

Evaluasi Nilai Protein Total, Albumin, Kreatinin, dan Bilirubin pada Tikus dengan Diet Rendah Protein

Yunita Rakhmawati¹, Sri Rahayu Lestari², Ajeng Radhita Putri Azella³,
Daradjatul Aulia⁴, Dini Wijayanti⁵, Dio Rizki Nadar Putra⁶,
Mellinda Setiani Nusa Diennata⁷, Nesya Adiva Nurhasanah⁸

^{1,2,3,4,5,6,7,8}Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No. 5 Malang, Indonesia
Email Korespondensi: yunita.rakhmawati.fmipa@um.ac.id

ABSTRAK

Indonesia memiliki target dalam menghilangkan segala bentuk masalah gizi pada tahun 2030. Namun, kasus malnutrisi di Indonesia masih relatif tinggi yaitu 21,7% *stunting*, 17,7% *underweight*, dan angka ini menurun relatif lama dalam waktu 20 tahun, sementara tumbuh kembang anak terus berjalan. Salah satu masalah utama adalah asupan protein yang tidak akuat sehingga berdampak pada masalah biologis di dalam tubuh. Untuk mencari solusi masalah ini, memahami mekanisme mendasar yang menyeluruh terkait masalah biologis yang timbul akibat malnutrisi perlu dilakukan. Pengambilan sampel pada tubuh manusia untuk apalagi pada anak-anak sangat terbatas, sehingga pembuatan model hewan coba adalah kunci untuk membantu menjelaskan kejadian biologis yang mirip dengan subjek yang diamati. Tujuan penelitian ini melakukan evaluasi terhadap beberapa biomarker darah pada tikus yang diberikan diet rendah protein. Metode penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan pemberian diet LPD (*Low Protein Diet*) selama 3 minggu, selanjutnya dilakukan analisis darah. Hasil analisis secara umum, kelompok hewan coba yang diberikan diet rendah protein memiliki nilai protein total, albumin, kreatinin, dan bilirubin yang lebih rendah daripada kelompok diet normal, dan rata-rata hasil analisis darah tersebut juga memiliki nilai yang lebih rendah daripada nilai rujukan normal.

Kata Kunci: Biomarker Darah, Diet Rendah Protein, Malnutrisi

Evaluation of Total Protein, Albumin, Creatinine and Bilirubin Values in Rats on a Low Protein Diet

ABSTRACT

Indonesia has a target of eliminating all forms of nutritional problems by 2030. However, cases of malnutrition in Indonesia are still relatively high, namely 21.7% stunting, 17.7% underweight, and this figure has decreased over a relatively long period of 20 years, while children's growth and development continues to run. One of the main problems is inadequate protein intake which has an impact on biological systems in the body. To solve this problem, it is necessary to understand the underlying mechanisms related to biological problems arising from malnutrition. Sampling of the human body in children is very limited, so creating experimental animal models is key to help explain biological events like the subjects observed. This study aimed to evaluate several blood biomarkers in mice given a low-protein diet. This research method was carried out experimentally by giving an LPD (Low Protein Diet) diet for 3 weeks; then blood analysis was carried out. In

general, the group of experimental animals given a low-protein diet had lower values of total protein, albumin, creatinine, and bilirubin than the normal diet group. In addition, the average results of the blood analysis also have lower values than normal referent values.

Keywords: *Biomarkers, Low Protein Diet, Malnutrition*

PENDAHULUAN

Gizi buruk pada balita mempengaruhi tumbuh kembang baik jangka pendek dan panjang. Masalah gizi pada anak berkontribusi sebanyak 45% pada anak kematian di bawah usia lima tahun (UNICEF, WHO, 2021). Kasus malnutrisi di Indonesia masih relatif tinggi yang didominasi oleh stunting sebanyak 21,7% dan underweight sebanyak 17,7% (Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan. Kementerian Kesehatan, 2022). Malnutrisi pada anak meningkatkan risiko gangguan kognitif perkembangan, penyakit kronis, morbiditas, dan mortalitas. Kondisi ini akan membebani individu, keluarga, masyarakat, dan negara (De Onis *et al.*, 2019). Malnutrisi terjadi karena kekurangan energi, protein, dan nutrisi lainnya sejak 1000 hari pertama hari kehidupan. Keadaan ini diperparah oleh faktor lingkungan yang mempengaruhi sistem imun seperti air, kebersihan, dan sanitasi. Paparan bakteri patogen akibat sanitasi yang buruk menyebabkan perubahan morfologi dan fisiologi pada usus (Budge *et al.*, 2019). Untuk percepatan penanggulangan masalah tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih banyak dan cepat untuk mencari solusi dari permasalahan tersebut (Farràs *et al.*, 2018; World Bank Group, 2018).

Untuk memahami mekanisme dasar dan kompleksitas malnutrisi sangat perlu dilakukan untuk memberikan informasi penting dalam penanggulangan gizi buruk agar lebih tepat sasaran. Penggunaan model hewan coba adalah menjadi cara yang cukup efektif sebelum terapi diberikan secara langsung kepada penderita malnutrisi (Astuti, 2015). Selain itu, pengambilan data sampel darah dan organ untuk mempelajari kerusakan tubuh manusia sangat terbatas, khususnya pada subyek anak-anak, misalnya untuk melihat kerusakan hati, diperlukan biopsi untuk mengambil sampel. Hal tersebut cukup mengerikan bagi subyek dan mencegah efek yang ditimbulkan setelah terapi, sehingga penggunaan hewan coba menjadi salah satu kunci utama dalam penelitian (Barré-Sinoussi and Montagutelli, 2015; Salameh *et al.*, 2019)

Pengembangan hewan coba dengan berbagai model banyak dikembangkan untuk mendukung penelitian berbasis laboratorium yang umum pada kajian biologi dan medis. Hewan model dibuat dengan tujuan untuk memahami mekanisme dasar yang berhubungan dengan sistem biologi dalam tubuh sari (Sari *et al.*, 2016; Handajani, 2021). Model hewan obesitas dan pembatasan diet jangka pendek telah diteliti, namun diet tersebut digunakan untuk pengamatan masalah gizi akut dan kurang representatif untuk masalah kekurangan gizi kronis atau kontinyu yang banyak ditemukan di masyarakat (D'Souza *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya melaporkan hasil validasi pemberian pakan rendah protein (10%) terhadap beberapa indikator malnutrisi, namun belum terdapat variasi pemberian pakan pada jumlah protein lain penggunaan pakan alternatif (Ferreira-Paes, Seixas-Costa and Almeida-Amaral, 2021). Selain itu, penelitian pada hewan coba malnutrisi memiliki indikator hasil yang beragam dikarenakan pemberian dan pemilihan

bahan penyusun pakan tersebut. Hasil penelitian yang memiliki akurasi cukup baik umumnya menggunakan obat-obatan, baik diberikan secara oral maupun injeksi untuk merusak organ atau jalur metabolisme energi, tetapi cara ini membutuhkan biaya yang cukup besar dan sulit mendapatkan zat kimia tersebut (Merino-Sanjuán *et al.*, 2011; Keller, 2019).

Permodelan hewan coba untuk berbagai penyakit dan masalah gizi lain banyak dikembangkan dan telah divalidasi, namun pembuatan model hewan coba malnutrisi untuk penelitian masih belum banyak diekplorasi, sehingga kesenjangan ini perlu diisi sebagai bagian dari proses percepatan penanggulangan masalah gizi (Handajani, 2021). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai protein total, albumin, kreatinin, dan bilirubin yang merupakan beberapa penanda biokimia darah pada malnutrisi.

METODE

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar jantan usia 3-4 minggu, dalam keadaan sehat, dengan berat badan antara 90-100 gram. Tikus ditempatkan di masing-masing kandang (22 x 22 x 16 cm) dengan ruangan terkontrol (suhu 22-23°C, kelembapan 50-60%) di *greenhouse* Departemen Biologi UM. Selama proses aklimatisasi akan diberikan pakan tikus standard. Selanjutnya akan diberikan pakan LPD (*Low Protein Diet*) selama 3 minggu dan dibandingkan dengan kelompok diet normal yang diberikan pelet susu A. Berat pakan yang diberikan sebanyak 30 gram dengan pemberian minum *ad libitum*. Selanjutnya analisis biokimia darah dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Brawijaya. Data yang diperoleh dilakukan analisis secara deskriptif. Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan *ethical clearance* dengan nomor Reg.No.:802 / KEPK-POLKESMA/ 2023.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pakan LPD yang diberikan kepada hewan coba mengandung 51% karbohidrat, 2% protein, dan 47% lemak. Hasil analisis biomarker darah disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Biomarker Darah

Biomarker	Kelompok Diet	Kelompok Diet
	Normal	LPD
Protein total (g/dl)	6,84	6,10
Albumin (gr/dl)	3,30	3,08
Kreatinin (mg/dl)	0,42	0,38
Bilirubin total (mg/dl)	0,28	0,23

Sumber: Data penelitian primer

Hasil penelitian pada tabel 1 secara umum kelompok diet normal memiliki hasil yang lebih tinggi daripada diet LPD. Pada hasil protein total rata-rata kelompok diet LPD memiliki kadar sebanyak 6,10 g/dl, dan hasil ini lebih rendah dari nilai rujukan normal yaitu sebanyak 6,3-7,3 g/dl. Albumin merupakan salah satu biomarker utama kondisi malnutrisi pada seseorang. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa albumin pada kelompok diet LPD memiliki hasil yang lebih

rendah daripada kelompok diet normal yaitu 3,08 mg/dl. Hal ini sedikit lebih rendah daripada nilai rujukan normal yaitu 3,1-4,6 mg/dl. Sementara itu, hasil analisis kreatinin dan bilirubin pada kedua kelompok perlakuan masih dalam rentan nilai rujukan normal, yaitu 0,2-0,7 mg/dl.

Kurangnya asupan protein akan berdampak pada total protein dalam tubuh dan tentu saja hal itu akan mengakibatkan gangguan metabolisme secara keseluruhan. Rendahnya total protein dalam serum umumnya diketahui pada penderita malnutrisi, gangguan penyerapan zat gizi, penyakit liver, penyakit ginjal, dan gagal jantung. Peran utama protein dalam metabolisme energi dalam bentuk enzim dan hormon sangat menentukan keberlangsungan produksi energi (Gibson *et al.*, 2007). Selain itu, pada keadaan kekurangan gizi pada anak-anak menunjukkan nilai kadar kreatinin yang rendah karena kemungkinan besar disebabkan oleh berkurangnya massa otot sehingga kreatinin yang diproduksi juga rendah. Semakin rendah nilai kreatinin maka mengindikasikan semakin berkurangnya massa otot (Heieis *et al.*, 2023).

Profil biokimia darah merupakan salah satu parameter dalam diagnosa malnutrisi. Pemeriksaan biokimia darah membutuhkan sampel darah yang akan diproses sampai mendapatkan serum atau plasma darah. Sebagai contoh, parameter biokimia darah yang digunakan untuk menentukan status malnutrisi diantaranya adalah serum protein dan fraksinya, TIBC (*Total Iron Binding Capacity*), ferritin, dan transferin (Saka AO, Saka MJ, Ojuawo A, Abdulkarim AA, Bilamin SA, Latubosun L, 2012). Biomarker malnutrisi digunakan untuk mendeteksi gangguan akibat kekurangan gizi dan sebagai dasar untuk menganalisis masalah secara fisiologis.

Albumin merupakan komponen protein yang menjadi salah satu biomarker malnutrisi (Michael *et al.*, 2022). Albumin disintesis oleh hati dan berperan penting dalam menjaga cairan pembuluh darah. Konsentrasi albumin adalah 3,4 g/dL, dan hati yang sehat membuat sekitar 12 gram albumin per hari. Albumin merupakan salah satu indikator status gizi dan protein makanan yang rendah akan tercermin dalam kadar albumin serum, dan konsentrasi yang sangat rendah ditemukan pada malnutrisi karena kelaparan (Gibson *et al.*, 2007). Globulin adalah komponen protein yang bertindak sebagai pembawa hormon, lipid, mineral, dan antibodi. Pada sirosis hati, hepatosit dalam struktur hati menjadi rusak sehingga fungsi hati sendiri juga akan terganggu. Pada keadaan ini rasio albumin: globulin berkebalikan. Peningkatan globulin dapat terjadi karena peningkatan sintesis antibodi dan penurunan dapat ditemukan pada malnutrisi, malabsorpsi, penyakit hati, atau penyakit ginjal (van Zutphen *et al.*, 2016). Transferin merupakan transport untuk zat besi dengan konsentrasi normal 0.16-0.36 g/dL dan juga telah digunakan sebagai penanda status gizi. Hal ini dipengaruhi oleh faktor lain termasuk status zat besi, penyakit hati dan keadaan inflamasi (Rakhmawati and Fatimah, 2022).

Pada kasus kurang gizi, juga terkait dengan disfungsi lingkungan usus yang ditandai dengan atrofi vili, hiperplasia kriptas, dan peradangan usus histologis. Perubahan pada usus halus yang kekurangan gizi dapat berupa terjadinya atrofi mukosa usus diikuti dengan penurunan jumlah epitel usus (Morita *et al.*, 2015). Sementara pada organ usus, malnutrisi menyebabkan kerusakan pada dinding usus. Penelitian hewan percobaan telah menunjukkan bahwa makanan rendah protein mempengaruhi vili usus dan meningkatkan penanda inflamasi. Kerusakan usus akan menyebabkan terganggunya penyerapan zat gizi yang mengganggu pada

memperparah malnutrisi (Harper *et al.*, 2018).

Penelitian hewan coba malnutrisi dengan beberapa komplikasi telah dilaporkan berpengaruh terhadap fungsi organ. Malnutrisi dengan enteropati menunjukkan hubungan antara perubahan morfofisiologis pada hewan kecil usus dengan ekspresi gen di usus (Pinho *et al.*, 2022). Konsumsi rendah protein juga mengakibatkan penumpukan vili usus di jejunum yang menyebabkan hiperpermeabilitas dan meningkatkan beberapa penanda inflamasi (Salameh *et al.*, 2020). Untuk mengatasi hal tersebut diberikan terapi minyak ikan sehingga meningkatkan tinggi vili dan histologis skor arsitektur pada tikus BALB/c betina yang diberi terapi dengan β -laktoglobulin, serta mencegah peradangan dalam epitel usus (Bünger, no date).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan nilai biomarker darah pada protein total, albumin, kreatinin, dan bilirubin lebih rendah pada kelompok dengan diet LPD daripada kelompok diet normal. Namun, perlu penelitian lebih lanjut pada biomarker darah yang lain.

ACKNOWLEDGEMENT

Semua penulis tidak memiliki *conflict of interest* terhadap artikel ini. Penelitian ini didanai oleh Universitas Negeri Malang Tahun 2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, D.A. (2015) 'Diet untuk hewan model', *Bogor. IPB Press.*, Edisi 1. J(3), pp. 1–37.
- Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan. Kementerian Kesehatan (2022) 'Status Gizi SSGI 2022', pp. 1–156.
- Barré-Sinoussi, F. and Montagutelli, X. (2015) 'Animal models are essential to biological research: Issues and perspectives', *Future Science OA*, 1(4), pp. 4–6. Available at: <https://doi.org/10.4155/fso.15.63>.
- Budge, S. *et al.* (2019) 'Environmental enteric dysfunction and child stunting', *Nutrition Reviews*, 77(4), pp. 240–253. Available at: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy068>.
- Bünger, M. (no date) *Probing the role of PPAR α in the small intestine A functional nutrigenomics approach*.
- D'Souza, V. *et al.* (2022) 'Protein Malnutrition in BALB/c Mice: An Experimental Model Resembling Clinical Scenario', *Journal of Health and Allied Sciences NU*, pp. 0–6. Available at: <https://doi.org/10.1055/s-0042-1758526>.
- Farràs, M. *et al.* (2018) 'Characterizing the metabolic phenotype of intestinal villus blunting in Zambian children with severe acute malnutrition and persistent diarrhea', *PLoS ONE*, 13(3), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192092>.
- Ferreira-Paes, T., Seixas-Costa, P. and Almeida-Amaral, E.E. (2021) 'Validation of a Feed Protocol in a Mouse Model That Mimics Marasmic Malnutrition', *Frontiers in Veterinary Science*, 8(November), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.757136>.

- Gibson, R.S. *et al.* (2007) 'Does zinc deficiency play a role in stunting among primary school children in NE Thailand?', *British Journal of Nutrition*, 97(1), pp. 167–175. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0007114507250445>.
- Handajani, F. (2021) *Metode Pemilihan dan pemnbuatan hewan model beberapa penyakit pada penelitian eksperimental*.
- Harper, K.M. *et al.* (2018) 'Environmental enteric dysfunction pathways and child stunting: A systematic review', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(1), pp. 1–23. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006205>.
- Heieis, G.A., Patente, T.A., Almeida, L. *et al.* Metabolic heterogeneity of tissue-resident macrophages in homeostasis and during helminth infection. *Nat Commun* 14, 5627 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41353-z>
- Keller, U. (2019) 'Nutritional laboratory markers in malnutrition', *Journal of Clinical Medicine*, 8(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm8060775>.
- Merino-Sanjuán, M. *et al.* (2011) 'Modelo de desnutrición animal para la evaluación de estudios de farmacocinetica', *Nutricion Hospitalaria*, 26(6), pp. 1296–1304. Available at: <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.6.5403>.
- Michael, H. *et al.* (2022) 'Mechanisms of Kwashiorkor-Associated Immune Suppression: Insights From Human, Mouse, and Pig Studies', *Frontiers in Immunology*, 13(May), pp. 1–19. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.826268>.
- Morita, C. *et al.* (2015) 'Gut Dysbiosis in Patients with Anorexia Nervosa', *PLoS ONE*, 10(12), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145274>.
- De Onis, M. *et al.* (2019) 'Prevalence thresholds for wasting, overweight and stunting in children under 5 years', *Public Health Nutrition*, 22(1), pp. 175–179. Available at: <https://doi.org/10.1017/S1368980018002434>.
- Pinho, R.M. *et al.* (2022) 'Malnourishment affects gene expression along the length of the small intestine', *Frontiers in Gastroenterology*, 2017(1), p. (in press).
- Rakhmawati, Y. and Fatimah, S.N. (2022) 'The Role of Nutrients and MCV on Stunting: A Case Study on Indonesian Early Teenagers', *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(E), pp. 1094–1099. Available at: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.9290>.
- Saka AO, Saka MJ, Ojuawo A, Abdulkarim AA, Bilamin SA, Latubosun L, A.MAN. (2012) 'Haematological Profile in Children with Protein Energy Malnutrition in North Central Nigeria', *Global Journal of Medical research*, 12(4), pp. 9–13. Available at: https://globaljournals.org/GJMR_Volume12/2-Haematological-Profile-in-Children-with-Protein.pdf.
- Salameh, E. *et al.* (2019) 'Animal models of undernutrition and enteropathy as tools for assessment of nutritional intervention', *Nutrients*, 11(9), pp. 1–19. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu11092233>.
- Salameh, E. *et al.* (2020) 'Modeling undernutrition with enteropathy in mice', *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72705-0>.
- Sari, E.M. *et al.* (2016) 'Asupan protein, kalsium dan fosfor pada anak stunting dan tidak stunting usia 24-59 bulan', *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 12(4), p. 152. Available at: <https://doi.org/10.22146/ijcn.23111>.

- UNICEF, WHO, W.B.G. (2021) 'Joint Child Malnutrition Estimates', *Who*, 24(2), pp. 51–78. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240025257>.
- World Bank Group (2018) *Indonesia Accelerates Fight Against Childhood Stunting*, *The World Bank Group*. Available at: <https://www.worldbank.org/en/news/feature/2018/06/26/indonesia-fights-stunting-commitment-convergence-and-communities> (Accessed: 13 December 2019).
- van Zutphen, T. *et al.* (2016) 'Malnutrition-associated liver steatosis and ATP depletion is caused by peroxisomal and mitochondrial dysfunction', *Journal of Hepatology*, 65(6), pp. 1198–1208. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.05.046>.