UJI PREKLINIS *VIRGIN COCONUT OIL* TERHADAP PENINGKATAN KADAR KOLESTEROL BAIK HDL, PENURUNAN KADAR TRIGLISERIDA, PROFIL KIMIA ASAM LEMAK (C6-C18) DAN OMEGA-3 PADA SERUM DARAH TIKUS PUTIH *(Mus musculus)*

[1]Sumaryati Syukur, [1]Rina Dahlyanti, [1]Titi Sumanti, [1]Yulia Murni, [1]Zoni Hidayat, [2]Helmi Arifin, [3]Endang Purwati, [4]Risfaheri

[1]*Laboratorium Biokimia/Bioteknologi Jurusan Kimia FMIPA-UNAND Padang*
[2]*Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA-UNAND Padang*
[3]*Laboratorium Nutrisi Ternak FATERNA-UNAND Padang*
[4]*Laboratorium LITBANG Pasca Panen Dep.Pertanian Cimanggu, Bogor*

ABSTRACT

The Virgin Coconut Oil (VCO) products have different qualities and controversy effects of lipids metabolism. This research has been used one of VCO product that was produced by fermentation method using *Lactobacillus sp.* It has high amount of lauric acid (C12) up to 51 %, caprilic acid (C8) 8.9 %, capric acid (C10) 7 % include Omega-3, 6 and 9, vitamins A, D, E, K and three kinds of *phytohormone*. The ratio of Omega-3 and 6 was very proportional, therefore it is important to investigate the Pre Clinic Test of animal experiment. Pre Clinic Test of dietary VCO as food supplement has been determined by using 40 mice's, which divided into 4 groups. Feeding on egg yolk to Group I (negative control), Group II (positive control) increased cholesterol level. The others were Group III (egg yolk and VCO 2 %) and group IV (egg yolk and VCO 4 %). It was determined the total of cholesterol, HDL at 10th, 20th and 30th day treated by using the enzymatic methods. The dietary of VCO 2-4 % resulted in significant increases in HDL levels from 32 % to 69 %. The dietary of VCO 4 % for four weeks did not toxic to mice metabolism. Triglycerides level decreased 50 % from 177 to 85 and similar resulted to cholesterol ratio. Feeding on VCO for 4 weeks, the SCFA and MCFA not detected in serum of mice. The LCFA (C16) palmitate in significant decreased from 0.96 to 0.1%. The significant level of Omega-3 increased more than three times in serum of mice dietary VCO 2-4 %.

Keywords: Coconut Oil, Lactobacillus

PENDAHULUAN

Virgin Coconut Oil (VCO) atau minyak kelapa murni dengan kandungan *phytohormon* dan omega-3 tinggi (4 %) dikenal dengan merek dagang *Bio Virco Phytomega* telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia, manca negara dan Sumatera Barat khususnya. Kandungan nutrisi utama seperti *phytohormon*, omega dan vitamin A, D, E, K belum pernah dipublikasikan oleh produsen VCO lainnya[1,2]. Nilai nutrisi dari minyak kelapa murni sangat bervariasi tergantung cara dan teknologi pembuatannya. VCO dengan merek dagang *Bio Virco Phytomega*, mempunyai kandungan asam laurat (C_{12}) tinggi rata-rata (55%), dan mengandung asam kaprilat (C_8) 8,9 %, asam kaprat (C_{10}) 7 %[1,4].

Mikroba yang digunakan dapat meningkatkan kandungan vitamin A, D, E, K, omega-3, serta asam lemak askorbil rantai pendek laurat (C:12) yang langsung dapat dimetabolisme dalam tubuh menjadi asam kaprat (C:10) dan monokaprat. Proses metabolisme ini cepat terjadi langsung ke hati dan menghasilkan energi tinggi hampir 100 %. Asam kaprat dan kaprilat berfungsi sebagai anti-bodi dan anti mikroba dalam tubuh sama seperti yang terdapat dalam air susu Ibu[3,5].

Hampir semua masyarakat pengguna *Bio Virco Phytomega* melaporkan banyak manfaatnya untuk kesehatan total (personal data), terbanyak untuk menghilangkan penggumpalan darah, pegal linu, dan diabetes

serta jantung koroner. Adanya kandungan asam laurat yang tinggi yang dikenal dengan *Medium Chain Fatty Acids* (MCFA) yaitu asam lemak jenuh dengan rantai karbon atom (C12) yang langsung diserap diusus tanpa adanya lipase pankreas dan cepat dimetabolisme di hati menjadi energi hampir 100 %. MCFA ini tidak ditumpuk di jaringan melainkan cepat dipecah menjadi energi di mitokondria hati[6,7].

Tingginya asam laurat dan derivatnya mempunyai aktifitas antimikroba beberapa mikroorganisme yang mempunyai membran lipid tinggi. MCFA bila dimakan langsung diubah menjadi monogliserida selanjutnya dimetabolisme menjadi kalori atau panas. Dari hasil metabolisme dalam tubuh dihasilkan senyawa asam mono laurat, monokaprat dan caprilat (C10, C8 dan C6) yang dapat bertindak sebagai *Short Chain Fatty Acids* (SCFA) yang dapat merusak membran lipid dan menghancurkan inti sel dan asam nukleat DNA/RNA dari virus dan bakteri patogen seperti, Virus *HIV, Cytomegalo* virus, Herpes, bakteri vibrio dan lain-lain[1,2,6,8,9].

Hasil penelitian para nutrisi dunia sekarang ini melaporkan bahwa lemak/minyak tak jenuh yang mengandung ikatan rangkap sangat berbahaya untuk kesehatan jantung dan hipertensi, bahkan disebut sebagai pembunuh diam-diam. Pada pengolahan makanan dengan panas, atau pada proses penyimpanan sekalipun ikatan rangkap pada minyak tak jenuh tersebut akan mengalami isomerisasi dari konfigurasi "Cis" menjadi konfigurasi "Trans"[10,11,12]. Adanya ikatan rangkap poli maupun mono *unsaturated* pada minyak akan terbentuk senyawa epoksi dan radikal bebas yang bersifat ultimat karsinogen langsung berikatan dengan basa-basa DNA yang bermuatan negatif dan menyebabkan mutasi DNA atau sel kanker.

Bio Virco Phytomega dapat meningkatkan kesehatan mata, kulit, aliran darah dan tulang dengan kandungan vitamin A, D, E, K dan Omega-3, 6 dan 9 untuk kecerdasan dan *phytohormon* untuk peningkatkan stamina dan energi.

Hingga saat ini belum ada laporan penelitian tentang hal yang sama dengan yang diusulkan *Bio Virco Phytomega*, dimana prosesnya secara alamiah menggunakan mikroba (*Laktobasilus sp. dan Sacharomyces sp.*) yang diisolasi dari proses fermentasi VCO itu sendiri, sehingga dapat menghasilkan Omega - 3, 6 dan 9 serta *phytohormon* (*auxin, cytikinin dan giberilin*) yang cukup tinggi. *BioVirco-Phytomega* telah diteliti pengaruhnya terhadap penurunan kadar trigliserida dan peningkatan kadar kolesterol baik HDL pada mencit percobaan[12,13].

METODOLOGI

Penentuan Trigliserida, Kolesterol HDL dan LDL

Reagen pereaksi untuk penentuan kadar kolesterol total, trigliserida dan HDL masing-masing tersedia dalam bentuk kit dari DIASYS®, dimana komposisi masing-masingnya berisi enzim-enzim yang akan menghidrolisa dan mengoksidasi kolesterol total, trigliserida dan HDL menjadi senyawa berwarna kinonimin yaitu berwarna merah violet. Senyawa berwarna ini akan diukur dengan menggunakan spektrofotometer *Genesys* $^{Tm\ 20}$ pada panjang gelombang = 500 nm[8,9].

Persiapan dan Perlakuan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan galur Swiss yang berumur 2 bulan dengan berat 20-30 g. Mencit yang digunakan sebanyak 40 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok, yang terdiri dari: 4 ekor mencit digunakan untuk penentuan kadar kolesterol total, trigliserida, HDL dan LDL normal mencit dan sisanya 36 ekor dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol positif diberi makan kuning telur untuk menginduksi kadar kolesterol total dan trigliserida darah mencit dan dua kelompok lainnya diberi makanan kuning telur dan VCO dengan variasi kosentrasi 2 % (0,4 mL/20 g BB) dan 4% (0,8 mL/20 g BB). Setiap kelompok terdiri dari 4 ekor mencit untuk pengukuran kadar kolesterol total, trigliserida dan HDL pada hari ke-10, 20, dan 30.

ISSN : 1978-628X

Pengukuran Kadar Kolesterol Total, Trigliserida, HDL dan LDL

Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida dilakukan pada serum darah, dimana darah diambil dengan cara memotong pembuluh darah di leher, darah ditampung dengan tabung reaksi, lalu didiamkan selama 15 menit. Setelah itu darah disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm kemudian serumnya dipisahkan dari hemoglobin dan trombosit.

Untuk pengukuran kadar kolesterol total dan trigliseridanya masing-masing serum dipipet sebanyak 10 µL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan larutan pereaksi kolesterol dan trigliserida sebanyak 1000 µL lalu larutan dicampur dengan baik dengan menggunakan vortex. Kemudian dibiarkan selama 20 menit pada suhu kamar dan diukur serapan pada panjang gelombang maksimum 500 nm terhadap blanko.

Pengukuran serapan standar dilakukan dengan cara yang sama dengan pengukuran serapan kolesterol total dan trigliserida[8,9].

Untuk penentuan kadar kolesterol HDL, serum dipipet sebanyak 0,02 mL, dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, lalu ditambahkan larutan pengendap 0,5 mL. Larutan dicampur dengan menggunakan alat vortex, kemudian dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar lalu disentrifus selama 10 menit pada kecepatan 4500 rpm. Supernatan diambil sebanyak 0,1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan larutan pereaksi kolesterol sebanyak 1 mL, larutan dicampurkan dengan menggunakan vortex, lalu dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 500 nm. Kadar LDL ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$LDL = \text{kolesterol total} - \frac{\text{Trigliserida}}{5} - \text{HDL}$$

HASIL DAN DISKUSI

Mutu VCO Bio Virco PhytoMega

VCO yang digunakan dalam penelitian ini telah melalui uji standar mutu minyak kelapa (SNI-1992). Hasil uji mutu VCO Bio Virco Phytomega dapat dilihat pada Tabel 1.

Penentuan kadar Trigliserida (TG)

Kadar Trigliserida dan LDL (Tabel 2) yang diperoleh menunjukkan bahwa pada dosis 2 % memberikan hasil yang baik, dimana terjadi penurunan kadar trigliserida dan LDL. Untuk dosis 2 % dan 4 %, pola yang sama terjadi penurunan kadar trigliserida secara signifikan[13,14,15]. Dari hasil penelitian ini ternyata VCO tidak bersifat toksik untuk hewan percobaan[13,15].

Analisa Profil Asam Lemak Jenuh (C6-C16) dan Omega -3

Hal yang sangat menarik dari profil asam lemak jenuh (C6-C16) pada Tabel 3, adalah Hampir tidak ditemukannya asam lemak jenuh (C6-C16) pada serum darah tikus yang diberi VCO selama 1 bulan, sedangkan kandungan Omega-3 meningkat 10 kali lipat pada serum darah tikus yang diberi VCO dengan dosis 2% dan 4% selama 1 bulan.

Tabel 1. Mutu Minyak Kelapa (SNI-1992) dan Perbandingan dengan VCO yang dihasilkan

Komponen Uji	Bilangan	VCO
Kadar air	Maks.0.5%	< 0.12
Kotoran	Maks.0.5%	<0.012
Bilangan iod (g Iod/100 g sample)	8-10.0	4.99
Bilangan penyabunan (mg KOH/g sample)	255 - 265	258.150
Bilangan peroksida (mg O_2/g sample)	Maks. 5.0%	1.08
Asam lemak bebas	Maks.2.5%	0.11
Warna dan aroma	Normal	Bening, Khas Kelapa

Pada penelitian ini, kolesterol total tidak bisa dijadikan parameter karena total kolesterol terdiri dari kolesterol jahat (LDL) dan kolesterol baik (HDL). Oleh karena itu rasio kolesterol (CR) yang didapat dari jumlah total kolesterol dibagi HDL, lebih bisa dijadikan parameter. Semakin kecil angka CR pada suatu bahan, maka semakin baik karena akan mengurangi resiko terkena jantung koroner dan arterosklerosis[5,7,9].

Pada penelitian ini didapat peningkatan kadar kolesterol total seiring dengan waktu pemberian VCO. Hal ini disebabkan karena terjadinya peningkatan kadar HDL di dalam serum darah mencit putih jantan (Tabel 4).

Persentase kenaikan kadar HDL untuk dosis 2% terjadi pada hari ke-20 dari 32,029% menjadi 69,011% pada hari ke-30 dan untuk dosis 4% persentase kenaikan pada hari ke-20 dari 2,990% menjadi 74,089% pada hari ke-30. Hasil penelitian ini menunjukkan kenaikan HDL yang sangat signifikan juga telah dilaporkan pada pasien kolesterol tinggi[6,7,8,9].

Penentuan Kadar Kolesterol HDL dan Ratio Kolesterol

Rasio kolesterol yang didapat (Tabel 5) menunjukkan penurunan seiring dengan waktu pemberian VCO, yaitu untuk dosis 2% pada hari ke-10 adalah 4,098 turun menjadi 1,154 pada hari ke-30 pemberian VCO, sedangkan untuk dosis 4% pada hari ke-20 turun dari 1,893 menjadi 1,613 pada hari ke-30 pemberian VCO, sehingga pemberian VCO secara teori ini akan mengurangi resiko terkena penyakit-penyakit akibat kolesterol jahat mungkin dapat terbukti.

Tabel 2. Kadar Trigliserida (TG) pada perlakuan A dan waktu B

Perlakuan	Waktu (B)		
	Kadar TG hari ke (mg/dL)		
	10	20	30
Kontrol (-)	59,07	59,07	59,07
Kontrol (+)	136,94	135,46	177,49
VCO 2 %	90,81	80,27	75,78
VCO 4 %	85,469	70,210 7	65,9762

Tabel 4. Persentase kenaikan HDL

Perlakuan	Waktu (Hari ke)		
	10	20	30
VCO 2 %	5.252 %	32.029 %	69.011 %
VCO 4 %	2.245 %	42.990 %	74.086 %

Tabel 3. Profil Asam Lemak Jenuh (C6-C16) Dan Omega 3 pada Serum Darah Tikus

No	Jumlah Rantai Karbon	% Kontrol	VCO 2%	VCO 4%
1	C6	-	-	-
2	C8	-	-	-
3	C10	-	-	-
4	C12	-	-	-
5	C14	1,5	-	-
6	C16	0,96	0,10	0,01
7	Omega-3	0.001	0.01	0.02

Tabel 5. Rasio Kolesterol

Perlakuan	Hari			Rata - rata
	10	20	30	
Kontrol (-)	1.326	1.326	1.326	1.326
Kontrol (+)	7.252	6.069	4.427	5.582
VCO 2 %	4.098	1.416	1.154	2.222
VCO 4 %	1.000	1.893	1.613	1.502

ISSN : 1978-628X

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian VCO, persentase kenaikan kadar HDL untuk dosis 2% terjadi pada hari ke-20 dari 32,029% menjadi 69,011% pada hari ke-30 dan untuk dosis 4% persentase kenaikan pada hari ke-20 dari 2,990% menjadi 74,089 % pada hari ke-30 serta Ratio (CR) turun dari 4 menjadi 1. SCFA dan MCFA (C6-C16) tidak ditemukan, kandungan Omega-3 meningkat secara signifikan pada serum darah tikus yang diberi VCO selama 1 bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada pimpinan proyek Research Grand TPSDP Unand 2005-2006 atas pendanaan penelitian ini. Apresiasi yang tinggi juga ditujukan kepada: Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kepala Laboratorium Analisa Kimia Pasca Panen Bogor, Bapak Lalu Sukamo dan tim atas kerja samanya mendukung penelitian ini dan untuk analisa Omega serta asam lemak.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Sumaryati Syukur, 2004, Bioteknologi Virgin Coconut Oil dan Potensi Kandungan Zat Anti Mikroba dan Virus, *Workshop Bioteknologi/ Biomolekuler., Padang.*
2. Sumaryati Syukur, Endang Purwati dan Iman Rahayu, 2005, Effectiveness Pathogen Bacteria of Virgin Coconut Oil, *Proceeding Asian Congress of Microbiology*, September, Bali, 1-7.
3. Sumaryati Syukur, Rina Dahlyanti, Titi Sumanti, Helmi Arifin , Endang Purwati, Risfa Heri, 2005, Biokimia dan Metabolisme Lipid MCT pada Virgin Coconut Oil VCO pada Tikus Percobaan, *Proceeding Seminar Nasional VII dan Kongres X Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia*, Desember 3, 1-10, UNRI Pekanbaru Riau.
4. Sumaryati Syukur, Rina Dahlyanti, Titi Sumanti, Helmi Arifin , Endang Purwati, Risfa Heri, 2006, Profil Kimia dan Biokimia Virgin Coconut Oil (VCO), *Proseding Seminar dan Simposium Kimia LIPI*, Jan 24, 1-8.
5. Sumaryati Syukur, Rina Dahlyanti, Titi Sumanti, Helmi Arifin dan Endang Purwati, 2005, Bioteknologi Virgin Coconut Oil, Peningkatan Kesehatan Total dan Pengentasan Kemiskinan Masyarakat Pedesaan, *Seminar Terpadu Lembaga Pengabdian Masyarakat Univ. Andalas, Padang* 14 , 1-15.
6. Enig, M. G., Atal,S., Sampugna J., dan Keency M., 1990, Trans Fatty Acids in the US Diet, *J. Nutr.*, 9: 471- 486.
7. Kurup, P. A., Rajmohan T.H., 1994, Consumption of Coconut Oil and The Incidence of Atherosclerosis in Human Nutrition, *Proceeding symposium on coconut oil, Kochi, India.*
8. Deacon, A.C., and Dawson, P.J.G., 1979, Enzimatic Assay of Total Cholesterol Involving Chemical or Enzymatic hydrolysis -A Comparison Method-, *Clinical Chemistry.*, 25 (16), 976-983.
9. Deeg, R., and Ziegenhorn, J., 1983, Kinetic Enzymatic Method for automated Determinated of Total Cholesterol in Serum, *Clin. Chem.*, 29: 802.
10. Khosla, P., and Hayes, K.C., 1996, Dietary trans-mono-unsaturated fatty acids negatively impact on plasma lipids in humans, *J. Am. Nutr.*, 15: 325-339.
11. Murray, R. K., 1989, Lemak, Metabolisme, dan Penyakit Jantung Koroner, *Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas., Padang.*
12. Mensink, R. P., and Katan, M. B., 1990, Dietary Trans Fatty Acids, *The New England Journal of Medicine.*, 323: 439-445.
13. Bambang Setiadji., 2004, Virgin Coconut Oil dan Serangan Jantung, *Trubus.*, 417: 127-127.
14. Bach, A.C., and Babayan,V.K., 1982, Medium Chain Triglycerides, *Am. J. Clin. Nutr.*,36:950-962.