



PROFIL HEMATOLOGI TIKUS (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY JANTAN UMUR 7 DAN 10 MINGGU

Hematology Profile of Sprague-Dawley Male Rats (*Rattus norvegicus*) Aged 7 and 10 Weeks

Idah Rosidah*, Sri Ningsih, Tiya Novita Renggani, Kurnia Agustini, Julham Efendi

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi,
PUSPIPTEK, Setu, Tangerang Selatan, Banten

*Email: idah.rosidah@bppt.go.id

ABSTRACT

Currently, the normal hematology profile has not been yet available for outbred rats in Indonesia. Most of the researchers use the data of hematology profile from references outside Indonesia in which the breeding environment is different. This study aimed to obtain a hematology profile of Sprague-Dawley male rats aged 7 and 10 weeks. The animals were obtained from the Laboratory of Animal Experiment, NADFC. Blood was drawn from the retro-orbital sinus and then analyzed to obtain the hematology profile including erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, MCHC, leukocytes. Statistically significant differences for erythrocytes, hemoglobin, MCV, MCHC, thrombocyte, and leukocytes parameters were observed between rats aged 7 and 10 weeks. However, there were no statistically significant differences observed on MCH, thrombocyte, and body weight parameters. Data presented here would be useful as a reference for hematology research as well as in evaluating alterations in blood parameters.

Keywords: erythrocyte, hematology, leukocyte, Sprague-Dawley, thrombocyte

ABSTRAK

Saat ini belum banyak tersedia informasi profil hematologi untuk hewan coba tikus yang dikembangkan di Indonesia. Kebanyakan peneliti menggunakan data profil hematologi dari referensi luar Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data hematologi tikus jantan usia 7 dan 10 minggu. Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague-Dawley* yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Percobaan-BPOM. Sebanyak 60 ekor tikus jantan yang terdiri dari 30 ekor usia 7 minggu dan 30 ekor usia 10 minggu diambil darahnya melalui sinus orbitalis. Selanjutnya, dianalisa jumlah sel eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, leukosit. Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara tikus jantan usia 7 dan 10 minggu untuk parameter jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCHC dan leukosit. Tetapi tidak terdapat perbedaan signifikan untuk jumlah MCH, trombosit dan berat badan tikus. Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai referensi penelitian yang berhubungan erat dengan profil hematologi dan penyakit kelainan darah lainnya.

Kata Kunci: eritrosit, hematologi, leukosit, *Sprague-Dawley*, trombosit

PENDAHULUAN

Penggunaan hewan model (hewan coba) sangat diperlukan dalam penelitian *in vivo* di bidang biomedik. Hewan model berkontribusi untuk memahami tentang fungsi gen, etiologi dan mekanisme suatu penyakit, uji efektifitas dan keamanan suatu obat atau bahan kimia. Hewan model yang banyak digunakan untuk penelitian antara lain tikus, mencit dan hewan pengerat lainnya (Johnson 2012). Tikus sebagai hewan model telah banyak digunakan pada penelitian dikarenakan siklus hidupnya pendek, biaya perawatan lebih murah, relatif mudah perawatannya dan tersedia database dalam menginterpretasikan data yang relevan untuk manusia (Said dan Abiola 2014). Dari 75–100 juta per tahun hewan vertebrata yang digunakan dalam penelitian, pendidikan dan pengujian, hampir sekitar 33% diantaranya adalah tikus (Baumans 2016). Tikus banyak digunakan pada penelitian biomedik diantaranya dalam bidang toksikologi, gerontologi, kardiologi, kedokteran gigi, imunologi, reproduksi, neurosains, dan parasitologi (Andersen et al. 2016).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau dikenal juga dengan nama *Norway Rat* merupakan hewan yang sering digunakan untuk penelitian biomedik. Beberapa galur tikus laboratorium yang umum digunakan pada penelitian diantaranya *Sprague-Dawley*, *Wistar*, *Biobreding*, *Long-Evans*, *Zucker*, *Hairless*, *Royal College of Surgeons* dan *Shaking Rat Kawasaki*. Tikus *Sprague-Dawley* merupakan galur yang banyak digunakan dalam penelitian dengan pertimbangan perkembangbiakannya yang cepat, temperamennya yang tenang dan relatif mudah penanganannya. Tikus *Sprague-Dawley* dapat mencapai usia hingga 3,5 tahun, berat badan tikus dewasa berkisar 250–300 g untuk betina dan 450–520 g untuk tikus jantan (Andreollo et al. 2012). Tikus galur ini dikembangkan pertama kali oleh Robert Worthington Dawley di Universitas Wisconsin pada tahun 1925 dengan nama dagang *Sprague-Dawley*®. Hingga saat ini, perusahaan yang telah melakukan pengembangbiakan tikus *Sprague-Dawley* untuk tujuan penelitian dan komersial antara lain adalah Charles River Laboratories, Harlan Sprague Dawley Inc (sekarang Envigo Inc), Taconic Biosciences dan The Jackson Labs (Johnson 2012; Gileta et al. 2018).

Dalam penelitian laboratorium, tikus sebagai hewan model harus memenuhi persyaratan tertentu, antara lain memiliki galur yang sama, jenis kelamin tertentu, rentang usia tidak jauh berbeda, berat badan merata, menunjukkan fisik yang sehat yang dicirikan dengan mata cerah, aktivitas motorik normal, bulu tidak berdiri dan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian, misalnya untuk penelitian obat-obat hormonal wanita maka digunakan tikus betina (BPOM 2014). Hewan model dalam penelitian digunakan untuk memahami mekanisme dasar suatu penyakit dan menemukan metode untuk mencegah, mendiagnosis dan mengobati suatu penyakit (Vandamme 2014). Studi hematologi pada hewan dan manusia penting dilakukan karena darah merupakan sistem transportasi utama yang berfungsi untuk mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh dan yang dihasilkan tubuh dari proses-proses metabolisme. Nilai hematologi memberikan informasi penting pada uji praklinis dan klinis suatu penelitian, contohnya pada uji toksisitas obat atau kandidat obat. Nilai hematologi juga berperan untuk membantu menegakkan diagnosa, menilai dan mengkarakterisasi suatu penyakit (Ihedioha et al. 2004). Namun informasi terkait profil hematologi normal tikus yang dikembangkan secara lokal hingga saat ini belum banyak ditemukan di Indonesia. Umumnya penelitian yang dilakukan menggunakan nilai profil hematologi berdasarkan acuan dari referensi asing (Lillie et al. 1996; Said dan Abiola 2014; Delwatta et al. 2018). Pada hewan pengerat, variasi nilai fisiologis antar galur dalam satu spesies sangat tinggi, termasuk nilai hematologi. Kisaran nilai hematologi normal bervariasi pada individu jantan dan betina serta perbedaan umur. Disamping itu, nilai hematologi juga dipengaruhi oleh kondisi geografis, seperti lokasi, iklim, suhu, kelembaban, ketinggian, dan pencahayaan, sehingga nilai hematologi bersifat spesifik untuk suatu tempat, tidak dapat digeneralisir (Fitria dan Sarto 2014). Pemeriksaan hematologi sangat penting dilakukan untuk menilai kesehatan awal hewan coba, sehingga penelitian yang dilakukan mendapatkan data yang valid. Selain itu, hematologi dapat digunakan untuk menilai keadaan penyakit yang terkait dengan gangguan darah, penyakit menular, sistem

kekebalan tubuh dan metabolisme lipoprotein, regulasi glukosa, serta fungsi hati dan ginjal (He et al. 2017). Berangkat dari kondisi tersebut, maka studi ini bertujuan untuk menyajikan gambaran hematologi normal hewan tikus galur *Sprague-Dawley* yang dikembangkan di Indonesia pada usia yang berbeda, yaitu 7 dan 10 minggu.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Hewan, Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), LAPTIAB, Kawasan PUSPIPTEK, Tangerang Selatan, Banten. Waktu penelitian dimulai dari bulan Maret–April 2018.

Bahan

Hewan coba dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Hewan Percobaan, Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yang beralamat di Jln. Percetakan Negara No.29, Johar Baru, Kec. Johar Baru, Kota Jakarta Pusat, Daerah Khusus Ibukota Jakarta 10560 (S 6° 11' 18.49"; E 106° 51' 32.659"). Hewan coba yang digunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* berusia 5 minggu pada saat tiba di Laboratorium Farmakologi dan Hewan, kemudian tikus dikondisikan dan dibesarkan hingga usia 7 dan 10 minggu (Gambar 1). Tikus mendapat pakan normal yang dibeli dari perusahaan

pakan lokal dengan komposisi protein 21%, lemak 4% dan serat 5% serta mendapat minum berupa air mineral.

Metode

Hewan coba dikelompokkan secara acak, dimana setiap kandang terdiri dari 3 ekor dan selanjutnya dipelihara pada kondisi percobaan hingga waktu pengujian selesai. Jumlah total hewan tikus yang digunakan sebanyak 60 ekor tikus jantan. Kondisi ruang pemeliharaan diatur sedemikian rupa dengan temperatur ruang 20–26°C, kelembaban 30–70%, pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap, serta memiliki aliran udara yang baik. Hewan coba mendapatkan pakan dan minum *ad-libitum*. Hewan yang sakit dengan ciri-ciri mata keruh, bulu berdiri dan memperlihatkan aktivitas motorik lemah tidak digunakan dalam pengujian (NRC 2011). Penimbangan berat badan tikus dilakukan dengan menggunakan neraca digital (KERN®) dan hasilnya dinyatakan dalam gram.

Pada saat hewan coba telah mencapai usia 7 minggu, tikus yang telah dipuaskan selama 8–10 jam sebelumnya (namun tetap diberikan minum) dilakukan pengambilan darah melalui sinus *retro-orbitalis* menggunakan tabung kapiler hematokrit. Darah ditampung ke dalam *microtube* yang telah berisi heparin dengan konsentrasi 0,1% (Parasuraman et al. 2010). Selanjutnya *microtube* digoyang secara perlahan-lahan dan segera dimasukkan ke dalam termos pendingin agar darah tidak mengumpal. Penentuan profil hematologi dilakukan menggunakan alat *Hematology Analyzer*



Gambar 1. Tikus jantan galur *Sprague-Dawley* usia 10 minggu (sumber: dokumen pribadi)

Sysmax XS-1000i yang menghasilkan parameter berupa jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, hematokrit, *Mean Corpuscular Volume (MCV)*, *Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH)*, *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC)*, jumlah total leukosit dan trombosit. Pada saat tikus telah berusia 10 minggu, dilakukan proses pengambilan darah dan pengukuran kadar hematologi seperti yang dilakukan pada minggu ke-7.

MCV atau volume eritrosit rata-rata adalah indeks untuk menentukan ukuran sel darah merah. Rumus untuk menghitung nilai MCV (fL) adalah jumlah hematokrit (%) dibagi jumlah eritrosit (sel μL^{-1}). Indeks MCH atau hemoglobin korpuskuler rata-rata merupakan nilai yang mengindikasikan berat hemoglobin rata-rata di dalam sel darah merah. Nilai MCH (pg sel^{-1}) ditentukan dengan cara jumlah hemoglobin (g dL^{-1}) dibagi jumlah eritrosit (sel μL^{-1}). Sedangkan indeks MCHC atau konsentrasi hemoglobin eritrosit rata-rata digunakan untuk mengukur hemoglobin rata-rata dalam sel darah merah. MCHC (g dL^{-1}) dihitung dengan cara membagi jumlah hemoglobin (g L^{-1}) \times 1000 dengan MCV (fL) \times jumlah eritrosit (sel μL^{-1}).

Data yang diperoleh dari hasil pengujian ditabulasi dan ditampilkan sebagai nilai rata-rata \pm standar deviasi. Data dilakukan analisis secara statistik dengan metode ANOVA untuk data parametrik dan *Kruskal-wallis* untuk data non parametrik dengan menggunakan program SPSS. Guna melihat sejauh mana perbedaan antara kelompok, analisis dilanjutkan dengan metode LSD untuk data parametrik dan *Mann Whitney* untuk data non parametrik. Adanya perbedaan antar kelompok dinyatakan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ dan $p < 0,10$. Analisis statistik dilakukan pada tingkat kepercayaan 95% dan 90% (Santosa 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil/gambaran hematologi pada tikus jantan galur *Sprague-Dawley* yang dilakukan pada usia hewan 7 dan 10 minggu. Pertimbangan pemilihan usia ini karena pada umumnya pengujian farmakologi dilakukan pada rentang usia tersebut. Usia tersebut tergolong pada tikus antara pra-dewasa sampai dewasa. Secara teknis akan sulit

mendapatkan sejumlah hewan uji dengan usia yang sama karena adanya variasi individu saat dilakukan *breeding* yang menyebabkan kelahiran anak tikus tidak bisa terjadi pada waktu yang sama. Penyebab lain adalah keterbatasan fasilitas *breeding* menyebabkan kemampuan untuk menyediakan hewan tikus dalam jumlah yang banyak pada usia yang sama sulit dilakukan. Dengan dilakukannya evaluasi pada kedua usia tersebut, akan diketahui gambaran hematologi pada masing-masing usia dan selanjutnya akan menjadi pertimbangan jika terjawab ada beberapa parameter yang berbeda secara signifikan.

Sebelum pengambilan darah, tikus dipuaskan terlebih dahulu selama *overnight* dan selanjutnya darah diambil dari sinus *retro-orbitalis*. Pengambilan darah dilakukan secara perlahan-lahan supaya tidak menyakitkan hewan coba dan dijaga supaya tidak terjadi gumpalan. Ke dalam *microtube* ditambah larutan antikoagulan heparin 0,1% dan digoyang perlahan-lahan untuk mencegah lisis dan menggumpal. Mengingat bahwa pengukuran hematologi merupakan pengukuran seluler, maka adanya gumpalan dapat mempengaruhi hasil, disamping juga menyebabkan sumbatan pada mesin pengukur. Pengukuran dilakukan menggunakan alat secara otomatis dan diperoleh hasil pengukuran jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, leukosit dan trombosit. Hasil pengukuran disajikan pada pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Berdasarkan tabel tersebut, nilai hasil pengukuran hematologi tidak banyak bervariasi untuk semua parameter pada tikus jantan usia 7 dan 10 minggu. Namun berdasarkan hasil analisa statistik terhadap ke-9 parameter uji tersebut menunjukkan ada perbedaan secara signifikan beberapa parameter uji antara tikus usia 7 dan 10 minggu. Perbedaan secara nyata ditemukan pada 6 jenis parameter uji yaitu jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCHC dan leukosit ($p < 0,05$ dan $p < 0,10$). Sementara jumlah MCH, trombosit dan berat badan tidak berbeda signifikan pada kedua usia pengukuran tersebut ($p > 0,05$ dan $p > 0,10$) seperti yang disajikan pada Gambar 2.

Perbedaan nilai parameter tersebut disebabkan karena profil hematologi dipengaruhi oleh beberapa faktor. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fitria dan

Tabel 1. Hematologi tikus jantan *Sprague-Dawley* usia 7 minggu

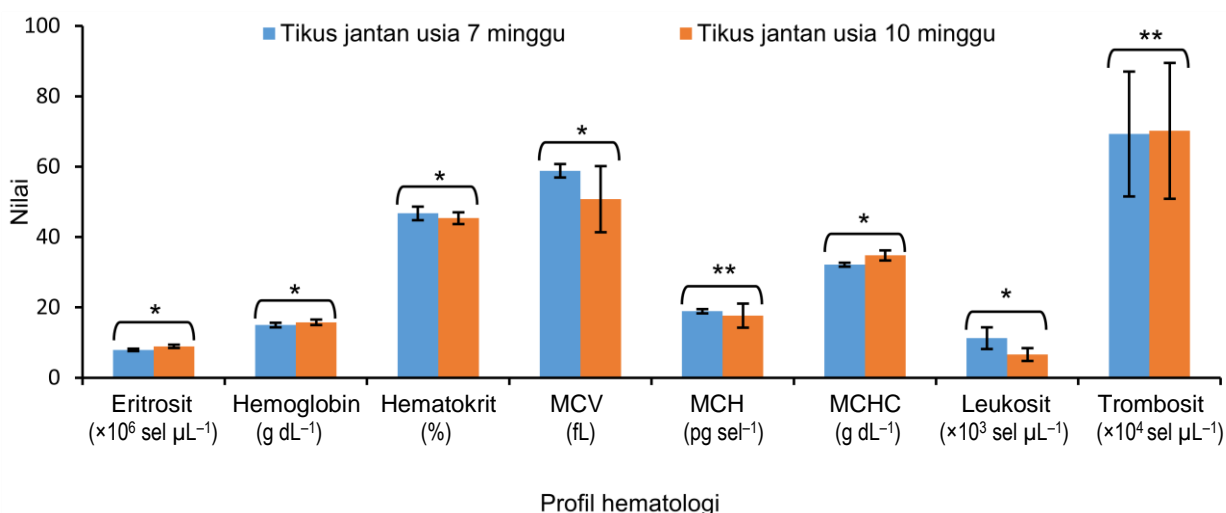
Parameter	Tikus Jantan <i>Sprague-Dawley</i> Usia 7 Minggu (n=30 ekor)			
	Nilai Rata-Rata ± SD	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi	Nilai Tengah (IQR)
Eritrosit ($\times 10^6$ sel μL^{-1})	7,93 ± 0,35	7,32	8,51	7,93 (0,50)
Hemoglobin (g dL^{-1})	14,99 ± 0,65	13,90	16,20	14,75 (0,95)
Hematokrit (%)	46,72 ± 1,93	43,70	51,70	46,60 (1,78)
MCV (fL)	58,84 ± 1,91	54,10	62,70	59,10 (2,68)
MCH (pg sel $^{-1}$)	18,91 ± 0,60	17,70	20,10	18,80 (0,88)
MCHC (g dL^{-1})	32,13 ± 0,56	31,30	33,90	32,00 (0,77)
Leukosit ($\times 10^3$ sel μL^{-1})	11,26 ± 3,08	6,93	20,48	10,67 (3,83)
Trombosit ($\times 10^4$ sel μL^{-1})	69,28 ± 17,74	31,60	97,60	73,25 (22,10)
Berat badan (g)	168,29 ± 7,79	155,20	180,80	170,60 (11,35)

Keterangan: SD = Standar Deviasi; MCV = *Mean Corpuscular Volume*; MCH = *Mean Corpuscular Haemoglobin*; MCHC = *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration*; IQR = *Interquartile range*

Tabel 2. Hematologi tikus jantan *Sprague-Dawley* usia 10 minggu

Parameter	Tikus Jantan <i>Sprague-Dawley</i> Usia 10 Minggu (n=30 ekor)			
	Nilai Rata-Rata ± SD	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi	Nilai Tengah (IQR)
Eritrosit ($\times 10^6$ sel μL^{-1})	8,94 ± 0,46	7,80	9,91	8,94 (0,44)
Hemoglobin (g dL^{-1})	15,77 ± 0,78	14,50	18,20	15,75 (0,95)
Hematokrit (%)	45,36 ± 1,67	41,70	48,10	45,50 (2,43)
MCV (fL)	50,76 ± 9,40	48,00	55,60	51,10 (2,10)
MCH (pg sel $^{-1}$)	17,67 ± 3,42	16,60	23,30	17,67(0,50)
MCHC (g dL^{-1})	34,78 ± 1,44	33,40	41,90	34,78 (0,58)
Leukosit ($\times 10^3$ sel μL^{-1})	6,61 ± 1,83	3,78	11,75	6,18 (1,77)
Trombosit ($\times 10^4$ sel μL^{-1})	70,18 ± 19,31	17,80	94,00	74,00 (22,30)
Berat badan (g)	171,50 ± 23,78	129,30	247,10	169,60 (24,40)

Keterangan: SD = Standar Deviasi; MCV = *Mean Corpuscular Volume*; MCH = *Mean Corpuscular Haemoglobin*; MCHC = *Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration*; IQR = *Interquartile range*



Gambar 2. Hematologi tikus *Sprague-Dawley* jantan usia 7 minggu dan 10 minggu

Sarto (2014) menunjukkan bahwa nilai hematologi sangat bersifat spesifik dan tidak dapat digeneralisir, dipengaruhi oleh kondisi geografis, seperti lokasi, iklim, suhu, kelembaban, ketinggian, dan pencahayaan.

Selanjutnya, peneliti lain menyatakan bahwa gambaran hematologi tikus pada usia 8–12 minggu yang dikembangbiakkan secara lokal menunjukkan hasil keseluruhan bersifat fluktuatif, nilai yang diperoleh cenderung

Tabel 3. Perbandingan hematologi tikus jantan *Sprague-Dawley* usia 7 minggu dan data dari literatur

Parameter	Data Hematologi Tikus Jantan <i>Sprague-Dawley</i>		
	Data Penelitian (7 minggu, n = 30)	Data Literatur* (3–7 minggu, n=141)	Data Literatur** (7–11 minggu, n=50)
Eritrosit ($\times 10^6$ sel μL^{-1})	7,93 \pm 0,35	7,11 \pm 0,35	8,09 \pm 0,77
Hemoglobin (g dL^{-1})	14,99 \pm 0,65	14,20 \pm 0,30	16,00 \pm 1,30
Hematokrit (%)	46,72 \pm 1,93	42,15 \pm 2,05	48,30 \pm 3,40
MCV (fL)	58,84 \pm 1,91	60,05 \pm 2,05	59,65 \pm 4,55
MCH (pg sel $^{-1}$)	18,91 \pm 0,60	20,05 \pm 0,75	19,65 \pm 1,05
MCHC (g dL^{-1})	32,13 \pm 0,56	33,75 \pm 1,25	32,85 \pm 1,55
Leukosit ($\times 10^3$ sel μL^{-1})	11,26 \pm 3,08	11,94 \pm 3,75	13,49 \pm 6,86
Trombosit ($\times 10^4$ sel μL^{-1})	69,28 \pm 17,74	105,45 \pm 15,55	124,85 \pm 34,55

Keterangan: *Giknis dan Clifford (2006), **Car et al. (2006)

Tabel 4. Perbandingan data hematologi tikus jantan *Sprague-Dawley* usia 10 minggu dan data dari literatur

Parameter	Data Hematologi Tikus Jantan <i>Sprague-Dawley</i>			
	Data Penelitian (10 minggu, n = 30)	Data Literatur* (8–12 minggu, n=23)	Data Literature** (8–12 minggu, n=549)	Data Literatur*** (7–11 minggu, n=50)
Eritrosit ($\times 10^6$ sel μL^{-1})	8,94 \pm 0,46	6,88 \pm 0,77	7,98 \pm 0,21	8,09 \pm 0,77
Hemoglobin (g dL^{-1})	15,77 \pm 0,78	13,7 \pm 1,02	15,2 \pm 0,80	16,00 \pm 1,30
Hematokrit (%)	45,36 \pm 1,67	38,15 \pm 3,19	44,25 \pm 3,05	48,30 \pm 3,40
MCV (fL)	50,76 \pm 9,40	55,62 \pm 2,91	56,25 \pm 3,25	59,65 \pm 4,55
MCH (pg sel $^{-1}$)	17,67 \pm 3,42	19,98 \pm 1,11	19,15 \pm 0,85	19,65 \pm 1,05
MCHC (g dL^{-1})	34,78 \pm 1,44	35,93 \pm 1,18	34,2 \pm 1,50	32,85 \pm 1,55
Leukosit ($\times 10^3$ sel μL^{-1})	6,61 \pm 1,83	7,35 \pm 1,78	12,05 \pm 1,96	13,49 \pm 6,86
Trombosit ($\times 10^4$ sel μL^{-1})	70,18 \pm 19,31	101,78 \pm 32,33	67,30 \pm 29,4	124,85 \pm 34,55

Keterangan: *tikus berasal dari *breeding* lokal (Kartika et al. 2014), ** dan *** tikus berasal dari *breeding* luar (Giknis dan Clifford 2006; Car et al. 2006)

berbeda dari referensi walaupun hasil masih dalam kisaran normal (Kartika et al. 2014). Penelitian sejenis pada laboratorium di luar negeri pada hewan coba tikus normal pada berbagai usia juga telah banyak dilakukan sebelumnya. Data menunjukkan bahwa adanya perbedaan usia, galur dan jenis pakan akan mempengaruhi gambaran hematologi (Lillie et al. 1996; Said dan Abiola 2014; Delwatta et al. 2018). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang melakukan pengukuran hematologi pada tikus jantan, galur *Sprague-Dawley* dengan usia yang hampir sama yang dikembangkan di Laboratorium Charles River. Data pengukuran disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4 (Car et al. 2006; Giknis dan Clifford 2006).

Profil hematologi merupakan komponen penting untuk mengetahui kondisi fisiologi hewan percobaan. Profil hematologi dilakukan untuk mengevaluasi keadaan darah dan komponen-komponennya. Pada

penelitian ini, pengamatan hematologi dilakukan terhadap parameter profil eritrosit, leukosit dan trombosit. Parameter profil leukosit seharusnya dilakukan terhadap parameter jumlah neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil. Namun, pada penelitian ini data tidak dicantumkan. Berdasarkan Tabel 3 dilihat bahwa hasil jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, dan leukosit pada tikus usia 7 minggu secara umum relatif sama dengan literatur (Car et al. 2006; Giknis dan Clifford 2006), tetapi jumlah trombosit cenderung lebih rendah dan di bawah kisaran normal. Pada Tabel 4 tampak bahwa semua parameter pemeriksaan hematologi tikus usia 10 minggu secara umum relatif sama dengan nilai literatur (Car et al. 2006; Giknis dan Clifford 2006; Kartika et al. 2014).

Profil eritrosit dilakukan terhadap parameter jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH dan MCHC. Eritrosit (sel darah merah) tikus berbentuk bulat, tidak

memiliki nukleus (*anucleate*), dilengkapi dengan cekungan (*bikonkaf*) pada bagian tengah, serta diameter sekitar 5,7–7,0 μm (Smith dan Jarecki 2011). Eritrosit mempunyai fungsi utama untuk mengangkut hemoglobin, membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan. Selain itu, eritrosit banyak mengandung enzim karbonat anhidrase yang dapat meningkatkan reaksi antara karbon dioksida dan air membentuk asam karbonat. Meningkatnya laju reaksi ini akan membuat air dalam darah mengangkut karbonat membentuk ion bikarbonat dari jaringan ke paru-paru (Boone et al. 2013). Jumlah eritrosit pada tikus jantan usia 10 minggu lebih tinggi dan berbeda signifikan ($p < 0,05$ dan $p < 0,10$) dibanding dengan usia 7 minggu. Nilai ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan Wolford et al. (1987) serta Giknis dan Clifford (2006). Jumlah eritrosit tikus cenderung meningkat sejalan dengan bertambahnya usia tikus dan kemudian mengalami penurunan pada usia tertentu. Menurut Wolford et al (1987), tikus usia 2–3 bulan adalah tikus yang memiliki jumlah eritrosit tertinggi. Sedangkan menurut data Giknis dan Clifford (2006), tikus usia 13–65 minggu merupakan tikus dengan nilai eritrosit tertinggi. Peningkatan jumlah eritrosit ini dipengaruhi oleh tingginya nilai hematokrit dan hemoglobin pada darah tikus, namun demikian alasan ini tidak dijelaskan secara rinci dan hanya berdasarkan data (Giknis dan Clifford 2006).

Hemoglobin merupakan suatu kompleks protein-porfirin yang mengandung zat besi. Hemoglobin bagian terpenting pada eritrosit karena hemoglobin mengisi hampir 32% setelah air, karbohidrat dan lemak. Hemoglobin merupakan protein yang memiliki berat molekul sekitar 67.000 yang terdiri dari empat kelompok heme dan satu kelompok globin. Globin dibentuk oleh empat ikatan polipeptida yang masing-masing terdiri dari satu kelompok heme. Setiap kelompok heme mengandung satu atom besi yang akan berikatan dengan satu molekul oksigen (Reece dan Rowe 2017). Hemoglobin berperan penting untuk mengikat, mengedarkan dan mengirim oksigen ke jaringan tubuh (Thomas dan Lumb et al. 2012). Hasil pengukuran kadar hemoglobin pada tikus usia 10 minggu lebih tinggi dan berbeda signifikan dibanding dengan tikus usia 7 minggu ($p < 0,05$ dan $p < 0,10$). Hasil

penelitian Giknis dan Clifford (2006) melaporkan bahwa jumlah hemoglobin pada tikus jantan meningkat seiring dengan bertambahnya usia tikus 3–65 minggu. Jika dibandingkan dengan data literatur pada Tabel 3 dan 4, nilai hemoglobin tikus usia 7 dan 10 minggu masuk dalam rentang normal. Nilai hemoglobin pada tikus sangat bervariasi tergantung pada jenis kelamin, usia dan kondisi kesehatan hewan coba (Smith dan Jarecki 2011).

Persentase hematokrit adalah perbandingan eritrosit terhadap volume darah. Nilai hematokrit pada tikus jantan usia 7 minggu lebih tinggi dan berbeda signifikan dengan tikus 10 minggu ($p < 0,05$ dan $p < 0,10$). Hasil penelitian ini berlawanan dengan hasil penelitian yang dilakukan Giknis dan Clifford (2006) yang melaporkan bahwa nilai hematokrit meningkat sejalan dengan bertambahnya usia tikus 3–65 minggu. Pada Tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa kedua usia tikus tersebut memiliki nilai hematokrit relatif sama dengan nilai kisaran normal (Car et al. 2006; Giknis dan Clifford 2006; Kartika et al. 2014).

Indeks eritrosit diukur terhadap parameter MCV, MCH dan MCHC. Hasil pengukuran nilai MCV dan MCHC terdapat perbedaan yang signifikan pada tikus usia 7 dan 10 minggu. Namun, nilai MCH tidak berbeda secara signifikan untuk tikus usia 7 dan 10 minggu ($p > 0,05$ dan $p > 0,10$). Penambahan usia tikus dapat meningkatkan jumlah eritrosit, sehingga dapat memicu penurunan nilai MCV dan MCH. Nilai MCH menunjukkan kemampuan sel darah merah untuk mentransportasikan oksigen dari paru-paru ke jaringan pada tikus tidak berbeda. Nilai rata-rata indeks eritrosit pada tikus usia 7 dan 10 minggu cenderung lebih rendah dibanding dengan literatur tetapi masuk dalam rentang normal.

Leukosit atau sel darah putih merupakan sel yang bertanggungjawab terhadap sistem pertahanan tubuh. Leukosit memiliki variasi yang luas pada perhitungan jumlah sel total. Selain perhitungan jumlah leukosit, diferensiasi butir darah putih yang mencakup limfosit, netrofil, monosit, eosinofil dan basofil memberikan indikasi terhadap reaksi infeksi. Limfosit merupakan sel darah putih yang terbanyak dalam darah tepi dan relatif homogen pada subjek yang sehat. Netrofil merupakan sel leukosit yang paling

banyak setelah limfosit. Pada hewan sehat jumlah monosit lebih rendah dan dapat mencapai 6% dari diferensiasi. Basofil jarang ditemukan atau tidak ada pada beberapa galur tikus (Smith dan Jarecki 2011). Pada penelitian ini pengukuran hanya dilakukan pada jumlah total leukosit. Hasil pengukuran menunjukkan jumlah leukosit tikus jantan usia 10 minggu lebih rendah dan berbeda signifikan dibanding usia 7 minggu ($p < 0,05$ dan $p < 0,10$). Nilai ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Giknis dan Clifford (2006), dimana jumlah leukosit tikus mengalami penurunan seiring bertambahnya usia tikus. Menurut Wolford et al. (1987), penurunan jumlah leukosit tikus mungkin dikarenakan adanya penurunan jumlah limfosit, peningkatan jumlah neutrofil dan eosinofil.

Trombosit atau platelet merupakan sel berbentuk bulat, oval hingga memanjang dengan diameter berukuran 1–4 μm (Lindstrom et al. 2015). Trombosit merupakan garis pertahanan pertama dalam melawan pendarahan, berkontribusi dalam proses trombosis, inflamasi dan neoplasia (Holinstat et al. 2017). Nilai normal trombosit tikus pada perbedaan usia sangat bervariasi (Car et al. 2006; Giknis dan Clifford 2006; Kartika et al. 2014). Berdasarkan pada Tabel 3 dan Tabel 4, tikus usia 7 minggu memiliki nilai trombosit lebih rendah dan tikus usia 10 minggu memiliki nilai relatif sama dengan nilai normal dari literatur (Car et al 2006; Giknis dan Clifford 2006; Kartika et al. 2014). Namun, secara statistik nilai trombosit pada kedua usia tikus tersebut tidak berbeda nyata ($p > 0,05$ dan $p > 0,10$). Adanya perbedaan pada hasil uji dengan nilai literatur merupakan hal yang wajar karena berhubungan dengan prosedur dan teknik pengambilan darah, pengaruh antikoagulan dan kondisi penyimpanan sampel uji (Cora et al. 2012; Kartika et al. 2014; Fitria et al. 2016).

Nilai profil hematologi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya praanalitik dan analitik. Faktor praanalitik diantaranya umur, jenis kelamin, kebutuhan pakan, teknik pemeliharaan, tingkat stress, penggunaan antikoagulan, kecepatan sentrifugasi dan kondisi penyimpanan sampel. Sedangkan yang mempengaruhi faktor analitik yaitu metodologi yang digunakan, kualitas reagen, stabilitas analit dan variabel biologi (Smith dan Jarecki 2011).

Tikus dan hewan pengerat lainnya memiliki bentuk dan morfologi sel darah (eritrosit, leukosit dan hematokrit) lebih kecil dibanding dengan sel darah manusia, namun secara struktur dan fungsi memiliki kesamaan. Tikus memiliki jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit lebih tinggi dibanding dengan manusia (Bailly dan Duprat 1990). Berdasarkan tingkat perkembangan, tikus dibagi menjadi empat fase, yaitu neonatal (usia tikus umur 0–2 minggu), menyapih (usia tikus 3–4 minggu), pradewasa (usia tikus 5–8 minggu) dan dewasa (usia 9–14 minggu) (Andreollo et al. 2012). Dengan demikian nilai hematologi normal tidak dapat ditentukan berdasarkan referensi secara umum tetapi perlu memperhatikan umur tikus dan sumber tempat penyedia tikus yang digunakan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa profil hematologi tikus jantan galur *Sprague-Dawley* dari sumber lokal usia 7 dan 10 minggu menunjukkan perbedaan yang signifikan untuk parameter eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCHC dan leukosit, tetapi tidak berbeda signifikan untuk MCH dan trombosit. Hasil ini secara umum relatif sama dengan nilai pada literatur, meskipun nilai trombosit pada tikus usia 7 minggu lebih rendah dan berbeda dengan literatur. Tikus pada kedua usia ini berada dalam kondisi sehat sehingga dapat digunakan sebagai hewan coba.

Tikus sebagai hewan model harus memenuhi persyaratan diantaranya sehat, asal dan galur yang digunakan harus jelas, jenis kelamin tertentu, rentang usia tidak jauh berbeda, berat badan merata untuk semua kelompok dan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian, misalnya pada uji toksisitas akut digunakan tikus usia 8–12 minggu karena pada rentang usia tersebut banyak proses perkembangan yang sedang berlangsung, diantaranya perubahan fisiologi dan reproduksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Pusat Teknologi Farmasi dan Medika - BPPT yang telah memfasilitasi penelitian ini. Terima

kasih juga kepada semua pihak yang mendukung hingga penelitian ini berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen ML, e Costa RM, e Costa MFO (2016) Rats. In: Andersen ML, Tufik S (Eds). Rodent model as tools in ethical biomedical research. Springer International Pub Switzerland, pp 61–64. doi: 10.1007/978-3-319-11578-8_7
- Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR (2012) Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig.* 25:49–51. doi:10.1590/s0102-67202012000100011
- Bailly Y, Duprat P (1990) Normal blood cell values, rat. In: Jones TC, Ward JM, Mohr U, Hunt RD (Eds). Hemopoietic system. Monographs on pathology of laboratory animals. Springer, Berlin, pp 27–38. doi: 10.1007/978-3-642-84110-1_3
- Baumans V (2016) The aspects of the use of rodents in experimental research. In: Andersen ML, Tufik S (Eds). Rodent model as tools in ethical biomedical research. Springer International Pub Switzerland, pp 7–12. doi: 10.1007/978-3-319-11578-8_2
- Boone CD, Gill S, Habibzadegan A, Robert McKenna (2013) Carbonic anhydrase: An efficient enzyme with possible global implications. *Int J Chem Eng* 2013:1–6. ID 813931. doi: 10.1155/2013/813931
- BPOM (2014) Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 tahun 2014 tentang Pedoman uji toksisitas nonklinik secara *in vivo*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta
- Car BD, Eng VM, Everds NE, Bounous DI (2006) Clinical pathology of the rat. In: Suckow M, Weisbroth S, Franklin C (Eds). The laboratory rat. 2nd Edition. American College of Laboratory, Animal Medicine Series. Academic Press, Elsevier Inc, New York, pp 127–146. doi: 10.1016/B978-012074903-4/50008-X
- Cora MC, King D, Betz LJ, Wilson R, Travlos GS (2012) Artifactual changes in *Sprague-Dawley* rat hematologic parameters after storage of samples at 3°C and 21°C. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 51:616–621. PMID: 23312091
- Delwatta SL, Gunatilake M, Baumans V, Seneviratne MD, Dissanayaka MLB, Batagoda SS, Udagedara AH, Walpola PB (2018) Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of *Sprague-Dawley* rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Anim Model Exp Med* 1:1–5. doi: 10.1002/ame2.12041
- Fitria L, Sarto M (2014) Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu. *Biogenesis* 2:94–100. doi: 10.24252/bio.v2i2.473
- Fitria L, Illiy LL, Dewi IR (2016) Pengaruh antikoagulan dan waktu penyimpanan terhadap profil hematologis tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur wistar. *Biosfera* 33:22–30. doi: 10.20884/1.mib.2016.33.1.321
- Thomas C, Lumb AB (2012) Physiology of haemoglobin. *BJA Education* 12:251–256. doi: 10.1093/bjaceaccp/mks025
- Giknis MLA, Clifford CB (2006) Clinical laboratory parameters for Crl:CD(SD) rats. Charles River Lab, Wilmington USA
- Gileta AF, Fitzpatrick CJ, Chitre AS, St Pierre CL, Joyce EV, Maguire RJ, McLeod AM, Gonzales NM, Williams AE, Morrow JD, Robinson TE, Flagel SB, Palmer AA (2018) Genetic characterization of outbred Sprague Dawley rats and utility for genome-wide association studies. *BioRxiv* 412924. doi: 10.1101/412924
- He Q, Su G, Liu K, Zhang F, Jiang Y, Gao J, Liu L, Jiang Z, Jin M, Xie H (2017) Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in *Sprague-Dawley* rats using the nonparametric rank percentile method. *PLoS One* 12:e0189837. doi: 10.1371/journal.pone.0189837
- Holinstat M (2017) Normal platelet function. *Cancer metastasis reviews* 36:195–198. doi: 10.1007/s10555-017-9677-x
- Ihedioha JI, Okafor C, Ihedioha TE (2004) The haematological profile of the *Sprague-Dawley* outbred albino rat in Nsukka, Nigeria. *Anim Res Int* 1:125–132. doi: 10.4314/ari.v1i2.40755
- Johnson M (2012) Laboratory mice and rats. *Mater Methods* 2012 2:113. doi: 10.13070/mm.en.2.113

- Kartika D, Dewi FNA, Iskandriati D, Winoto I, Permanawati, Narani A, Suhartin, Budiarsa IN (2014) Nilai parameter hematologi tikus *Sprague Dawley* dan mencit Balb/C di Indonesia sebagai referensi dalam penelitian biomedis. HL-03, pp 109-111. Pros Konferensi Ilm Vet Nas (KIVNAS) ke-13, 23–26 November 2014, Palembang
- Lillie LE, Temple NJ, Florence LZ (1996) Reference values for young normal *Sprague-Dawley* rats: Weight gain, hematology and clinical chemistry. *Hum Exp Toxicol* 15:612–616. doi: 10.1177/096032719601500802
- Lindstrom NM, Moore DM, Zimmerman K, Smith SA (2015) Hematologic assessment in pet rats, mice, hamsters, and gerbils: Blood sample collection and blood cell identification. *Clin Lab Med* 35:629–640. doi: 10.1016/j.cll.2015.05.011
- NRC (2011) Guide for the care and use of laboratory animals, 8th Edition. National Research Council, Institute for Laboratory Animal Research. The National Academies Press, Washington DC. doi: 10.17226/12910
- Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R (2010) Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother* 1:87–93. doi:10.4103/0976-500X.72350
- Reece WO, Rowe EW (2017) Functional anatomy and physiology of domestic animals, 5th Edition. Wiley Blackwell, New York
- Said NM, Abiola O (2014) Haematological profile shows that inbred *Sprague Dawley* rats have exceptional promise for use in biomedical and pharmacological studies. *Asian J Biomed Pharm Sci* 4:33–37. doi: 10.15272/ajbps.v4i37.597
- Smith C, Jarecki A (2011) Atlas of comparative diagnostic and experimental hematology. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, Hong Kong. doi: 10.1002/9781118785072
- Vandamme TF (2014) Use of rodents as models of human diseases. *J Pharm Bioallied Sci* 6:2–9. doi: 10.4103/0975-7406.124301
- Wolford ST, Schroer RA, Gallo PP, Gohs FX, Brodeck M, Falk HB, Ruhren R (1987) Age-related changes in serum chemistry and hematology values in normal *Sprague-Dawley* rats. *Toxicol Sci* 8:80–88. doi: 10.1093/toxsci/8.1.80