

PEMBERIAN VCO UNTUK MENINGKATKAN KADAR eNOS (STUDI PADA TIKUS WISTAR DENGAN DIET TINGGI LEMAK)

Fitrianingsih

Akademi Analis Kesehatan (AAK) Pekalongan

Email: fitri8508@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was proving the ability of VCO in increasing eNOS levels in Wistar rats fed HFD. This study used 25 male wistar rats were divided negative control is receiving with a normal diet, positive control receiving HFD, three treatment groups receiving a combination of HFD with VCO in dose of 1ml, 1,2 ml or 2 ml/day in period of 60 days. The blood taken from the eyes of rats and after end of this eNOS measurement done by using ELISA. The mean levels of eNOS group negative control, positive control, treatment 1,2, and 3 respectively are (1.95 ; 1.39 ; 1.47 ; 2.11 ; 2.55). The mean levels is higher than the group positive control but based on the results of One-Way ANOVA test showed that there were no significant differences in the mean levels of eNOS among all group treatment groups ($p=0.305$). VCO was not significantly increasing eNOS levels in HFD Wistar rats.

Keywords: VCO, High Fat Diet, eNOS levels.

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular (CVD) memiliki dampak besar tidak hanya pada negara-negara maju tetapi juga pada negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah, di mana ia menyumbang hampir 30 persen dari semua kematian. Sebagian besar kematian CVD dikaitkan dengan penyakit pembuluh darah arteri, yang dikenal sebagai 'aterosklerosis' (Institute of Medicine, 2010). Aterosklerosis dipengaruhi oleh interaksi molekul-molekul adhesi selular. Ekspresi adhesi molekul itu merupakan respon terhadap rangsangan patofisiologi yang menyebabkan interaksi antara endotel dan sel darah merah, hal itu merupakan sentral perkembangan

aterosklerosis (Fotis, L., Georgios Agrogiannis and Ioannis S Vlachos, 2012).

Virgin coconut oil atau minyak kelapa murni terbuat dari daging kelapa segar. Prosesnya semua dilakukan pada suhu relatif rendah. Daging buah diperas santannya. Santan ini diproses lebih lanjut melalui proses fermentasi, pendinginan, tekanan mekanis atau sentrifugasi. Penambahan zat kimia anorganik dan pelarut kimia tidak dipakai serta pemakaian suhu tinggi berlebihan juga tidak diterapkan. Hasilnya berupa minyak kelapa murni yang rasanya lembut dan bau khas kelapa yang unik (Al Arif, 2013).

Berdasarkan penelitian Nevin, K.G. dan T.Rajamohan (2004), VCO pada berbagai dosis berpengaruh nyata terhadap penurunan kadar kolesterol total darah, kadar LDL darah dan peningkatan kadar HDL darah tikus putih (*R.norvegicus*) hiperkolesterolemik (Nevin, K.G. dan T.Rajamohan, 2004). Studi yang pernah dilakukan pada VCO menunjukkan bahwa VCO umumnya baik untuk kesehatan. VCO lebih tahan lama dalam penyimpanan dan minyak ini digunakan dalam pembuatan industri kue, makanan olahan, susu formula bayi, obat-obatan, kosmetik dan minyak rambut (A.G., Gopala Krishna, Gaurav Raj, Ajit Singh Bhatnagar, Prasanth Kumar P.K., and Preeti Chandrashekhar, 2010). Secara empiris VCO diketahui bermanfaat bagi kesehatan antara lain VCO dikonsumsi setiap hari dapat meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri, jamur, virus, membantu mengatasi obesitas, mencegah penyakit jantung, atherosklerosis, mengatasi kolesterol, diabetes dan kanker (N.Das, Undurti, 2011).

NO (N1O1) merupakan zat perantara yang sangat penting dalam siklus kimia di dalam tubuh manusia. NO merupakan salah satu senyawa yang berperan dalam transformasi sinyal metabolisme mahluk hidup. Selanjutnya, senyawa ini akan menyampaikan sinyal terhadap otot

polos dalam lapisan pembuluh darah untuk berelaksasi sehingga mengakibatkan pelebaran atau vasodilatasi pembuluh darah yang berakibat meningkatkan aliran darah (Wikipedia, 2013).

Nitrit Oxide (NO) berperan dalam homeostasis pembuluh darah dan syaraf serta proses imunologik. Berdasarkan penelitian Amelia dkk (2011), aktivitas NO akan terlihat lebih bermakna jika dilakukan pemeriksaan langsung terhadap kadar *Endothelial Nitrit Oxide Synthase* (eNOS). Hal ini dilakukan supaya hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan NO lebih spesifik terhadap fungsi endotel (Amelia, Rinita, Fadil Oenzil, Eliza Nasrul, 2011).

Diet tinggi lemak yang digunakan dalam penelitian laboratorium biasanya berisi sekitar 32 sampai 60% dari kalori lemak. Dari perspektif nutrisi, diet manusia 60 kkal% lemak akan dianggap ekstrim. Telah disampaikan bahwa diet dengan 60% lemak kkal biasanya digunakan untuk menginduksi obesitas pada hewan pengerat karena hewan cenderung untuk menambah berat badan lebih cepat sehingga memungkinkan peneliti untuk menyaring senyawa mereka setelah periode waktu yang lebih pendek. Hal ini juga harus dicatat bahwa ketika mempelajari efek dari obat, nutraceutical, atau gen mutasi pada obesitas, mungkin lebih sulit untuk mencegah atau

membalikkan efek dari diet yang sangat tinggi lemak, ketika ada kemungkinan dengan diet yang mengandung persentase rendah lemak (Köln, 2005).

Jenis lemak harus dipertimbangkan ketika memilih diet tinggi lemak untuk studi hewan. Banyak diet tinggi lemak yang digunakan pada hewan laboratorium. Penelitian mengandung lebih banyak lemak jenuh seperti lemak babi, lemak sapi, atau minyak kelapa dan diet ini cukup mampu menginduksi obesitas pada strain rentan. Sebaliknya, omega-3 asam lemak telah dipelajari untuk manfaat kesehatan mereka. Sebagai contoh, telah terbukti bahwa hewan yang diberi jumlah yang sama lemak, diet makan yang mengandung minyak ikan tidak mendapatkan sebanyak berat badan seperti yang diet makan dengan lebih lemak jenuh dan lebih banyak insulin sensitif. Karena asam lemak dapat mempengaruhi fenotipe melalui berbagai mekanisme (ekspresi gen, produksi eicosanoid, fungsi reseptor membran), penting untuk menyertakan informasi tentang jenis dan tingkat lemak yang digunakan dalam studi untuk memungkinkan peneliti lain untuk membandingkan data. (Tsalissavrina, Iva, 2006)

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut : Apakah pemberian VCO dapat meningkatkan kadar

eNOS pada tikus Wistar dengan diet tinggi lemak.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Randomized Control Group Design*. Perlakuananya adalah dengan memberikan VCO, sedangkan keluarannya (*outcome*) adalah kadar eNOS. Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan.

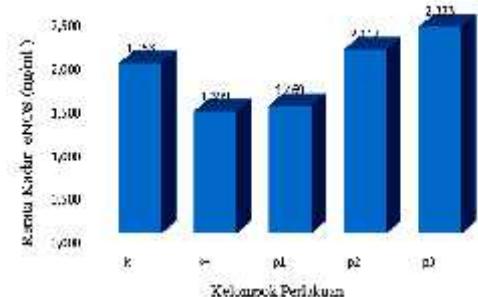
Sampel penelitian ini adalah tikus *Wistar* dengan kriteria inklusi : a). tikus putih (*Wistar Rats*) jantan, sehat, b). berat badan 150-200 gr, c). umur 2 bulan. Kriteria eksklusi : tikus mati selama adaptasi dan tidak aktif. Drop out : Tikus mati selama perlakuan. Menurut ketentuan WHO 1993, jumlah minimal sampel setiap kelompok adalah 5 sampel. Berdasarkan estimasi drop out 10%, maka jumlah sampel untuk tiap-tiap perlakuan sebanyak 6 ekor. Pada penelitian ini jumlah perlakuan sebanyak 5 perlakuan, sehingga total sampel sebanyak 30 ekor.

Tikus dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, antara lain : a). Kontrol negatif (K), yaitu tikus yang diberi diet normal, b). Kontrol positif (K+), yaitu tikus yang diberi diet tinggi lemak, c). Perlakuan 1 (P1), yaitu tikus yang diberi diet tinggi lemak dan VCO 1ml, d). Perlakuan (P2), yaitu tikus yang diberi diet tinggi lemak dan VCO 1,2ml, e). Perlakuan 3 (P3), yaitu tikus yang

diberi diet tinggi lemak dan VCO 2ml. Komposisi diet tinggi lemak yang digunakan adalah sebagai berikut : Comfeed AD II, tepung terigu, kolesterol (2%), asam kolat (0,2%), dan minyak babi (10%).

Kadar eNOS diukur dengan menggunakan metode ELISA. Analisis data eNOS menggunakan ANOVA. Seluruh proses analisa data dilakukan dengan menggunakan program SPSS dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ($p = 0,05$) dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN



Grafik 1. Rerata Kadar eNOS (ng/ml)

Berdasarkan grafik 1. diketahui bahwa rerata kadar eNOS kelompok k(+) setelah pemberian diet tinggi lemak lebih rendah daripada rerata kadar eNOS pada kelompok k (-). Kelompok perlakuan III (VCO dengan dosis 2ml) diperoleh rerata kadar eNOS paling tinggi diantara kelompok perlakuan lainnya yaitu 2,373 ng/ml.

Hasil uji normalitas dengan menggunakan Shapiro-Wilk diperoleh hasil bahwa semua data

berdistribusi normal dan homogen. Hasil uji One-way Anova $p=0,305$ artinya tidak terdapat perbedaan signifikan diantara 5 kelompok perlakuan.

Pada penelitian ini rerata kadar eNOS pada tikus yang diberi diet tinggi lemak lebih rendah (1.399 ng/ml) dibandingkan dengan tikus dengan diet normal (1.953 ng/ml) namun tidak bermakna dengan nilai $p=0,353$. Rerata kadar eNOS pada tikus yang diberikan diet tinggi lemak dan VCO (p1,p2, p3) lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang diberi diet tinggi lemak ($p>0,05$). VCO mengandung zat aktif berupa polifenol dan MCT. Senyawa fenolik di dalam VCO berperan menurunkan kadar kolesterol. Senyawa itu menghalangi kerja HMG-KoA reduktase, enzim yang berperan dalam biosintesis kolesterol. Dampaknya adalah laju pembentukan kolesterol lambat dan terjadi penumpukan kolesterol di dalam darah berkurang. VCO dengan kandungan polifenol yang tinggi mampu mempertahankan tingkat normal kolesterol dan parameter lipid lainnya pada jaringan dan serum serta meningkatkan konsentrasi kolesterol HDL pada tikus. Aktivitas antioksidan dari fraksi polifenol VCO terhadap oksidasi LDL menegaskan potensi minyak yang tinggi dalam melindungi LDL terhadap stres oksidatif yang disebabkan oleh oksidan fisiologis. Polifenol VCO

mampu menghambat produksi ROS sehingga menghambat pembentukan ox-LDL, hal ini dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar eNOS (Sarbini, Dwi, Djangan Sargowo, M.Saifur Rohman, 2007).

VCO juga mengandung MCT (C12) yang didominasi oleh asam laurat. Asam laurat yang terkandung dalam VCO mampu membakar lemak dari sumber lain, dan dengan cepat membuat energi dan meningkatkan metabolisme (Marten, B., Maria P., Jurgen S, 2006).

Rerata kadar eNOS pada semua perlakuan tidak berbeda secara bermakna, hal ini disebabkan karena kadar eNOS yang meningkat dan disertai eNO yang meningkat tidak selalu bersifat baik bagi endotel.

Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Yang, Zhihong and Xiu-Fen Ming (2006) kadar eNOS tidak hanya sebagai biomarker awal mekanisme terjadinya aterosklerosis namun di bawah kondisi tertentu eNOS dapat menjadi pro-aterogenik melalui produksi spesies osigen reaktif yang disebut “uncoupling dari eNOS”. Dalam eNOS uncoupling, elektron mengalir dari domain reduktase untuk heme dialihkan ke molekul oksigen daripada substrat L-arginine, sehingga mengakibatkan produksi superoksid bukan NO. Pemeriksaan eNOS melalui serum tidak menunjukkan hasil yang nyata karena secara umum eNOS diekspresikan secara konstitutif oleh

dinding endotel, aktivitas eNOS diatur oleh konsentrasi ion intraseluler Ca^{2+} /Calmodulin.

Penurunan availabilitas Endothelial Nitrit Oxide (eNO) pada dinding vaskuler menyebabkan disfungsi endotel, dan endotel yang mengalami disfungsi mengekspresikan fenotip proinflamatori yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi molekul adhesi sel aterogenik yaitu *Cell Adhesion Molecular* (CAM) sebagai akibat hilangnya eNO. Upregulasi CAM pada permukaan sel endotel menginisiasi interaksi patologis leukosit-endotel, yang mangakibatkan paparan dinding vaskuler dan jaringan sekitarnya pada aksi pengrusakan oleh leukosit (Yully Endang Hernani, 2008).

Rerata kadar eNOS dari 2 kelompok perlakuan (p2 dan p3) mendekati rerata kadar eNOS yang hanya diberi diet normal. Dosis 2 ml pada penelitian ini setara dengan 90 ml VCO atau 6 sendok makan untuk manusia dengan kandungan polifenol sebanyak 77,18 mg/dl, asam laurat 42,59g, asam kaprilat 6,7g, dan asam kaprat 6,64g, sedangkan jumlah MCT yang dapat ditoleransi sebanyak 25–30g. Menelan sejumlah besar MCT menyebabkan gejala gastrointestinal yang merugikan, termasuk mual, muntah, kembung, ketidaknyamanan pencernaan, kram perut dan diare osmotik (Marten, B., Maria P., Jurgen S, 2006). Tiga ekor tikus yang mengalami diare

kemudian mati dalam penelitian ini belum diketahui penyebab secara pasti karena tanpa melalui pemeriksaan lebih lanjut (otopsi) pada tikus.

SIMPULAN

Kadar eNOS lebih tinggi pada tikus Wistar dengan diet tinggi lemak dan VCO daripada yang tidak diberi VCO namun tidak bermakna secara statistik. Pemberian VCO tidak bermakna dalam meningkatkan kadar eNOS pada dosis 2 ml.

DAFTAR PUSTAKA

A.G., Gopala Krishna, Gaurav Raj, Ajit Singh Bhatnagar, Prasanth Kumar P.K., and Preeti Chandrashekhar. Coconut Oil: Chemistry, Production and it's Applications-A Review. Indian Coconut Journal. Department of Lipid Science and Traditional Foods, Central Food Technological Research Institute.2010.

Al Arif. Minyak Kelapa Murni. (Online).2013.<https://kelapaindonesia2020.wordpress.com/produk-dari-kelapa/minyak-kelapa-murni/>(Diunduh 26 Mei 2018)

Amelia, Rinita, Fadil Oenzil, Eliza Nasrul. Pengaruh Diet Tinggi Asam Lemak Terhadap Fungsi Endotel Pembuluh Darah Tikus

Jantan Strain Wistar (Tesis). Universitas Andalas Padang.2011.

Anonim. Manfaat Virgin Coconut Oil.(Online).2014.<http://virgincoconutoil.asia/membuktikan-manfaat-virgin-coconut-oil> (diunduh 22 Juni 2014).

Enig MG. Coconut:in Support of good health in the 21 Century. (Online). 2001.[Http://www.coconutoil.com/coconut_oil_21st_century.htm](http://www.coconutoil.com/coconut_oil_21st_century.htm) [accessed on 22 June 2014].

Fatmawati, Heni dkk. Pengaruh Likopen terhadap Penurunan Aktivitas Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ B) dan Ekspresi Intracelular Cell Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) pada Kultur HUVECs yang Dipapar Leptin. Jurnal Ilmu Dasar. 2010; 2 : 143-150.

Fotis, L., Georgios Agrogiannis and Ioannis S Vlachos. Intercellular Adhesion Molecule (ICAM)-1 and Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM)-1 at the Early Stages of Atherosclerosis in a Rat Model. In vivo 26. 2012 : 243-250.

Harini, Marti and Okid Parama Astirin. Blood Cholesterol Levels of Hypercholesterolemic Rats (*Rattus norvegicus*) After

- VCO Treatment. Bioscience.2009;2:53-58.
- http://en.wikipedia.org/wiki/Nitric_oxide, Diunduh 24 Oktober 2013.
- http://en.wikipedia.org/wiki/Nitric_oxide, Diunduh 24 Oktober 2013.
- Institute of Medicine. Promoting Cardiovascular Health in the Developing World : A critical Challenge to Achieve Global Health. Washington, DC: The National Academies Press. 2010.
- Köln, 2005. vorgelegt von-Norbert Gerdessen aus Altenberge (Thesis).
- Marten, B., Maria P., Jurgen S.Medium-Chain Triglycerides. International Dairy Journal. 2006;16 :1374–1382.
- N.Das, Undurti. Molecular Basic of Health and Disease. School of Biotechnology Jawaharlal Nehru Technological University, India. Springer London New York. 2011.
- Nevin, K.G. dan T.Rajamohan, 2004. *Beneficial Effect of VCO on Lipid Parameters and In Vitro LDL Oxidation.* Clinical Biochemistry 830-835. Published by Elsevier Ltd.
- Salimi S, Firoozrai M, Mourmohammadi I, Shabani M, Mohebbi A. Endothelial nitric oxide synthase gene intron4 VNTR polymorphisms in patients with coronary artery disease in Iran. Indian J Med Res. 2006;124:683-8.
- Tsalissavrina, Iva, 2006. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat dibandingkan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida dan HDL Darah Pada Rattus norvegicus galur Wistar. Jurnal Kedokteran Brawijaya, vol XII no.2.
- Yang, Zhihong and Xiu-Fen Ming. Recent Advances in Endotelial Dysfunction in Aterosklerosis. Clinical Medicine & Research. 2006;1:53-65.
- Yully Endang Hernani. Adinopektin Meregulasi Turun Ekspresi iNOS Pada Kultur HUVEC's yang dipapar Lipopolisaccharide (LPS).Jurnal Kedokteran Brawijaya.2008.