

PENGARUH PEMBERIAN *Nannochloropsis oculata* TERHADAP KADAR TOTAL KOLESTEROL DAN BERAT BADAN TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG MENGALAMI HYPERCHOLESTEROLEMIA

The Effect of Nannochloropsis oculata on the Decrease in Total Cholesterol Levels and Body Weight of Sprague Dawley Rats with Hypercholesterolemia

Diini Fithriani^{1*}, Etyun Yunita², Ajeng Kurniasari¹, dan Fauzan Martha²

¹ Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat, Indonesia

² Universitas Negeri Jakarta, Jl. Rawamangun Muka, RT.11/RW.14, Rawamangun, Kec. Pulo Gadung, Jakarta Timur, Indonesia
*Korespondensi Penulis: diinikp@gmail.com

Diterima: 16 November 2017; Direvisi: 22 Maret 2018; Disetujui: 22 Desember 2019

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Nannochloropsis oculata* dengan dosis bertingkat terhadap kadar kolesterol total tikus yang dibuat *hypercholesterolemia* dan pengaruhnya terhadap perubahan berat tikus. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan hewan percobaan tikus *Wistar (Sprague Dawley)* jantan. Sampel terdiri dari 25 ekor tikus *Sprague Dawley* yang secara acak dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok A adalah kelompok kontrol negatif yang diberi pakan standar, kelompok B adalah kontrol positif yang diberi pakan hiperkolesterol, dan kelompok C, D dan E sebagai kelompok perlakuan yang diberikan pakan hiperkolesterol dan pemberian *N. oculata* dengan dosis 150 mg/ kg bb (kelompok C), 300 mg/ kg bb (kelompok D), dan 600 mg/ kg bb (kelompok E). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *N. oculata* memberikan pengaruh positif terhadap penurunan total kolesterol. Semakin tinggi dosis mikroalga yang diberikan maka semakin tinggi penurunan total kolesterol dalam darah. Total penurunan kolesterol pada dosis 150 mg/kg bb adalah 21%, sedangkan pada dosis 300 mg/kg bb adalah 34% dan pada dosis 600 mg/kg bb adalah 42%. Pada kontrol positif mengalami penurunan 12%, sedangkan kontrol negatif meningkat 3%. Selain itu, diperoleh hasil bahwa terdapat interaksi periode waktu dan perlakuan terhadap kadar kolesterol. Hasil uji *in vivo* ini menunjukkan bahwa mikroalga *N. oculata* berpotensi untuk dikembangkan sebagai suplemen penurun kolesterol dengan dosis efektif 600 mg/kg bb. Pemberian *N. oculata* pada dosis 150 mg-600 mg/kg bb selama 28 hari dapat menurunkan jumlah pakan yang dikonsumsi namun jumlahnya belum secara signifikan mempengaruhi berat badan tikus.

KATA KUNCI : *Nannochloropsis oculata*, *hypercholesterolemia*, bahan penurun kolesterol, *in vivo*, tikus

ABSTRACT

The aim of this research was to study the effect of *Nannochloropsis oculata* on the total cholesterol level of hypercholesterolemia rat and the changes of rat weight. This experimental study was conducted using male *Wistar (Sprague Dawley)* rat. The samples consisted of 25 *Sprague Dawley* rats that were randomly divided into 5 groups. Group A was a negative control group (standard fed), group B was a positive control (fed with hypercholesterolemia) and the C, D and E groups were the treatment groups given with hypercholesterol feed and *N. oculata* which was administered orally at a dose of 150 mg/kg bw (group C), 300 mg/kg bw (group D), and 600 mg/kg bw (group E). The results showed that microalgae *N. oculata* gave a positive effect on the total reduction of cholesterol. The higher the dose of the given microalgae the lower total cholesterol in the rat blood. The total decreased of cholesterol at dose of 150 mg/kg bw was 21%, while at dose of 300 mg/kg bw was 34%, at dose of 600 mg/kg bw was 42%, and in positive control was 12%. However, the negative control increased the cholesterol level at 3%. Statistically, the results showed that there was an interaction between the treatment and the day periode of treatment on the cholesterol blood level. This *in vivo* test showed that *N. oculata* is potential as a functional food for reducing cholesterol level with an effective dose of 600 mg/kg bw. Giving *N. oculata* at a dose of 150 mg-600 mg/kg bw for 28 days can reduce the amount of feed consumed but the amount has not significantly affected the body weight of rat.

KEYWORDS: *Nannochloropsis oculata*, *hypercholesterolemia*, cholesterol-lowering ingredient, *in vivo*, rat

PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan bagian penting dalam tubuh yang sehat karena berfungsi membentuk membran. Kolesterol berbentuk lunak seperti lilin, ditemukan di antara lipid dan disirkulasikan dalam plasma darah (Kovala, 2005). Kolesterol berlebih di dalam tubuh dapat menempel di dalam pembuluh darah dan menyebabkan aterosklerosis yang kemudian mengeras dan menyumbat pembuluh darah. Penyumbatan pembuluh darah di jantung dapat menyebabkan penyakit jantung koroner, dan jika penyumbatan terjadi di otak mengakibatkan *stroke*.

Berdasarkan survei *Sample Registration System* (SRS) yang dilakukan Kementerian Kesehatan tahun 2014 dan 2015 menyebutkan bahwa penyakit jantung adalah penyebab kematian tertinggi di Indonesia pada semua umur setelah *stroke* dengan persentase 13,2% dan 13,3% (Usman et al., 2018). Salah satu faktor utama penyebab penyakit tersebut adalah hiperkolesterolemia (Lewington et al., 2007). Hiperkolesterolemia adalah kondisi di mana kadar kolesterol plasma melebihi batas normal (Stapleton, Goodwill, James, Brock, & Frisbee 2010) yang berkontribusi terhadap perkembangan dan pertumbuhan penyakit kardiovaskular seperti aterosklerosis dan komplikasinya, infark akut miokardium atau hipertensi (Gielen & Landmesser, 2014).

Salah satu bahan alami yang banyak diteliti kandungan zak aktifnya untuk aplikasi pangan dan kesehatan adalah mikroalga *Nannochloropsis sp.* *Nannochloropsis* merupakan mikroalga yang berbentuk bulat dengan diameter 2-4 μm , berwarna kehijauan, tidak motil, dan tidak berflagel (Wehr & Sheath, 2003). Salah satu jenis *Nannochloropsis* adalah *Nannochloropsis oculata* yang kaya akan bahan bioaktif yang berharga. *N. oculata* kaya akan nutrisi dan mineral (Reboloso-Fuentes, Navarro-Pérez, García-Camacho, Ramos-Miras, & Guil-Guerrero, 2001), serat (Kagan & Matulka, 2015), vitamin seperti *tocotrienol* (Durmaz, 2007), omega-3 (Sharma & Schenk, 2015), pigmen yang bermanfaat seperti beta-karoten (Guedes, Amaro, & Malcata, 2011). Beberapa senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat terhadap manusia juga ditemukan seperti senyawa fenolik (Lee, Yao-Chun, Huei-Mei, & Fang-Sheng, 2013), tanin, flavonoid, steroid, glikosida, alkaloid (Fithriani, Amini, Melanie, & Susilowati, 2015). Di antara senyawa-senyawa tersebut beberapa senyawa memiliki fungsi menurunkan kolesterol yaitu omega 3 (Ebrahimi, Rajion, Meng, & Farjam, 2014), serat (Jayakumari & Kurup, 1979), tanin (Tebib, Besançon, & Rouanet, 1994), alkaloid (Birem et al., 2017) dan flavonoid (Zou, Lu, & Wei, 2005).

N. oculata memiliki 2 potensi untuk dimanfaatkan sebagai penurun kolesterol. Pertama adalah adanya

bahan aktif penurun kolesterol yang dikandungnya dan kedua adalah kemudahannya untuk dikultivasi. Hasil temuan utama Werman, Sukenik, dan Mokady (2003) menunjukkan bahwa diet yang dilengkapi dengan biomassa *Nannochloropsis sp.* menyebabkan terjadinya penurunan kolesterol pada plasma dan hati tikus. Pada penelitian tersebut dosis yang digunakan cukup tinggi, yaitu 100 g/kg pakan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi dari biomassa kering *N. oculata* dengan berbagai konsentrasi terhadap kadar kolesterol dalam darah. Penelitian dilakukan menggunakan tikus jantan yang dibuat menjadi hiperkolesterolemia dengan menggunakan lemak babi. Lemak babi merupakan lemak yang mengandung asam lemak jenuh tinggi, di antaranya terdiri dari asam palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat (Sumardjo, 2009). Dalam penelitian ini juga dipelajari hubungan pemberian *N. oculata* dengan berat badan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur *N. oculata* yang didapat dari Balai Besar Pengembangan Budi Daya Laut Lampung, lemak babi komersial untuk pakan hiperkolesterolemik dan pakan standar P512 dalam bentuk pelet (Popkhand Charoen®). Selain itu, digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang diperoleh dari Fakultas Peternakan IPB.

Bahan lain yang digunakan adalah NaOH, kalium iodida, *luff school*, thio sulfat, amilum, HCl, larutan *termamyl*, protease, enzim amiloglukosidase, etanol, *celite* dan etil alkohol.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan hewan, kandang tikus individual berukuran 40 x 26 x 19 cm beserta tempat makanan dan minum, sonde oral, *blender*, *syringe*, *restrainer*, alat tes strip kolesterol (*EasyTouch*), tabung sentrifuse, sentrifuse *Beckman Coulter* (avanti J-26 XPI).

Metode

Penyiapan biomasa *N. oculata*

Biomassa *N. oculata* dengan kadar air 85,7 \pm 0,2% ditransportasikan dalam kondisi dingin di dalam kantong plastik (dalam *cool box* dengan diberikan hancuran es) dari Balai Budidaya Laut Lampung ke Jakarta. Untuk menghasilkan biomassa kering, biomassa disentrifuse pada kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 10°C. Supernatan dibuang dan endapan kemudian dikering-bekukan dengan *Scanvac Coolsafe* selama \pm 7 hari. *N. oculata* yang

telah kering kemudian dihaluskan menggunakan *blender* dan siap untuk diberikan pada tikus.

Penyiapan hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang telah memenuhi persyaratan sebagai hewan uji, yaitu dalam keadaan sehat, berumur 2 bulan dengan bobot 178-220 gram. Tikus ditempatkan secara individual di dalam kandang reguler dengan akses bebas terhadap tempat pakan dan minum (*ad libitum*). Pembersihan kandang, penimbangan tikus dan pengamatan kondisi fisik tikus dilakukan setiap hari.

Sebelum dilakukan percobaan, tikus diaklimatisasi selama 2 minggu. Setelah aklimatisasi tikus secara acak dibagi menjadi 5 kelompok. Dua kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Setiap kelompok menggunakan 7 ekor tikus, 5 utama dan 2 cadangan.

Pengelompokan hewan percobaan

Tikus yang digunakan untuk percobaan adalah tikus yang sehat dan dikelompokkan seperti di dalam Tabel 1. Dalam pengelompokan tersebut sebagian tikus diberikan pakan standar (kelompok A, B, C, D dan E), pakan hiperkolesterol (B, C, D, E), dan *N. oculata* (C, D, E).

Induksi pakan hiperkolesterol dan biomassa *N. oculata*

Selama percobaan tikus diberikan akses bebas terhadap makanan, di mana setiap hari pakan standar

diberikan sebanyak 20 gram. Pada awal perlakuan dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah untuk mengetahui batas awal bobot dan jumlah kadar kolesterol total tikus. Setelah itu selama 14 hari tikus diinduksi pakan hiperkolesterol, masing masing sebanyak 2 ml dengan cara disonde. Pada hari ke-14 diambil darah untuk mengukur apakah jumlah kolesterol total dalam darah tikus telah meningkat dibandingkan dengan kolesterol awal pengukuran.

Hari ke-15 hingga hari ke-42, tikus (Kelompok C, D, dan E) diberikan biomassa mikroalga dengan berbagai dosis yang telah ditentukan dengan disonde serta penghentian induksi pakan hiperkolesterol. Darah diambil setiap minggu dari hari ke-14 hingga hari ke-42 untuk mengetahui aktifitas penurunan kolesterol total tersebut. Bobot tikus dicatat setiap hari selama masa percobaan. Perhitungan persentase penurunan kolesterol menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ penurunan kolesterol darah} = \frac{\text{kadar kolesterol akhir} - \text{kadar kolesterol awal}}{\text{kadar kolesterol awal}} \times 100 \%$$

Pengukuran kadar kolesterol total

Pengujian kadar kolesterol total dalam darah menggunakan alat tes strip kolesterol merk *Easytouch* GCU. Penggunaan test strip sudah diterima oleh kalangan peneliti (Tubagus, 2015; Umami, Hapizah, Fitri, & Hakim, 2016) dan memiliki kelebihan lebih praktis, cepat dengan validitas lebih dari 80 %.

Tabel 1. Pengelompokan tikus selama percobaan
Table 1. Rat grouping for experiment

Perlakuan/ <i>Treatments</i>	Pakan Standar/ <i>Standard Feed</i>	Pakan Hiperkolesterol/ <i>Hypercholesterol Feed</i>	Pemberian <i>N. oculata</i> / <i>N. oculata</i> Feeding		
			150 mg/kg BB/ 150 mg/kg BW	300 mg/kg BB/ 300 mg/kg BW	600 mg/kg BB/ 600 mg/kg BW
A	V	-	-	-	-
B	V	V	-	-	-
C	V	V	V	-	-
D	V	V	-	V	-
E	V	V	-	-	V

Catatan/Notes :

- A : pakan standar sebagai kontrol negatif/*Standard feed as a negative control*
- B : pakan standar + pakan hiperkolesterol sebagai kontrol positif/*Standard feed + hypercholesterol feed as a positive control*
- C : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 150 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 150 mg/kg bw N. oculata*
- D : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 300 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 300 mg/kg bw N. oculata*
- E : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 600 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 600 mg/kg bw N. oculata*

Analisis proksimat dan serat pangan *N. oculata* dan pakan

Analisis proksimat *N. oculata* dan pakan mengacu kepada (AOAC, 2005) yaitu meliputi: kadar air (metode oven), kadar abu (metode tanur), kadar protein (metode mikro Kjeldahl), dan lemak (metode ekstraksi Soxhlet). Kadar serat pangan total (*total dietary fiber*) dilakukan dengan teknik multi-enzim (Asp, 1987).

Analisis data

Data penelitian diolah secara statistik menggunakan software SPSS statistic 25 melalui uji ANOVA *one way* ($\alpha=0,05$), untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna antara perlakuan dan bila terdapat perbedaan bermakna, untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

Kelaikan Etik

Penelitian ini telah dilengkapi surat keterangan kelaikan etik nomor: 781/III/LPPM-PM.10.05/08/2016 yang dikeluarkan oleh Komisi *Ethical Clearance* Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Atmajaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Nutrisi *N. oculata* dan Pakan Standar

Berdasarkan hasil analisis proksimat yang dilakukan yang diuraikan dalam Tabel 2 diketahui bahwa *N. oculata* banyak mengandung protein yaitu sebesar $29,06 \pm 0,46\%$. Dalam penelitian tikus yang mendapat *N. oculata* memperoleh tambahan protein selama penelitian sebesar $214,49 \pm 16,38$ mg (perlakuan C) $428,39 \pm 43,31$ mg (perlakuan D), $846,57$

$\pm 69,50$ mg (perlakuan E). Hasil uji proksimat pakan standar menunjukkan bahwa pakan yang digunakan lebih tinggi dari kebutuhan harian tikus. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) tikus yang sedang tumbuh harus tercukupi kebutuhan nutrisi dari protein 12%, lemak 5%, serat kasar kira-kira 5%, serta harus cukup vitamin dan mineral.

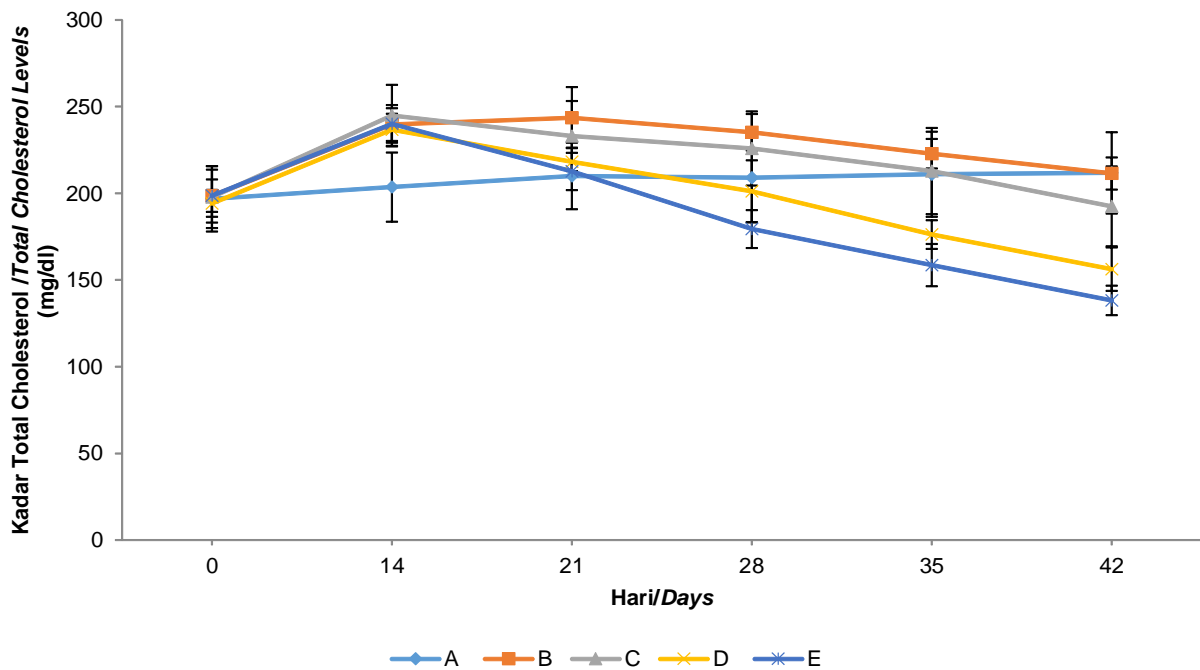
Total Kolesterol Darah Tikus

Pengujian kadar kolesterol total dalam darah tikus dilakukan pada hari ke-0, 14, 21, 28, 35 dan 42 yang hasilnya ditampilkan pada Gambar 1. Data kadar kolesterol total yang diperoleh dari penelitian ini berdistribusi normal.

Pada hari ke 0 atau awal perlakuan, hasil uji statistik menunjukkan bahwa total kolesterol darah tikus semua perlakuan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Pada hari ke-14 atau setelah diberikan lemak babi selama 14 hari, hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian lemak babi berpengaruh nyata terhadap kadar total kolesterol darah tikus ($P < 0,05$). Hasil uji DMRT pada taraf signifikansi 0,05 menunjukkan bahwa total kolesterol perlakuan A berbeda nyata dengan keempat perlakuan lainnya. Pemberian pakan hiperkolesterol pada perlakuan B, C, D, dan E telah meningkatkan kolesterol darah tikus, lebih besar daripada yang tidak mendapat pakan hiperkolesterol (A). Hal ini menunjukkan bahwa induksi menggunakan pakan hiperkolesterol (lemak babi) telah berhasil meningkatkan kolesterol darah pada tikus. Kisaran peningkatan kadar kolesterol total tikus untuk perlakuan yang diberikan pakan hiperkolesterol (B, C, D, dan E) adalah 21-24%. Menurut Patty, Siri, Qi, Frank dan Ronald (2010) lemak babi banyak mengandung asam lemak jenuh yang akan meningkatkan produksi *Low Density Lipoprotein* (LDL)

Tabel 2. Kandungan nutrisi *N. oculata* dan pakan tikus
Table 2. Nutrition composition of *N. oculata* and rat feed

Kandungan Nutrisi/Nutrition Contents	Sampel / sample (%)	
	<i>N. oculata</i>	Pakan/feed
Kadar Air /Moisture content	14.82 ± 0.12	10.83 ± 0.14
Kadar Abu /Ash content	39.36 ± 0.07	5.45 ± 0.04
Karbohidrat /Carbohidrat	4.36 ± 0.04	4.63 ± 0.03
Protein /Protein	29.06 ± 0.46	21.97 ± 0.49
Lemak /Fat	4.29 ± 0.41	7.52 ± 0.013
Serat pangan /Dietary fiber	17.5 ± 0.02	16.4 ± 0.04



- A : Pakan standar sebagai kontrol negatif/Standard feed as a negative control
- B : Pakan standar + pakan hiperkolesterol sebagai kontrol positif/Standard feed + hypercholesterol feed as a positive control
- C : Pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 150 mg/kg bb/Standard feed + hypercholesterol feed + 150 mg/kg bw *N. oculata*
- D : Pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 300 mg/kg bb/Standard feed + hypercholesterol feed + 300 mg/kg bw *N. oculata*
- E : Pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 600 mg/kg bb/Standard feed + hypercholesterol feed + 600 mg/kg bw *N. oculata*

Gambar 1. Kadar kolesterol total tikus selama penelitian
 Figure 1. Total cholesterol levels of rat during experiment

dengan menghambat aktifitas reseptor LDL dan meningkatkan produksi lipoprotein yang mengandung apolipoprotein B.

Dari Gambar 1 tampak bahwa pemberian *N. oculata* pada tikus yang mengalami hiperkolesterolemia mampu mereduksi kadar kolesterolnya. Besarnya penurunan kadar kolesterol akan terlihat lebih jelas jika dihitung persentase perubahan kadar kolesterol darah pada tikus, yaitu dengan membandingkan kadar kolesterol pada hari pengamatan dengan pengamatan sebelumnya sebagaimana ditampilkan dalam Tabel 3. Dari Tabel 3 dan Gambar 1 tampak bahwa meskipun pada kontrol positif (B) juga terjadi penurunan kadar kolesterol, namun penurunan tersebut tidak sebesar jika diberikan *N. oculata*. Semakin besar *N. oculata* yang diberikan maka semakin besar pula persen penurunan kolesterolnya.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi hari dan perlakuan terhadap kadar

kolesterol. Perubahan kadar kolesterol pada perlakuan C,D,E sudah berbeda nyata dengan kontrol positif dan negatif sejak pemberian *N. oculata* selama 7 hari (hari ke 21) ($P < 0,05$). Pada hari ke-42 total kolesterol darah tikus yang diberi mikroalga mengalami penurunan antara 21,59-42,44%. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa perlakuan yang paling tinggi dalam menurunkan kadar kolesterol darah adalah perlakuan dengan konsentrasi *N. oculata* 600mg/kg bb. Kemampuan *N. oculata* dalam menurunkan kolesterol dapat disebabkan kolaborasi bahan aktif yang terkandung dalam *N. oculata* seperti serat pangan, flavonoid, tanin dan fitosterol. Menurut Werman et al. (2003), kombinasi unik dari kehadiran serat larut dan tak larut, EPA dan fitosterol pada *Nannochloropsis* memegang peranan penting dalam efek hiperkolesterol.

Penurunan kadar kolesterol total yang cukup signifikan pada darah tikus kemungkinan disebabkan adanya serat pangan yang terkandung pada *N.*

Tabel 3. Perubahan kadar kolesterol total dalam darah tikus
 Table 3. Changes of total cholesterol in rat blood

Perlakuan/ Treatments	Kadar Kolesterol Total/Total Cholesterol Levels (%)				
	Hari 14/ Day 14	Hari 21/Day 21	Hari 28/Day 28	Hari 35/Day 35	Hari 42 /Day 42
A	+ 3.44 ± 1.2	+ 3.2±3.9	+2.48±4.06	+ 3.49±2.69	+ 3.94±2.59
B	+ 21.07 ± 5.7	+ 1.5±3.6	- 1.83±2.1	- 7.00±1.06	- 11.77±1.47
C	+ 23.98 ± 5.09	- 4.8±2.1	- 7.84±3.3	- 13.28±4.15	- 21.59±4.18
D	+ 21.88 ± 3.6	- 7.76±0.88	- 15.04±4.5	- 25.53±1.80	- 34.06±2.63
E	+ 20.93 ± 5.00	- 11.42±1.4	- 25.27±1.9	- 33.96±2.93	- 42.44±1.31

Keterangan/Notes :

+ : kenaikan kadar kolesterol total/increased in total cholesterol level

- : penurunan kadar kolesterol total/decreased in total cholesterol level

A : pakan standar sebagai kontrol negatif/Standard feed as a negative control

B : pakan standar + pakan hiperkolesterol sebagai kontrol positif/Standard feed + hypercholesterol feed as a positive control

C : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 150 mg/kg bb/Standard feed + hypercholesterol feed + 150 mg/kg bw *N. oculata*

D : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 300 mg/kg bb/Standard feed + hypercholesterol feed + 300 mg/kg bw *N. oculata*

E : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 600 mg/kg bb/Standard feed + hypercholesterol feed + 600 mg/kg bw *N. oculata*

oculata. Serat pangan mampu mengurangi efisiensi serapan lemak dan kolesterol dengan meningkatkan pengeluaran asam empedu dan kolesterol pada feses (Bennekum, Nguyen, Schulthess, Hauser, & Phillips, 2005).

Flavonoid yang terkandung dalam biomassa *N. oculata* kemungkinan mampu mempengaruhi kadar kolesterol dalam darah tikus. Berdasarkan studi praklinis yang menggunakan kultur sel dan model hewan pengerat, konsumsi flavonoid mempengaruhi beberapa fungsi *High Density Lipoprotein* di luar kadar kolesterol *High density lipoprotein* sederhana, melalui penghabisan kolesterol dan kapasitas antioksidan (Millar, Duclos, & Blesso, 2017)

N. oculata juga mengandung tanin dan alkaloid (Fihriani et al., 2015). Tanin merupakan salah satu zat yang bekerja sebagai anti hiperkolesterolemia yang dapat mengurangi penyerapan kolesterol di usus (Tebib et al., 1994). Alkaloid dapat meningkatkan ekskresi lemak melalui feses dengan menghambat aktivitas enzim lipase pankreas (Pirillo & Catapano, 2015).

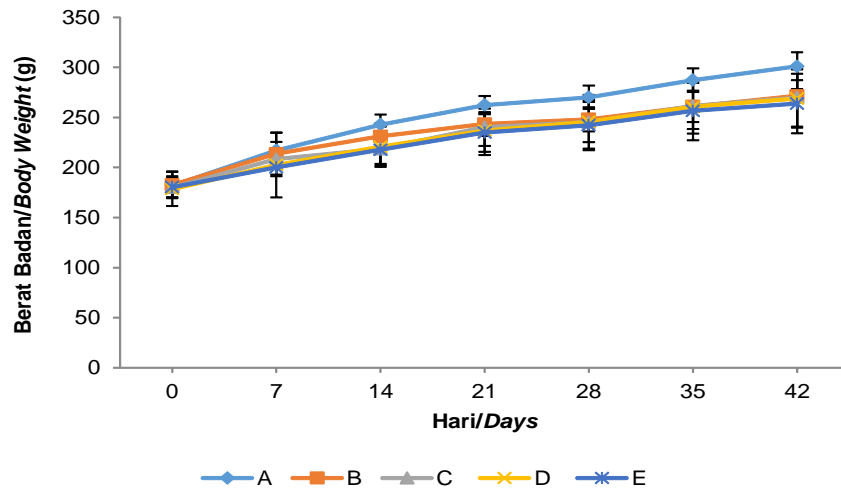
Fitosterol merupakan komponen steroid yang terdapat di dalam tanaman yang memiliki kemiripan struktur dengan kolesterol (Ogbe, Ochalefu, Mafulul, & Olaniru, 2015). Fitosterol yang terkandung di dalam *N. oculata* kemungkinan dapat menurunkan kadar kolesterol tikus. Menurut Gupta, Savopoulos, Ahuja, dan Hatzitolios (2011) fitosterol mudah berikatan

dengan misel di dalam usus halus yang menyebabkan berkurangnya penyerapan kolesterol.

Berat Badan Tikus

Rata-rata berat badan tikus di semua perlakuan mengalami peningkatan selama penelitian (Gambar 2). Selama konsumsi pakan kolesterol, asupan pakan standar perlakuan B, C, D dan E cenderung lebih rendah dibandingkan perlakuan A (Gambar 3), sehingga perlakuan A memiliki nilai berat badan tertinggi dibandingkan keempat perlakuan lainnya. Pakan hiperkolesterol yang mengandung lemak berlebih akan memperlambat sekresi asam lambung dan memperlambat pengosongan lambung, sehingga lemak memberi rasa kenyang lebih lama (Almatsier, 2009).

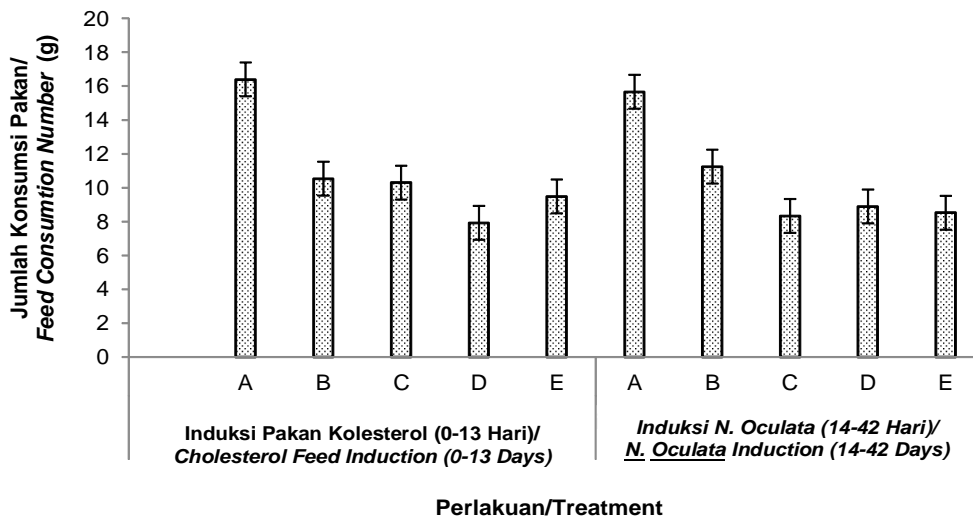
Pada akhir perlakuan tikus perlakuan B, C, D, dan E memiliki berat badan yang lebih rendah dibandingkan perlakuan A (Gambar 2). Lebih rendahnya berat badan tikus B,C,D dan E dapat dikorelasikan dengan lebih rendahnya pakan yang dikonsumsi (Gambar 3). Tikus perlakuan C,D,E pada saat induksi *N. oculata* cenderung mengkonsumsi pakan sedikit lebih rendah dari perlakuan B. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan B,C,D, dan E tidak berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian *N. oculata* pada dosis 150 mg-600 mg/kg bb selama 28 hari dapat menurunkan jumlah pakan yang dikonsumsi namun



Keterangan/Notes:

- A : Pakan standar sebagai kontrol negatif/*Standard feed as a negative control*
- B : Pakan standar + pakan hiperkolesterol sebagai kontrol positif/*Standard feed + hypercholesterol feed as a positive control*
- C : Pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 150 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 150 mg/kg bw N. oculata*
- D : Pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 300 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 300 mg/kg bw N. oculata*
- E : Pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 600 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 600 mg/kg bw N. oculata*

Gambar 2. Perubahan berat badan tikus selama penelitian
Figure 2. Changes of rat weight during experiment



- A : pakan standar sebagai kontrol negatif/*Standard feed as a negative control*
- B : pakan standar + pakan hiperkolesterol sebagai kontrol positif/*Standard feed + hypercholesterol feed as a positive control*
- C : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 150 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 150 mg/kg bw N. oculata*
- D : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 300 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 300 mg/kg bw N. oculata*
- E : pakan standar + pakan hiperkolesterol + *N. oculata* 600 mg/kg bb/*Standard feed + hypercholesterol feed + 600 mg/kg bw N. oculata*

Gambar 3. Konsumsi pakan setiap perlakuan
Figure 3. Feed consumption of various treatment

jumlahnya belum secara signifikan mempengaruhi berat badan tikus. Hal ini dapat disebabkan karena dosis yang belum optimal untuk mempengaruhi berat badan tikus atau waktu induksi yang kurang. Penelitian Sørensen et al. (2017) menyebutkan bahwa ikan salmon atlantik yang diberi pakan *Nannochloropsis ocellata* 20% selama 84 hari cenderung mengalami penurunan berat badan. Begitu pula penelitian Bendimerad-Benmokhtar, Bouanane, Merzouk, Ahmed, dan Bendaoud, (2019) yang menunjukkan bahwa suplemen diet *Nannochloropsis gaditana* menginduksi penurunan yang signifikan dalam berat badan induk tikus dan berat jaringan adiposa, glikosa, kadar lipid, hati-trigliserida (TG) dan jaringan adiposa-TG pada saat nifas dan akhir laktasi. Menurut Nasirian, Sarir, dan Moradi-Kor, (2019) pemberian *N. oculata* secara oral dapat mengontrol berat badan tikus diabetes. Potensi ini dapat dijelaskan oleh beberapa komponen seperti serat, profil lipid dan pigmen antioksidan.

KESIMPULAN

Pemberian induksi pakan hiperkolesterol (lemak babi) telah mampu meningkatkan kadar kolesterol darah pada tikus. Pemberian *N. oculata* dengan dosis 150-600 mg/kg bb telah mampu mereduksi kadar kolesterol darah tikus yang diinduksi pakan hiperkolesterol. Setelah 21 hari induksi mikroalga, total kolesterol darah tikus yang diberi mikroalga mengalami penurunan antara 21,59-42,44 %. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa perlakuan yang paling tinggi dalam menurunkan kadar kolesterol darah adalah perlakuan dengan penambahan *N. oculata* konsentrasi 600mg/kg bb. Selain menurunkan kolesterol *N. oculata* memiliki potensi mengendalikan berat badan dengan mungurangi asupan makanan, namun bagaimana mekanismenya perlu diteliti lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

AOAC.(2005). *Official Methods of Analysis (18th ed.)*. Gaithersburg, MD. USA. Association of Official Analytical Chemists.

Almatsier, S. (2009). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Gramedia. Jakarta.

Asp, N.-G. (1987). Definition and analysis of dietary fibre. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 22(sup129), 16-20. doi: 10.3109/00365528709095845.

Bennekum, A. M. V., Nguyen, D. V., Schulthess, G., Hauser, H., & Phillips, M. C. (2005). Mechanisms of cholesterol-lowering effects of dietary insoluble fibres: relationships with intestinal and hepatic cholesterol parameters. *British Journal of Nutrition*, 94(3), 331–337. doi: 10.1079/bjn20051498.

Birem, Z., Tabani, K., Lahfa, F., Djaziri, R., Hadjbekkouche, F., Koceir, E.-H. A., & Omari, N. (2017). Effects of colocynth alkaloids and glycosides on Wistar rats fed high-fat diet. A biochemical and morphological study. *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, 55(2), 74-85. doi: 10.5603/fhc.a2017.0011

Bendimerad-Benmokhtar, S., Bouanane, S., Merzouk, H., Ahmed, F. Z. B., & Bendaoud, A. (2019). Effects of *Nannochloropsis* Fed on Serum and Tissue Lipids Metabolism in Obese Offspring of Overfed Dams. *Current Nutrition & Food Science*, 15(1), 72-86. doi: 10.2174/1573401313666171004153311

Durmaz, Y. (2007). Vitamin E (α-tocopherol) production by the marine microalgae *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) in nitrogen limitation. *Aquaculture*, 272(1-4), 717–722. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.07.213.

Ebrahimi, M., Rajion, M. A., Meng, G. Y., & Farjam, A. S. (2014). Omega-3 Fatty Acid Enriched Chevron (Goat Meat) Lowers Plasma Cholesterol Levels and Alters Gene Expressions in Rats. *BioMed Research International*, 2014, 1–8. doi: 10.1155/2014/749341

Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., & Susilowati, R. (2015). Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., dan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 10(2), 101. doi: 10.15578/jpbkp.v10i2.270.

Gielen, S., & Landmesser, U. (2014). The Year in Cardiology 2013: cardiovascular disease prevention. *European Heart Journal*, 35(5), 307–312. doi: 10.1093/eurheartj/eh551

Guedes, A. C., Amaro, H. M., & Malcata, F. X. (2011). Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drugs*, 9(4), 625–644. doi: 10.3390/md9040625.

Gupta, A. K., Savopoulos, C. G., Ahuja, J., & Hatzitolios, A. I. (2011). Role of phytosterols in lipid-lowering: current perspectives. *Qjm*, 104(4), 301–308. doi: 10.1093/qjmed/hcr007.

Jayakumari, N., & Kurup, P. (1979). Dietary fiber and cholesterol metabolism in rats fed a high cholesterol diet. *Atherosclerosis*, 33(1), 41–47. doi: 10.1016/0021-9150(79)90196-5

Kagan, M. L., & Matulka, R. A. (2015). Safety assessment of the microalgae *Nannochloropsis oculata*. *Toxicology Reports*, 2, 617–623. doi: 10.1016/j.toxrep.2015.03.008.

Kovala, J.P. (2005). *Cholesterol in Atherosclerosis and Coronary Heart Disease*. Nova Biomedical Books. New York.

Lee, Y, Yao-Chun C, Huei-Meei S, & Fang-Sheng W. (2013). Freeze-dried Microalgae of *Nannochloropsis oculata* Improve Soybean Oil's Oxidative Stability. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 9675-9683.

Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Peto R, Collins R. (2007). Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55 000 vascular deaths. *The Lancet*, 370(9602), 1829–1839. doi: 10.1016/s0140-6736(07)61778-4

- Nasirian, F., Sarir, H., & Moradi-Kor, N. (2019). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of *Nannochloropsis oculata* microalgae in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomolecular Concepts*, 10(1), 37-43. doi: 10.1515/bmc-2019-0004.
- Millar, C. L., Duclos, Q., & Blesso, C. N. (2017). Effects of Dietary Flavonoids on Reverse Cholesterol Transport, HDL Metabolism, and HDL Function. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 8(2), 226–239. doi:10.3945/an.116.014050
- Ogbe, R.J., Ochalefu, D. O., Mafulul, S. G., & Olaniru, O. B. (2015). A review on dietary phytosterols: their occurrence, metabolism and health benefits. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 4, 10-21.
- Patty, W., Siri T., Qi S., Frank, B.H., & Ronald, M. K. (2010). Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease: modulation by replacement nutrients. *Curr Atheroscler Rep*, 12, 384-390.
- Pirillo, A., & Catapano, A. L. (2015). Berberine, a plant alkaloid with lipid- and glucose-lowering properties: From in vitro evidence to clinical studies. *Atherosclerosis*, 243(2), 449-461. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.09.032.
- Reboloso-Fuentes, M. M., Navarro-Pérez, A., García-Camacho, F., Ramos-Miras, J. J., & Guil-Guerrero, J. L. (2001). Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2966–2972. doi: 10.1021/jf0010376.
- Santoso, A. (2011). Serat pangan (dietary fiber) dan manfaatnya bagi kesehatan. *Magistra* 23 (75): 35-40.
- Sharma, K., & Schenk, P. M. (2015). Rapid induction of omega-3 fatty acids (EPA) in *Nannochloropsis* sp. by UV-Cradiation. *Biotechnology and Bioengineering*, 112 (6), 1243-1249. doi: 10.1002/bit.25544.
- Smith, J. B. & S. Mangkoewidjojo. (1988). *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. UI Press. Jakarta. 37-57.
- Stapleton, P. A., Goodwill, A. G., James, M. E., Brock, R. W., & Frisbee, J. C. (2010). Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: interventional strategies. *Journal of Inflammation*, 7(1), 54. doi: 10.1186/1476-9255-7-54.
- Sørensen, M., Gong, Y., Bjamason, F., Vasanth, G. K., Dahle, D., Huntley, M., & Kiron, V. (2017). *Nannochloropsis ocellata*-derived defatted meal as an alternative to fishmeal in Atlantic salmon feeds. *Plos One*, 12(7). doi: 10.1371/journal.pone.0179907
- Tebib, K., Besançon, P., & Rouanet, J.-M. (1994). Dietary grape seed tannins affect lipoproteins, lipoprotein lipases and tissue lipids in rats fed *Hypercholesterolemic* diets. *The Journal of Nutrition*, 124(12), 2451-2457. doi: 10.1093/jn/124.12.2451
- Sumardjo, D. (2009). *Pengantar Kima: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. EGC. Jakarta.
- Tubagus, T. A. (2015). Kadar Kolesterol Plasma Tikus Wistar pada pemberian ekstrak etanol dan heksana dari daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal MIPA*, 4(1), 63. doi: 10.35799/jm.4.1.2015.6907.
- Umami, S. R., Hapizah, S. S., Fitri, R., & Hakim, A. (2016). Uji penurunan kolesterol pada mencit putih (*Mus musculus*) secara in-vivo menggunakan ekstrak metanol umbi talas (*Colocasia esculenta* L) sebagai upaya pencegahan cardiovascular disease. *Jurnal Pijar Mipa*, 11(2). doi: 10.29303/jpm.v11i2.113.
- Usman, Y., Iriawan, R., Rosita, T., Lusiana, M., Kosen, S., Kelly, M., Forsyth, S., & Rao, C. (2018). Indonesia's sample registration system in 2018: A work in progress. *Journal of Population and Social Studies*, 27(1), 39-52.
- Wehr, J. D., & Sheath, R. G. (2003). *Freshwater Algae of North America: Ecology and classification*. freshwater algae of North America: ecology and classification. Elsevier Inc. [https://doi.org/10.1016/B978-0-12-741550-5.X5000-4.\(1-918\)](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-741550-5.X5000-4.(1-918)).
- Wehr, J. D. (2015). *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. Amsterdam, Elsevier.
- Werman, M. J., Sukenik, A., & Mokady, S. (2003). Effects of the marine unicellular alga *Nannochloropsis* sp. to reduce the plasma and liver cholesterol levels in male rats fed on diets with cholesterol. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(10), 2266-2268. doi: 10.1271/bbb.67.2266
- Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. (2005). Hypocholesterolemic Effects of a flavonoid-rich extract of hypericum perforatum L. in rats fed a cholesterol-rich diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2462-2466. doi: 10.1021/jf048469r

