Artikel Penelitian

Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Minyak Sawit terhadap Kadar Malondialdehid Darah Tikus Wistar

Maressya Silvia Eszy¹, Susila Sastri², Machdawaty Masri³

Abstrak

Minyak sawit merupakan sumber lemak yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Minyak ini mengandung 50% asam lemak jenuh atau *saturated fatty acid* (SFA), 40% asam lemak tidak jenuh rantai tunggal atau *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA), 10% asam lemak tidak jenuh rantai ganda atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA), antioksidan, vitamin E dan beta-karoten. Rasio asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh pada minyak sawit hampir sama. Komposisi asam lemak dan antioksidan berperan dalam menentukan pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) di jaringan tubuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh diet tinggi minyak sawit terhadap kadar Malondialdehid (MDA) darah tikus. Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental dengan menggunakan *post test only control group design*. Sampel terdiri dari sepuluh ekor tikus wistar jantan dengan berat antara 180-260 gram yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok tikus control yang diberi diet standar *ad libitum* dan kelompok tikus perlakuan yang diberi tambahan minyak sawit kedalam diet standar *ad libitum*. Setelah perlakuan satu bulan, dilakukan pemeriksaan kadar malondialdehid. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kadar MDA kelompok tikus perlakuan ($2,494 \pm 0,504$ nmol/ml) dengan kelompok tikus kontrol ($3,152 \pm 0,237$ nmol/ml). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa diet tinggi minyak sawit menurunkan kadar MDA darah tikus.

Kata kunci: minyak sawit, SFA, MUFA, antioxidant, ROS, MDA

Abstract

*Palm oil is a source of fat which most widely consumed by Indonesian people. This oil contains 50% Saturated Fatty Acid (SFA), 40% Monounsaturated Fatty Acid (MUFA), 10% Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA), antioxidant, vitamin E and beta-carotene. The saturated fatty acid to unsaturated fatty acid ratio of palm oil is almost same. Composition of fatty acids and antioxidants play a role in determining the production of ROS (Reactive Oxygen Species) in the tissues of the body. This study was aimed to assess the effect of a high palm oil diet on malondialdehyde (MDA) concentration in rat's blood. This research was an experimental study which applies post test only control group design. Sample amounted to ten male wistar rats with 180-260 gram weight were divided into two research groups those are control group rats which were administered standard diet *ad libitum* and treatment group rats which were administered addition of palm oil to standard diet *ad libitum*. After one month treatment, malondialdehyde concentrations were observed. The result of this study revealed significant difference ($p < 0.05$) between MDA concentration in treatment group rats (2.494 ± 0.504 nmol/ml) and control group rats (3.152 ± 0.237 nmol/ml). From the result of this research may be concluded that high palm oil diet decreased MDA concentration of rat's blood.*

Keywords: palm oil, SFA, MUFA, antioxidant, ROS, MDA

Affiliasi penulis : 1. Pendidikan Dokter FK UNAND (Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang), 2. Bagian Biokimia FK UNAND, 3. Bagian Kimia FK UNAND

Korespondensi: Maressya Silvia Eszy, Email: maressya.eszy@gmail.com, Telp: 085274009678

PENDAHULUAN

Minyak sawit merupakan salah satu sumber lemak yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dan negara tropis lainnya karena

mudah didapat dan harganya relatif lebih murah dibandingkan minyak goreng lain. Berdasarkan data FAPRI (*The Food and Agricultural Policy Research Institute*) pada tahun 2009, setiap tahunnya dunia mengonsumsi minyak sawit sekitar 6,6 kilogram per kapita. Diperkirakan menjelang 2020 konsumsi minyak sawit akan terus meningkat.¹

Sekitar 99% komponen asam lemak pada minyak sawit adalah asam lemak rantai panjang atau *long chain fatty acid* (LCFA). Perbandingan komposisi asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh pada minyak sawit hampir sama, yaitu 50% asam lemak jenuh atau *saturated fatty acid* (SFA) dan kurang lebih 50% asam lemak tidak jenuh atau *unsaturated fatty acid* (USFA) yang terdiri dari 40% asam lemak tidak jenuh dengan satu ikatan rangkap atau *mono unsaturated fatty acid* (MUFA) dan 10% asam lemak tidak jenuh dengan dua atau lebih ikatan rangkap atau *polyunsaturated fatty acid* (PUFA).² Selain itu, minyak sawit juga mengandung tokoferol, tokotrienol dan karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan.³

Menurut *Institute of Medicine Food and Nutrition Board*, diet lemak yang dianjurkan adalah sekitar 19% sampai 35% dari total kalori per hari atau sekitar 44 sampai 78 gram pada orang dewasa dengan total kebutuhan energi 2000 kalori per hari.⁴ Diet lemak yang melebihi kebutuhan standar dapat saja terjadi karena kebiasaan makan, perubahan gaya hidup dan anggapan bahwa lemak tidak jenuh dapat menurunkan kolesterol.⁵ Diet tinggi lemak telah dikaitkan dengantimbulnya penyakit degeneratif dan metabolik.⁶ Konsumsi lemak melebihi kebutuhan standar dalam waktu yang lama dapat menimbulkan stres oksidatif akibat peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di berbagai jaringan.^{7,8}

ROS dalam kadar kecil berperan sebagai *secondary messenger* yang mengontrol beberapa fungsi fisiologis normal (apoptosis, *endothelial cell growth*, *smooth muscle*, *remodelling* dinding pembuluh darah, detoksifikasi dan membantu fungsi fagosit leukosit). Oleh karena itu produksinya diatur ketat oleh hormon, sitokin dan mekanisme homeostasis lainnya. Overproduksi ROS dapat disebabkan oleh stimulasi berlebihan NADPH oksidase yang diinduksi sitokin pada proses inflamasi atau gangguan pada *mitochondrial electron transport chain* yang

mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. ROS yang berlebihan dapat bereaksi dengan logam pada membran sel untuk menghasilkan radikal hidroksil (OH[•]). OH[•] akan bereaksi dengan PUFA pada membran sel membentuk radikal lipid (R[•]) dan peroksid lipid (ROO[•]) yang selanjutnya dapat menciptakan reaksi rantai atau endoperoksida. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi *malondialdehyde* (MDA), 9 hidroksi nonenal, 4-hidroksi-2-nonenal (HNE), pentana (C₅H₁₂) dan etana (C₂H₆).⁷ Peningkatan ROS dapat dideteksi dengan mengukur kadar MDA.

Beberapa penelitian telah mengkaji mengenai pengaruh diet tinggi lemak terhadap pembentukan ROS. Konsumsi berlebihan asam palmitat (SFA) pada minyak sawit dapat meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6,^{9,10} Asam oleat mampu menekan produksi sitokin proinflamasi diatas,¹¹ meningkatkan PPAR γ coactivator-1 α (PGC-1 α), meningkatkan glutathion peroksidase,¹² mencegah apoptosis dan melindungi mitokondria dari kerusakan yang diakibatkan oleh ROS dengan cara menurunkan DAG (diasilgliserol) intraselular dan meningkatkan β -oksidasi.¹³

Minyak sawit juga merupakan salah satu sumber terbesar tokotrienol dan tokoferol dan karoten. Keduanya merupakan antioksidan yang melindungi membran sel dan jaringan dari kerusakan yang diakibatkan oleh ROS.³

Berdasarkan hal diatas, dapat disimpulkan bahwa komposisi asam lemak dan kandungan antioksidan pada minyak sawit berperan dalam menentukan terjadinya stres oksidatif dengan meningkatkan atau menurunkan kadar ROS, oleh karena itu perlu diteliti lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian diet tinggi minyak sawit terhadap kadar MDA darah tikus wistar.

METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium *post test only control group design* dengan menggunakan tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) jantan sebagai hewan percobaan. Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan (*Rattus novergicus*) dengan berat badan antara 180-260 gram dan umur $\pm$ 2 bulan.

Tikus percobaan didapat dari Balai Pengujian Penyakit Veteriner Wilayah II Bukittinggi. Sampel diambil secara acak (*simple random sampling*) dari populasi dan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jumlah sampel tikus yang digunakan untuk masing-masing kelompok sesuai dengan kriteria World Health Organization (WHO), yaitu minimal 5 ekor tikus.¹⁴ Perawatan dan pemeliharaan tikus dilakukan di Laboratorium Anatomi Fisiologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Diet standar tikus mengandung 75% karbohidrat, 15% protein, 6,7% lemak, 0,2% serat dan sisanya terdiri dari vitamin dan mineral.

Sebelum perlakuan, semua tikus percobaan diaklimatisasi selama 7 hari dengan pakan standar, kemudian kelompok kontrol diberi diet standar ad libitum selama 4 minggu dan kelompok perlakuan diberi diet tinggi minyak sawit yaitu diet standar + minyak sawit (setiap 15 gr pakan standar dicampur 3 ml minyak sawit per hari) secara ad libitum selama 4 minggu. Berat badan setiap tikus percobaan ditimbang sebelum dan setelah perlakuan.

Setelah empat minggu perlakuan, sampel darah tikus diambil untuk dilakukan pengukuran kadar MDA di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan selama ± 8 jam. Masing-masing tikus terlebih dahulu dilakukan anestesi umum dengan inhalasi dietil eter. Tikus dimasukkan ke dalam tabung berisi kapas yang telah dibasahi larutan dietil eter kemudian ditutup rapat dan ditunggu sampai tikus tertidur (Stadium III plana 2-3). Sampel darah diambil dari sirkulasi leher dengan cara dekapitasi. Darah dipipet 3-5 ml dengan menggunakan spuit, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000-4000 rpm selama 15-20 menit. Selanjutnya didiamkan 15 menit untuk mendapatkan serum.

Pengukuran MDA serum dilakukan dengan metode spektrofotometer berdasarkan reaksi TBA (*Thiobarbituric acid*). MDA akan bereaksi dengan TBA membentuk MDA-TBA₂, kemudian zat ini akan menyerap gelombang dengan panjang 550 nm.

Data kadar MDA yang didapat dianalisis secara statistik menggunakan *T-test independent*.

HASIL

Setelah pemberian 2 jenis diet terhadap subjek selama 4 minggu, maka didapatkan data sebagai berikut.

Tabel 1. Berat Badan Tikus Wistar Sebelum dan Setelah Perlakuan

	Tikus Wistar	BB (Gram)
K (n=5)	Sebelum	221,4 $\pm$ 15,25
	Setelah(4minggu)	308,2 $\pm$ 21,70
P (n=5)	Sebelum	223,2 $\pm$ 19,75
	Setelah(4minggu)	294,8 $\pm$ 26,87

Keterangan tabel :

n: Jumlah hewan percobaan

K: Kelompok tikus kontrol

P: Kelompok tikus perlakuan

BB : Berat badan

Data disajikan dalam bentuk Mean $\pm$ SD

Tabel 2. Perbedaan Rerata Pertambahan Berat Badan Tikus Kontrol dan Tikus Perlakuan

Tikus Wistar	PBB (gram)	p
K (n=5)	86,8 $\pm$ 8,32	0,03
P (n=5)	71,6 $\pm$ 9,81	

Keterangan tabel:

n: Jumlah hewan percobaan

K: Kelompok tikus kontrol

P: Kelompok tikus perlakuan

PBB : Pertambahan berat badan

Data disajikan dalam bentuk Mean $\pm$ SD

Data perbedaan (p) dinyatakan bermakna jika $p \leq 0,05$

Kedua kelompok mengalami pertambahan berat badan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji normalitas *Kormogorov Smirnov* dan *Shapiro-Wilk* menunjukkan distribusi data normal ($p > 0,05$) untuk pertambahan berat badan kedua kelompok dan uji *homogeneity of variance* menunjukkan varian data sama ($p > 0,05$) *T-test* dilakukan *Independent* dan didapatkan rata-rata pertambahan berat badan kelompok tikus kontrol lebih tinggi secara signifikan dibandingkan tikus perlakuan ($p < 0,05$).

Tabel 3. Perbedaan Kadar MDA Darah Tikus Kontrol dan Tikus Perlakuan

Tikus Wistar	MDA (nmol/ml)	p
K (n=5)	3,15 $\pm$ 0,24	0,03
P (n=5)	2,49 $\pm$ 0,50	

Keterangan tabel 3:
 n: Jumlah hewan percobaan
 K: Kelompok tikus kontrol
 P: Kelompok tikus perlakuan
 MDA: Kadar MDA
 Data disajikan dalam bentuk Mean $\pm$ SD
 Data perbedaan (p) dinyatakan bermakna jika $p \leq 0,05$

Hasil uji normalitas *Kormogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk* didapatkan distribusi data normal ($p > 0,05$) untuk setiap kelompok dan hasil *Levene's test* menunjukkan varian data sama ($p > 0,05$). Data tersebut kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan *T-test independent*. Hasil test memperlihatkan rerata kadar MDA kelompok tikus perlakuan lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok tikus kontrol.

PEMBAHASAN

Pada kelompok tikus kontrol didapatkan rerata pertambahan berat badan lebih besar secara signifikan dibandingkan rerata pertambahan berat badan tikus perlakuan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh komposisi asam lemak yang unik pada minyak sawit dimana rasio SFA dan MUFA hampir sama dengan satu sehingga bersifat netral terhadap berat badan. Asam oleat lebih cepat dan lebih banyak dioksidasi sehingga tidak menyebabkan akumulasi lemak, sedangkan peningkatan rasio SFA/MUFA dapat menurunkan oksidasi asam lemak dan meningkatkan jumlah sel adipose sehingga dapat meningkatkan berat badan.¹⁵

Rerata kadar MDA kelompok tikus perlakuan lebih rendah secara signifikan dibandingkan rerata kadar MDA kelompok kontrol ($p < 0,05$). Meskipun asam palmitat oleh penelitian sebelumnya,^{9,15} meningkatkan produksi ROS dengan cara menurunkan regulasi PGC-1 α , tetapi hal ini dicegah oleh keberadaan asam oleat pada minyak sawit.^{13,16} Asam oleat dapat meningkatkan regulasi faktor transkripsi PGC-1 α sehingga tidak mengganggu proses metabolisme energi pada mitokondria. Penurunan regulasi PGC-1 α menyebabkan produksi enzim yang diperlukan dalam beta-oksidasi berkurang, dan kelebihan asam lemak tidak dibakar menjadi energi tetapi disimpan di berbagai jaringan. Jika hal ini terjadi dalam waktu yang lama, sel adiposa akan membesar dan mensekresikan sitokin proinflamasi. TNF- α dan IL-6

dapat memicu respon sel inflamasi untuk mensekresikan NADPH oksidase yang akan mengoksidasi O₂ menjadi O₂⁻ diikuti dengan peningkatan H₂O₂. Rasio SFA/MUFA yang hampir sama dengan satu pada minyak sawit tidak menyebabkan peningkatan ROS. Asam oleat juga dapat berikatan dengan EGFR (*epidermal growth factor receptor*). Ligan tersebut mengaktifkan enzim glutathione peroksidase yang selanjutnya akan mengkatalis reaksi glutathione (GSH) dengan H₂O₂ menjadi glutathione disulfida (GSSG) dan H₂O. Akibat dari reaksi tersebut adalah tidak berlanjutnya reaksi Fenton dan pembentukan ROS yang berlebihan dapat dicegah. Selain itu, asam oleat dapat mencegah terbentuknya TNF- α sehingga dapat menurunkan stres oksidatif akibat diet tinggi asam palmitat.¹²

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa diet tinggi minyak sawit dapat menginduksi toksisitas stres oksidatif pada sel hati yang ditandai dengan hilangnya arsitektur selular dan peningkatan alanin transaminase.^{5,10} Sedangkan minyak sawit yang dikonsumsi berdasarkan standar diet dapat menurunkan stres oksidatif.¹⁷

Selain itu, Minyak sawit memiliki level PUFA yang rendah, yaitu hanya sekitar 10%. PUFA merupakan prekursor asam arakhidonat yang lebih mudah teroksidasi dan rusak oleh ROS dibandingkan dengan MUFA dan SFA sehingga proses lipid peroksidasi tidak sebanyak minyak dengan komposisi PUFA yang lebih tinggi.¹⁸

Penurunan kadar MDA pada penelitian ini kemungkinan juga disebabkan oleh kandungan antioksidan pada minyak sawit. Hasil penelitian oleh Eidangbe *dkk*, pada tahun 2010 juga menunjukkan penurunan kadar MDA serum pada tikus yang diberi diet minyak sawit 5% diatas standar diet lemak selama 6 minggu.¹⁹ Minyak sawit memiliki konsentrasi tokoferol dan tokotrienol yang tinggi. Kedua isomer Vitamin E ini akan mentransfer atom H yang dimilikinya kepada radikal lipid peroksidasi sehingga terbentuk senyawa yang stabil dan reaksi radikal lipid peroksidasi dapat berhenti.

Alasan lainnya yaitu minyak sawit yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak sawit yang belum digoreng atau dioksidasi sehingga antioksi

dan yang terkandung didalamnya masih utuh dan tidak rusak akibat pemanasan.²⁰

Dari penelitian pengaruh pemberian diet tinggi minyak sawit terhadap kadar malondialdehid didapatkan kesimpulan bahwa pemberian minyak sawit menurunkan kadar malondialdehid darah.

Disarankan untuk dilakukan penelitian selanjutnya mengenai pengaruh diet tinggi minyak sawit dengan jumlah subjek penelitian yang lebih besar, waktu konsumsi yang berbeda dan tambahan diet minyak sawit dengan konsentrasi berbeda sehingga hasil penelitian dapat digunakan dalam penelitian selanjutnya mengenai hal tersebut pada manusia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada dr. Susila Sastri M. Biomed dan Dra. Machdawaty Masri, Apt., MSi., yang telah banyak memberikan bimbingan, bantuan dan motivasi dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Laporan World Groth. Manfaat minyak sawit bagi perekonomian Indonesia. 2011.
2. Kamsiah J, Aziz NS, Siew ST, Zahir IS. Changes in serum lipid profile and malondialdehyde following consumption of fresh or heated red palm oil. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences*. 2001; 14(2):79-86.
3. Mukherjee S, Mitra A. Health effect of palm oil. *J Hum Ecol*. 2009; 26(3):197-203.
4. Kannal Erica, Palm Oil Health Hazard [serial online] (diunduh 30 Januari 2014). Tersedia dari: URL: HYPERLINK <http://healthyeating.sfgate.com/palm-oil-health-hazard-7375.html>.
5. Sastri S, Kadri H. Pengaruh diet tinggi minyak sawit terhadap sel hepatosit tikus. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2012;1(3): 125-8.
6. Wallace DC. A Mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative disease, aging, and cancer: A Drawn for Evolutiory Medicine [serial online] 2005 (diunduh 30 Januari 2014). Tersedia dari: URL: HYPERLINK <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/1628586>
7. Valko M, Leibfritz D, Moncol Jan, Cronin MTD, Mazur, Telser J. Free radicals and antioxidant in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2007; 39:44-84.
8. Matsuzawa-Nagata N, Takamura T, Ando H, Nakamura S, Kurita S, Misu H, *et al*. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat-diet-induced insulin resistance. *Metabolism; Clinical and Experimental*. 2008; 57(8): 1071-7.
9. Kenned A, Martinez, Chuang CC, LaPoint, McIntosh M. Saturated fatty acid mediated inflammation and insulin resistant in adipose tissue, mechanism of action and implication. *Journal of Nutrition- American Society for Nutrition*. 2009; 139(1):1-4.
10. Carmiel-Haggai, Cederbaum AI, Nieto N. High-fat diet leads to the progression of non-alcoholic fatty liver disease in obese rats. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2005;(19): 136-8.
11. Al-Shudiefat, Sharma AK, Bagichi AK, Dhingra S, Singal PK. Oleic acid mitigates TNF-a-induced oxidative stress in cardiomyocytes. *Mol Cell Biochem*. 2013; 372 (1-2): 75-82.
12. Duval C, Auge N, Frisach M, Casteilla L, Salvayre R, Negre-Salvayre A. Mitochondrial oxydative stress is modulated by oleic via an epidermal growth factor receptor-dependent activation of glutathione peroxidase. *Biochem J*. 2002; (367):889-94.
13. Ahn JH, Kim MH, Kwon HJ, Choi SY, Kwon HY. Protective effect of oleic acid againts palmitic acid induced apoptosis in pancreatic ar42j cells and its mechanism. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2013;(17): 43-50.
14. World Health Organization. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine; 2000.
15. Kien CL, Bunn YJ, Ugrasbul. Increasing dietary palmitic acid decreased fat oxidation

- and daily energy expenditure. *Am J Clin Nutr.* 2005;(82):320-6.
16. Yuzefovych L, Wilson G, Rachek. Different effect of oleate vs palmitate on mitochondrial function, apoptosis and insulin signaling in l6 skeletal muscle cells:role of oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*2010;299: 1096-105.
 17. Edem DO. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspect: a review [serial online] 2002 (diunduh 29 Januari 2014). Tersedia dari: URL: HYPERLINK <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/12602939>
 18. Dauqan EMA, Abdullah A, Sani HA. Effect of different red palm olein and different vegetable oils on antioxidant enzymes in normal and stressed rat. *In Tech.* 2012;(11): 304-20.
 19. Eingdabe GO, Oluba OM, Ojeh GC, Indonijie BO. Palm and egusi melon oils lower serum and liver lipid profile and improve antioxidant activity in rats fed a high fat diet. *Int. J. Med. Sci.* 2011; 3 (2): 47-51.
 20. Mesembe OE, Ibanga I and Osim EE. The effects of fresh and thermoxidized palm oil diets on some haematological indices in rat. *Nigerian Journal of Physiological Sciences.* 2004; 19 (1-2): 86-91.