

Comparison of The Effects of Extra Virgin Olive Oil, Honey, and Combination on Blood Levels of HDL in Male White Rats (*Rattus norvegicus*) Sprague dawley Strain that Induced by High-Cholesterol Diet

Hendarsyah F, Kurniawaty E, Mustofa S,
Medical Faculty of Lampung University

Abstract

Hipercholesterolemia is a condition in which the blood cholesterol is increased beyond the normal threshold which is characterized by increased levels of total cholesterol especially Low Density Lipoprotein (LDL) and followed by a decreased in the levels of High Density Lipoprotein (HDL). One of the hipercholesterolemia prevention is by consuming Extra Virgin Olive Oil (EVOO) and honey that containing flavonoids compounds. Flavonoids proved to be able to increase HDL levels in the blood. The aim of this research is to know the influence of granting EVOO and honey to the level of blood HDL in male white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague dawley strain that induced by high-cholesterol diet. This research is experimental research with post test only with control group design, using 25 male white rats that randomly selected and divided into 5 groups. Group K1 received a standard diet, K2 received 3 ml of cow's brain suspension, K3 received 3 ml of cow's brain suspension and 1.35 ml of honey, K4 received 3 ml of cow's brain suspension and 1 ml of EVOO, K5 received 3 ml of cow's brain suspension and combination of 1.35 ml honey and 1 ml EVOO. The research results obtained average HDL levels K1 (27,43); K2 (19,95); K3 (26,46); K4 (23,90) K5 (30,59). Conclusion of the research is the influence the granting of EVOO, and the combination of honey and EVOO, but there was no effect of giving honey to increased levels of HDL blood.

Key words : EVOO, high-cholesterol diet, HDL, honey.

Abstrak

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kolesterol dalam darah meningkat melebihi ambang normal yang ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol total terutama *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan diikuti dengan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) darah. Salah satu pencegahan hiperkolesterolemia adalah dengan mengkonsumsi *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) dan madu yang mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid terbukti dapat meningkatkan kadar HDL darah. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian EVOO dan madu terhadap kadar HDL darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley yang diinduksi diet tinggi kolesterol. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only with control group design*, menggunakan 25 ekor tikus jantan yang dipilih secara acak dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok K1 diberikan diet standar, K2 diberikan suspensi otak sapi 3 ml, K3 diberikan suspensi otak sapi 3 ml dan madu 1,35 ml, K4 diberikan suspensi otak sapi 3 ml dan EVOO 1 ml, K5 suspensi otak sapi 3 ml dan kombinasi madu 1,35 ml + EVOO 1 ml. Hasil penelitian didapatkan rerata kadar HDL K1 (27,43); K2 (19,95); K3 (26,46); K4 (23,90) K5 (30,59). Kesimpulan dari penelitian ini terdapat pengaruh pemberian EVOO, dan kombinasi EVOO dan madu, namun tidak terdapat pengaruh pemberian madu terhadap peningkatan kadar HDL darah.

Kata kunci : Diet tinggi kolesterol, EVOO, HDL, madu.

Pendahuluan

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kolesterol dalam darah meningkat melebihi ambang normal yang ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol total terutama *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan diikuti dengan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) darah (Bhatnagar *et al.*, 2008). Penurunan kadar HDL darah dalam keadaan hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor risiko terjadinya Penyakit Kardiovaskular (PKV) (Bhatnagar *et al.*, 2008). Di Indonesia PKV ini merupakan 30% penyebab kematian, dan merupakan proporsi terbanyak dari penyebab kematian yang ada (WHO, 2011).

Insidensi PKV yang rendah terdapat di negara-negara mediterania. Telah diketahui bahwa pengaplikasian diet di negara-negara mediterania dalam kehidupan sehari-hari dapat mencegah terjadinya PKV dimana diet mediterania adalah minyak zaitun yang merupakan sumber utama lemak (Estruch *et al.*, 2006). Selain minyak zaitun, madu dapat meningkatkan kadar HDL yang signifikan sehingga dapat mencegah terjadinya hiperkolesterolemia (Erejuwa *et al.*, 2012).

Dalam berbagai penelitian minyak zaitun dan madu terdapat kandungan senyawa flavonoid yang bermanfaat untuk mencegah terbentuknya plak aterosklerosis yang merupakan penyebab utama terjadinya PKV. Dalam penelitian sebelumnya fenolik terbukti memiliki efek terbesar untuk meningkatkan kadar kolesterol HDL (Fito *et al.*, 2007). Pada penelitian ini peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian minyak zaitun ekstra virgin dan madu terhadap kadar kolesterol HDL darah tikus putih jantan galur Sprague dawley yang diinduksi oleh diet tinggi kolesterol.

Metode

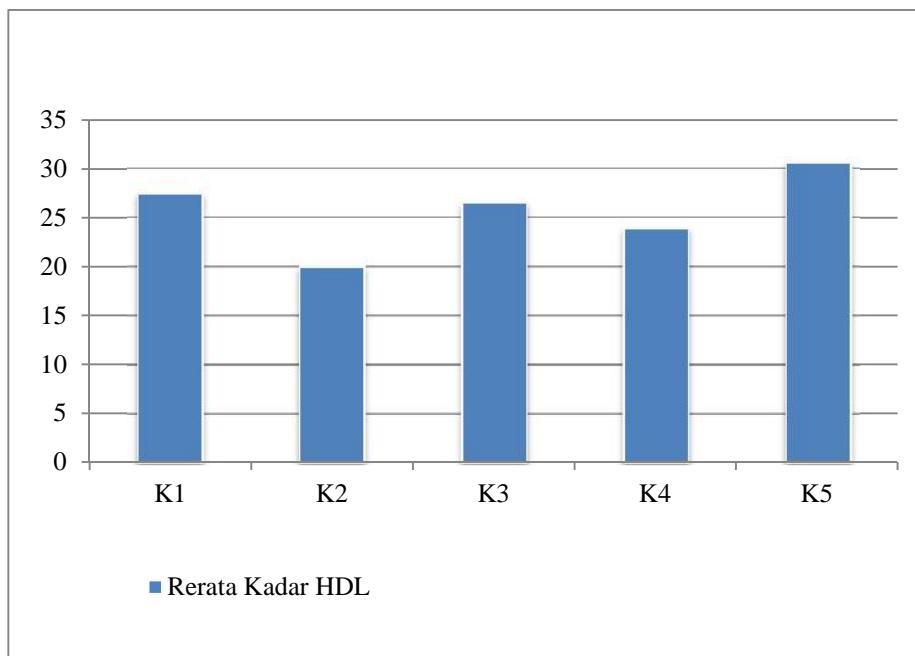
Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan *Post Test Only With Control Group Design*. Sampel dalam penelitian ini adalah Tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang diapat dari IPB (Institut Pertanian Bogor) dengan berat 150-250 berumur 4-5 bulan. Jumlah sampel adalah 25 ekor yang diacak kedalam 5 kelompok perlakuan. Waktu penelitian adalah 22 hari. Selama 7 hari masing-masing kelompok diberikan diet standar berupa pelet lele. Hari 8 K1 (diberi diet standard sebagai kontrol negatif), K2 (diberi diet tinggi kolesterol yaitu otak sapi sebanyak 3 ml sebagai kontrol positif), K3 (diberi otak sapi

sebanyak 3 ml dan EVOO 1 ml), K4 (diberi otak sapi sebanyak 3 ml dan madu 1,35 ml), K5 (diberi otak sapi sebanyak 3 ml dan kombinasi EVOO dengan dosis 1 ml dan madu dengan dosis 1,35 ml) melalui sonde selama 15 hari.

Pada hari 23, tikus dipuaskan terlebih dulu selama 10 jam kemudian dinarkosis menggunakan ketamine+xylazine dengan dosis 75-100 mg/kgbb dan 5-10 mg/kgbb secara intraperitoneal. Setelah itu tikus di-*euthanasia* menggunakan metode *cervical dislocation* dan kemudian dilakukan pengambilan darah sebanyak 2cc melalui jantung (AVMA, 2013). Pemeriksaan kadar HDL dilakukan di laboratorium Gladish Medical Center dengan menggunakan metode CHOD-PAP. Data hasil pengamatan diuji analisis menggunakan *software* statistik. Uji yang pertama dilakukan adalah uji normalitas (uji *Shapiro-Wilk*). Apabila sebaran data normal, dilakukan uji ANOVA satu arah. Tetapi bila sebaran data tidak normal atau varians data tidak sama, dilakukan uji alternatif yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui paling tidak terdapat perbedaan antara dua kelompok perlakuan. Apabila pada uji tersebut didapatkan hasil bermakna ($p<0,05$) maka dilakukan uji *post-hoc*. Uji *post-hoc* untuk ANOVA satu arah adalah *Bonferroni* sedangkan untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah *Mann Whitney*.

Hasil

Kadar HDL darah kelompok 1 adalah 27,43 mg/dl, pada kelompok 2 memiliki nilai rerata kadar HDL sebesar 19,95 mg/dl, pada kelompok 3 memiliki nilai rerata sebesar 26,46 mg/dl, pada kelompok 4 memiliki nilai rerata sebesar 23,90 mg/dl, dan pada kelompok 5 memiliki nilai rerata sebesar 30,59 mg/dl.



Keterangan :

K1 = Kelompok yang di beri diet standard

K2 = Kelompok yang di beri diet tinggi kolesterol

K3 = Kelompok yang di beri diet tinggi kolesterol dan *extra virgin olive oil* (EVOO)

K4 = Kelompok yang di beri diet tinggi kolesterol dan madu

K5 = Kelompok yang di beri diet tinggi kolesterol dan kombinasi minyak zaitun + madu

Grafik 1. Hasil Perhitungan Rerata Kadar HDL Tikus Jantan

Data ini kemudian diolah dengan menggunakan program komputer. Pertama, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, uji ini dipilih karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 (Dahlan, 2009). Setelah dilakukan uji normalitas, didapatkan hasil bahwa seluruh data memiliki distribusi normal dengan $p>0,05$ sehingga uji analisis yang digunakan untuk data penelitian ini adalah uji *oneway* ANOVA.

Berdasarkan hasil uji *oneway* ANOVA, diketahui bahwa varians data pada penelitian ini homogen, sehingga tidak perlu dilakukan transformasi data (Dahlan, 2011). Setelah dilakukan uji *oneway* ANOVA diperoleh tingkat signifikansi atau p pada kelima kelompok perlakuan adalah $p=0,024$ ($p<0.05$). Apabila terdapat nilai $p<0,05$ pada uji *oneway* ANOVA, hal ini mengartikan bahwa paling tidak terdapat dua pengukuran yang berbeda. Untuk mengetahui pengukuran mana yang berbeda, analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *post-hoc*.

Tabel 1. Hasil uji *post hoc* kadar HDL hewan coba

No.	Kelompok	p-value	Interpretasi
1	1 dengan 2	0,022	Bermakna
2	2 dengan 3	0,042	Bermakna
3	2 dengan 4	0,203	Tidak Bermakna
4	2 dengan 5	0,002	Bermakna
5	3 dengan 5	0,184	Tidak Bermakna
6	4 dengan 5	0,037	Bermakna

Berdasarkan tabel 1 diatas terlihat adanya perbedaan yang bermakna antara K2 dengan K1, K3, K5. Sedangkan K2 dengan K4 tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Pada K5 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan K3. Namun K5 memiliki perbedaan yang bermakna dengan K4.

Pembahasan

Berdasarkan hasil uji dengan program komputer, diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar HDL pada K2 terhadap K1, K3, K4 dan K5. Uji yang digunakan untuk mengetahui perbedaan ini adalah dengan *one way anova*. Hasil uji ini memiliki nilai *p* yang $<0,05$. Setelah uji *one way anova*, uji ini dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Berdasarkan hasil uji *post hoc* pada K1 dengan K2, K2 dengan K3, K2 dengan K5 memiliki nilai *p* $<0,05$. Hal ini berarti pemberian minyak zaitun dan kombinasi pada K3 dan K5 memiliki pengaruh terhadap peningkatan kadar HDL darah walaupun K3 dan K5 diberi diet tinggi kolesterol otak sapi 3 ml/hari. Sementara pada kelompok K4 tidak memiliki perbedaan yang bermakna terhadap K1, K2, dan K3. Hal ini berarti kelompok K4 yang diberi perlakuan madu dan diberi diet tinggi kolesterol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap peningkatan kadar HDL.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pratama dan Probosari pada tahun 2012 menunjukkan bahwa pakan tinggi

kolesterol berupa suspensi otak sapi sebanyak 2 ml per hari dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menurunkan kadar HDL (Pratama dan Probosari, 2012). Penurunan kadar kolesterol HDL akibat hiperkolesterolemia ini disebabkan oleh banyaknya asam lemak jenuh di dalam pakan kolesterol yang menyebabkan terjadinya penekanan sintesis kolesterol HDL melalui penurunan kadar apoprotein A-1 yang merupakan prekursor dari pembentukan HDL dan juga hipertrigliseridemia meningkatkan katabolisme apoprotein A-1 HDL dengan menambah trigliserida sementara mengurangi kolesterol ester di dalam inti HDL (Setiyaji, 2011).

Pada minyak zaitun ekstra murni (EVOO), berdasarkan dari hasil yang diperoleh penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nugraheni pada tahun 2012 yang membuktikan bahwa terdapat peningkatan kadar HDL darah yang signifikan pada tikus yang diberikan minyak zaitun dengan dosis 0,9 ml yaitu peningkatan HDL sebesar 31,9 ml/dl (Nugraheni, 2012). senyawa flavonoid yang terkandung dalam EVOO mempunyai mekanisme untuk meningkatkan jumlah kolesterol HDL dengan cara meningkatkan penglepasan kolesterol dari dalam makrofag dan meningkatkan ekspresi *ATP-binding cassette* (ABC) A1 (Helal *et al.*, 2013).

Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Bogdanov pada tahun 2012 yang dilakukan pada manusia dengan dosis 75 ml/hari atau 75 g/hari menunjukkan hasil yang efektif untuk meningkatkan kadar HDL darah. Namun penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilain mengenai pengaruh pemberian ekstrak bawang merah yang memiliki kandungan yang sama yaitu flavonoid terhadap kadar HDL darah pada tikus wistar. Pada penelitian tersebut tidak terjadi peningkatan kadar HDL darah secara signifikan (Putri dkk., 2010). Mekanisme flavonoid dalam meningkatkan HDL ini dengan cara meningkatkan produksi apolipoprotein A-1 yang merupakan bahan pembentuk dari HDL (Baba *et al.*, 2007). Hasil ini sesuai dengan pernyataan Menurut Dieakhoff, 1992 bahwa signifikansi statistik emang dapat dihitung dan karenanya dapat ditunjukan secara objektif, namun dari sisi praktisi, adanya signifikansi praktisi perlu dilandasi oleh pertimbangan akal. Hal itu karena

signifikan-tidaknya suatu data statistik yang diuji tergantung antara lain pada ukuran sampel (n) dan varibilitas data (Azwar, 2005).

Pada penelitian ini pemberian kombinasi dari madu dan minyak zaitun menunjukkan hasil yang signifikan untuk meningkatkan kadar HDL darah. Terbukti bahwa pada K5 yang merupakan perlakuan kombinasi dari madu dan minyak zaitun memiliki kadar HDL yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok yang lainnya termasuk K1 sebagai kelompok kontrol negatif yang menjadi acuan nilai normal HDL tikus pada penelitian ini. Hal ini diduga pada perlakuan kombinasi dari madu dan minyak zaitun memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lainnya. Pada minyak zaitun juga memiliki efek protektif dikarenakan EVOO mengandung asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) yaitu asam oleat yang mempunyai efek protektif dengan menurunkan absorpsi kolesterol pada intestinum sehingga menurunkan kolesterol dalam darah (Ghanbari *et al.*, 2012). selain itu minyak zaitun juga mengandung sejumlah kecil senyawa flavonoid yang diduga mempunyai mekanisme untuk meningkatkan jumlah kolesterol HDL dengan cara meningkatkan pengelopasan kolesterol dari dalam makrofag dan meningkatkan ekspresi *ATP-binding cassette* (ABC) A1 (Helal *et al.*, 2013). Pada madu efek protektif ini terjadi karena madu mengandung sejumlah flavanoid dan vitamin C. Pada penelitian lain menyebutkan bahwa mekanisme flavonoid meningkatkan HDL juga dapat dengan cara meningkatkan produksi apoprotein A-1 yang merupakan bahan pembentuk dari HDL sehingga HDL dalam darah dapat meningkat (Baba *et al.*, 2007 ; Vijayakumar, 2006).

Adapun keterbatasan dan kelemahan pada penelitian ini adalah pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol HDL darah tikus sebelum diberikan perlakuan minyak zaitun, madu dan kombinasi dari minyak zaitun dan madu sehingga tidak dapat dilihat perubahan kadar HDL dalam setiap kelompok perlakuan. Kemudian tidak diketahuinya secara pasti seberapa banyak kandungan flavonoid dalam minyak zaitun dan madu serta jumlah diet standar yang dikonsumsi oleh tikus tidak diperhitungkan. Pada penelitian lain juga dengan mengkonsumsi kakao 13 g/hari selama 4 minggu yang didalamnya terkandung

senyawa flavonoid memiliki pengaruh dalam meningkatkan kadar HDL darah (Baba et al., 2007).

Simpulan

Adapun hasil dari penelitian adalah terdapat pengaruh pemberian EVOO terhadap peningkatan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi diet tinggi kolesterol. Tidak terdapat pengaruh pemberian madu terhadap peningkatan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi diet tinggi kolesterol. Terdapat pengaruh kombinasi pemberian EVOO dan madu peningkatan terhadap kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi diet tinggi kolesterol.

Daftar Pustaka

- American Veterinary Medical Association. 2013. Guidelines for euthanasia of animals. Page 30, 38, 48.
- Azwar, S. 2005. Signifikan atau Tidak Signifikan. *Buletin Psikologi UGM*. Vol 3. Jogjakarta : Universitas Gajah Mada. Hal 38-44
- Baba S, Natsume M, Yasuda A, Nakamura Y, Tamura T, Osakabe N, Kanegae N, Kondo K. 2007. Plasma LDL and HDL Cholesterol and Oxidized LDL Concentrations Are Altered in Normo- and Hypercholesterolemic Humans after Intake of Different Levels of Cocoa Powder. *The Journal of nutrition*.
- Bhatnagar D, Soran H, Durrington PN. 2008. Hypercholesterolaemia and its management. *BMJ* ;337:993.
- Dahlan MS. 2010. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta. Salemba medika.
- Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA. 2012. Honey a novel antidiabetic agent. *Int J Biol Sci* . 8(6): 913-934.
- Estruch R, Gonzales MAM, Corella D, Salvado JS, Gutierrez VR, Covas MI, et al. 2006. Effects of a Mediterranean Style Diet on Cardiovascular Risk Factors. *Annals of internal medicine*.
- Fito M, Torre RDL, Albaladejo MF, Khymenetz O, Marrugat J, Covas MI. 2007. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans. *Ann Ist super sAnItà*. 43, no. (4) : 375-381.
- Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy KM, Gilani AH, Saari N. 2012. Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.) : A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 3291-3340.
- Helal O, Berrougui H, Loued S, Khalil A. 2013. Extra-virgin olive oil consumption improves the capacity of HDL to mediate cholesterol efflux and increases ABCA1 and ABCG1 expression in human macrophages. *Br J Nutr.* 109(10):1844-55.
- Nugraheni K. 2012. Pengaruh pemberian minyak zaitun ekstra virgin terhadap profil lipid serum tikus putih (*rattus norvegicus*) strain sprague dawley hiperkolesterolemia. Semarang.

- Pratama SE, Probosari E. 2012. Pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap kadar kolesterol LDL tikus jantan Sprague dawley hiperkolesterolemia. Semarang. Journal of nutrition college. 1(1) : hlm 358-364.
- Putri RS, Pudjadi, Kartikawati H. 2010. Pengaruh pemberian ekstrak bawang merah (*allium ascalonicum*) terhadap kadar kolesterol HDL tikus wistar. FK undip..
- Setyaji DY. 2011. Pengaruh Pemberian Nata De Coco Terhadap Kadar Kolesterol LDL dan HDL Pada Tikus Hiperkolesterolemia. Fakultas Kedokteran Universitas Dipenogoro.
- Vijayakumar, Subramaniam R, Nalini N. 2006. Lipid Lowering Efficacy of Piperine from *Piper Ningrum* L. In High Fat Diet and Anti thyroid Drug Induced hypercholesterolemic Rats. Journal of Food Biochemistry. India.
- World Health Organization. 2011. Noncommunicable diseases (NCD) Country Profiles Indonesia.