

JURNAL PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN IPA

Vol 10, No 2 (2019) h. 243-258

<http://jurnal.untan.ac.id/index.php/PMP>



**NILAI RUJUKAN UNTUK EVALUASI FUNGSI HATI DAN
GINJAL PADA TIKUS (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769)
GALUR WISTAR**

Laksmindra Fitria, Fajar Lukitowati, dan Dian Kristiawati
Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Email: laksmindraf@ugm.ac.id

DOI: [10.26418/jpmipa.v10i2.34144](https://doi.org/10.26418/jpmipa.v10i2.34144)

Abstract

Evaluation of liver and renal functions are routine tests performed in pre-clinical studies. Liver plays a role in detoxification and secretion of various substances to regulate a wide range of metabolic functions. Kidneys serves as the main excretory and osmoregulatory organs. Thus, assessment of liver and renal functions are important in identifying the presence of damages and diseases as well as monitoring body responses towards treatments or therapy. Therefore, normal values should be established for valid reference. Until now, many researchers still use references from various publications, including foreign countries with different environmental factors and method of animals care. This study was aimed to provide reference values for liver and renal functions in male and female Wistar rats. Animals were sourced from LPPT-UGM. Age 4-, 6-, and 8-week-old represent juvenile, preadult, and adult. Blood samples were collected from orbital sinus of anesthetized animals. Sera were tested for ALT, AST, BUN, and creatinine based on spectrophotometry. Results demonstrated that values of most parameters varied, depend on sex and age. According to this finding, it can be concluded that reference values cannot be generalized but must be determined by sex and age in local population.

Keywords: *Wistar rats, liver functions, renal functions.*

Received : 22/06/2018

Revised : 30/06/2019

Accepted : 10/07/2019

Penggunaan hewan sebagai model dalam penelitian biomedik sangat penting (Hewitt *et al.*, 1989). Percobaan secara langsung kepada manusia dinilai tidak etis karena berisiko mengancam kesehatan, mengakibatkan gangguan fisik maupun psikis, hingga dapat mengakibatkan kematian (Ihedioha *et al.*, 2012). Oleh karena itu, harus dipilih model hewan yang mampu merepresentasikan fisiologis manusia dengan baik.

Menurut Koolhaas (2010), tikus species *Rattus norvegicus* Galur Wistar adalah salah satu hewan laboratorium yang paling sering digunakan dalam penelitian praklinik. Tikus Wistar (Wistarat^â) pertama kali dikembangkan pada tahun 1906 di *Wistar Institute* dan menjadi hewan model praklinik yang ideal hingga kini (Fitria & Mulyati, 2014).

Salah satu uji pokok yang harus dilakukan dalam penelitian praklinik adalah pemeriksaan darah karena profil darah dapat menggambarkan status fisiologis individu. Di samping itu, parameter darah juga dapat digunakan untuk analisis kondisi kesehatan meliputi diagnosis dan prognosis (Pagana & Pagana, 2014). Pemeriksaan darah secara lengkap dan komprehensif dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu: (1) uji hematologi rutin atau *complete blood count* (CBC) yang mengkaji komponen sel-sel darah atau korpuskula meliputi eritrosit, leukosit, dan trombosit; (2) uji kimia darah atau *clinical chemistry* yang mengkaji komponen cair darah menggunakan sampel berupa plasma atau serum (Evans, 2009; Thrall *et al.*, 2012).

Menurut Fitria & Mulyati

(2014), nilai rujukan untuk profil darah tikus Wistar yang dipelihara dan dikembangbiakkan di Indonesia belum banyak tersedia. Berdasarkan penelusuran hasil-hasil penelitian yang telah dipublikasikan, hingga kini masih banyak peneliti yang mengacu pada nilai rujukan yang bersifat umum atau tidak spesifik untuk tikus Wistar. Bahkan ada yang mengacu pada sumber dari luar negeri padahal pada rodensia variasi nilai fisiologis antar galur dalam satu species sangat tinggi. Menurut Hogan *et al.* (2018), di samping faktor genetik, metode pemeliharaan dan perbedaan kondisi lingkungan baik makro maupun mikro juga menyebabkan variasi nilai yang sangat beragam. Oleh karena itu, diperlukan nilai rujukan lokal berdasarkan tempat asal atau sumber hewan diperoleh yaitu fasilitas *animal house* setempat.

Penentuan profil hematologis tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, 8 minggu telah dilakukan oleh Fitria & Mulyati (2014). Hasilnya menunjukkan bahwa nilai bervariasi tergantung pada jenis kelamin dan umur. Sementara itu, penentuan nilai profil beberapa parameter kimia darah pada tikus Wistar jantan dan betina juga telah dilakukan namun belum pernah dipublikasikan. Oleh karena itu, artikel ini ditulis dalam rangka mempublikasikan salah satu parameter penting dalam pemeriksaan kimia darah yaitu evaluasi fungsi hati dan ginjal pada tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, 8 minggu guna melengkapi profil hematologis yang sudah tersedia.

Hati dan ginjal merupakan organ vital dalam regulasi fisiologis normal. Hati berperan dalam proses

detoksifikasi dan sekresi zat-zat yang diperlukan tubuh, sementara itu ginjal berperan dalam pembuangan limbah hasil metabolisme (ekskresi) dan fungsi osmoregulasi. Oleh karena itu, hasil evaluasi keduanya dapat digunakan untuk identifikasi potensi kerusakan struktur dan fungsi organ serta adanya gangguan metabolisme (Calsey & King, 1980; Evans, 2009; Thrall *et al.*, 2012).

Variabel dalam evaluasi fungsi hati dan ginjal sangat beragam, sehingga harus dipilih/disesuaikan dengan kebutuhan dan tujuan pemeriksaan. Adapun variabel yang rutin dilakukan dalam pemeriksaan awal adalah aktivitas AST dan ALT untuk evaluasi fungsi hati, serta kadar BUN dan kreatinin untuk evaluasi fungsi ginjal (Basten, 2010, Bhutta *et al.*, 2013; Pagana & Pagana, 2014).

METODE

Tikus Wistar yang digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini merupakan hasil pengembangbiakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM) Unit IV Yogyakarta. Pemeliharaan hewan telah diupayakan memenuhi standar pemeliharaan hewan laboratorium yang diatur dalam *guide* menurut Garber *et al.* (2011), meliputi: cara pengandangan (*housing*), pengaturan lingkungan makro dan mikro, suhu dan kelembapan ruang pemeliharaan, sirkulasi udara, pencahayaan, tingkat kebisingan, *enrichment*, pemantauan dan perawatan kesehatan oleh dokter hewan, perkawinan terprogram, kelahiran tercatat dengan baik, mana-

jemen kebersihan/sanitasi, serta teknisi (*caretaker*) yang terampil.

Tikus yang digunakan berjenis kelamin jantan dan betina, masing-masing berumur 4, 6, dan 8 minggu, dengan jumlah individu sebanyak 5 ekor sebagai ulangan untuk setiap kelompok. Penetapan jumlah hewan ini mengikuti poin “*reduction*” yaitu meminimalisir jumlah hewan yang digunakan dalam penelitian tanpa mengurangi validitas hasilnya, sesuai dengan “Prinsip 3R” (*Replacement, Reduction and Refinement*) yang wajib ditaati oleh peneliti dalam riset *in vivo* (Festing, 2011).

Pemilihan kelompok umur tersebut berdasarkan kriteria umur tikus Wistar yang sering digunakan sebagai model dalam penelitian biomedik/praklinik. Selain itu juga mengacu pada penelitian Fitria dkk. (2015) yang menyatakan bahwa pada tikus Wistar, umur 4, 6, dan 8 minggu berturut-turut merepresentasikan kategori umur muda (*juvenile*), pradewasa (*preadult*), dan dewasa (*adult*).

Hewan uji diambil secara acak dari kandang pemeliharaan, kemudian dilakukan pengukuran berat badan menggunakan timbangan hewan digital (Ohaus[®]). Hasilnya dinyatakan dalam satuan “gram”. Sebelum dilakukan pengkoleksian darah, hewan dipuaskan terlebih dahulu selama 6 jam (Smith, 2009). Selanjutnya hewan dianestesi dengan cara injeksi secara *intramuscular* menggunakan *cocktail* Ketamine-Xylazine (Holland[®]) dosis 50 mg/kgbb dan 5 mg/kg bb (Struck *et al.*, 2011). Darah dikoleksi dari *sinus orbitalis* sebanyak 1 mL dengan bantuan ka-

piler mikrohematokrit (Assisstant[®]), kemudian ditampung dalam *micro-tube* (Brand[®]), dan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit.

Serum dipisahkan dari *whole-blood* menggunakan *micro-centrifuge* (Corning[®]Costar[®]) dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Serum inilah yang digunakan untuk evaluasi fungsi hati dan ginjal. Variabel untuk evaluasi fungsi hati adalah aktivitas AST (U/L) dan ALT (U/L). Variabel untuk evaluasi fungsi ginjal adalah kadar BUN (mg/dL) dan kreatinin (mg/dL). Pengujian sampel dilakukan di LPPT-UGM Unit I berdasarkan metode spektrofotometri menggunakan kit (Diasys[®]) dan fotometer *semi-automated clinical chemistry analyzer* Microlab 300[®].

Data yang diperoleh ditabulasi dalam Microsoft[®]Excel[®] 2010 dan ditampilkan sebagai “rerata \pm standar deviasi”. Data selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak IBM[®]-SPSS[®] v.23. Untuk membandingkan antar kelompok umur digunakan uji *one-way ANOVA* dilanjutkan uji Duncan ($\alpha=0,05$). Untuk membandingkan antar jenis kelamin digunakan uji *Student's independent t-test* ($\alpha=0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi lingkungan pemeliharaan

Oleh karena kondisi fisiologis hewan laboratorium, termasuk nilai profil darah, dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan metode pemeliharaan (Hogan *et al.*, 2018), maka kami sangat memperhatikan parameter ling-

kungan dan mengikuti metode pemeliharaan hewan sesuai dengan panduan oleh Garber *et al.* (2011). Hal ini supaya data yang diperoleh benar-benar dapat dijadikan sebagai nilai rujukan atau kontrol normal bagi penelitian-penelitian berikutnya. Data parameter lingkungan dan metode pemeliharaan disajikan pada Tabel 1.

Berat badan

Berat badan adalah variabel dasar dalam penelitian yang menggunakan hewan coba (*in vivo*). Hewan yang sehat atau normal akan mengalami peningkatan berat badan dengan laju pertumbuhan dan pola tertentu yang bervariasi tergantung pada jenis kelamin dan umur. Perlakuan terhadap hewan uji dapat meningkatkan atau menurunkan berat badan. Oleh karena itu, diperlukan kurva normal sebagai kontrol.

Hasil penimbangan berat badan tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1. Hasil penimbangan berat badan menunjukkan bahwa pada umur yang sama, hewan jantan memiliki berat badan lebih tinggi daripada betina. Seiring pertambahan umur, tikus Wistar jantan dan betina mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Pertumbuhan dapat diketahui melalui peningkatan berat badan, sedangkan perkembangan dapat dipelajari melalui kajian profil reproduksi (Fitria dkk., 2015). Pada hewan muda, peningkatan berat badan ini tidak berbeda nyata. Namun, pada umur pra-dewasa dan dewasa menjadi berbeda nyata karena selisihnya semakin besar. Peningkatan berat badan hewan dalam penelitian ini sesuai dengan

Tabel 1. Parameter lingkungan dan metode pemeliharaan hewan uji.

Parameter	Keterangan
Ruang pemeliharaan	Ruangan khusus untuk pemeliharaan tikus laboratorium di LPPT-UGM Unit IV
Suhu ruangan pemeliharaan	24-26 °C (AC)
Kelembapan ruang pemeliharaan	65-75 %
Sirkulasi udara	<i>Exhaust fan</i>
Pencahayaan	Penerangan artifisial 12G:12T
Pengandangan	Kandang komunal dari bahan plastik polipropilen ukuran 50 cm x 40 cm x 20 cm, tutup kandang berupa <i>grid</i> dari bahan logam tahan karat, alas tidur (<i>bedding</i>) berupa <i>woodshaving</i> .
Alat makan dan minum	Wadah pakan berupa mangkok dari bahan kaca, sedangkan tempat air minum berupa botol kaca dengan tutup karet yang dilengkapi dengan pipa minum
Pakan dan air minum	Pelet tikus standar RatBio ^â dan air minum <i>reverse osmosis</i> (RO) diberikan secara <i>ad libitum</i>
Sanitasi	2x seminggu
Teknisi/ <i>caretaker</i>	Ada dan telah mengikuti kursus pemeliharaan dan penggunaan hewan laboratorium
Dokter hewan	Ada, staf Fakultas Kedokteran Hewan UGM

Tabel 2. Berat badan tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu.

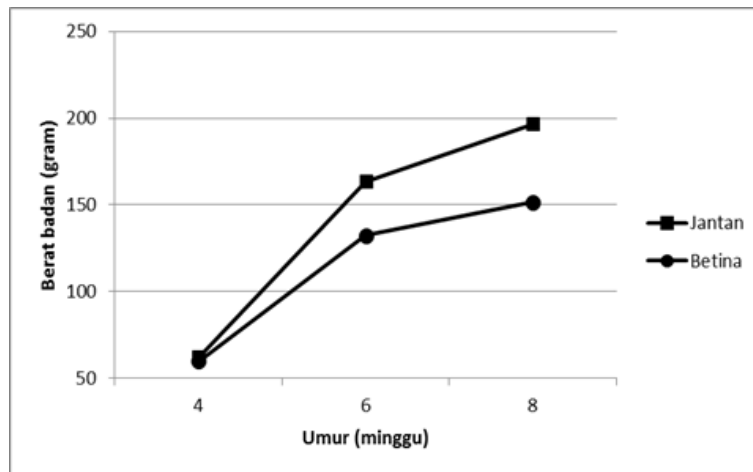
Umur (minggu)	Rerata berat badan (gram)		Kisaran berat badan (gram)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
4	62,36 ^a ±3,82	59,90 ^a ±2,30	58,54 – 66,18	57,60 – 62,20
6*	163,50 ^b ±13,09	132,28 ^b ±5,86	150,41 – 176,59	126,42 – 138,14
8*	196,78 ^{bc} ±21,63	151,60 ^{bc} ±8,54	175,15 – 218,41	143,06 – 160,14

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu kolom (antar kelompok umur). Tanda * menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu baris (antar jenis kelamin pada umur yang sama)

kurva pertumbuhan tikus Wistar yang dipublikasikan oleh Charles River[®] Lab (2017) dan Envigo[®] yang dahulu adalah Harlan[®] Lab (2017). Keduanya merupakan fasilitas penyedia hewan laboratorium tingkat internasional yang telah dipercaya selama bertahun-tahun dan melayani kebutuhan

hewan coba di seluruh negara-negara di dunia.

Pada kondisi normal/alamiah, laju pertumbuhan hewan (yang dapat diindikasikan dari pertambahan berat badan) berkorelasi positif dengan perkembangan/tingkat kedewasaan dan jenis kelamin (Envigo, 2017;



Gambar 1. Berat badan tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu.

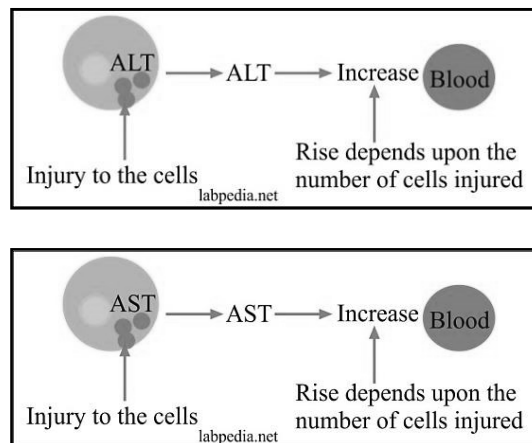
Fitria dkk., 2015). Berat badan hewan jantan lebih cepat meningkat daripada betina. Hal ini karena efek anabolik androgen (salah satunya testosteron) yang memacu metabolisme dan proses-proses fisiologis tubuh. Hormon steroid mempengaruhi berat badan dan konsumsi pakan mulai dari fase pubertas hingga dewasa (Wallen *et al.*, 2002). Selain efek reproduktif, testosteron yang merupakan androgen terkuat juga memiliki efek anabolik yang berperan dalam mengendalikan pertumbuhan, dimulai pada masa pubertas dengan target kulit, otot, tulang, serta metabolisme air dan mineral (Fitria, dkk., 2015). Sebaliknya, estradiol memiliki efek hipofagik atau menekan nafsu makan (Wallen *et al.*, 2002), sehingga berat badan hewan jantan jauh lebih tinggi daripada betina pada umur yang sama.

Peningkatan berat badan juga dapat disebabkan oleh faktor makanan (diet) yang meliputi jenis pakan, pola makan, jumlah yang diberikan (ransum) dan jumlah yang dikonsumsi (asupan). Pakan yang tidak standar memiliki komposisi yang kurang sesuai dengan kebutuhan hewan,

sehingga mengganggu pertumbuhan normal dan berdampak buruk terhadap kesehatan dan sistem fisiologis normal (Calsey & King, 1980; Evans, 2009; Thrall *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini hewan uji diberi pakan standar untuk tikus laboratorium atau *rodents diet* (RatBio[®]) yang diberikan secara *ad libitum*, artinya tidak ada pembatasan jumlah ransum dan pakan dapat diakses oleh hewan setiap saat. Hal ini untuk mengantisipasi supaya hewan tidak stres karena kelaparan (kurang asupan). Dengan demikian, dapat dipastikan bahwa hewan yang digunakan dalam penelitian ini tumbuh normal yang diindikasikan dengan penambahan berat badan yang wajar.

Evaluasi fungsi hati

Alanine amino-transferase (ALT) dahulu dikenal sebagai *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT), sedangkan *aspartate amino-transferase* (AST) dahulu disebut sebagai *serum glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT). Keduanya merupakan enzim-enzim intrasel yang dapat dijadikan sebagai indi-



Gambar 2. Skema ekskresi ALT (atas) dan AST (bawah) (Bhutta *et al.*, 2013).

kotor penurunan fungsi hati, antara lain: detoksifikasi, glikogenesis, serta produksi enzim dan protein plasma yang penting dalam regulasi fungsi sistem tubuh. Peningkatan aktivitas kedua enzim tersebut menunjukkan bahwa hati telah bekerja lebih keras. Hal ini dapat terjadi karena penyakit, banyaknya senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuh, termasuk obat-obatan, atau karena kerusakan sel-sel hati akibat degenerasi (Basten, 2010, Evans, 2009; Pagana & Pagana, 2014).

Skema ekskresi ALT dan AST dari sel-sel hati ke dalam sirkulasi darah disajikan pada Gambar 2. Pemeriksaan ALT dapat digunakan untuk indikator adanya peradangan hati karena virus, obat-obatan, atau toksin. Sementara itu, pemeriksaan AST penting untuk mempelajari kerusakan hati yang bersifat aktif-progresif hingga kronik. Tidak seperti ALT yang bersifat spesifik, AST diproduksi tidak hanya di hati tetapi juga di jantung, otot, dan beberapa organ lainnya, sehingga peningkatan AST juga dapat dijumpai pada gangguan fungsi jantung. Oleh karena itu, ALT lebih spesifik untuk eval-

uasi fungsi hati daripada AST (Elinav *et al.*, 2005; Thrall *et al.*, 2012).

Hasil pemeriksaan ALT dan AST pada tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu disajikan berturut-turut pada Tabel 3 dan Tabel 4. Baik pada hewan jantan maupun betina, aktivitas ALT dan AST mengalami fluktuasi yang nyata seiring pertambahan umur, terutama pada individu jantan. Pada saat pradewasa, kadar AST antara jantan dan betina berbeda nyata, di mana nilai pada hewan betina jauh lebih rendah daripada jantan. Meskipun demikian, tidak ada perbedaan nyata untuk aktivitas ALT di antara keduanya. Hal ini sesuai dengan penelitian Poustchi *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa umur dan jenis kelamin berpengaruh nyata terhadap aktivitas ALT dan AST yang dapat digambarkan sebagai kurva U terbalik (Gambar 3).

Pada individu muda yang sedang mengalami proses pertumbuhan dan perkembangan, termasuk pematangan reproduksi, aktivitas kedua enzim ini meningkat. Seiring pertambahan umur/penuaan serta berlangsungnya proses-proses degen-

Tabel 3. Aktivitas ALT tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu.

Umur (minggu)	Rerata ALT (U/L)		Kisaran ALT (U/L)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
4	55,33 ^b ±3,06	45,82 ^a ±11,89	52,27 – 58,39	33,93 – 57,71
6	39,90 ^a ±2,45	43,80 ^a ±13,23	37,45 – 42,35	30,57 – 57,03
8	41,27 ^{ab} ±7,14	44,48 ^a ±4,35	34,13 – 48,41	40,13 – 48,83

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu kolom (antar kelompok umur). Tanda * menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu baris (antar jenis kelamin pada umur yang sama).

Tabel 4. Aktivitas AST tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu.

Umur (minggu)	Rerata AST (U/L)		Kisaran AST (U/L)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
4	172,40 ^a ±32,53	168,20 ^b ±47,29	139,87 – 204,93	120,91 – 215,49
6*	226,14 ^b ±25,03	132,78 ^a ±44,78	201,11 – 251,17	88,00 – 177,56
8	182,20 ^a ±88,04	124,78 ^a ±18,90	94,16 – 270,24	105,88 – 143,69

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu kolom (antar kelompok umur). Tanda * menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu baris (antar jenis kelamin pada umur yang sama).

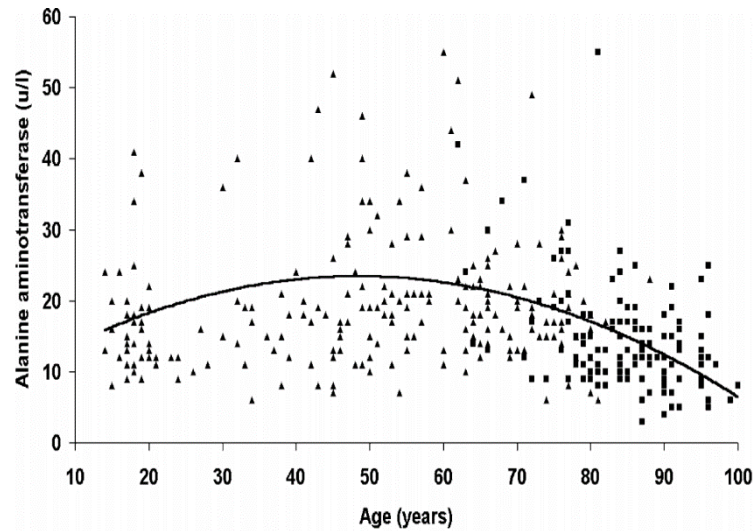
eratif, aktivitas enzim menurun. Pada manusia, puncak kurva terjadi pada umur 40-55 tahun atau sekitar setengah rentang hidupnya. Korelasi antara aktivitas enzim dan umur tampak jelas pada individu jantan, namun tidak pada individu betina (Elinav *et al.*, 2005). Jika dikonversi, maka umur manusia tersebut setara dengan umur 2 tahun pada tikus (Sengupta, 2013).

Aktivitas ALT dan AST pada hewan betina cenderung lebih rendah daripada jantan atau memiliki nilai kisaran yang lebih sempit. Variasi ini dipengaruhi oleh kondisi hormonal dan massa otot (Adiga, 2016). Prati *et al.* (2002) dalam Elinav *et al.* (2005) menyatakan bahwa selain berkorelasi dengan berat badan dan jenis kelamin, ALT dan AST juga berhubungan dengan abnormalitas metabolisme lipid dan karbohidrat.

Oleh karena itu, selain mengukur aktivitas ALT dan AST, penentuan rasio AST/ALT juga dapat digunakan untuk prognosis kerusakan hati. Lebih lanjut dijelaskan oleh Basten (2010), bahwa nilai ALT yang sangat tinggi hingga jauh melebihi kisaran normal mengindikasikan adanya kerusakan hati akibat infeksi virus. Sementara itu, nilai AST yang sangat tinggi hingga jauh melebihi kisaran normal menunjukkan adanya peradangan hati akibat obat-obatan. Berdasarkan hal ini maka nilai rujukan normal harus ditetapkan.

Evaluasi fungsi ginjal

Menurut Basten (2010) dan Bhutta *et al.* (2013), *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin adalah variabel utama untuk uji fungsi ginjal. Kedua limbah tersebut secara konsisten diekskresikan melalui ginjal dan dikeluarkan dari dalam tubuh



Gambar 3. Korelasi antara aktivitas ALT dan umur (Elinav *et al.*, 2005).

sebagai. Pada evaluasi fungsi ginjal, kadar BUN di atas kisaran normal menunjukkan gangguan fungsi ginjal akut, sedangkan kadar kreatinin di atas kisaran normal mengindikasikan gangguan fungsi ginjal kronik. Penentuan rasio BUN/kreatinin dapat digunakan untuk mendeteksi masalah ginjal secara lebih baik (Evans, 2009; Thrall *et al.*, 2012).

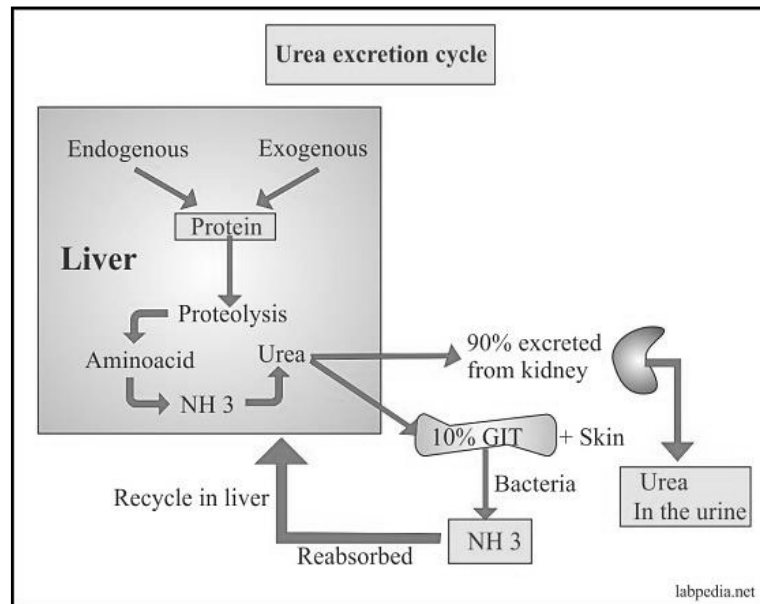
Urea adalah produk metabolisme protein internal tubuh maupun protein yang berasal dari asupan. Dalam sistem pencernaan, protein dipecah menjadi asam-asam amino yang kemudian mengalami katabolisme di dalam sel-sel hati membentuk amonia. Molekul amonia selanjutnya dikonversi menjadi urea dan diangkut ke ginjal untuk diekskresikan melalui urin keluar tubuh (Basten, 2010; Bhutta *et al.*, 2013; Pagana & Pagana, 2014). Metabolisme urea dalam tubuh disajikan pada Gambar 4.

Sebelum dikeluarkan bersama urin, urea beredar dalam sirkulasi

darah. Oleh karena itu, kadar urea dalam darah atau nilai BUN yang tinggi menggambarkan penurunan fungsi ginjal dalam mengekskresikan senyawa ini keluar tubuh. Hasil pemeriksaan kadar BUN pada tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu disajikan pada Tabel 5.

Pada hewan jantan, kadar BUN cenderung lebih tinggi daripada hewan betina pada umur yang sama. Pada hewan jantan dan betina, kadar BUN mengalami fluktuasi seiring pertambahan umur. Kadar BUN pada hewan betina relatif stabil, sedangkan pada jantan mengalami peningkatan yang nyata pada saat dewasa. Hal ini sesuai dengan Isobe *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa kadar BUN pada hewan jantan dan betina meningkat secara nyata seiring pertambahan umur.

Kadar BUN akan terus meningkat pada fase penuaan (*ageing*) yang mengindikasikan terjadi penurunan fungsi (*degenerasi*) ginjal secara progresif. Apabila dibandingkan antara



Gambar 4. Skema pembentukan urea dan proses ekskresi (Bhutta *et al.*, 2013).

Tabel 5. Kadar BUN tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu.

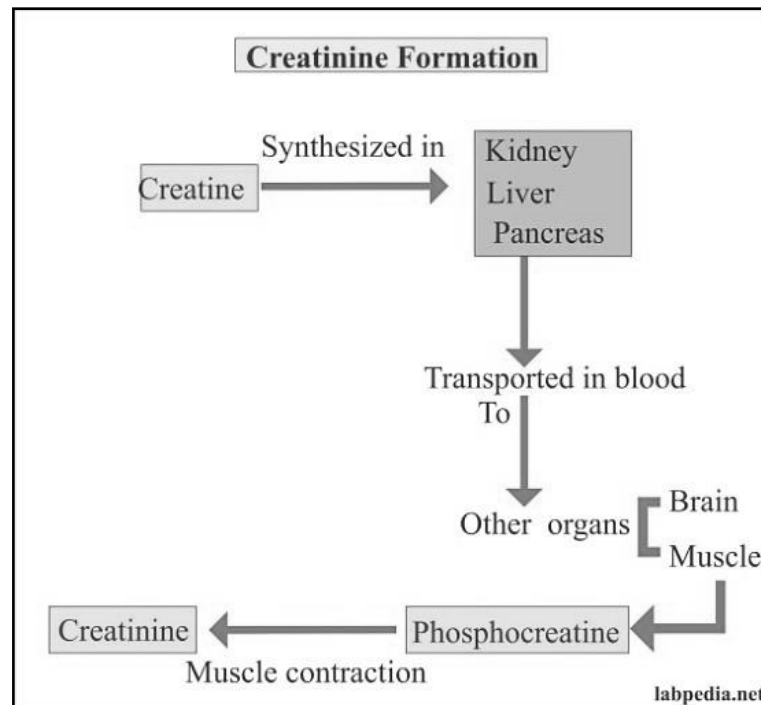
Umur (minggu)	Rerata kadar BUN (mg/dL)		Kisaran kadar BUN (mg/dL)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
4	33,66 ^{ab} ±5,31	33,08 ^a ±8,96	28,35 – 38,97	24,12 – 42,04
6	26,14 ^a ±2,45	31,66 ^a ±9,41	23,69 – 28,59	22,25 – 41,07
8	43,98 ^b ±10,90	33,90 ^a ±10,71	33,08 – 54,88	23,19 – 44,61

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu kolom (antar kelompok umur). Tanda * menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu baris (antar jenis kelamin pada umur yang sama)

kadar BUN pada hewan jantan dan betina, maka tidak ada perbedaan nyata pada semua kelompok umur. Hal ini selaras dengan pernyataan Kamal (2014) bahwa meskipun kadar BUN juga dipengaruhi oleh jenis kelamin dan hormonal (terutama setelah pubertas atau pada periode dewasa), tetapi pengaruh jenis kelamin tidak nyata apabila dibandingkan dengan umur.

Tingginya kadar BUN selain menunjukkan kerusakan fungsi filtrasi ginjal juga mengindikasikan adanya kerusakan fungsi hati apabila

nilai ALT dan atau AST juga meningkat (Pagana & Pagana, 2014). Menurut Isobe *et al.* (2005) kadar BUN berkaitan dengan metabolisme lipid. Oleh karena itu, pemeriksaan profil lipid juga diperlukan dalam rangka diagnosis status fisiologis secara lebih baik. Ditambahkan oleh Basten (2010), bahwa kadar BUN ternyata juga berkaitan dengan metabolisme karbohidrat dan protein, sehingga evaluasi fungsi ginjal juga sebaiknya diikuti dengan pemeriksaan kadar glukosa darah, kadar protein plasma, rasio albumin/



Gambar 5. Skema pembentukan kreatinin (Bhutta *et al.*, 2013).

globulin, kadar glukosa urin (untuk deteksi glukosuria), rasio albumin/kreatinin (untuk deteksi albuminuria), dan sebagainya.

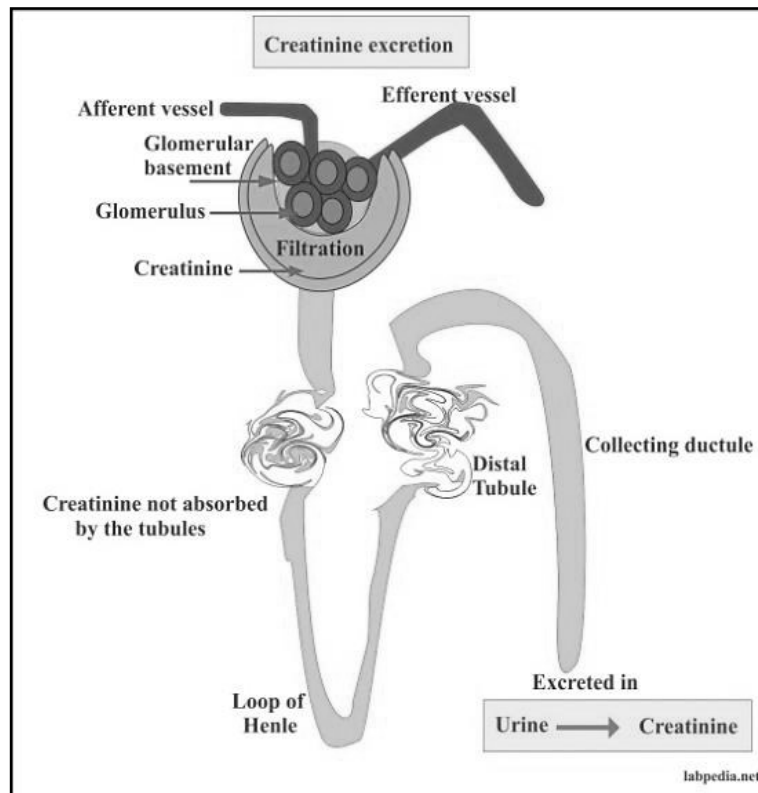
Kreatinin merupakan senyawa yang dihasilkan dari kontraksi otot. Kreatin yang disintesis di hati, ginjal, dan pankreas dikonversi menjadi senyawa kaya energi yang disebut fosfokreatin (PCr) atau kreatinfosfat (CP) oleh enzim *creatine kinase* (CK) untuk aktivitas otot (Bhutta *et al.*, 2013). Secara spontan, kreatinin akan terbentuk pada saat otot berkontraksi (Gambar 5).

Kadar kreatin per unit massa otot bersifat stabil/konsisten sehingga kreatinin yang diekskresikan pun bersifat stabil/konsisten. Sejumlah kreatinin akan dibuang melalui urin sehingga kadar kreatinin darah yang tinggi dapat mengindikasikan kerusakan ginjal. Peningkatan kadar kreatinin darah disebabkan oleh kerusakan

fungsi filtrasi ginjal dan inflamasi yang berdampak pada penurunan laju filtrasi glomerulus (GFR, *glomerular filtration rate*). Oleh karena itu perhitungan rasio BUN/kreatinin dapat digunakan untuk determinasi etiologi penyakit dan interpretasi fungsi ginjal secara lebih baik (Basten, 2010).

Proses ekskresi kreatinin disajikan dalam Gambar 6. Hasil pemeriksaan kreatinin pada tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu disajikan berturut-turut pada Tabel 6 berikut.

Kadar kreatinin pada hewan jantan mengalami peningkatan yang nyata seiring pertambahan umur. Sementara ini, kadar kreatinin pada hewan betina awalnya mengalami fluktuasi kemudian mengalami peningkatan yang nyata pada saat dewasa. Pada umur pradewasa, terdapat perbedaan yang nyata antara kadar kreatinin pada hewan jantan dan



Gambar 6. Skema ekskresi kreatinin (Bhutta *et al.*, 2013)

Tabel 6. Kadar kreatinin tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu.

Umur (minggu)	Rerata kadar kreatinin (mg/dL)		Kisaran kadar kreatinin (mg/dL)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
4	0,10 ^a ±0,07	0,20 ^a ±0,12	0,03 – 0,17	0,08 – 0,32
6*	0,28 ^b ±0,04	0,14 ^a ±0,11	0,24 – 0,32	0,03 – 0,25
8	0,40 ^c ±0,10	0,30 ^b ±0,23	0,30 – 0,50	0,07 – 0,53

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu kolom (antar kelompok umur). Tanda * menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$) pada satu baris (antar jenis kelamin pada umur yang sama)

betina, di mana kadar kreatinin pada hewan betina jauh lebih rendah daripada jantan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kamal (2014) bahwa jenis kelamin berpengaruh nyata terhadap kadar kreatinin, demikian juga umur, yang mana hewan jantan memiliki kadar kreatinin lebih tinggi daripada betina.

Individu jantan cenderung memiliki lebih banyak massa otot, sehingga kadar kreatinin sebagai limbah metabolisme otot juga lebih banyak. Pembentukan massa otot dipengaruhi oleh faktor hormonal, salah satunya adalah efek myotropik testosteron (Fitria, dkk., 2015). Oleh karena itu, massa otot pada hewan jantan relatif lebih tinggi daripada betina. Di samping faktor hormonal,

massa otot juga dipengaruhi oleh aktivitas fisik. Hal ini tampak jelas pada manusia yang aktif melakukan olah raga pembentukan otot (*body building*).

Oleh karena kadar kreatinin dipengaruhi oleh massa otot, maka dapat terjadi misinterpretasi. Sebagai contoh, individu yang memiliki massa otot tinggi akibat rutin melakukan aktivitas fisik (olah raga) maka hasil pemeriksaan kreatinin menunjukkan kadar yang relatif tinggi juga padahal fungsi ginjalnya normal. Hal ini sering menjadi masalah pada kajian klinik karena kondisi fisik dan kebiasaan hidup pasien yang bervariasi (Baxman *et al.*, 2008). Sementara itu, uji praklinik menggunakan hewan coba yang relatif homogen dengan pemeliharaan yang seragam. Dengan demikian, tidak akan terjadi misinterpretasi maupun subjektivitas mengenai hasil pengukuran kreatinin sebagaimana pada pasien manusia.

Berdasarkan keseluruhan hasil yang diperoleh, tampak bahwa hampir semua nilai variabel yang diperiksa bervariasi tergantung dari jenis kelamin dan umur. Hal ini sesuai dengan Pagana & Pagana (2014) yang menyatakan bahwa sebagian besar variabel kimia darah dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, fase reproduksi (pertumbuhan dan perkembangan) serta faktor makanan. Dengan demikian, nilai rujukan untuk individu muda berbeda dari individu dewasa. Lebih lanjut dikemukakan oleh Pagana & Pagana (2014) bahwa pada umur dewasa pun nilai rujukan berbeda, yang secara rinci dapat dikelompokkan menjadi kategori *young adult*, *middle adult*, dan *older adult* (Sengupta, 2013).

Berdasarkan hal tersebut, maka nilai rujukan atau kontrol normal untuk evaluasi fungsi hati dan ginjal tidak dapat digeneralisir. Nilai ALT, AST, BUN, dan kreatinin pada awal kehidupan suatu individu cenderung tinggi karena berkaitan dengan pertumbuhan, perkembangan, dan proses-proses metabolisme yang tinggi pula. Nilai tersebut kemudian menurun seiring pertambahan umur atau pendewasaan hingga penuaan akibat berlangsungnya proses-proses degeneratif. Pada individu dengan gangguan fisiologis akibat masuknya agen eksogen seperti patogen, toksikan, dan obat-obatan, nilai keempat variabel tersebut meningkat yang menunjukkan bahwa hati dan ginjal telah bekerja lebih keras dibandingkan sebelumnya.

Di samping itu, nilai rujukan hendaknya mengacu pada tempat asal hewan (bersifat lokal), tidak berdasarkan literatur secara umum, apalagi yang bersumber dari luar negeri dengan perbedaan faktor lingkungan dan metode pemeliharaan.

SIMPULAN DAN SARAN

Terdapat variasi nilai ALT, AST, BUN, dan kreatinin dalam serum darah tikus Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu yang berkorelasi dengan jenis kelamin dan umur. Oleh karena itu, nilai rujukan untuk evaluasi fungsi hati dan ginjal tidak dapat digeneralisir namun harus ditentukan berdasarkan jenis kelamin dan umur.

Cakupan umur hewan dalam penelitian ini masih terbatas, oleh karena itu perlu dilakukan studi

lanjutan sehingga diperoleh nilai rujukan untuk kategori umur lainnya. Sebagai contoh umur 3 minggu untuk kategori anakan lepas sapih, 12 minggu untuk kepentingan uji toksisitas subkronik, umur dewasa (>1 tahun) untuk model kategori *young adult, middle adult, older adult aging/senescent*, dan seterusnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiga, U.S. 2016. Gender differences in liver function tests in Coastal Karnataka. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* 15(8): 30-32.
- Basten, G. 2010. *Introduction to clinical biochemistry: Interpreting blood results*. Ventus Publishing ApS. Frederiksberg, Denmark.
- Baxmann, A.C., Ahmed, M.S., Marques, N.C., Menon, V.B., Pereira, A.B., Kirsztajn, G.M., & Heilberg, I.P. 2008. Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3:348-354. doi: 10.2215/CJN.02870707
- Bhutta, RA., Syed, N.A., Ahmad, A., & Khan, S. 2013. *Lab Tests for SGPT (ALT, Alanine aminotransferase, Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase), SGOT (Aspartate amino-transferase, AST, Glutamic oxaloacetic Transaminase), Blood Urea Nitrogen (BUN, Urea Nitrogen), and Creatinine (Serum Creatinine)*. <http://www.labpedia.net>
- Calsey, J.D. & King, D.J. 1980. Clinical chemical values for some common laboratory animals. *Clinical Chemistry* 26(13): 1877-1879.
- Charles River Laboratories International, Inc. 2017. *Wistar IGS Rat (CrI:WI)*. <http://www.criver.com/products-services/basic-research/find-a-model/wistar-rat?loc=ID>
- Elinav, E., Ben-Dov, I.Z., Ackerman, E., Kiderman, A., Glikberg, F., Shapira, Y., & Ackerman, Z. 2005. Correlation serum alanine aminotransferase activity and age: An inverted U curve pattern. *American Journal of Gastroenterology* 100: 2201-2204. Blackwell Publishing.
- Envigo. 2017. *Wistar outbred rat*. <http://www.envigo.com/products-services/research-models-services/models/research-models/rats/outbred/wistar-outbred-rat/>
- Evans, G.O. 2009. (ed). *Animal clinical chemistry: A practical guide for toxicologists and biomedical researchers*. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton, Florida, USA.
- Festing, M.F.W. 2011. How to reduce the number of animals used in research by improving experimental design and statistics. *ANZCCART Fact Sheet T10* Pp. 1-11. <https://>

- www.adelaide.edu.au/ANZC-CART/docs/fact-sheets/T10_HowtoReducetheNumberFactSheet.pdf
- Fitria, L. & Mulyati. 2014. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur Wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu. *Biogenesis* 2(2): 94-100.
- Fitria, L., Mulyati, Tiraya, C.M., & Budi, A.S. 2015. Profil reproduksi jantan tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur Wistar stadia muda, pra-dewasa, dan dewasa. *Jurnal Biologi Papua* 7(1): 29-36.
- Garber, J.C., Barbee, R.W., Bielitzki, J.T., Clayton, L.A., Donovan, J.C., Hendriksen, C.F.M., Kohn, D.F., Lipman, N.S., Locke, P.A., Melcher, J., Quimby, F.W., Turner, P.V., Wood, G.A., & Würbel, H. 2011. *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8th ed. Committee for the update of the guide for the care and use of laboratory animals. Institute for laboratory animal research. Division on earth and life studies. National Research Council of the National Academies. The National Academies Press. Washington, DC, USA.
- Hewitt, C.D., Innes, D.J., Savory, J., & Willis, M.R. 1989. Normal biochemical and hematological values in New Zealand white rabbits. *Clinical Chemistry* 35 (8): 1777-1779.
- Hogan, M.C., Norton, J.N., & Reynolds, R.P. 2018. Environmental factors: Macroenvironment versus microenvironment. Chapter 20. In: Weichbrod, R.H, Thompson, G.A.H., & Norton, J.N. (eds.) 2018. *Management of animal care and use programs in research, education, and testing*. CRC Press/Taylor & Francis. Boca Raton. Florida. USA. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500431/>
- Ihedioha, J.I., Ugwuja, J.I., Noel-Uneke, O.A., Udeani, I.J., & Daniel-Igwe, G. 2012. Reference values for the haematology profile of conventional grade outbred albino mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *Animal Research International* 9(2): 1601-1612.
- Isobe, T., Saitoh, S., Takagi S., Takeuchi, H., Chiba, Y., Katoh, N., & Shimamoto, K. 2005. Influence of gender, age and renal function on plasma adiponectin level: the Tanno and Sobetsu study. *European Journal of Endocrinology* 153: 91-98.
- Kamal, A. 2014. Estimation of blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine level in patients of renal disorder. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences* 4(4): 199-202.
- Koolhaas, J.M. 2010. The laboratory rat. In: Hubrecht, R. and Kirkwood, J. (eds.). *The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals*. 8th ed. Pp. 311-326.

- Pagana, K.D. & Pagana, T.J. 2014. *Mosby's manual of diagnostic and laboratory tests*. 5th ed. Mosby, an imprint of Elsevier Inc. Missouri, USA.
- Poustchi, H., George, J., Esmaili, S., Esna-Ashari, F., Ardalan, G., Sepanlou, S.G., & Alavian, S.M. 2011. Gender differences in healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels in adolescence. *PLoS ONE* 6(6): e21178. doi:10.1371/ journal.pone.0021178
- Sengupta, P. 2013. The laboratory rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine* 4(6): 624-630
- Smith, A. 2009. Fasting in rodents. Norecopa Veterinærinstituttet. Oslo. <https://norecopa.no/media/6351/food-deprivation.pdf>
- Struck, M.B., Andrutis, K.A., Ramirez, H.E., & Battles, A.H. 2011. Effect of a Short-term Fast on Ketamine–Xylazine Anesthesia in Rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* JAALAS 50(3): 344-348
- Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, R.W., & Campbell, T.W. 2012. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. 2nd ed. Wiley-Blackwell, John Wiley & Sons. Oxford, UK.
- Wallen, W.J., Belanger, M.O., & Wittnich, C. 2002. Body weight and food intake profiles are modulated by sex hormones and tamoxifen in chronically hypertensive rats. *The Journal of Nutrition* 132(8): 2246-2250. The American Society for Nutritional Sciences.