



UJI EFEK ANTIHIPERLIPIDEMIA NANOPARTIKEL KITOSAN PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI *HIGH FAT*

Nila Resti Alfiani ¹, Nani Wijayanti D. N. ², Giftania Wardani Sudjarwo ³
^{1,2,3}Faculty of Pharmacy, Hang Tuah University, Surabaya 60111 Indonesia

Email korespondensi: giftania88@gmail.com

ABSTRAK

Hiperlipidemia adalah salah satu penyakit kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL (*low density lipoprotein*) dan secara signifikan ditandai dengan penurunan kadar HDL (*high density lipoprotein*) di dalam darah yang dapat memicu penyakit kardiovaskuler seperti jantung koroner. Kitosan dapat mengikat lemak dan mencegah penyerapannya sehingga dimanfaatkan untuk aktivitas antihiperlipidemia. Pengecilan ukuran partikel menjadi nanopartikel bertujuan untuk meningkatkan kemampuannya pada aktivitas biologisnya termasuk meningkatkan absorpsi ke jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antihiperlipidemia dari nanopartikel kitosan dengan menurunkan kolesterol total, trigliserida dan LDL pada mencit yang diinduksi makanan *high-fat* dan PTU 0.01% pada air minum. Mencit putih (*Mus musculus*) yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok (n=5) yaitu kelompok *normal fat* (NF), kelompok *high-fat* (HF), kelompok simvastatin 10 mg/kgBB (SV), kelompok nanopartikel 1 dosis 450 mg/kg BB (NC 1), kelompok nanopartikel 2 dosis 225 mg/kg BB (NC 2), diaklimatisasi selama 1 minggu dalam lingkungan yang baik. Selama 2 minggu diberi induksi makanan tinggi lemak dan PTU 0.01% pada air minum kemudian dilakukan perlakuan diadministrasikan langsung ke lambung selama 2 minggu. Data analisis yang dianalisis menggunakan Kruskal-Willis Test menyatakan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok pada kolesterol total, LDL dan trigliserida dengan nilai masing-masing 0.350, 0.196 dan 0.101 (nilai $p < 0.05$). Sehingga nanopartikel kitosan tidak memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia pada penelitian ini.

Kata kunci : antihiperlipidemia, nanopartikel kitosan

ABSTRACT

Hyperlipidemia is a disease of lipid metabolic disorders that have characterized by increased levels of total cholesterol, trygliceride, LDL (low density lipoprotein) and decreased levels of HDL (high density lipoprotein) significantly in blood that contributes cardiovascular disease such as cononary heart disease. Chitosan that can binding lipid and inhibiting the absorption then can be used to antihypelipidemia activities. Reducing the particle size of chitosan into nano sized aims increase the ability of biological activity of hyperlipidemia including increase the absorption to tissues. The aim of this study is to investigate antihyperlipidemia activities of nanoparticle chitosan that can reduce total cholesterol, trygliceride and LDL in mice induced by high fat diet and PTU 0.01% in water. Mice were separated into five groups (n=5) is normal fat group (NF), high fat group (HF), simvastatin group 10 mg/days (SV), nanoparticle 1 group 450 mg/kg BB (NC 1) and nanoparticle 2 group 225 mg/kg BB (NC 2), one weeks adapted in good environment. Two weeks induced by high fat diet and PTU 0.01% often treatment by simvastatin and chitosan nanoparticles by gaster gavage for two weeks. The result of this study by Kruskal-Willis Test analysis stated that there were no significant differences between groups on total cholesterol, LDL and triglycerides, the values $p = 0.350, 0.196$ dan 0.101 ($p < 0.05$). It was concluded that chitosan nanoparticles had no activity as antihyperlipidemic activity in this study.

Keyword: antyhiperlipidemia, chitosan nanoparticle

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian peringkat pertama di dunia. Menurut WHO, pada tahun 2016 terdapat 17,1 juta orang meninggal akibat penyakit kardiovaskular yang mewakili sekitar 31,5% dari semua kematian di seluruh dunia, yang dapat merujuk pada sejumlah kondisi seperti penyakit jantung dan pembuluh darah, serangan jantung, aritmia, gagal jantung, stroke, dan juga masalah pada katup jantung [1,2]. Hiperlipidemia merupakan istilah dari suatu kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan plasma lipid termasuk kolesterol total, trigliserida fosfolipid dan atau lipoprotein plasma termasuk VLDL



(*Very Low Density Lipoprotein*) dan LDL (*Low Density Lipoprotein*), serta penurunan HDL (*High Density Lipoprotein*) di dalam serum [3,4,5]. Pola makanan pada era modern banyak mengandung kolesterol, disertai intensitas makan yang tinggi, kurang mengonsumsi sayur dan buah, mengalami obesitas, kurang berolahraga dan kebiasaan merokok dapat membuat kadar kolesterol darah sulit dikendalikan.

Pengobatan farmakologis seperti golongan statin, fibrat, BAR maupun niasin dan pengobatan non farmakologis pada kondisi hiperlipidemia dapat digunakan sebagai pencegahan penyakit kardiovaskular. Dari pengobatan farmakologis yang memiliki efek terapi, pengobatan tersebut dapat menimbulkan efek samping sehingga banyak masyarakat yang memilih untuk kembali lagi pada bahan alam untuk meminimalkan efek samping khususnya sumber daya laut yang memiliki potensi besar dalam menurunkan kolesterol seperti kitosan [6].

Kitosan merupakan senyawa yang dihasilkan dari proses deasetilasi senyawa kitin yang terkandung dalam hewan famili *Crustacea* sekitar 20-60% tergantung dari spesies masing-masing [7], satunya adalah udang *Litopenaeus vannamei*. Dari proses deasetilasi kitin akan menghilangkan gugus asetil dan menyisakan gugus amino yang bermuatan positif, Kitosan dengan muatan positif akan mampu berikatan dengan molekul yang bermuatan negatif seperti asam lemak dan asam empedu kemudian membentuk ikatan ionik [8,9]. Kitosan berperan penting dalam pencegahan penyakit kardiovaskular dan memiliki kemampuan mengikat lemak yang baik atau antihiperlipidemia [10,11]. Untuk meningkatkan efek kitosan pada sebagai antihiperlipidemia, kitosan dibentuk menjadi ukuran nano dengan kemampuan absorpsi ke jaringan. Bentuk nanopartikel kitosan akan memiliki ukuran partikel kecil dan luas permukaan yang besar untuk menyerap senyawa organik seperti lipid dan asam lemak [10].

Maka, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek nanopartikel kitosan sebagai antihiperlipidemia yang efektif dan efisien pada mencit yang diinduksi *high fat* terlihat dari profil lipid serum yaitu kolesterol total, trigliserida dan LDL.

METODE

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan adalah kitosan yang dibuat dengan metode *High Energy Milling* memiliki ukuran partikel 220 hingga 994 nm, CMC Na, tablet simvastatin, aquadest dan bahan tambahan lainnya. Mencit (*Mus musculus*) jantan dengan spesifikasi berat badan 20 gram \pm 10 gram, berumur 2 – 3 bulan, sehat, tidak ada kelainan pada tubuhnya dan tidak mati selama penelitian merupakan sampel pada penelitian ini. Mencit diaklimatisasi dengan memberi makanan standar dan minum ad libitum selama satu minggu. Mencit dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan masing-masing terdapat 5 mencit: (1) kelompok kontrol (NF) (2) kelompok kontrol negatif atau *high fat* (HF), (3) kelompok kontrol positif atau perlakuan simvastatin (SV), (4) kelompok perlakuan nanopartikel dosis 450 mg/kgBB (NC 1), dan (5) kelompok perlakuan nanopartikel dosis 225 mg/kgBB (NC 2).

Mencit dipuaskan selama \pm 18 jam sebelum pengujian. Kelompok NF diberikan makanan standar dan air minum biasa ad libitum hingga akhir penelitian. Kelompok lainnya diberikan induksi *high fat* berupa makanan tinggi lemak dengan komposisi kuning telur, jagung dan minyak goreng dengan takaran setiap mencit \pm 3 gram dan air minum mengandung PTU 0.01% selama dua minggu, kemudian dilakukan pengecekan kadar lemak darah acak menggunakan alat tes darah dengan strip kolesterol pada minggu pertama dan minggu kedua selama penelitian sebagai kontrol. Kelompok HF induksi *high fat* dilanjutkan hingga akhir penelitian. Kelompok SV, NC 1 dan NC 2 diberikan perlakuan selama dua minggu masing-masing diterapi dengan simvastatin dosis 0,026 mg/hari, nanopartikel kitosan dosis 450 mg/kgBB dan dosis 225 mg/kgBB dalam



bentuk suspensi berikan dengan cara menyondekan langsung ke dalam lambung selama dua minggu.

Pada akhir penelitian, mencit dipuasakan selama ± 18 jam. Mencit dibius dengan dietil eter dan dibedah. Darah diambil melalui *intracardial*. Darah mencit disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit menjadi serum darah. Serum darah diperiksa profil lipid berupa kolesterol total, trigliserida dan LDL.

Analisis data menggunakan program SPSS, dilakukan pengujian homogenitas dan normalitas data dengan Kolmogorov-Smirnov. Jika data telah homogen dan normal, perbedaan data rata-rata akan diperiksa menggunakan *One-way ANOVA* sehingga dianggap signifikan jika nilai $P < 0,05$. Sedangkan data yang tidak normal atau homogen dengan nilai $P > 0,05$ diperiksa menggunakan Kruskal Wallis Test [10].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pengujian nanopartikel, didapatkan hasil kadar profil lipid berupa kolesterol total, LDL dan trigliserida dari serum darah mencit setelah perlakuan sebagai *post test only control group design* yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Kadar Kolesterol Total (mg/dL) dalam Serum Mencit Setelah Pelakuan

| Mencit | Kelompok Perlakuan | | | | |
|---------------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | NF | HF | SV | NC 1 | NC 2 |
| 1 | 57 | 166 | 60 | 147 | 105 |
| 2 | 85 | 110 | 142 | 125 | 100 |
| 3 | 151 | 116 | 111 | 128 | 96 |
| 4 | 138 | 121 | 91 | 97 | 96 |
| 5 | 146 | 137 | 118 | 122 | 70 |
| Mean | 115,4 | 130 | 104,4 | 123,8 | 93,4 |
| \pmSD | 41,97 | 22,48 | 30,79 | 17,88 | 13,59 |

Tabel 2. Kadar LDL (mg/dL) dalam Serum Mencit Setelah Pelakuan

| Mencit | Kelompok Perlakuan | | | | |
|---------------------------|--------------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| | NF | HF | SV | NC 1 | NC 2 |
| 1 | 9 | 17 | 4 | 12 | 8 |
| 2 | 7 | 16 | 11 | 9 | 6 |
| 3 | 14 | 12 | 18 | 5 | 8 |
| 4 | 14 | 12 | 4 | 4 | 10 |
| 5 | 13 | 11 | 20 | 7 | 8 |
| Mean | 11,4 | 13,6 | 11,4 | 7,4 | 8 |
| \pmSD | 3,20 | 2,70 | 7,53 | 3,2 | 1,41 |

Tabel 3. Kadar Trigliserida (mg/dL) dalam serum mencit setelah pelakuan

| Mencit | Kelompok Perlakuan | | | | |
|---------------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | NF | HF | SV | NC 1 | NC 2 |
| 1 | 180 | 181 | 79 | 41 | 66 |
| 2 | 212 | 111 | 233 | 97 | 99 |
| 3 | 49 | 154 | 121 | 115 | 73 |
| 4 | 66 | 154 | 170 | 115 | 106 |
| 5 | 59 | 136 | 114 | 127 | 38 |
| Mean | 113,2 | 147,2 | 143,4 | 99 | 76,4 |
| \pmSD | 74,66 | 25,83 | 59,68 | 34,14 | 27,30 |



Data pada **Tabel 1-3** dianalisis normalitas dan homogenitas data menggunakan program SPSS. Pada analisis normalitas pada **tabel 4**, didapatkan nilai Sig. untuk masing-masing parameter adalah 0.200, sehingga dapat diinterpretasikan dengan nilai Sig. atau $P > 0.05$, data telah terdistribusi normal. Sedangkan pada analisis homogenitas pada **Tabel 4**, didapatkan nilai Sig. untuk masing-masing parameter adalah 0.109, 0.052 dan 0.012 sehingga dapat diinterpretasikan nilai Sig. atau $P < 0.05$, data tidak terdistribusi secara homogen.

Tabel 4. Hasil Analisis Data Normalitas dan Homogenitas

| Parameter | Sig. ($P > 0.005$) | |
|------------------|----------------------|-------------|
| | Normalitas | Homogenitas |
| Kolesterol Total | 0.200 | 0.109 |
| LDL | 0.200 | 0.052 |
| Trigliserida | 0.200 | 0.012 |

Selanjutnya dilakukan analisis Kruskal-Wallis Test untuk mengetahui perbedaan pada kelompok perlakuan. Nilai $P < 0.05$ menginterpretasi adanya perbedaan bermakna antar kelompok. Pada **Tabel 5**, ditunjukkan nilai $P = 0.350$, 0.196 dan 0.101 yang menunjukkan tidak ada hubungan bermakna antar masing-masing kelompok perlakuan pada parameter baik kolesterol total, LDL maupun trigliserida.

Tabel 5. Hasil Analisis Data Normalitas dan Homogenitas

| | Kolesterol Total | LDL | Trigliserida |
|-------------|------------------|-------|--------------|
| Asymp. Sig, | 0.350 | 0.196 | 0.101 |

Dari hasil penelitian yang tertera sebelumnya pada **Tabel 1-3**, data diujikan normalitas dan homogenitas yang didapat dinyatakan terdistribusi normal dengan nilai $p > 0.05$, tetapi tidak homogen. Maka data dapat diolah kembali dengan analisis Kruskal Willis Test untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan (nilai $p < 0.05$) dari kelompok-kelompok perlakuan NF, HF, SV, NC 1 dan NC 2 untuk masing-masing parameter data yaitu kolesterol total, LDL dan trigliserida. Dilihat dari **Tabel 5**, tidak ada perbedaan bermakna antar semua kelompok kolesterol total, LDL dan trigliserida masing-masing yaitu 0.350, 0.196 dan 0.101. Berdasarkan analisis data tersebut, efek dari nanopartikel kitosan sebagai antihiperlipidemia tidak dapat dibuktikan karena tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.

Dari perbedaan hasil dengan penelitian-penelitian sebelumnya terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi, antara lain pemberian makanan pada kelompok perlakuan baik makanan *high fat* maupun makanan standar, kurun waktu pemberian makan pada kelompok-kelompok perlakuan, dan faktor-faktor luar lain. Selama proses pemberian makanan *high fat*, makanan standar dan minuman yang diberikan pada masing-masing mencit tentukan yaitu ± 3 gram per mencit secara keseluruhan untuk 5 menit sehingga tidak dapat mengontrol berapa banyak makanan pada per satu mencit secara detail. Hal ini dikarenakan setiap mencit memiliki nafsu makan yang berbeda sehingga dapat memberikan variasi banyaknya makanan yang makan tiap mencit sehingga tidak dapat tercapai kadar lemak yang tinggi dan rata pada proses peningkatan kadar lemak mencit.

Pada proses perlakuan dengan suspensi simvastatin dan nanopartikel kitosan telah dilakukan dengan baik yang diberikan sesuai dosis yang tepat yang merujuk pada penelitian terdahulu dengan kurun waktu perlakuan selama dua minggu [12], bertujuan untuk keefektifan



waktu dan mengurangi stres pada hewan coba. Proses sonde pada penelitian dilakukan dengan langsung masuk ke dalam lambung setiap hari. Pemberian perlakuan disesuaikan dengan berat badan masing-masing mencit. Stres yang dialami mencit dapat mempengaruhi berat badan, sehingga perubahan berat badan terutama pada kelompok perlakuan SV, NC 1 dan NC 2, juga mempengaruhi berapa dosis yang masuk ke dalam tubuh mencit. Hal tersebut menjadi variasi dosis pada suspensi.

Pada penelitian ini perlakuan yang dilakukan pada kurun waktu dua minggu, kadar lemak dalam darah tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok. Simvastatin mengalami respon optimum dengan kurun waktu pemberian perlakuan 4 hingga 6 minggu [13], dan nanopartikel kitosan dengan dua dosis 450 mg/kgBB dan 225 mg/kgBB dapat menimbulkan efek antihiperlipidemia dengan kurun waktu 4 minggu [10]. Sehingga pemilihan kurun waktu selama perlakuan sebaiknya lebih dari 4 minggu agar penurunan kadar lemak dalam darah mencit lebih signifikan dan optimal. Hal tersebut dapat dilihat pada kelompok SV, NC 1 dan NC 2, nilai profil lipid pada akhir penelitian menunjukkan angka yang tinggi tidak menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan kelompok HF sebagai kondisi hiperlipidemia.

Berdasarkan data yang didapat dari analisis Kruskal Wallis, tidak terdapat hubungan yang bermakna antar kelompok. Analisis Kruskal Wallis dilanjutkan ke analisis Post Hoc dari Kruskal Wallis yaitu Mann-Whitney untuk mengetahui pengaruh dari setiap kelompok secara detail. Kelompok HF dan kelompok perlakuan SV, NC 1 dan NC 2, tidak terdapat perbedaan bermakna dengan $Sig > 0.05$ yang menunjukkan bahwa perlakuan terapi tidak menunjukkan adanya efek antihiperlipidemia karena sama dengan kondisi hiperlipidemia. Kelompok NF sebagai kelompok kontrol penelitian memiliki nilai profil lipid tinggi dan melebihi HF, hal ini dapat terpengaruh dari makanan standar yang diberikan yang mengandung sekitar 5-8% lemak.

Dilihat kembali pada hasil analisis Mann-Whitney, pada kelompok NC 2 dan HF sebagai pembanding kondisi hiperlipidemia memiliki perbedaan yang cukup bermakna dibandingkan dengan kelompok lainnya yaitu NC 1 dan SV. Perbedaan tersebut terlihat pada ketiga parameter kolesterol total, LDL dan trigliserida dengan $Sig = 0.067, 0.065$ dan 0.017 . Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok NC 2 dan HF pada parameter trigliserida. Nanopartikel kitosan dengan dosis 225 mg/kgBB memiliki potensi menurunkan trigliserida mencit yang telah diinduksi makanan tinggi lemak dan PTU 0.01 % pada air minum. Hasil tersebut dapat dikaji ulang dengan beberapa perubahan metode dari penelitian ini untuk lebih mempertajam hasil terkait penurunan kolesterol total, trigliserida dan LDL pada mencit yang diinduksi *high fat*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah nanopartikel kitosan tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL dan trigliserida pada mencit yang diinduksi *high fat*. Saran untuk penelitian ini adalah perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan jangka waktu perlakuan terapi yang lebih lama, mengganti komponen dari induksi makanan *high fat* dan mengontrol asupan makanan secara merata pada setiap mencit, serta ditambahkan perlakuan pengecekan awal sebagai *baseline* untuk mengetahui perbandingan dengan hasil akhir pengambilan sampel darah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung, baik secara materi maupun moril. Terutama kepada Giftania Wardhani Sudjarwo, S.Farm., Apt., M.S. atas dukungan berupa ide penelitian, dana dan gagasan pada penelitian ini.



DAFTAR PUSTAKA

- [1] American Heart Association. "What is Cardiovascular Disease?". <http://www.heart.org/en/health-topics/consumer-healthcare/what-is-cardiovascular-disease>. Diakses September 2018. 2017.
- [2] WHO. "Cardiovascular diseases (CVDs)". World Health Organization. [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Diakses September 2018. 2017.
- [3] Kementerian Kesehatan RI. 2014. Juli. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- [4] G.F. Shattat, "A Review Article on Hyperlipidemia: Types, Treatments and New Drug Targets," *Biomedical and Pharmacology Journal*, vol. 7, no. 1, pp.399-409, 2015.
- [5] G.H, Urmila, T. Satyanarayana and R.B. Ganga, "Antihyperlipidemic Activity of Methanolic Leaf Extracts of Three Different Plants on High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Rats," *International Journal of Preclinical & Pharmaceutical Research*, pp.2-4, 2014.
- [6] W. Xia, P. Liu, J. Zhang and J. Chen, "Biological Activities of Chitosan and Chitooligosaccharides," *Food Hydrocolloids*, vol. 25, no. 2, pp.170-179, 2011.
- [7] G.W. Sudjarwo, and Mahmiah, "Analisis Proksimat dan Optimasi Pembuatan Kitosan dari Limbah Kulit dan Kepala Udang Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)," Proc. Seminar Nasional Kelautan XII, 2017.
- [8] S. Isdadiyanto, "Endotelium Arteria Coronaria Tikus Putih Sprague Dawley Hiperlipidemia setelah diberi Chitosan Cangkang Udang Laut (*Penaeus monodon F.*)," *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, vol. 24 no. 1, pp.128-135, 2016.
- [9] P. Zou, X. Yang, J. Wang, Y. Li, H. Yu, Y. Zhang, and G. Liu, "Advances in Characterisation and Biological Activities of Chitosan and Chitosan Oligosaccharides," *Food chemistry*, vol. 190, pp.1174-1181, 2016.
- [10] H.L. Zhang, Y. Tao, J. Guo, Y.M. Hu and Z.Q. Su, "Hypolipidemic Effects of Chitosan Nanoparticles in Hyperlipidemia Rats Induced by High Fat Diet," *International immunopharmacology*, vol. 11, no. 4, pp.457-461, 2011.
- [11] H. Pan, Q. Yang, G. Huang, C. Ding, P. Cao, L. Huang, T. Xiao, J. Guo and Z. Su, "Hypolipidemic Effects of Chitosan and Its Derivates in Hyperlipidemic Rats Induced by A High-Fat Diet," *Food & Nutrition Research*, vol. 60, no. 1, pp.31137, 2016.
- [12] H. Yao and M. Chiang, "Plasma Lipoprotein Cholesterol in Rats Fed a Diet Enriched in Chitosan and Cholesterol," *J Nutr Sci Vitamino*, vol. 48, pp. 379-383, 2002.
- [13] Ascent, "Simvastatin-DP Product Information," *South Melbourn*, 130603, pp. 1-25, 2012.