

Aktivitas *Zymomonas mobilis* pada produk etanol dari buah semu jambu mete (*Anacardium occidentale*) dengan variasi sumber nitrogen

AKHMAD MUSTOFA^{1,2,♥}, SURANTO²

Mustofa A, Suranto. 2010. Activity of Zymomonas mobilis on ethanol production made of cashew nut apple (Anacardium occidentale) with different sources of nitrogen. Bioteknologi 7: 1-9. This research is aimed at identifying *Zymomonas mobilis* in producing ethanol through batch fermentation process (in 24, 48 and 72 hours) using cashewnut apple extract (red, green and yellow variety) and urea, ammonium sulphate, extract of green peanut sprout and extract koro (*Mucuna pruriens*) as sources of nitrogen. The research showed that green cashewnut extract with ammonium sulphate in 24 hours of fermentation produced ethanol in optimum result. This treatment had pH of 5.87, 7.64 g/100 mL of sugar (with 48.44% of consumption), 8.0×10^7 amount of bacterium ($\mu = 0.154$) and production of ethanol equal to 33.02 g/L ($Y_e = 90.19\%$).

Key words: *Zymomonas mobilis*, cashewnut apple extract, ethanol.

Mustofa A, Suranto. 2010. Aktivitas Zymomonas mobilis pada produk etanol dari buah semu jambu mete (Anacardium occidentale) dengan variasi sumber nitrogen. Bioteknologi 7: 1-9. Penelitian ini bertujuan mengetahui kemampuan *Zymomonas mobilis* dalam memproduksi etanol melalui proses fermentasi batch (selama 24, 48 dan 72 jam), menggunakan sumber karbon sari buah jambu mete (varietas merah, hijau dan kuning) dan sumber nitrogen berupa urea, ammonium sulfat, ekstrak kecambah kacang hijau dan ekstrak kacang koro (*Mucuna pruriens*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa varietas buah jambu mete hijau dengan sumber nitrogen ammonium sulfat dan lama fermentasi 24 jam memberikan hasil etanol yang paling optimal. Pada perlakuan tersebut diperoleh nilai pH 5,87, kadar gula reduksi 7,64 g/100 mL (tingkat konsumsi 48,44%), jumlah bakteri $8,0 \times 10^7$ ($\mu = 0,154$) dan etanol sebesar 33,02 g/L ($Y_e = 90,19\%$).

Kata kunci: *Zymomonas mobilis*, sari buah jambu mete, etanol.

♥ Alamat korespondensi:

¹ Universitas Slamet Riyadi (UNISRI), Jl. Sumpah Pemuda, No. 18, Joglo, Surakarta. Jawa Tengah, Indonesia, Tel. +62-271-7013199, 856879, Fax.: +62-271-854670

² Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 7 Juni 2009.

Revisi disetujui: 6 Agustus 2009.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari: Mustofa A, Suranto. 2009. Activity of *Zymomonas mobilis* on ethanol production made of cashew nut apple (*Anacardium occidentale*) with different sources of nitrogen. Nusantra Bioscience 1: 105-109

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit yang melibatkan hormon endokrin pankreas, antara lain insulin dan glukagon. Hal tersebut disebabkan aktivitas insulin yang tidak memadai sehingga jumlah sekresi insulin berkurang (Suharmiati 2003) atau penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin (resistensi insulin) dan penurunan kemampuan sel Beta pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap beban glukosa. Manifestasi utamanya mencakup gangguan metabolisme lipid, karbohidrat dan protein yang pada gilirannya merangsang kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia tersebut akan berkembang menjadi diabetes mellitus dengan berbagai macam bentuk manifestasi komplikasi (Unger dan Foster 1992; Nugroho 2006). Menurut UKPDS (1999), meskipun obat-obatan

sulfonilurea dan pemberian insulin dapat menurunkan kadar glukosa darah, namun dapat menimbulkan masalah makrovaskuler. Karena glukosa amat berperan dalam metabolisme limfosit, maka Diabetes juga dapat menyebabkan perubahan ciri metabolisme limfosit (Otton *et al.* 2002), yang pada akhirnya dapat memacu terjadinya apoptosis lymphocyt (Otton *et al.* 2004). Penelitian Alba-Loureiro *et al.* (2006) menunjukkan bahwa Diabetes juga menyebabkan ciri pada fungsi dan metabolisme neutrofil tikus putih.

Dewasa ini alergi diartikan sebagai reaksi imunologik terhadap antigen secara tidak wajar atau tidak tepat pada individu yang sebelumnya pernah tersensitisasi oleh antigen yang bersangkutan, sehingga antigen tersebut disebut alergen. Ovalbumin, merupakan protein alergenik yang banyak ditemukan dalam putih telur, seringkali dapat menimbulkan reaksi alergi

pada anak-anak (Endaryanto dan Harsono 1996). Dua proses yang menandai terjadinya proses alergi adalah eksositosis isi granula antara lain histamin dan induksi pembentukan mediator yang merangsang pembentukan prostaglandin dan leukotrien yang mempunyai dampak langsung pada jaringan lokal (Kresno 2001).

Selama ini penggunaan VCO (*Virgin Coconut Oil*) untuk kasus-kasus diabetes dan alergi secara empiris banyak dilakukan, oleh karenanya penulis ingin membuktikan terjadinya penurunan kadar glukosa darah pada mencit (*Mus musculus* Balb/c) hiperglikemi dengan perlakuan VCO. Mengingat adanya peranan beberapa jenis leukosit diantara kasus diabetes dan alergi, maka pada penelitian ini perlu pula diketahui potensi VCO terhadap kerentanan *Mus musculus* Balb/c normal maupun hiperglikemi terhadap paparan alergen dengan melihat hitung jenis leukosit pada *Mus musculus* Balb/c.

Konsumsi zat berkhasiat yang diharapkan dapat mengatasi suatu keluhan, perlu diwaspadai dampak negatif yang mungkin dapat timbul sebagai efek sampingnya. Oleh karenanya, perlu diuji ada tidaknya kenaikan kadar kreatinin darah yang menandakan status terganggu tidaknya fungsi ren secara fisiologis, karena ketidakmampuannya dalam mengekskresikan kreatinin sebagai komponen urin, sehingga dalam jumlah besar masuk kembali ke dalam aliran darah di atas nilai normalnya.

Berdasarkan latar belakang permasalahan diatas, maka tujuan penelitian ini adalah: (i) menguji pengaruh VCO terhadap kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) Balb/c hiperglikemi, (ii) mengetahui hitung jenis leukosit *Mus musculus* Balb/c hiperglikemi, (iii) menguji pengaruh VCO terhadap hitung jenis leukosit *Mus musculus* Balb/c yang terpapar ovalbumin, (iv) mengetahui pengaruh VCO terhadap hitung jenis leukosit *Mus musculus* Balb/c hiperglikemi yang terpapar ovalbumin, (v) mengetahui pengaruh VCO terhadap kadar kreatinin darah *Mus musculus* Balb/c dalam upaya pencapaian kondisi normoglikemik maupun proteksinya terhadap paparan ovalbumin.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-November 2007. Pemeliharaan dan pemeriksaan kadar gula darah dan kreatinin mencit dilakukan

di LP3HP-LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Bahan

VCO diperoleh dari PT Prima Solusi Medika Jakarta, 45 mencit (*Mus musculus* Balb/c.) jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 35 g diperoleh dari LP3HP-LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Aloksan monohidrat (SIGMA), glibenklamid produksi Kalbe Farma, Ovalbumin (SIGMA), pellet untuk memberi makan mencit dan air ledeng sebagai minuman secukupnya.

Cara kerja

Sebelum perlakuan, 45 ekor mencit (*Mus musculus* Balb/c) jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 35 g diaklimasi untuk penyesuaian pada kondisi laboratorium, kemudian dibagi dalam 9 kelompok, diberi makan pellet dan air ledeng sebagai minumannya, secara *et libitum*. Selanjutnya dilakukan pekerjaan sebagai berikut:

Penentuan dosis dan penyuntikan aloksan.

Dosis aloksan yang diberikan pada monyet (*Macaca fascicularis*) setelah dikonversi pada tikus putih dengan berat badan 200 g adalah 35mg/200 g BB (Widyastuti *et al.* 2005). Untuk mencit seberat 35 g adalah $35/200 \times 35 \text{mg} = 6,125 \text{mg}/35 \text{g BB}$. Untuk penyuntikannya, aloksan dilarutkan ke dalam 0,5 mL akuades.

Penentuan dosis dan pemberian glibenklamid secara oral. Dosis pemberian glibenklamid pada manusia adalah 5 mg/hari/70 kg BB (Tjay dan Rahardja 2007), kemudian dikonversikan pada mencit $= 35/70000 \times 5 \text{mg} = 0,00025 \text{mg}/\text{hari}/35 \text{g BB}$ yang setiap pemberiannya dilarutkan dengan 0,5 CMC 1%.

Penentuan dosis dan pemberian VCO. VCO diberikan untuk dosis terapi manusia umumnya 3 sendok makan atau 45 mL/hari (Dayrit 2000), yang bila dikonversikan pada mencit adalah $35/70.000 \times 45 = 0,00225 \text{mL}/\text{hari}/35 \text{kg BB}$. Pada penelitian ini diberikan 2 variasi dosis, yaitu dosis I = 0,002 mL/hari dan dosis II = 0,003 mL/hari.

Penetapan kadar glukosa darah. Kadar glukosa darah ditetapkan dengan metode GOD-PAP (*Enzymatic Photometric Test*) yaitu metode pengukuran fotometriks dengan spektrofotometri (Widowati *et al.* 1977). Pengukuran dilakukan sebanyak 6 kali selama penelitian, hari ke-1 (sesaat sebelum perlakuan aloksan), hari 4, hari 18, hari 22, hari 32 dan hari 37 (sesaat sebelum dikorbankan).

Penentuan dosis dan cara pemberian alergen. Penentuan dosis dan cara pemberian alergen mengacu pada penelitian Diding (2007) yang berhasil membuat mencit dengan berat rata-rata 17,5 mg mengalami alergi pada sistem pencernaannya. Penelitian ini menggunakan mencit dengan berat badan rata-rata 35 mg, sehingga untuk setiap kali pemberiannya dapat dikonversikan dosisnya menjadi 2x lipat, dengan protokol sebagai berikut: Pada hari 22 sensitisasi mencit dengan injeksi 0,30 mL larutan ovalbumin dari 2,5 mg ovalbumin dalam 7,75 mL Al(OH)₃ secara intra peritoneal. Sensitisasi ulang dengan larutan dan cara yang sama pada hari 28. Selanjutnya pada hari 32-34 berturut-turut mencit disensitisasi ulang dengan cara diberi larutan 0,30 mL ovalbumin dari 2,5 mg ovalbumin dalam 2,5 mL PBS peroral.

Pembuatan preparat apus darah dan penetapan Hitung Jenis Leukosit dengan metode Romanowski. Darah yang diambil ditetaskan pada permukaan gelas benda kemudian dibuat apusan/film darah. Selanjutnya dikering-anginkan beberapa menit, kemudian ditetesi dengan metil alkohol, dan dibiarkan selama 5 menit. Selanjutnya sediaan diangkat dan dimasukkan ke dalam larutan pewarna Giemsa 1-2% selama 30 menit. Terakhir, sediaan diangkat dari larutan pewarna dan dicuci dengan air mengalir, dikeringkan dengan menggunakan tisu secara hati-hati, siap untuk diamati di bawah mikroskop (Suntoro 1983). Setelah semua bentuk jenis leukosit diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x100, dengan dibubuhi minyak emersi pada permukaan sediaan apus tersebut. Selanjutnya dilakukan penghitungan persentase tiap-tiap jenis leukosit dari 100 leukosit yang ditemukan pada setiap sediaan (Fox 1990).

Penghitungan kadar kreatinin darah. Penurunan fungsi fisiologis ginjal dapat diketahui dari meningkatnya kadar kreatinin darah. Kadar kreatinin darah diukur dengan spektrofotometer sistem fotometrik berdasarkan metode Daffe.

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan 45 ekor mencit (*Mus musculus* Balb/c) yang terbagi menjadi 9 kelompok Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 6 kali kemudian data yang diperoleh dilakukan Rancangan Acak Lengkap, menggunakan 9 macam perlakuan dengan lima kali ulangan pada masing-masing perlakuan, sebagai berikut:

- A. Perlakuan kontrol normal: mencit diberi makan dan minum setiap hari secara *et libitum* tanpa diberi perlakuan apapun sampai akhir penelitian.
- B. Perlakuan non aloksan, CMC dan sensitisasi ovalbumin: pada hari 4 mencit diberi 0,5 mL CMC 1%, peroral setiap hari hingga akhir penelitian. Sensitisasi ovalbumin mulai hari 22-36.
- C. Perlakuan non aloksan, VCO dosis I dan sensitisasi ovalbumin: pada hari 4 mencit diberi VCO 0,002mL/35g BB peroral setiap hari hingga akhir penelitian. Sensitisasi ovalbumin mulai hari 22-36.
- D. Perlakuan non aloksan, VCO dosis II dan sensitisasi ovalbumin: pada hari 4 mencit diberi VCO 0,003mL/35g BB peroral setiap hari hingga akhir penelitian. Sensitisasi ovalbumin mulai hari 22-36.
- E. Perlakuan kontrol hiperglikemi: pada hari 1 mencit disuntik aloksan 6,125 mg/35g BB subkutan, kemudian setelah itu hanya diberi makan dan minum secara *et libitum* tanpa diberi perlakuan apapun sampai akhir penelitian.
- F. Perlakuan aloksan, CMC dan sensitisasi ovalbumin: pada hari 1 mencit disuntik aloksan 6,125 mg/35g BB subkutan, kemudian pada hari 4-36 diberi 0,5 mL CMC1%. disensitisasi ovalbumin mulai hari 22-36.
- G. Perlakuan aloksan, VCO dosis I, sensitisasi ovalbumin: pada hari 1 mencit disuntik 6,125 mg/35g BB subkutan, kemudian pada hari 4-36 diberi VCO 0,002 mL/35 g BB peroral dan mulai hari 22-36 disensitisasi ovalbumin.
- H. Perlakuan aloksan, VCO dosis II, sensitisasi ovalbumin: pada hari 1 hewan disuntik 6,125 mg/35g BB subkutan, kemudian pada hari 4-36 diberi 0,003 mL/35 g BB VCO peroral dan mulai hari 22-36 disensitisasi ovalbumin.
- I. Perlakuan aloksan, glibenklamid dan sensitisasi ovalbumin: pada hari 1 mencit disuntik aloksan 6,125 mg/35g BB subkutan, kemudian pada hari 4-36 diberi 0,0025 mg glibenklamid dalam 1% CMC peroral dan mulai hari 22-36 disensitisasi ovalbumin.

Analisis data

Data kuantitatif kadar glukosa darah, dianalisis dengan menggunakan Anova (*Analysis of Variance*) dan apabila terdapat beda nyata, dilanjutkan uji *DMRT (Duncan's Multiple Range Test)* pada taraf signifikansi 5 % untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan, sehingga diketahui pengaruh VCO terhadap

penurunan kadar glukosa darah pada mencit hiperglikemi.

Data kuantitatif hitung jenis leukosit diperoleh dengan menghitung tiap jenis leukosit pada tiap kelompok perlakuan, data yang diperoleh, reratanya dibandingkan dengan hitung jenis leukosit normalnya, menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) serta Jacoby dan Fox (1984) untuk mengetahui perbandingan hitung jenis leukosit mencit dalam kondisi hiperglikemi, hiperglikemi yang telah diperlakukan dengan VCO, hiperglikemi yang dipapar alergen, mencit yang diprotesi VCO yang kemudian dipapar alergen maupun hitung jenis leukosit normal pada mencit, sehingga dapat diketahui hubungan antara hiperglikemi, VCO dan perkembangan imunologi alergi.

Data kuantitatif rerata kadar kreatinin darah tiap kelompok perlakuan dibandingkan dengan angka normalnya menurut Jacoby dan Fox (1984), sehingga diketahui pengaruh perlakuan VCO terhadap status fungsi fisiologi ginjal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar glukosa darah (KGD)

Dari hasil penelitian didapatkan data tentang keadaan/kondisi kadar glukosa darah sebagaimana tertulis dalam Tabel 1 dan Gambar

1. Pengukuran rerata kadar glukosa darah 1 pada hari 1, sesaat sebelum diinjeksi aloksan. Rerata kadar glukosa darah dari 45 *Mus musculus* (mencit) pada 9 kelompok perlakuan. Tampak pada Gambar 1, bahwa kadar glukosa darah semua kelompok perlakuan A hingga I menunjukkan tidak ada beda nyata. Berarti antara kelompok-kelompok yang tidak diberi aloksan dan kelompok yang diberi aloksan menunjukkan tidak ada beda nyata antar kelompok, yakni berkisar antara 61,40-71,80 mg/dl. Hal ini karena seluruh mencit yang digunakan berada dalam kondisi normoglikemi dan relatif seragam.

Tampak pada Gambar 1, bahwa pada pengukuran 2 (hari 4), semua kelompok perlakuan, yang diberi aloksan maupun non aloksan, mengalami kenaikan kadar glukosa darah, meskipun pada kelompok-kelompok non aloksan secara statistik tidak signifikan dibandingkan kadarnya pada awal perlakuan. Kenaikan yang terjadi pada kelompok-kelompok non aloksan diduga akibat stress yang diderita karena perlakuan pengelompokan dalam kandang yang berbeda dari kandang sebelumnya. Kondisi stress akan merangsang sistem syaraf simpatis agar medulla adrenal mensekresi hormon epinefrin yang menyebabkan kenaikan kadar glukosa darahnya (Guyton dan Hall 2008). Hal yang sama juga dialami oleh mencit pada kelompok-

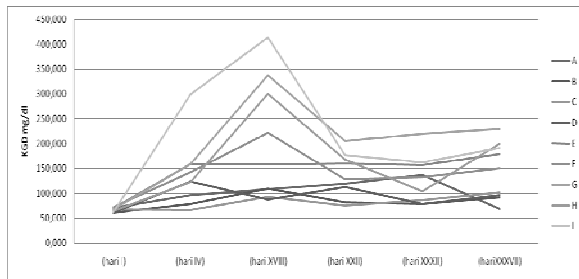
Tabel 1. Perubahan rerata kadar glukosa darah kelompok-kelompok *Mus musculus* (mencit) selama perlakuan

Kelompok perlakuan	Kadar glukosa darah hari ke											
	1 (hari 1)		2 (hari 4)		3 (hari 18)		4 (hari 22)		5 (hari 32)		6 (hari 37)	
	mg/dl	mg/dl	Perubahan %	mg/dl	Perubahan %	mg/dl	Perubahan %	mg/dl	Perubahan %	mg/dl	Perubahan %	
Non aloksan												
A	71,600 ^a	96,600 ^{abc}	+ 34,9	108,600 ^a	+ 51,7	119,000 ^{ab}	+ 66,2	137,000 ^{ab}	+ 91,3	69,000 ^a	-3,6	
B	61,400 ^a	79,200 ^{ab}	+29	110,000 ^a	+79,2	82,000 ^a	+33,6	78,800 ^a	+28,3	92,800 ^{ab}	+51	
C	67,200 ^a	66,400 ^a	-1,2	93,200 ^a	+38,7	75,200 ^a	+12	86,400 ^a	+28,6	101,600 ^{ab}	+51,2	
D	61,400 ^a	124,200 ^{abc}	+ 102	87,800 ^a	+ 43	113,000 ^{ab}	+ 84	79,400 ^a	+ 29,3	97,200 ^{ab}	+58,3	
Aloksan												
E	69,600 ^a	159,000 ^c	+128,4	157,800 ^{ab}	+126,7	160,800 ^{bcd}	+131	156,600 ^{ab}	+125	179,200 ^c	+157,5	
F	71,800 ^a	142,000 ^{bc}	+97,8	222,000 ^{bc}	+209,2	128,000 ^{abc}	+78,3	132,200 ^{ab}	+84	150,200 ^{bc}	+109	
G	67,200 ^a	158,800 ^c	+136	338,000 ^{de}	+403	205,400 ^d	+205,7	220,200 ^b	+227,7	230,200 ^c	+242,6	
H	64,400 ^a	122,800 ^{abc}	+90,7	299,800 ^{cd}	+365,5	168,200 ^{bcd}	+161,2	104,200 ^a	+61,8	200,200 ^c	+210,9	
I	61,800 ^a	298,800 ^d	+383,5	413,600 ^d	+413,6	177,000 ^{cd}	+186,4	162,200 ^{ab}	+162	191,200 ^c	+209,4	

Keterangan: angka yang diikuti huruf *superscript* yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak beda nyata antar ($p > 0,05$). A: kontrol normal (non aloksan, non alergen) B: non aloksan, CMC dan alergen/ovalbumin C: non aloksan, VCO dosis I dan alergen/ovalbumin D: non aloksan, VCO dosis II dan alergen/ovalbumin E: kontrol aloksan/hiperglikemi (aloksan, non alergen) F: aloksan, CMC dan alergen/ovalbumin G: aloksan, VCO dosis dan alergen/ovalbumin H: aloksan, VCO dosis II dan alergen/ovalbumin I: aloksan, glibenklamid dan alergen/ovalbumin.

kelompok yang diinduksi aloksan.

Pada pengukuran ke 3 (hari 18), kelompok-kelompok non aloksan mempunyai kadar glukosa darah yang dapat dikatakan stabil, yaitu rata-rata maksimal sekitar 100 mg/dl. Sangat kontras bedanya, dibanding kelompok-kelompok aloksan. Hal ini karena yang semuanya mengalami kenaikan rerata kadar glukosa darah yang cukup signifikan.



Gambar 1. Kadar glukosa darah (KGD) semua perlakuan, pada pengukuran ke 1-6. Keterangan: A-I sesuai Tabel 1.

Pada kelompok-kelompok tersebut diinduksi aloksan pada hari ke 1, sesaat setelah dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Aloksan berperan pada sel Beta pankreas yang memproduksi insulin dan secara selektif membunuh sel-sel tersebut (Suharmiati 2003; Guyton dan Hall 2008). Rusaknya sel-sel Beta pankreas menyebabkan kuantitas dan atau kualitas insulin yang dihasilkan mengganggu kelancaran transport glukosa dari darah ke dalam jaringan, akibatnya glukosa menumpuk di dalam darah, menyebabkan kenaikan kadarnya (hiperglikemi).

Pengukuran ke 4 (hari 32), rerata kadar glukosa darah kelompok-kelompok mencit yang diinduksi aloksan sebagian mengalami penurunan yang signifikan. Kadar glukosa darah yang sama terdapat pada kelompok H (aloksan, VCO dosis II, ovalbumin) dan kelompok I (aloksan, glibenklamid, ovalbumin), meskipun belum dapat mencapai kadar yang tidak berbeda nyata dengan awal perlakuan, tetapi pemberian VCO dosis II setelah 18 hari berpengaruh sama dengan pemberian glibenklamid, yaitu menurunkan kadar glukosa darah. Menurut Tjay dan Rahardja (2007), Glibenklamid merupakan salah satu obat antidiabetika oral yang termasuk Sulfonilurea. Obat-obatan Sulfonilurea berperan menstimulasi sel-sel Beta pulau Langerhans, sehingga sekresi insulin ditingkatkan, disamping itu juga dapat meningkatkan kepekaan sel-sel Beta bagi kadar glukosa darah melalui

pengaruhnya atas protein transpor glukosa. Ada indikasi bahwa obat ini juga memperbaiki organ sasaran bagi insulin dan menurunkan absorpsi insulin oleh hepar. Sedangkan pada kelompok H (aloksan, VCO dosis II, ovalbumin), terjadi penurunan kadar glukosa darah setelah pemberian VCO peroral dengan dosis 0,003 mL/35 g BB setiap hari selama 18 hari. Hal ini karena pemberian VCO mengakibatkan terjadinya perbaikan aktivitas metabolisme. *MCFA_s*, yang terkandung dalam VCO terutama monolaurin dapat mengurangi katabolisme protein dalam status hiperkatabolik, dapat berfungsi sebagai protein sparer yaitu mencegah oksidasi asam amino untuk menghasilkan energi, jadi menyediakan protein ke dalam jaringan. Suplai protein jaringan merangsang sekresi glukagon yang mengaktifasi adenil siklase, menghasilkan siklik AMP, sehingga fosforilasi untuk proses-proses metabolisme sel secara normal diaktifkan, seperti perbaikan sekresi glandula dan aktivitas enzim, hormon-hormon, atau memperbaiki reseptornya (Guyton dan Hall 2008). Pada kasus ini, diduga terjadi peningkatan kepekaan hormon-hormon insulin maupun reseptor jaringan terhadap insulin, sehingga suplai glukosa ke dalam jaringan berjalan normal. Fungsi insulin yang lain juga normal, sehingga kadar glukosa darah yang tinggi dapat diturunkan.

Pada kelompok G (aloksan, VCO dosis I, ovalbumin) terjadi mekanisme yang sama dengan kelompok H (aloksan, VCO dosis II, ovalbumin), penurunan yang terjadi tidak sebanyak kelompok VCO dosis II, namun mekanisme yang terjadi diduga sama. Pada kelompok-kelompok normal ataupun kontrol pelarut, penurunan kadar glukosa darah terjadi, meskipun tidak ada zat yang dapat berperan sebagai pengobat, kelompok E (aloksan, non pengobat, non ovalbumin), termasuk kelompok F (aloksan, CMC, ovalbumin). Hal ini akibat terjadinya pemulihan kadar hormon epinefrin pada mencit percobaan karena terjadinya respons tubuh untuk mengembalikan keadaan pada kondisi normalnya. Oleh karena CMC 1% hanya merupakan larutan yang digunakan sebagai gel hidrofilik senyawa obat yang bersifat nontoksik, tidak dicernakan dan tidak diabsorpsi oleh individu (Tjay dan Rahardja 2007), sehingga tidak mempengaruhi perubahan kadar glukosa darah. Hanya kelompok H (aloksan, VCO dosis II, ovalbumin) yang terus mengalami penurunan kadar glukosa darah hingga hari 32, namun naik lagi pada hari 37, setelah protokol sensitisasi

ovalbumin selesai. Hal ini meskipun aktivitas metabolisme diperbaiki dengan VCO, karena tubuh merespon ovalbumin yang berperan sebagai alergen, sehingga kadar glukosa darah yang pernah naik karena kerusakan sel-sel Beta pankreas secara selektif, mengalami kerusakan lagi meskipun tidak fatal.

Pada kelompok-kelompok non aloksan, kenaikan kadar glukosa darah yang terjadi diduga karena stres. Penurunan terjadi tidak secara serentak, hal tersebut karena respon tubuh untuk mengembalikan keadaan pada kondisinya masing-masing kelompok juga dipengaruhi oleh kondisi awal dan pengobatan yang diberikan maupun respon tubuh terhadap alergen yang diberikan. Tiga kelompok non aloksan kecuali kelompok A (non aloksan, non pengobatan, non ovalbumin) mengalami penurunan maksimal dan mencapai kadar yang tidak berbeda nyata pada hari 32, kelompok C dan D yang diberi VCO mengalami penurunan terlebih dulu, karena terjadinya perbaikan aktivitas metabolisme. Pada kelompok A, penurunan baru terjadi pada hari 32 dan terus terjadi penurunan, hal tersebut karena tidak terjadi pengaruh apapun dari dalam tubuhnya, termasuk alergen.

Penetapan hitung jenis leukosit

Data tentang rerata persentase jumlah masing-masing jenis leukosit seluruh kelompok

perlakuan sebagaimana tertulis dalam Tabel 2. Data rerata persentase masing-masing jenis leukosit masing-masing kelompok perlakuan kemudian dibandingkan dengan standar normalnya pada mencit menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) dan menurut Jacoby dan Fox (1984).

Hitung jenis leukosit kelompok A sebagai kontrol (non aloksan, non pengobatan, non ovalbumin) adalah: 1,140% neutrofil; 90,76% limfosit; 1,52% monosit; 0,22% eosinofil dan 3,00% basofil. Semua persentase neutrofil kelompok-kelompok perlakuan sangatlah kurang dari standar normalnya menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) dan atau menurut Jacoby dan Fox (1984), kecuali pada kelompok H (aloksan, VCO 0,003 mL/g BB, ovalbumin) mempunyai persentase normal. Selanjutnya, semua persentase limfosit kelompok-kelompok perlakuan jauh diatas standar normalnya menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) dan atau menurut Jacoby dan Fox (1984), kecuali pada kelompok F mempunyai persentase yang normal. Semua persentase monosit normal, kecuali kelompok D (non aloksan, VCO 0,003 mL/g BB), sebagian besar persentase eosinofil kelompok-kelompok perlakuan kurang dari persentase normal. Persentase basofil lebih tinggi dari standar normalnya, kecuali kelompok-kelompok C, D, E, G, H, dan I.

Tabel 2. Rerata persentase jenis-jenis leukosit dari semua kelompok *Mus musculus* (mencit) hari 37 (hari terakhir penelitian) setelah perlakuan berbagai pengobatan dan sensitisasi ovalbumin

Kelompok perlakuan	Jumlah sel (%)				
	Neutrofil	Limfosit	Monosit	Eosinofil	Basofil
Non Aloksan					
A	1,140-	90,760 ⁺⁺	1,520*	0,220*	3,000 ⁺⁺
B	4,460-	88,920 ⁺	0,920*	0,520*	3,760 ⁺⁺
C	1,580-	95,580 ⁺⁺	1,920*	0,200*	0,480*
D	2,600-	93,580 ⁺⁺	4,580 ⁺⁺	0,060-	0,760*
Aloksan					
E	3,220-	94,540 ⁺⁺	0,820*	0,260*	0,460*
F	5,480-	82,120*	1,420*	0,140-	6,420 ⁺⁺
G	0,860-	95,460 ⁺⁺	1,180*	0,200*	0,060*
H	10,100*	85,800 ⁺	1,200*	0,120-	0,580*
I	0,820-	97,720 ⁺⁺	1,420*	0,140-	0,240*
Standar normal					
J	12-30	55-85	1-12	0,2-4,0	-
K	6,7-37,2	63-75	0,7-2,6	0,9-3,8	0-1,5

Keterangan: A-I sesuai Tabel 1. J. Persen normal menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988). K. Persen normal menurut Jacoby dan Fox (1984). +: Angka persen lebih besar daripada angka persen normalnya menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988)/Jacoby dan Fox (1984) atau kedua-duanya. -: Angka persen lebih kecil daripada angka persen normalnya menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988)/Jacoby dan Fox (1984) atau kedua-duanya. *: Angka persen memenuhi kisaran angka persen normalnya menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988)/Jacoby dan Fox(1984) atau kedua-duanya.

Dari data diatas, diduga bahwa pada dasarnya pada hewan percobaan ini telah terjadi mekanisme pertahanan imunologi yang kemungkinan akibat infeksi virus. Karena menurut Burkitt *et al.* (1995), peningkatan jumlah limfosit menandai umumnya keadaan infeksi virus. Persentase neutrofil jauh di bawah angka persen normal, hal ini juga mendukung dugaan tersebut. Menurut Price dan Wilson (2006), neutropenia dapat disebabkan oleh adanya gangguan pembentukan neutrofil atau pembentukan neutrofil yang tidak efektif akibat anemia hipoplastik atau aplastik karena obat sitotoksik, adanya zat-zat toksik dan infeksi virus, kelaparan dan penggantian sumsum tulang normal oleh sel-sel ganas, seperti pada leukemia. Karena limfosit memegang peran utama dalam semua mekanisme pertahanan imunologi. Peningkatan jumlah persen basofil diduga karena adanya induksi limfosit peka untuk merespon antigen atau alergen lingkungan yang kurang menguntungkan. Menurut Price dan Wilson (2006), basofil dan sel mast memiliki reseptor membran yang amat khas untuk segmen Fc&IgE yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai antigen/alergen lingkungan. Burkitt *et al.* (1995) juga menyatakan bahwa basofil bertanggung jawab terutama untuk memberi reaksi alergi dan antigen dengan jalan mengeluarkan histamin kimia yang menyebabkan peradangan. Menurut penulis, tingginya persentase basofil pada kelompok ini merespons antigen lingkungan endogen yang timbul karena adanya virus yang menginfeksi. Persentase neutrofil kelompok H (aloksan, VCO 0,003 mL/g BB, ovalbumin) menduduki kisaran normal menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) atau menurut Jacoby dan Fox (1984).

Mencit pada kelompok-kelompok penelitian ini diduga menderita infeksi virus, namun dengan konsumsi VCO, diduga terjadi pengurangan jumlah virus yang menginfeksi karena peran MCFA_s terutama mono laurin, melalui membran lipidnya, sehingga persentase neutrofilnya menjadi normal, dan hal ini akan memperbaiki status imunologik mencit kelompok ini. Kelompok ini juga mempunyai persentase basofil yang normal. Basofil bertanggung jawab terutama untuk memberi reaksi alergi dan antigen dengan jalan mengeluarkan histamin kimia yang menyebabkan peradangan. Basofil dan sel mast memiliki membran yang sangat spesifik untuk segmen Fc dan IgE yang dihasilkan sel plasma sebagai respon terhadap sejumlah alergen lingkungan. Paparan alergen menyebabkan terbentuknya

jembatan-jembatan diantara molekul-molekul IgE yang berdekatan yang memicu pengeluaran isi granul/degranulasi secara cepat. Jadi pelepasan histamin dan mediator vasoaktif lainnya bertanggungjawab atas terjadinya reaksi hipersensitivitas akut untuk rhinitis alergika (demam jerami), beberapa bentuk asma, urtikaria dan syok anafilaktik. Meskipun begitu, terdapat perangsang IgE independen lainnya bagi terjadinya degranulasi sel mast. Basofil juga merupakan 15% dari sel-sel infiltrat pada dermatitis alergik dan penolakan alograf kulit, dikenal sebagai hipersensitivitas basofil kulit, diinduksi oleh limfosit peka dan merupakan sejenis hipersensitivitas bermedia sel yang degranulasinya lambat (Burkitt *et al.* 1995).

Karena MCFA_s yang terkandung dalam VCO terutama monolaurin dapat mengurangi katabolisme protein dalam status hiperkatabolik, dapat berfungsi sebagai protein sparer yaitu mencegah oksidasi asam amino untuk menghasilkan energi, jadi menyediakan protein ke dalam jaringan. suplai protein jaringan merangsang sekresi glukagon yang mengaktifasi adenil siklase, menghasilkan siklik AMP, sehingga fosforilasi untuk proses-proses metabolisme sel secara normal diaktifkan, seperti perbaikan sekresi glandula dan aktivitas enzim, hormon-hormon, atau memperbaiki reseptornya (Guyton dan Hall 2008). Perbaikan aktivitas hormon-hormon antara lain dengan meningkatkan sensitivitas reseptornya sehingga mempunyai kemampuan menginduksi secara aktif respon imunologi menuju keseimbangan Th1-Th2 setelah dipapar allergen ovalbumin. Menurut Endaryanto dan Harsono (1996), alergi merupakan bentuk penyakit Th2 yang upaya perbaikannya memerlukan pengembalian penderita pada kondisi yang seimbang antara Th1 dan Th2. Sehingga bila faktor resiko tidak dapat dihindari untuk pencegahannya, induksi aktif respon imunologi menuju keseimbangan Th1-Th2 perlu diupayakan. Menurut Abbas dan Lichtman (2004), alergi adalah suatu tipe reaksi patologi yang disebabkan oleh pelepasan mediator-mediator dari sel mast, umumnya produksi antibody IgE sel mast pada berbagai jaringan tubuh. Keadaan tersebut diikuti oleh inflamasi pada beberapa individu yang dipapar dengan antigen asing tertentu yang telah mengenyainya sebelumnya. Pada dasarnya, respon imun, baik yang spesifik maupun tidak spesifik adalah berfungsi protektif. Tetapi respons imun dapat menimbulkan akibat buruk dan bahkan penyakit yang disebut hipersensitivitas.

Disamping itu, menurut Bratawidjaja (2004), kadar cAMP dan cGMP dalam sel merupakan salah satu hal yang berpengaruh terhadap degranulasi sel mast. Peningkatan cAMP mencegah degranulasi, sedang peningkatan cGMP memacunya. Jadi normalnya persentase basofil pada kelompok-kelompok yang diproteksi VCO, meskipun mereka disensitisasi dengan ovalbumin, diduga mereka tidak mengalami peristiwa alergi, hal ini karena terjadi pencegahan degranulasi basofil akibat terjadinya peningkatan siklik AMP yang ditimbulkan karena pemberian VCO.

Peran monosit dan eosinofil tidak dibutuhkan secara khusus pada kelompok ini, karena penelitian ini diduga tidak terkait dengan bakteri dan ovalbumin yang diberikan tidak mengakibatkan reaksi anafilaksis. Menurut Burkitt *et al.* (1995), peran eosinofil antara lain menghancurkan parasit, merespons produk bakteri dan komponen komplemen, terutama substansi yang dilepaskan oleh basofil yaitu histamin dan faktor kemotaktik eosinofil dari anafilaksis selain limfosit yang diaktifkan oleh karenanya, persentase eosinofil pada kelompok ini dibawah normal sebenarnya hanya menandakan adanya keseimbangan yang tinggi ke arah angka persen limfosit.

Pengukuran kadar kreatinin darah

Data tentang rerata kadar kreatinin darah dari masing-masing kelompok seluruh perlakuan disajikan dalam Tabel 3. Data tersebut kemudian dibandingkan dengan standar kadar kreatinin normalnya pada mencit menurut Jacoby dan Fox (1984).

Tabel 3. Rerata kadar kreatinin darah semua kelompok perlakuan pada hari 37 (akhir penelitian)

Kelompok perlakuan	Kadar kreatinin darah (mg/dl)
Non aloksan	
A	0,3760
B	0,4080
C	0,4040
D	0,4200
Aloksan	
E	0,5040
F	0,4400
G	0,3200
H	0,4020
I	0,3900
Standar normal	
J	0,21-0,74

Keterangan: A-I sesuai Tabel 1. J. Angka normal menurut Jacoby dan Fox (1984).

Dari hasil pengukuran 9 kelompok mencit yang diteliti, didapatkan bahwa seluruhnya mempunyai kadar kreatinin darah yang besarnya antara 0,320 sampai 0,5040 mg/dl. yang masih memenuhi kisaran angka normal menurut Jacoby dan Fox (1984), yaitu 0,21-0,74 mg/dl.

Pemberian VCO dengan dosis 0,002 mL/35 g BB maupun 0,0030 mL/35 g BB per-oral selama 34 hari (mulai hari 4-37), yang dimaksudkan untuk menurunkan kadar glukosa darah bagi kelompok-kelompok mencit hiper-glikemi dan untuk memproteksi tubuhnya terhadap reaksi alergi bagi kelompok-kelompok mencit normoglikemi maupun kelompok-kelompok yang hiperglikemi tidak mempengaruhi kenaikan kadar kreatinin darahnya. Nilai kreatinin yang meningkat akan mengindikasikan penurunan ekskresi, misalnya akibat penurunan fungsi ginjal. Dengan demikian, nilai kreatinin plasma yang masih dalam kisaran normal setelah konsumsi VCO jangka panjang ini tidak bersifat merusak ginjal, dengan demikian aman untuk dikonsumsi meskipun dalam jangka panjang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kabara (1978), setelah dikonsumsi, asam laurat dalam prosentase tinggi yang terkandung dalam VCO merupakan lemak jenuh rantai sedang akan sampai ke dalam saluran pencernaan dan dapat diabsorpsi secara mudah tanpa proses enzimatik, sehingga lebih cepat mencapai aliran darah. Selanjutnya, dari aliran darah dibawa ke hepar (hati) dan jaringan yang lain langsung masuk mitokondria tanpa memerlukan karnitin, untuk diubah menjadi energi (ATP), sehingga tidak akan diakumulasi sebagai lemak yang dapat menimbulkan permasalahan terhadap pembuluh darah, dsb. Asam Laurat merupakan asam lemak terpenting dalam VCO yang berpotensi membangun dan memelihara sistem imun. Menurutnya, minyak kelapa memperbaiki sistem imun tubuh antara lain dengan menurunkan jumlah virus *H4* dan meningkatkan jumlah *CD4* tanpa efek samping yang diketahui dari berbagai uji klinis antara lain jumlah sel-sel darah, uji fungsi hati (ALT dan AST), uji fungsi ginjal (ureum dan kreatinin), lipid darah (kolesterol, trigliserid, HDL) dan berat badan.

KESIMPULAN

Pemberian VCO (*Virgin Coconut Oil*) 0,003 mL per oral setelah 18 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah *Mus musculus* Balb/c hiperglikemi. Hitung jenis leukosit *Mus musculus*

Balb/c hiperglikemi pada penelitian ini: 3,220% neutrofil, 94,540% limfosit, 0,820%, monosit, 0,260% eosinofil, 0,460% basofil, yang mencerminkan rendahnya persentase neutrofil dan tingginya persentase limfosit. Pemberian VCO terhadap hitung jenis leukosit *Mus musculus* Balb/c yang terpapar ovalbumin dapat menormalkan persentase basofil. Pemberian VCO terhadap hitung jenis leukosit *Mus musculus* Balb/c hiperglikemi yang terpapar ovalbumin dapat menormalkan persentase basofil dan menormalkan persentase neutrofil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH. 2004. Hypersensitivity disease, basic immunology. 2nd ed. Saunders. Philadelphia.
- Alba-Loureiro TC, Hirabara SM, Mendonça JR, Curi R, Pithon-Curi TC. 2006. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *J Endocrinol* 188: 295-303
- Bratawidjaja KG. 2004. Imunologi dasar. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Burkitt HG, Young B, Heath JW. 1995. Buku ajar & atlas Wheater histologi fungsional. Dalam: Tambayong J, Melfiawati S (ed) edisi 3. EGC. Jakarta.
- Caradang EV. 2005. Health benefits of virgin coconut oil explained. Philippine Coconut Research and Development Foundation (PCRDF). Manila.
- Dayrit C. 2000. Coconut oil in health and disease's potential, it's and monolaurin's potential as cure for HIV/AIDS. 36th Cocotech Meeting, Chennai India, July 25, 2000.
- Diding HP. 2007. Pengaruh probiotik terhadap profil sitokin dan ekspresi TOOL LIKE receptor mucosa usus mencit Balb/c model alergi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Endaryanto A, Harsono A. 1996. Prospek probiotik dalam pencegahan alergi melalui induksi aktif toleransi imunologis. FK Unair/RSU Dr. Sutomo. Surabaya.
- Fife B. 2003. The healing miracles of coconut oil. Healthwise Pub. Colorado Springs.
- Fox SI. 1990. A laboratory guide to human physiology (concept clinical applications). 4th ed. Macmillan. New York.
- Guyton A, Hall JE. 2008. Text book of medical physiology. 11st ed. Elsevier. New York.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1999. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complication in patient with type 2 diabetes. *Lancet* 352 (9131): 837-853
- Hessel EM, Van Oosterhout AJ, Hofstra CL, De Bie JJ, Garssen J, Van Loveren H, Verheyen AK, Savelkoul HF, Nijkamp FP. 1995. Bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness after ovalbumin inhalation in sensitized mice. *Eur J Pharmacol* 293 (4): 401-412.
- Jacoby RO, Fox JG. 1984. Biology and disease of mice. Academic Press. Orlando.
- Kabara JJ. 1984. Antimicrobial agents derived from fatty acids. *J Am Oil Chem Soc* 61: 397-403.
- Kresno SB. 2001. Imunologi: diagnosis dan prosedur laboratorium. FKUI. Jakarta.
- Nugroho AE. 2000. Hewan percobaan diabetes mellitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas* 7 (4): 387-391.
- Otton R, Mendonca JR, Curi R. 1999. Diabetes causes marked changes in lymphocyte metabolism. *J Endocrinol* 174: 55-61.
- Otton R, Soriano FG, Verlengia R, Curi R. 2004. Diabetes induces apoptosis in lymphocytes. *J Endocrinol* 182: 145-156.
- Price SA, Wilson LM. 2006. Pathophysiology: clinical concept of disease processes. 6th ed. Elsevier. New York.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis. UI-Press. Jakarta.
- Suharmiati. 2003. Pengujian bioaktivitas anti diabetes mellitus tumbuhan obat. *Cermin Dunia Kedokteran* 140: 8-13.
- Suntoro SH. 1983. Metode pewarnaan. Penerbit Bhratara Karya Aksara. Jakarta.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. Obat-obat penting, khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya. edisi 6. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Unger RH, Foster DW. 1992. Diabetes mellitus. In: Wilson JD, Foster DW. *Endocrinology*. W.B Saunders. London.
- Widowati L, Dzulkarnain B, Sa'roni. 1997. Tanaman obat untuk diabetes mellitus. *Cermin Dunia Kedokteran* 116: 53-60.
- Widyastuti SK, Ungerer T, Mansyoer I, Lelana RP. 2005. Monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) sebagai model diabetes mellitus: pengaruh hiperglikemia pada lipid darah, serum oksida nitrik, dan tingkah laku klinis. *J Veteriner* 2 (2): 1-5.