

Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu

LAKSMINDRA FITRIA¹, MULYATI SARTO¹

¹Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Selatan Sekip Utara Sleman Yogyakarta 55281
email: laksmindraf@ugm.ac.id

ABSTRACT

Animal model is very important in biomedical research. Prior to apply in human or other primates, experiments using lower animals model such as rodents must be conducted (preclinical studies). Wistar rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) are used extensively for in vivo studies, particularly in physiology. However, their normal hematology profile for baseline or control has not been yet available locally. Many researchers adopt data from general references such as clinical or laboratory manual books, journals, textbooks, or other resources, which definitely affect the validity of their results. This study was carried out to provide normal hematology profile of male and female Wistar rats bred in animal house of Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM). Subjects were four-, six-, and eight-week-old rats, representative for juvenile/ immature, preadult, and adult/mature, respectively. Procedures following routine standard method in hematology: blood withdrawal from sinus retro-orbitalis of ketamine-anesthetized animals and analysis using Hematology Analyzer. Variables were number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, number of leukocytes and differential count, number of thrombocytes, and body mass. Results indicated that hematology profile and body mass of rats from different sex and different age were varied. It is fundamental to have local baseline data, which directly come from animal house. Adoption from other references should be avoid due to generality or unspecified animal, lack of information on methods, and some works have already outdated. Different sex, age, environmental factors, and method affect physiological condition in animals, result in different hematology profile.

Keywords: erythrocytes, hematology, leukocytes, thrombocytes, Wistar rats

PENDAHULUAN

Hewan model (hewan coba) sangat diperlukan dalam penelitian *in vivo* di bidang biomedik (Hewitt *et al.*, 1989; Iheidioha *et al.*, 2012), terutama untuk kajian imunologi, onkologi, fisiologi, patologi, toksikologi, farmakologi, dan neurosains (Johnson, 2012; Iheidioha *et al.*, 2012).

Sebelum diaplikasikan kepada manusia atau primata lainnya, serangkaian percobaan menggunakan hewan model harus dilakukan terlebih dahulu (disebut penelitian praklinik). Anggota Rodentia seperti tikus (*Rattus norvegicus*) dan mencit (*Mus musculus*) sering dijadikan hewan model karena memiliki sistem faal yang mirip dengan manusia (Smith and Mangkoewidjojo, 1988; Johnson, 2012).

Tikus Wistar adalah salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan sebagai model dalam penelitian biomedik (Johnson,

2012). Tikus Wistar (albino) dikembangkan pertama kali di Wistar Institute (Philadelphia, PA) pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTARAT[®] (Clause BT, 1998; Wistar Institute, 2014). Galur ini terus dibiakkan hingga kini karena ideal sebagai hewan model untuk berbagai tujuan penelitian (River, 1998).

Darah merupakan komponen yang sangat penting karena berfungsi untuk mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses-proses metabolisme. Oleh karena itu darah menjadi salah satu parameter pokok dalam penelitian praklinik/biomedik. Hematologi adalah ilmu yang mempelajari cara penilaian darah. Nilai hematologi (profil darah) berguna untuk menilai kondisi kesehatan dan sebagai acuan nilai awal (*baseline*) atau kontrol dalam suatu penelitian. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur dan/atau fungsi

organ, pengaruh agen/obat, dan stres dapat diketahui dari perubahan profil darah (Iheidioha *et al.*, 2012).

Profil darah normal untuk tikus Wistar belum banyak tersedia secara lokal. Masih banyak peneliti yang mengacu nilai hematologi normal dari referensi seperti buku-buku, jurnal, dan sumber-sumber lain yang bersifat umum, tidak spesifik untuk tikus Wistar. Pada *Rodentia*, variasi nilai fisiologis antar galur dalam satu species sangat tinggi, termasuk nilai hematologi. Kisaran nilai hematologi normal bervariasi pada individu jantan dan betina, serta perbedaan umur (Jain, 1986 *in* Smith *et al.*, 1994; River, 1998). Di samping itu, nilai hematologi juga dipengaruhi oleh kondisi geografis, seperti lokasi, iklim, suhu, kelembapan, ketinggian, dan pencahayaan (Iheidioha *et al.*, 2012), sehingga nilai hematologi bersifat spesifik untuk suatu tempat, tidak dapat digeneralisir.

Penelitian ini bertujuan untuk menyediakan data hematologi normal tikus Wistar berdasarkan jenis kelamin dan umur.

METODE

Semua hewan uji dalam penelitian ini merupakan hasil pengembangbiakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM Unit IV) sebagai penyedia hewan coba (*animal house*) yang melayani kebutuhan penelitian di seluruh Indonesia.

Pemeliharaan telah diupayakan memenuhi standar, meliputi: status kesehatan dan kualitas hewan, pengandangan, pemberian pakan dan minum, kebersihan, pemantauan faktor-faktor lingkungan seperti temperatur, kelembapan, pencahayaan, dan kualitas udara, sistem

pengembangbiakan yang tercatat, serta teknisi yang berpengalaman (Carlsson, 2008).

Profil hematologi telah ditentukan pada hewan umur 3-12 minggu (lepas saphi sampai dengan dewasa) namun hasil yang ditampilkan adalah untuk umur 4, 6, dan 8 minggu saja. Menurut Fitria dkk. (2009), tikus umur 4, 6, dan 8 minggu adalah yang paling sering digunakan dalam penelitian fisiologis yang dikaitkan dengan fungsi reproduktif. Masing-masing kelompok umur terdiri atas lima ulangan yang diambil secara acak.

Tikus dianestesi secara *intramuskular* menggunakan ketamin dosis 50 mg/kg bb, kemudian ditimbang dan dicatat massa tubuh/berat badannya menggunakan neraca digital Ohaus[®], dan dinyatakan dalam "gram".

Darah diambil dari sinus retro-orbitalis menggunakan kapilar hematokrit, ditampung ke dalam *microtube* yang telah ditambahkan bubuk EDTA. Penentuan profil hematologi menggunakan *Hematology Analyzer Sysmax KX-21[®]*. Hasil yang diperoleh adalah: (1) **Profil eritrosit:** jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan persentase hematokrit. Melalui alat ini diperoleh juga nilai MCV, MCH, dan MCHC namun hasilnya tidak ditampilkan di sini; (2) **Profil leukosit:** jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, jumlah limfosit, dan *mixed* (gabungan jumlah monosit, eosinofil, dan basofil); (3) **Profil trombosit:** jumlah trombosit.

Data yang diperoleh ditabulasi dan ditampilkan sebagai "rerata \pm sd".

HASIL

Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar jantan dan betina disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2 berikut ini.

Tabel 1. Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar jantan umur 4, 6, dan 8 minggu yang dikembangbiakkan di LPPT-UGM Unit IV

Variabel	Umur (minggu)		
	4	6	8
Eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4,87 $\pm 0,81$	6,22 $\pm 1,93$	5,50 $\pm 0,32$
Hemoglobin (g/dL)	10,09 $\pm 0,34$	14,67 $\pm 3,52$	10,63 $\pm 0,26$

Hematokrit (%)	43,89 ±1,42	48,42 ±5,57	52,17 ±5,14
Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8,05 ±2,27	7,16 ±2,51	8,08 ±1,08
Neutrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2,93 ±0,14	2,43 ±0,23	2,24 ±0,08
Limfosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5,03 ±0,14	4,60 ±0,14	5,56 ±0,05
<i>Mixed</i> ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,091 ±0,14	0,13 ±0,14	0,29 ±0,06
Trombosit ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	2,28 ±0,49	2,01 ±0,38	1,47 ±0,41
Berat badan (g)	62,36 ±3,82	163,50 ±13,09	196,78 ±21,63

Tabel 2. Profil hematologi dan berat badan tikus Wistar betina umur 4, 6, dan 8 minggu yang dikembangbiakkan di LPPT-UGM Unit IV

Variabel	Umur (minggu)		
	4	6	8
Eritrosit ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,16 ±0,80	6,67 ±0,18	6,92 ±0,38
Hemoglobin (g/dL)	11,12 ±1,75	12,52 ±0,95	13,44 ±0,55
Hematokrit (%)	31,80 ±4,59	36,84 ^b ±2,29	38,06 ±1,61
Leukosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6,58 ±1,16	4,90 ±0,76	5,36 ±1,21
Neutrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1,34 ±0,46	1,06 ±0,26	1,18 ±0,28
Limfosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5,24 ±1,36	3,84 ±0,74	4,12 ±1,24
<i>Mixed</i> ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,06 ±0,13
Trombosit ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	7,11 ±2,20	6,79 ±3,20	8,39 ±1,18
Berat badan (g)	59,90 ±2,30	132,28 ±5,86	151,60 ±8,54

Jumlah eritrosit hewan jantan lebih rendah daripada betina. Jumlah eritrosit pada jantan fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 6 minggu, sedangkan pada betina jumlah eritrosit meningkat seiring pertambahan umur.

Kadar hemoglobin hewan jantan lebih rendah daripada betina. Kadar hemoglobin pada jantan fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 6 minggu (lebih tinggi daripada betina), sedangkan pada betina kadar hemoglobin meningkat seiring pertambahan umur.

Nilai hematokrit hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Nilai hematokrit pada jantan dan betina meningkat seiring pertambahan umur.

Jumlah leukosit hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Jumlah leukosit pada jantan dan betina fluktuatif, nilai terendah saat umur 6 minggu.

Jumlah neutrofil hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Jumlah neutrofil pada jantan menurun seiring pertambahan umur, sedangkan pada betina fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 4 minggu.

Jumlah limfosit hewan jantan lebih tinggi daripada betina kecuali saat umur 4 minggu. Jumlah limfosit pada jantan dan betina fluktuatif dengan nilai terendah saat umur 6 minggu.

Jumlah monosit, eosinofil dan basofil (*mixed*) hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Jumlah *mixed* pada jantan dan betina meningkat seiring pertambahan umur.

Jumlah trombosit hewan jantan lebih rendah daripada betina. Jumlah trombosit pada jantan menurun seiring pertambahan umur, sedangkan pada betina fluktuatif dengan nilai tertinggi saat umur 8 minggu.

Massa tubuh atau berat badan hewan jantan lebih tinggi daripada betina. Massa tubuh pada jantan dan betina bertambah seiring dengan pertambahan umur.

PEMBAHASAN

Profil normal merupakan sekumpulan nilai-nilai fisiologis (salah satunya adalah profil hematologi) yang diperoleh dari suatu populasi hewan sehat (sample). Populasi dalam konteks ini mengacu pada tempat asal

hewan coba diperoleh (Iheidioha *et al.*, 2012). Dalam kenyataannya, masih banyak peneliti yang mengacu profil hematologi normal berdasarkan referensi umum dan bukan dari penyedia hewan coba setempat (lokal). Literatur yang digunakan kadang berasal dari luar negeri, tidak spesifik untuk tikus Wistar, tidak dibedakan jenis kelamin dan umur, serta umur data telah usang.

Benjamin (1964) dan Mitruka and Rawnsley (1981) menyajikan profil hematologi normal untuk tikus secara umum, tidak ada spesifikasi galur, jenis kelamin, dan umur. Selain itu umur data telah cukup tua. Sementara itu Moore (1986) menyajikan profil hematologi normal untuk beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian, yaitu Wistar, Sprague-Dawley, Long-Evans, dan F344, telah dibedakan berdasarkan jenis kelamin dan umur, namun umur data juga sudah cukup lama. Ketiga acuan ini menggunakan tikus yang dikembangbiakkan di luar negeri dengan kondisi lingkungan yang tidak sama dengan di Indonesia.

Smith dan Mangkoewidjojo (1988) mempublikasikan nilai hematologi normal untuk tikus yang dikembangbiakkan di negara tropis seperti Indonesia, namun juga masih secara umum, tidak spesifik untuk galur Wistar, dan tidak dirinci berdasarkan jenis kelamin dan umur. Di samping itu tidak ada informasi sumber hewan dan tempat pemeliharaan serta umur data yang juga sudah cukup lama.

Charles River Laboratories mempublikasikan data hematologi normal khusus untuk tikus Wistar yang dikembangbiakkan sendiri (River, 1998). Data telah dikelompokkan berdasarkan jenis kelamin dan umur, lebih lengkap, dan lebih baru namun hewan dikembangbiakkan di Amerika Serikat.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk menentukan profil hematologi normal tikus Wistar yang dikembangbiakkan di Indonesia dan telah dikelompokkan berdasarkan jenis kelamin dan umur.

Darah merupakan komponen penting dalam penilaian kondisi fisiologis tubuh. Profil

darah dapat dibedakan menjadi dua, yaitu: profil hematologi atau hitung lengkap (*complete blood count*, CBC) dan profil kimia darah (*blood clinical chemistry*). Profil hematologi mengevaluasi komponen selular, sedangkan profil kimia darah mengevaluasi komponen dalam cairan darah (Mitruka and Rawnsley (1981); River, 1998).

Eritrosit berkaitan dengan fungsi penyediaan oksigen untuk kebutuhan energi dalam rangka metabolisme. Selain itu eritrosit juga berkaitan dengan aktivitas dan stres. Tikus yang dipuaskan selama 17-20 jam akan mengalami peningkatan jumlah eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit, sebaliknya terjadi penurunan jumlah leukosit (Kast and Nishikawa, 1981 in Smith *et al.*, 1994). Oleh karena itu hendaknya tidak memuaskan tikus (juga mencit) *overnight*. Bila dalam penelitian membutuhkan perlakuan puasa, maka tikus dan mencit cukup dipuaskan selama 6-8 jam saja (Carlson, 2008).

Leukosit berhubungan erat dengan sistem pertahanan tubuh. Neutrofil bertanggung jawab terhadap respon imun bawaan, sedangkan limfosit memegang peranan penting dalam respon imun adaptif. Monosit, eosinofil, dan basofil dalam kondisi normal jumlahnya sangat sedikit, akan meningkat oleh kondisi patologis. Trombosit merupakan komponen utama dalam koagulasi darah dalam rangka hemostasis.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini mengakumulasi jumlah monosit, eosinofil, dan basofil sebagai *mixed*. Dalam penelitian, apabila pada kelompok perlakuan memiliki nilai *mixed* yang besarnya melebihi kisaran nilai normal (*baseline* atau kontrol), maka harus dilakukan penghitungan secara manual untuk mendapatkan nilai masing-masing leukosit tadi sehingga dapat dijelaskan leukosit manakah yang merespon terhadap perlakuan yang diberikan.

Massa tubuh hewan jantan yang lebih tinggi dibandingkan betina merupakan ekspresi androgen (testosteron) yang berperan dalam mengendalikan pertumbuhan, dimulai pada masa pubertas dengan target kulit, otot, tulang, serta metabolisme air dan garam (Kaltenback and Dunn, 1980). Testosteron

juga memiliki efek stimulasi terhadap eritropoiesis yang berkorelasi dengan umur, yaitu melalui peningkatan kadar eritropoietin dan bekerja langsung pada sumsum tulang (Coviello *et al.*, 2008).

Kisaran nilai hematologi normal bervariasi pada individu jantan dan betina, serta perbedaan umur. Pada umumnya eritrosit, hemoglobin, hematokrit, leukosit, dan trombosit lebih tinggi pada hewan jantan dibandingkan betina. Jumlah eritrosit meningkat seiring pertambahan umur, demikian juga kadar hemoglobin. Sebaliknya jumlah leukosit total, neutrofil, limfosit, dan trombosit menurun seiring pertambahan umur (Smith *et al.*, 1994). Dalam penelitian ini, sebagian variabel sesuai dengan Smith *et al.* (1994), namun sebagian lagi bertolak belakang, seperti jumlah eritrosit, hemoglobin, dan trombosit pada hewan jantan yang lebih rendah dibandingkan betina. Menurut Iheidioha *et al.* (2012), profil hematologi bervariasi tergantung dari kondisi geografis dan faktor lingkungan setempat. Hasil pengukuran profil darah tikus Wistar di negara tropis pasti berbeda dari yang dilakukan di negara empat musim.

Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nilai hematologi antara tikus Wistar jantan dan betina. Nilai ini mengalami peningkatan, penurunan, dan bahkan berfluktuasi pada kelompok umur yang berbeda. Perubahan nilai ini dipengaruhi oleh kebutuhan yang berbeda pada kelompok umur yang berbeda, berkaitan dengan fungsi pertumbuhan dan perkembangan/reproduktif.

Menurut Fitria dkk. (2009), tikus umur 4, 6, dan 8 minggu adalah yang paling sering digunakan dalam penelitian fisiologis yang dikaitkan dengan fungsi reproduktif. Hal ini didasarkan pada tingkat perkembangan reproduksi, yaitu: 4 minggu untuk stadium muda (*juvenile, immature*), 6 minggu untuk stadium pradewasa (*preadult*), dan 8 minggu untuk stadium dewasa awal (*adult, mature*).

Di samping faktor internal seperti jenis kelamin, umur, dan kondisi patologis, beberapa faktor eksternal dan teknis juga mempengaruhi hasil penilaian, seperti: faktor

lingkungan, pakan, teknik pemeliharaan, cara sampling darah, dan metode penghitungan, apakah manual atau menggunakan alat/mesin (Smith *et al.*, 1994).

Oleh karena itu nilai normal tidak dapat ditentukan begitu saja berdasarkan referensi secara umum. Nilai normal yang valid ditentukan secara lokal, yaitu berasal dari laboratorium atau *animal house* sebagai tempat penyedia, pemelihara, dan pengembangbiakan hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian.

KESIMPULAN

Tikus Wistar jantan dan betina pada kelompok umur yang berbeda memiliki profil hematologi dan massa tubuh yang berbeda pula. Hasil dalam penelitian ini untuk hewan-hewan yang dikembangbiakkan di LPPT-UGM Unit IV. Hewan dari galur yang sama namun dikembangbiakkan di tempat yang berbeda, atau yang telah mengalami aklimasi dapat memiliki profil hematologi dan massa tubuh yang berbeda. Oleh karena itu, nilai normal hendaknya tidak hanya berdasarkan referensi umum saja, namun mengacu ke tempat hewan coba diperoleh (*local animal house*).

Pembuatan *baseline* sebagai acuan nilai awal (kontrol) sangat penting untuk penelitian deskriptif maupun eksperimental serta keperluan diagnostik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM Unit IV) yang telah menyediakan hewan coba dan memfasilitasi penelitian ini. Terima kasih juga kepada para mahasiswa atas kerja samanya dalam penelitian ini: Bakti Budi Utami, Nurul Sekar Winahyu, Dessy Arum Prawestri, Fera Lestyana Devi, Abdullah Langgeng, dan Farah Mawar Firdausi.

DAFTAR PUSTAKA

Clause BT. 1998. The Wistar Institute Archives: Rats (Not Mice) and History. Mendel Newsletter 7. Hannover: American Philosophical Society Library.

<http://www.amphilsoc.org/mendel/1998>. Diakses 21 November 2014.

- Benjamin MM. 1964. Hematological References Values of Rats. In: Outline of Veterinary Clinical Pathology. 2nd ed. Iowa: The Iowa State University Press. pp 58.
- Carlsson HE. 2008. The Use of Laboratory Animals in Biomedical Studies. FELASA Category C-Like Course. Bogor: Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor (PSSP-IPB).
- Coviello AD, Kaplan B, Lakshman KM, Chen T, Singh AB, Bhasin S. 2008. Effects of Graded Doses of Testosterone on Erythropoiesis in Healthy Young and Older Men. *J Clin Endocrinol Metab.* vol 93(3): 914-919.
- Fitria L. 2009. Profil Reproduksi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Stadia Juvenil, Pradewasa, dan Dewasa. *Laporan Penelitian Hibah Dosen Muda*. Yogyakarta: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM-UGM).
- Hewitt CD, Innes DJ, Savory J, Willis MR. 1989. Normal Biochemical and Hematological Values in New Zealand White Rabbits. *Clinical Chemistry.* vol 35(8): 1777-1779.
- Ihedioha JI, Ugwuja JI, Noel-Uneke OA, Udeani IJ, Daniel-Igwe G. 2012. Reference Values for the Haematology Profile of Conventional Grade Outbred Albino Mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *ARI.* vol 9(2):1601-1612.
- Johnson M. 2012. Laboratory Mice and Rats. *Mater Methods* 2:113. <http://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>. Diakses 21 November 2014.
- Kaltenback CC and Dunn TG. 1980. Endocrinology of Reproduction. In: Reproduction in Farm Animals. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Mitruka BM and Rawnsley HM. 1981. Hematological References Values of Normal Albino Rats. In: Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental

- Animals and Normal Humans. Chicago: Masson Pub. Inc. Year Book Medical Pub. Inc. pp 63-65.
- Moore DM. 1986. Hematology of the Rats (*Rattus norvegicus*). In: Feldman BF, Zinkl JG, and Jain NC. (eds). Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Co.
- River C. 1998. Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats – (CRL: (WI) BR) as a Function of Sex and Age. Technical Bulletin. Massachusetts: Charles River Laboratories.
- Smith CA, Andrews CM, Collard JK, Hall DE, Walker AK. 1994. Rats and Mouse. In: Color Atlas of Comparative Diagnostic & Experimental Hematology. Barcelona: Wolfe Publishing/Mosby-Year Book Europe Ltd. pp 9-15.
- Smith JB dan Mangkoewidjojo S. 1988. Tikus Laboratorium (*Rattus norvegicus*). Dalam: Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). hal 37-57.
- Wistar Institute. 2014. Our History. Philadelphia: The Wistar Institute <http://www.wistar.org>. Diakses 21 November 2014.