

Pengaruh *heating therapy* terhadap profil darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)

The effect of heating therapy on the blood profile of white rats (*Rattus norvegicus*)

Ni Made Eva Junihensari*, Ngurah Intan Wiratmini, Ni Gusti Ayu Manik Ermayanti

Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.
Jalan Raya Kampus Unud Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia

*Email: evajuniy@gmail.com

Diterima
7 Juli 2024

Disetujui
13 Oktober 2024

INTISARI

Penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin merupakan salah satu dampak komplikasi dari penyakit diabetes mellitus (DM). Salah satu pengobatan pasien DM adalah menggunakan *Heating Therapy* (HT). *Heating Therapy* merupakan pengobatan berupa paparan panas yang dapat menyebabkan peningkatan ekspresi *heat shock protein* (HSP), memperbaiki metabolisme glukosa, sensitivitas insulin dan memperbaiki pensinyalan insulin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *heating therapy* terhadap profil darah tikus. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang memiliki lima perlakuan dan enam ulangan. Tikus tanpa perlakuan (K-), tikus diabetes (K+), tikus diberi HT bersuhu 37°C durasi 10 menit (P1), HT bersuhu 37°C durasi 20 menit (P2) dan HT bersuhu 37°C durasi 30 menit (P3). *Heating Therapy* diberikan setiap hari selama 3 minggu. Uji *one-way ANOVA* digunakan untuk menganalisis data penelitian. Jika ada perbedaan signifikan ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *post-hoc Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol dan kelompok tikus perlakuan yang diberi HT memiliki perbedaan signifikan ($P < 0,05$). Pemberian HT dengan suhu 37°C durasi 10 menit efektif meningkatkan kadar hemoglobin dan memperbaiki jumlah sel trombosit tikus diabetes.

Kata kunci: heating therapy, profil darah tikus, diabetes mellitus, tikus putih

ABSTRACT

A decrease in the number of erythrocytes and hemoglobin levels was one of the complications of diabetes mellitus (DM). One of the treatments for DM patients used Heating Therapy (HT). Heating Therapy is a treatment in the form of heat exposure which can cause increased expression of heat shock protein (HSP), improve glucose metabolism, insulin sensitivity and improve insulin signaling. The aim of this research was to determine the effect of heating therapy on the blood profile of mice. This research used a Complete Random Plan, which had five treatments and six replications. Rats without treatment (K-), diabetic rats (K+), rats given HT at 37°C for 10 minutes (P1), HT at 37°C for 20 minutes (P2) and HT at 37°C for 30 minutes (P3). Heating Therapy was given every day for 3 weeks. One-way ANOVA test was used to analyze research data. If there was a significant difference ($P < 0.05$), then proceed with the Duncan post-hoc test. The results showed that the control group and the treated group of mice given HT had significant differences ($P < 0.05$). By giving HT at a temperature of 37°C for 10 minutes was effective in increasing hemoglobin levels and improving the number of platelet cells in diabetic mice.

Keywords: heating therapy, rat blood profile, diabetes mellitus, white rats

PENDAHULUAN

Gambaran kesehatan seseorang juga dapat diamati dari peningkatan atau penurunan profil darah, yang digunakan sebagai penunjang diagnosis berbagai penyakit (Aliviameita et al., 2021). Sifat membran eritrosit dapat berubah karena hiperglikemia, yang dapat menyebabkan kerapuhan osmotik eritrosit meningkat. Kerapuhan memungkinkan eritrosit pecah dan lisis sebelum mencapai usia 120 hari, yang mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin dalam eritrosit (Handayati et al., 2020). Leukosit atau sel darah putih terkait dengan sistem imun ataupun kekebalan tubuh. Sel darah putih berperan dalam mendeteksi, melawan mikroorganisme dan molekul asing yang menyebabkan penyakit, serta infeksi seperti infeksi virus (Rahman et al., 2021). Jumlah leukosit penderita diabetes mengalami peningkatan akibat kadar gula darah yang tinggi. Hal ini juga disebabkan oleh fakta bahwa sel-sel darah, terutama eritrosit, tidak dapat bergerak secara bebas, menyebabkan jaringan kekurangan oksigen dan mengalami stres oksidatif. Kondisi ini menyebabkan inflamasi dan peningkatan jumlah leukosit dalam darah (Handayati et al., 2020).

Pada kondisi hiperglikemia, jumlah trombosit yang normal dipertahankan karena megakariosit menghasilkan lebih banyak trombosit dan lebih banyak trombosit dilepaskan ke aliran darah untuk membentuk sumbatan trombosit pada endotel yang rusak (Widiarto et al., 2013). Dalam kasus di mana kadar gula darah terus meningkat, jumlah trombosit akan meningkat. *Heating therapy* (HT) atau terapi panas merupakan sebuah pendekatan non-farmakologis yang melibatkan penerapan sumber panas pada tubuh untuk meningkatkan suhu jaringan. Terapi panas dapat bekerja pada rasa sakit dan kejang otot (Freiwald et al., 2021). Panas dapat merangsang pensinyalan adiponektin dan menghasilkan peningkatan sensitivitas insulin (Oster, 2020).

Pemberian terapi panas ini dapat diberikan melalui perendaman dalam air panas, sauna, atau ruang lingkungan yang panas dan mampu meningkatkan kesehatan pada seseorang, serta memberikan manfaat pada seseorang dengan gagal jantung kronis dan penyakit kardiovaskular (Kim et al., 2020). Paparan panas memicu kerja HSP atau *heat shock protein* (Schulze et al., 2020). HSP merupakan protein yang bertindak sebagai molekul pendamping dan ekspresi protein ini diregulasi oleh stres seperti perlakuan panas, dingin, hipoksia atau stres oksidatif (Fitriani dan Ramdhani, 2020). Sel penjaga dan elemen seluler melalui pengaturan protein dan degradasi, menghambat apoptosis, melindungi perlawanan stres oksidatif dan peradangan, meningkatkan ketahanan terhadap stres lebih lanjut, dan memiliki peran dalam pensinyalan sel dan pengaturan metabolisme (Sebok et al., 2022). Terkait dengan manfaat HT dalam mengobati penyakit diabetes mellitus, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh *Heating Therapy* terhadap profil darah.

MATERI DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan dari Desember 2023 hingga Maret 2024. Hewan coba dipelihara dan diberi perlakuan di ruang pemeliharaan hewan coba Program Studi Biologi FMIPA Universitas Udayana. Sampel darah tikus diambil di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Program Studi Biologi FMIPA Universitas Udayana, dan darah tikus kemudian dianalisis di Laboratorium Hematologi Balai Besar Veteriner Denpasar. Penelitian ini sudah mendapatkan *Ethical clearance* menggunakan hewan coba dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana dengan nomor : B/15/UN14.2.9/PT.01.04/2024.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloksan dosis 135 mg/kgBB, xylasin (20 mg/kgBB), dan ketamine (10 mg/kgBB). Penelitian ini menggunakan instrumen seperti: kotak *heating therapy*, spuit, pipa kapiler, tabung EDTA, dan termos pendingin (*cooling box*).

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas kelompok tikus dalam keadaan normal dan tidak diberi *Heating Therapy* (kontrol negatif /K-), tikus yang diinduksi aloksan dan tidak diberi *Heating Therapy* (kontrol positif/K+), dan tiga perlakuan yang diinduksi aloksan dan diberi *Heating Therapy* bersuhu 37°C dengan durasi berbeda yaitu P1: 10 menit, P2: 20 menit, dan P3: 30 menit. Masing-masing perlakuan dilakukan 6 kali pengulangan. Hewan coba pada penelitian ini yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berjumlah 30 ekor, berumur 3 bulan dan memiliki berat badan 200-250 g.

Pemeliharaan hewan coba

Sebelum diberi perlakuan, tikus putih diadaptasi selama tujuh hari. Kandang tikus yang digunakan adalah sebanyak 10 kandang dengan ukuran 35 x 30 x 12 cm yang berbahan plastik yang kemudian diberi penutup kawat besi. Sekam ditambahkan ke dalam kandang sebagai alas untuk menyerap urin tikus. Kandang tikus dibersihkan dengan cara mengganti sekam secara berkala selama dua kali dalam seminggu. Pakan yang diberikan untuk hewan coba adalah butiran pelet Babi CP 551 produksi PT. Charoen Pokphan Indonesia Tbk, dan air dari sumber minum ditambahkan secara *ad libitum*.

Kotak *heating therapy*

Perlakuan *heating therapy* dilakukan pada tiga kotak triplek berukuran 45 cm x 35 cm x 35 cm. Masing-masing kotak dilengkapi dengan ventilasi udara, 2 lampu yang berdaya 15-watt sebagai sumber panas, thermostat kayu untuk mengontrol panas di dalam kotak, dan thermostat digital di luar kotak untuk mengatur suhu kotak. Suhu di dalam kotak akan diatur hingga mencapai 37°C kemudian akan dihitung durasi pemberian terapinya menggunakan *stopwatch*.

Pemberian perlakuan

Hewan coba selanjutnya akan dikondisikan dalam keadaan non-diabetes dan dibuat permodelan hewan diabetes dengan menginduksikan aloksan dosis 135 mg/kgBB, yang diberikan secara intraperitoneal melalui abdomen (Sukmawati et al., 2016). Sebelum diinduksi aloksan, hewan dipuasakan terlebih dahulu selama 8 jam (Millati et al., 2019). Sebanyak 24 ekor tikus diinduksi aloksan. Selanjutnya, glucometer digunakan untuk mengukur gula darah puasa tikus 3 hari setelah pemberian aloksan. Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan rata-rata kadar glukosa darah tikus yaitu sebesar 227 mg/dL. Jika glukosa darahnya ≥ 200 mg/dL, hewan coba dinyatakan diabetes dan dimasukkan ke dalam kelompok diabetes untuk digunakan penelitian (Djohari et al., 2023). Sebanyak 12 hewan coba akan dimasukkan ke dalam kandang kembali karena tidak diberi terapi panas. Sebanyak 18 hewan coba lainnya dimasukkan ke dalam 3 kotak terapi masing-masing berjumlah 6 ekor yang sudah diberi label P1, P2, P3. Sebelum hewan coba dimasukkan ke dalam kotak, suhu pada kotak sudah diatur hingga mencapai 37°C. Jika sudah mencapai suhu

tersebut, hewan coba akan dimasukkan dengan masing-masing durasi panas 10 menit pada P1, 20 menit pada P2, dan 30 menit pada P3. Perlakuan *heating therapy* diberikan setiap hari selama 3 minggu. Referensi perlakuan ini telah dimodifikasi dan berdasarkan penelitian dari AlSabagh et al. (2023). Pada hari ke-22, kadar glukosa darah tikus diukur dan dilakukan pengambilan sampel darah.

Pengambilan sampel darah

Pipa kapiler digunakan untuk mengambil sampel darah melalui vena orbitalis, atau vena mata. Terlebih dahulu, xylasin (20 mg/kgBB) dan ketamine (10 mg/kgBB) disuntikkan ke dalam otot tikus untuk memberikan bius. Setelah tikus pingsan maka sampel darah dapat diambil. Sampel darah diambil sebanyak 2 mL darah untuk pengukuran hematologi darah. Setelah itu, sampel darah dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA dan dibawa langsung ke Balai Besar Veteriner Denpasar (BB Vet) untuk dianalisis, dengan cara dimasukkan ke termos pendingin (*cooling box*).

Pengukuran profil darah

Pemeriksaan profil darah dilakukan dengan menggunakan alat *hematology analyzer Rayto RT-7600®*. Prosedur pemeriksaan hematologi menggunakan alat pemeriksaan *hematology analyzer* sesuai Standar Prosedur Operasional (SPO). Sampel darah yang diperoleh selanjutnya dicampur dengan reagen pada alat dan pencetakan hasil akan dilakukan secara otomatis. Nilai hematologi lengkap, yang mencakup jumlah eritrosit, hemoglobin, leukosit, trombosit, dan kadar hematokrit dihitung pada tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini.

Analisis data

Analisis data secara statistik menggunakan *SPSS for Windows 25*. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk memeriksa normalitas distribusi data. *One Way ANOVA* digunakan untuk memeriksa data dengan distribusi normal, dan jika terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *post-hoc Duncan*.

HASIL

Analisis profil darah tikus yang dilakukan meliputi pengukuran jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, kadar hemoglobin dan hematokrit. Hasil analisis statistik untuk parameter yang diukur ditunjukkan oleh Tabel 1.

Tikus putih pada kelompok kontrol positif (K+) dan semua kelompok perlakuan P1, P2, serta P3 mengalami penurunan jumlah eritrosit secara signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok K-. Hasil uji rata-rata (Tabel 1.) menunjukkan bahwa rerata jumlah eritrosit tikus K- berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan K+ dan P3, namun memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan perlakuan P1 dan P2. Rata-rata jumlah eritrosit K+ dan P1, P2, dan P3 tidak berbeda signifikan. Jumlah eritrosit tertinggi yaitu pada kelompok K- dengan rata-rata $6,78 \times 10^6 \mu\text{l}$, sedangkan yang terendah yaitu pada kontrol K+ dan perlakuan P3 dengan rata-rata $5,14 \times 10^6 \mu\text{l}$.

Berbanding terbalik dengan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin kelompok P1, P2, dan P3 mengalami peningkatan secara signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok K+. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan dalam kadar hemoglobin tikus kelompok K- dengan K+ dan P3, tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan P1 dan P2. Kadar hemoglobin K+ berbeda signifikan dengan K-, P1, dan P2, tetapi tidak signifikan dengan P3. Kadar

hemoglobin tertinggi yaitu pada kelompok K- dengan rata-rata kadar sebesar 14,22 g/dL, sementara K+ memiliki hemoglobin terendah rata-rata 9,11 g/dL. Hasil analisis kadar hematokrit menunjukkan terjadi penurunan secara signifikan pada kelompok kontrol K+ dan semua perlakuan P1, P2, dan P3 apabila dibandingkan dengan kelompok K-. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan dalam kadar hematokrit kelompok K- dibandingkan dengan kelompok K+ dan untuk semua perlakuan P1, P2, dan P3, dengan $P < 0,05$.

Tabel 1. Rata-rata nilai hematologi tikus

Parameter	Perlakuan				
	K-	K+	P1	P2	P3
Eritrosit (x 10 ⁶ /μl)	6,78±1,55 ^b	5,14±1,01 ^a	6,20±0,70 ^{ab}	6,14±0,78 ^{ab}	5,14±0,84 ^a
Hemoglobin (g/dL)	14,22±1,12 ^c	9,11±2,46 ^a	11,97±1,22 ^{bc}	13,13±1,64 ^{bc}	11,02±2,48 ^{ab}
Hematokrit (%)	37,66±1,03 ^d	31,53±0,63 ^b	32,15±1,14 ^{bc}	32,92±0,78 ^c	28,22±0,50 ^a
Leukosit (x 10 ³ /μl)	9,47±3,40 ^a	12,00±0,14 ^b	11,30±0,46 ^{ab}	13,25±1,77 ^b	12,08±0,47 ^b
Trombosit (x 10 ³ /μl)	791,50 ±102,44 ^a	758,33 ±47,17 ^a	1111,67 ±128,59 ^b	882,50 ±70,06 ^a	872,00 ±116,10 ^a

Keterangan : nilai (*mean* ± standar deviasi) yang diikuti huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$). K- (tanpa induksi aloksan dan pada suhu kamar, K+ (induksi aloksan tanpa HT), P1 (induksi aloksan + HT 37°C selama 10 menit), P2 (induksi aloksan + HT 37°C selama 20 menit), dan P3 (induksi aloksan + HT 37°C selama 30 menit). Nilai rentangan normal eritrosit : 6,67-9,2 x 10⁶/μL, Hb : 11-18 g/dL, hematokrit : 37,3-50,6%, leukosit : 6,6-12,6 x 10³/μL, trombosit : 923-1580 x 10³/μL.

Dalam perbandingan dengan kelompok K-, hasil statistik menunjukkan bahwa kelompok K+ dan semua perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan peningkatan jumlah leukosit yang signifikan ($P < 0,05$). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok K+, P2, dan P3 memiliki perbedaan jumlah leukosit rata-rata yang signifikan. Sebaliknya, kelompok K- tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok P1. Tidak adanya perbedaan yang signifikan juga terjadi antara kelompok K+ dengan perlakuan P1, P2, dan P3. Kadar leukosit tertinggi yaitu pada kelompok P2 dengan rata-rata 13,25 x 10³/μl, sedangkan rata-rata paling rendah yaitu pada kelompok K- dengan rata-rata 9,47 x 10³/μl. Ketika dibandingkan dengan perlakuan P1, kelompok K-, K+, P2, dan P3 mengalami penurunan kadar trombosit yang signifikan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata kadar trombosit kelompok P1 berbeda signifikan dengan kelompok K-, K+, P2, dan P3, sementara kelompok K- dan K+ tidak berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan P3

PEMBAHASAN

Sel darah merah yang tidak berinti, bulat atau agak oval dengan ukuran 7-8 μm disebut eritrosit. Penderita diabetes sering mengalami komplikasi pada eritrosit. Sel darah merah adalah kantong hemoglobin. Hemoglobin berperan mengikat oksigen, diangkut oleh sel darah merah dari paru-paru ke berbagai jaringan dan sel dalam tubuh (Hanifa et al., 2023; Alamri et al., 2019). Pada penelitian ini kelompok K+ berhasil menjadi kelompok diabetes dan memiliki jumlah eritrosit yang rendah sesuai dengan teori yang ada. Namun pada

penelitian ini kelompok P1, P2, dan P3 memiliki jumlah eritrosit yang tidak termasuk dalam rentangan normal, sehingga jumlahnya berbeda dengan kelompok K- (kelompok normal). Jumlah normal eritrosit adalah $6,76-9,2 \times 10^6 \mu\text{L}$ (Mileva et al., 2024). Hal ini menyatakan bahwa perlakuan panas pada penelitian ini belum dapat mengembalikan kondisi eritrosit ke keadaan normal atau kelompok kontrol. Penelitian yang dilakukan oleh Ondruska et al. (2011) menyatakan bahwa paparan panas pada kelinci menunjukkan penurunan sel darah merah, neutrofil, monosit, dan basofil setelahnya paparan 36°C setiap hari, selama 12 jam, dalam waktu 4 minggu, dibandingkan dengan kelompok yang tidak terpapar. Namun tidak ada perbedaan yang signifikan dalam jumlah WBC (*white blood cell*) dan LYM (*lymphocytes*) antar kelompok.

Stres panas merupakan salah satu faktor terpenting yang mampu meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Mitokondria merupakan organel terkait pembentukan ROS. Selain itu ROS juga dihasilkan dari respons seluler terhadap xenobiotik, sitokin, dan invasi bakteri. Konsentrasi ROS yang tinggi dan tidak terkendali menyebabkan pembentukan bebas reaksi berantai yang dimediasi radikal yang menghasilkan efek langsung dan kerusakan tidak langsung pada protein, asam nukleat, dan lipid, diikuti dengan aktivasi jalur apoptosis dan perkembangan kanker, arteriosclerosis, penuaan, penyakit neurodegeneratif, dan diabetes (Gharibi et al., 2019). Namun sulit untuk membandingkan hasil penelitian tentang paparan panas kronis dan akut, karena perbedaan derajat adaptasi terhadap paparan panas subjek dapat menyebabkan perbedaan hasil.

Pada penelitian ini, kelompok K- memiliki kadar hemoglobin (Hb) tertinggi dengan rata-rata 14,22 g/dL, sedangkan kelompok K+ memiliki kadar hemoglobin terendah dengan rata-rata 9,11 g/dL. Dibandingkan dengan kelompok perlakuan K- dan P1, P2, dan P3, kadar Hb pada tikus diabetes tanpa terapi panas (K+) adalah yang paling rendah. Kadar Hb semua kelompok adalah tergolong ke dalam rentangan normal Hb. Rentangan kadar normal Hb adalah 11-18 g/dL (Mileva et al., 2024). Hiperglikemia yang berlangsung lama pada penderita diabetes mellitus dapat berdampak pada morfologi, metabolisme, dan fungsi eritrosit. Hemoglobin adalah salah satu protein utama yang bertanggung jawab untuk membawa oksigen ke dalam aliran darah. Kondisi yang dikenal sebagai hiperglikemia menyebabkan hemoglobin menurun, yang pada gilirannya mengurangi pasokan oksigen ke seluruh tubuh. Hal ini menunjukkan komplikasi diabetes mellitus lainnya (Febriani et al., 2023).

Kadar Hb pada kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) penelitian ini dianggap normal. Jumlah eritrosit dan kadar hematokrit berkorelasi positif dengan kadar hemoglobin pada hewan normal. Namun, dalam penelitian ini, kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 memiliki kadar hemoglobin yang berbanding terbalik dengan jumlah eritrosit. Kadar hemoglobin mengalami peningkatan sementara jumlah eritrosit mengalami penurunan jika dibandingkan dengan jumlah normal. Pemberian HT pada penelitian ini mampu mengontrol kadar glukosa darah dan mampu mengembalikan kadar Hb tikus ke dalam rentangan normal. Jika kadar glukosa darah berada dalam normal, maka akan mempengaruhi peningkatan kadar hemoglobin (Nuari, 2021). Kadar hematokrit pada kelompok K- adalah berada dalam kadar normal. Sedangkan kadar hematokrit pada semua kelompok K+, P1, P2, dan P3 berada di bawah rentang normal. Kadar rentangan normal hematokrit tikus adalah 37,2-50,6% (Wahdaningsih et al., 2020). Kadar hematokrit atau *packed cell volume* mengacu pada persentase (berdasar volume) dari darah yang terdiri dari sel darah merah. Kadar hemoglobin serta jumlah eritrosit atau sel darah merah dalam tubuh hewan normal, sangat terkait dengan

kadar hematokrit (Alfian et al., 2017). Kadar hematokrit dapat berubah sesuai dengan nutrisi, jumlah air yang diminum, dan suhu lingkungan. Meningkatnya aktivitas metabolisme tubuh menyebabkan peningkatan jumlah eritrosit, hal ini sejalan dengan diperlukannya jumlah sel darah yang lebih besar untuk mengangkut oksigen yang dibutuhkan tubuh untuk metabolisme (Alfian et al., 2017).

Kadar hematokrit meningkat sebagai hasil dari peningkatan jumlah sel darah. Kadar hematokrit menjadi indikator penentu kemampuan darah dalam mengangkut oksigen (O_2) yang biasa dikenal dengan istilah *Oxygen Carrying Capacity*. Kondisi tubuh atau homeostasis dapat menyebabkan kadar hematokrit ternak naik atau turun (Alfian et al., 2017). Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jumadin et al. (2018) yang menyatakan bahwa tidak ada peningkatan dalam kadar hematokrit pada semua kelompok perlakuan. Pada hasil penelitian Jumadin et al. (2018) kadar hematokrit cenderung lebih rendah pada pemaparan panas ($35,93 \pm 2,9$) dibanding kontrol ($36,68 \pm 0,68$). Nilai hematokrit tidak menunjukkan peningkatan pada semua kelompok perlakuan. kelompok P+KL3, yaitu kelompok makanan komersil + paparan suhu $40^\circ C$ selama delapan jam setiap hari + ekstrak klorofil daun singkong $21,16 \text{ mg}/168 \text{ g}$, memiliki nilai hematokrit tertinggi $38,66\%$. Pada kondisi seperti itu, burung puyuh petelur mungkin menghabiskan lebih banyak air minum. Konsumsi air minum yang berlebihan meningkatkan konsentrasi air dalam darah, yang mengakibatkan penurunan persentase benda darah (hematokrit). Pada penelitian ini, pemaparan pada $40^\circ C$ tidak meningkatkan PCV.

Jumlah leukosit tertinggi yaitu pada kelompok P2 dengan rata-rata $13,25 \times 10^3/\mu\text{l}$, sedangkan rata-rata paling rendah yaitu pada kelompok K- dengan rata-rata $9,47 \times 10^3/\mu\text{l}$. Pada penelitian ini diketahui bahwa jumlah leukosit pada kelompok P2 melewati nilai rentangan normal, sedangkan kelompok K-, K+, P1 dan P3 masih dalam rentangan normal. Rentangan normal jumlah leukosit yaitu $6,6-12,6 \times 10^3 \text{ sel}/\mu\text{L}$ (Mileva et al., 2024). Jika dilihat dari rata-rata jumlah leukosit pada kelompok perlakuan setelah mendapat terapi panas, leukosit mengalami peningkatan jumlah. Leukosit adalah komponen darah berperan mengenali dan melawan mikroorganisme dalam reaksi kekebalan dan membantu proses penyembuhan dan peradangan (Magfirah et al., 2018). Ketika hewan dipelihara dalam kondisi cekaman panas, yang menimbulkan stres pada hewan, jumlah leukosit meningkat. Selain itu terjadi peningkatan jumlah heterofil (bagian dari leukosit) yang disebabkan oleh pengurangan glukokortikoid (hormon stres) pada jalur pembentukan dan pelepasan neutrofil cadangan di sumsum tulang. Hal ini menyebabkan peningkatan jumlah leukosit (Santoso et al., 2022). Menurut Tamzil et al. (2013) peningkatan jumlah heterofil adalah salah satu indikasi penurunan imunitas tubuh akibat stres panas. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maheshwari et al. (2017) yang menyatakan bahwa pada semua kelompok perlakuan, jumlah heterofil meningkat. Penelitian ini menggunakan beberapa kandang pemaparan suhu, yaitu kandang A pada suhu $39^\circ C$, kandang B pada suhu $41^\circ C$, kandang C pada suhu $43^\circ C$, dan kandang D pada suhu $45^\circ C$. Kelompok A ($1,510 \times 10^3 \text{ butir}/\text{mm}^3$), yang merupakan kontrol, memiliki kadar heterofil yang lebih tinggi daripada kelompok D ($5,256 \times 10^3 \text{ butir}/\text{mm}^3$). Hasil yang berbeda nyata ditemukan untuk setiap kelompok perlakuan ($P < 0,05$). Ini menunjukkan bahwa suhu memengaruhi jumlah heterofil yang diproduksi, lebih tinggi suhu yang terpapar, lebih banyak heterofil yang diproduksi. Peningkatan jumlah butir sel darah putih dalam penelitian ini dapat disebabkan oleh peningkatan kadar beberapa diferensial leukosit, terutama heterofil, sebagai akibat dari paparan panas (Maheshwari et al., 2017).

Jika dilihat dari rata-rata jumlah trombosit, kelompok P1 merupakan kelompok yang tergolong ke dalam rentangan normal. Sementara kelompok yang lain berada di bawah jumlah normal trombosit pada umumnya. Jumlah normal trombosit tikus yaitu $923-1580 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Magfirah et al., 2018). Penurunan jumlah trombosit pada kelompok K- dimungkinkan akibat pergantian trombosit (*platelet turnover*) mengalami peningkatan sebagai akibat dari aktivitas trombosit yang meningkat sehingga jumlah trombosit dalam sirkulasi darah berkurang (Widiarto et al., 2013). Autooksidasi glukosa meningkatkan produksi radikal bebas dalam hiperglikemia, yang meningkatkan stres oksidatif, yang dapat merusak pembuluh darah dan banyak organ lainnya. Trombosit membentuk sumbatan selama pembekuan darah untuk membantu hemostasis, tetapi kerusakan pada pembuluh darah juga menyebabkan diskontinuitas pembuluh (Arika et al., 2016). Trombosit harus dipertahankan dalam jumlah yang normal terutama pada kondisi hiperglikemia, dimana terjadi peningkatan produksi trombosit oleh megakariosit dan peningkatan pelepasan trombosit ke aliran darah untuk membentuk sumbatan trombosit pada endotel yang rusak. Jumlah trombosit akan semakin meningkat apabila kadar gula darah yang terus meningkat (Kartikasari et al., 2019).

Tetapi penelitian ini menemukan bahwa tikus diabetes kelompok K+ memiliki kadar trombosit yang rendah. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pintari et al. (2023), orang-orang yang didistribusikan dengan diabetes mellitus memiliki kadar trombosit rendah (trombositopenia) sebanyak 15 orang (44,1%), kadar trombosit normal sebanyak 14 orang (41,2%), dan kadar trombosit tinggi (trombositosis) sebanyak 5 orang (14,7%). Menurut penelitian Hasanah (2019), kadar trombosit sebagian besar pasien diabetes mellitus rendah; ditemukan 20 kasus trombositopenia (66,7%), 7 kasus kadar trombosit normal (23,3%), dan 3 kasus trombositosis (10,0%). Menurut Hasanah (2019), hiperglikemia, gejala awal diabetes mellitus, menyebabkan disfungsi trombosit dan mempercepat trombopoiesis. Akibatnya, agregasi trombosit meningkat, pergantian trombosit dua kali lipat, dan risiko trombositopenia dan komplikasi kardiovaskular meningkat.

Begitu pula perlakuan panas yang bertujuan memberikan pengaruh terhadap jumlah trombosit tikus DM (Diabetes Mellitus), pada penelitian ini hanya dapat memperbaiki trombosit pada P1, sementara pada P2 dan P3 masih berada di bawah batas normal. Trombosit merupakan komponen darah yang berfungsi dalam proses pembekuan darah, dapat menurun dalam kondisi yang tidak normal, yang disebut trombositopenia. Dua penyebab penurunan kadar trombosit adalah kerusakan trombosit di peredaran darah atau kurangnya produksi trombosit di sumsum tulang. Adapun hiperglikemia, hiperinsulinemia, dan resistensi insulin yang berkepanjangan dapat meningkatkan aktivitas koagulasi dari sistem hemostasis, yang menyebabkan penderita diabetes mellitus berada dalam keadaan hiperkoagulasi (Pintari et al., 2023). Sehingga dapat dinyatakan bahwa tikus DM pada perlakuan P2 dan P3 mengalami trombositopenia.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas maka dapat disimpulkan bahwa pemberian HT dengan suhu 37°C durasi 10 menit efektif meningkatkan kadar hemoglobin dan memperbaiki jumlah trombosit tikus diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya ingin mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Program Studi Biologi FMIPA Universitas Udayana, Koordinator Program Studi Biologi FMIPA Universitas Udayana, Lembaga Balai Besar Veteriner Denpasar, dan semua pihak yang telah membantu proses penelitian tesis ini berjalan lancar.

KEPUSTAKAAN

- Alamri BM, Bahabri A, Alderehim AA, Alabduljabbar M, Alsubaie MM, Alnaqeb D, Almogbel E, Metias NA, Alotaibi AO, Al-Rubeaan K. 2019. Hyperglycemia effect on red blood cells indices. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **23**: 2139–2150.
- Alfian, Dasrul, Azhar. 2017. Jumlah Eritrosit, Kadar Hemoglobin Dan Nilai Hematokrit Pada Ayam Bangkok, Ayam Kampung dan Ayam Peranakan. *JIMVET* **01(3)**: 533-539.
- Aliviameita A, Puspitasari, Purwanti Y, Fani KA, Darmayanti ID. 2021. Korelasi Profil Darah Dengan CRP Serum pada Pasien Diabetes Mellitus dengan Ulkus Diabetikum. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist* **4(1)**: 40-48.
- AlSabagh T, Rao MS, Renno WM. 2023. The Impact of Heat Therapy on Neuromuscular Function and Muscle Atrophy in Diabetic Rats. *Front Physiol* **13**: 1-28.
- Arika WM, Rachuonyo HO, Muchori AN, Lagat RC, Mawia AM, Wambani JR, Wambua FK, Nyamai DW, Ogola PE, Kiboi NG, Ouko RO, Njagi SM, Muruthi, CW, Ngugi MP, Njagi ENM. 2016. Hypoglycemic Effect of *Ocimum lamiifolium* in Alloxan Induced Diabetic Mice. *Medicinal & Aromatic Plants* **5(2)**: 1-5.
- Djohari M, Husnawati, Aryani F, Bendre BS. 2023. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia* **12(1)**: 1-6.
- Febriani H, Ulfa SW, ButarButar TN. 2023. Pengaruh Pemberian Beberapa Jenis Yogurt Komersial Terhadap Jumlah Profil Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Diabetes Melitus. *Jurnal Ilmiah Biologi* **11(2)**: 1724-1733.
- Fitriani SN, Ramdhani D. 2020. Penggunaan Radionuklida ¹⁸F, ⁶⁸Ga Atau ⁸⁹Zr Dengan Target Heat Shock Protein 90 (Hsp90) Untuk Kanker Payudara. *Farmaka* **18(1)**: 180-188.
- Freiwald J, Magni A, Fanlo-Mazas P, Paulino E, Sequeira DML, Moretti B, Schleip R, Solarino GA. 2021. A Role for Heat Therapy In Low Back Pain In Modern Clinical Practice. *Preprints* **11**: 1-11.
- Gharibi V, Khanjani N, Heidari H, Ebrahimi MH, Hosseinabadi MB. 2020. The Effect Of Heat Stress On Hematological Parameters And Oxidative Stress Among Bakery Workers. *Toxicology and Industrial Health* **36(1)**: 1-10.
- Handayati A, Anggraini AD, Roaini, S. 2020. Hubungan Kadar Glukosa Darah Dengan Jumlah Eritrosit dan Jumlah Leukosit pada Penderita Diabetes Melitus Baru dan Lama. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*.
- Hanifa NR, Nainggolan H, Maryana HD. 2023. Pengaruh Ekstrak Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) Terhadap Jumlah Eritrosit Pada Tikus Diabetes. *UG JURNAL* **17**: 19-25.
- Hasanah AD. 2019. Gambaran Jumlah Trombosit Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Di RSUD Bunda Palembang Tahun 2019 1-9 <https://doi.org/10.37703/0033-2909.I26.1.78>.
- Jumadin LA, Satyaningtjas AS, Maika, Z, Darlian L, Ummah W, Santoso, K. 2018. Ekstrak Daun Singkong Berpotensi Sebagai Antioksidan pada Burung Puyuh yang Mendapat Cekaman Panas Singkat. *Jurnal Veteriner* **19(3)**: 335-341.
- Kartikasari DM, Indahyani DE, Praharani D. 2019. Jumlah Trombosit pada Mencit Diabetes setelah Pemberian Ekstrak Rumput Laut Merah (Rhodophyceae). *e-Journal Pustaka Kesehatan* **7(3)**: 171-176.
- Kim K, Reid BA, Casey CA, Bender BE, Ro B, Song Q, Trewin, AJ, Petersen AC, Kuang, S, Gavin TP, Roseguini BT. 2020. Effects of Repeated Local Heat Therapy on Skeletal Muscle Structure and Function in Humans. *Psychology of Thermal Therapy* **128**: 483-492.
- Magfirah, Mufidah, Manggau MA. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Parang Romang (*Boehmeria virgata*) Secara Subkronis Oral Terhadap Profil Hematologi Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi* **22(1)**: 16-19.
- Maheshwari H, Sasmita AN, Farajallah A, Achmadi P, Santoso K. 2017. Pengaruh Suhu Terhadap Diferensial Leukosit Serta Kadar Malondialdehyde (MDA) Burung Puyuh (*Coturnix coturnix Japonica*). *BIOMA* **13(1)**: 81-89.

- Mileva TAP, Sudatri NW, Wijana IMS. 2024. Lama Waktu Penghentian Konsumsi Soju Terhadap Kadar Alkohol Hati, Morfologi Hati, Dan Gambaran Hematologi Tikus Putih. *SIMBIOSIS* **1**: 62-72.
- Nuari NA. 2021. Analisis Korelasi Kadar Hemoglobin dengan Riwayat Lama Menderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Ilmu Kesehatan* **6(1)**: 1-6.
- Ondruska, L, Rafay J, Okab AB, Ayoub MA, Al-Haidary AA, Samara EM, Parkanyi V, Chrastinova L, Jurecik R, Massanyi P, Lukac N, Supuka P. 2011. Influence of elevated ambient temperature upon some physiological measurements of New Zealand White rabbits. *Veterinarni Medicina* **56(4)**: 180–186.
- Oster H. 2020. Getting hot about diabetes-Repeated heat exposure improves glucose regulation and insulin sensitivity. *Acta Physiol (Oxf)* **229(4)**: e13524.
- Pintari H, Laksono H, Welkriana PW. 2023. Gambaran Jumlah Trombosit Pada Penderita Diabetes Melitus Di Rsud Dr M Yunus Bengkulu. *Jurnal Fatmawati Laboratory & Medical Science* **3(2)**: 101-108.
- Rahman A, Rengganis GP, Prayuni S, Novriyanti I, Sari TN, Pratiwi PD, Pratama S. 2021. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Mencit. *Journal of Healthcare Technology and Medicine* **7(2)**: 1-7.
- Santoso K, Harlimawan FB, Wijaya A, Maheshwari IH, Ekastuti DR, Achmadi P, Tarigan R, Satyaningtjas AS, Suprayogi A, Manalu W. 2022. Profil Leukosit Burung Puyuh yang Mengalami Cekaman Panas setelah Pemberian Aspirin. *Jurnal Peternakan Indonesia* **24(2)**: 180-189.
- Schulze ATV, Deng F, Morris JK, Geiger PC. 2020. Heat therapy: possible benefits for cognitive function and the aging brain. *J. Appl. Physiol.* **129**: 1468–1476.
- Sebok J, Edel Z, Dembrovsky F, Farkas N, Torok Z, Balogh G, Peter M, Papp I, Balogi Z, Nusser N, Peter I, Hooper P, Geiger P, Eross B, Wittmann I, Vánca, S, Vigh L, Hegyi P. 2022. Effect of HEAT therapy in patients with type 2 Diabetes mellitus (HEATED): protocol for a randomised controlled trial. *BMJ Open* **12**: 1-7.
- Tamzil MH, Noor RR, Hardjosworo PS, Manalu W, Sumantri C. 2013. Acute heat stress exposure on three lines of chickens with different heat shock protein (HSP)-70 genotypes. *Int. J. Poult. Sci.* **12**: 264-272.
- Wasdaningsih S, Untari EK, Robiyanto. 2020. Profil Hematologi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Galur Wistar Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. ex K. Heyne.). *Jurnal Farmasi Indonesia* **17(02)**: 332-342.
- Widiarto NS, Posangi J, Mongan A, Memah M. 2013. Perbandingan Jumlah Trombosit pada Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Komplikasi Vaskular dan Tanpa Komplikasi Vaskular di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal e- Biomedik (eBM)* **1(1)**: 524- 529.