleh empat himpunan mahasiswa lintas departemen di IPB (HIMITEPA, HIMAPROTER, HIMAGIZI, dan HIMASILKAN), sebagai reporter. Hingga pada tahun 2013 – 2014, penulis bergabung dengan Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) Fakultas Ekologi Manusia dan menjabat sebagai ketua Komisi II.

Selain aktif dalam beberapa UKM, penulis juga pernah menjadi tutor kimia di bimbingan belajar Gemilang Excellent untuk mahasiswa Tingkat Persiapan Bersama (TPB) IPB pada tahun 2012. Penulis pun bekerja sebagai editor *freelance* di perusahaan periklanan online, Cekspot.com, pada tahun 2013. Penulis juga menjalani *Internship Dietetics* pada tahun 2014 di RS Kanker Dharmais, Jakarta.