STUDI AKTIVITAS ASAM LEMAK OMEGA-3 IKAN LAUT PADA MENCIT SEBAGAI MODEL HEWAN PERCOBAAN

(A Study of Activity of Omega -3 Fatty Acid of Some Marine Fish in Mice as the Experimental Animals)

Dadi R. Sukarsa[*)]

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi asam lemak jenis-jenis ikan yang diduga tinggi kandungan omega-3nya, kemudian mempelajari aktivitas omega-3 tersebut dalam pencegahan penyakit jantung koroner dengan menggunakan mencit sebagai model hewan percobaan. Hasil analisa keragaman asam lemak pada ikan seperti ikan kembung, selar, tongkol, kueh, bawal putih, kakap merah, dan kakap terindefikasi 13 jenis asam lemak tak jenuh, 3 jenis tak jenuh tunggal, dan 7 jenis asam lemak tak jenuh jamak. Asam lemak omega-3 yang teridentifikasi dominan adalah EPA dan DHA. Hasil pengujian aktivitas asam lemak omega-3 ikan menunjukkan mampu menurunkan kolesterol, kolesterol HDL, trigliserida dan lipid serum darah tikus percobaan, serta mempengaruhi penurunan tekanan darah. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menguji kelayakan konsumsi dari ikan yang potensial kandungan omega-3nya.

Kata kunci : DHA, EPA, HDL, kolesterol, omega-3, trigliserida

Summary

The purpose of this experiment is to identify the fatty acids of various kind of fish which are assumed to contain a high level of omega-3 and then to study activity of this fatty acid in the preventation of the coronary heart disease by using mice as the experimental animal. The result of the analysis on the variants of the fatty acids mackerel, fringescale sardine, yellow sriped trefally, tuna, trefally, white pomfret, red snapper and white snapper show that there 13 fatty acids, consist of 3 saturated fatty acids, 3 monounsaturated fatty acids and 7 polyunsaturated fatty acids. EPA dan DHA are the two dominant omega-3 fatty acids identified. The result of the test on the activity of the omega-3 show the omega-3 is able to reduce the level of cholesterol, HDL cholesterol, triglyceride and lipids, and also effect the lowe ring of the blood pressure. Further experiment needed to study the advantages of consuming the fish with high omega-3

PENDAHULUAN

Sejak tahun 1992 penyakit jantung telah menjadi penyakit pembunuh nomor satu di Indonesia, dan yang lebih memprihatinkan adalah diderita juga oleh populasi umur produktif. Hasil survei Departemen Kesehatan menyebutkan bahwa penderita penyakit jantung telah mencapai 160 orang per 100. 000 orang. Angka perimbangan ini cukup tinggi dan mengkhawatirkan (Harian Republika, 4 Oktober 1993). Indonesia sebagai negara berkembang dengan jumlah penduduk yang telah mencapai jumlah lebih dari 200 juta orang memerlukan biaya yang sangat besar untuk pengobatan penyakit tersebut. Hal

*) Staf Pengajar Departemen THP FPIK-IPB

ini tidak mungkin tercapai karena keterbatasan yang dihadapi pemerintah. Akibatnya jumlah penderita penyakit jantung akan terus meningkat bila tidak ada upaya pencegahannya.

Melihat kenyataan ini perlu ada usaha yang terus dilakukan untuk pencegahannya. Selain meningkatkan kesadaran masyarakat akan bahaya penyakit jantung, mengubah pola gaya hidup, juga perlu dicari bahan pangan sehat yang dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah yang diyakini merupakan penyebab utama penyakit jantung.

Diantara penyakit jantung yang sering menimbulkan kematian adalah jantung koroner. Penyakit jantung koroner hampir selalu merupakan akibat dari ”pengkerakkan” dan pengerasan dinding pembuluh darah koroner yang disebut sebagai bagian dari proses ”aterosklerosis”.

Telah diketahui bahwa ikan laut selain mengandung komposisi gizi yang tinggi seperti protein, vitamin dan mineral juga mengandung asam lemak tak jenuh omega-3 Manfaat mengkonsumsi asam lemak omega-3 dalam bentuk ekstrak minyak ikan atau konsentrat telah terbukti berpengaruh terhadap pencegahan dan penyembuhan penyakit jantung koroner. Penelitian diluar negeri telah banyak dilakukan mengenai pemanfaatan hasil laut untuk pencegahan jantung koroner, akan tetapi masih sangat langka penelitian didalam negeri untuk mengeksplorasi kemungkinan dapat berperannya hasil laut dalam pencegahan ataupun pengobatan penyakit jantung koroner. Perairan Indonesia yang dapat dikelola yaitu ± seluas 5,8 juta km persegi dengan potensi sumber daya total 6,7 juta ton per tahun (Nontji, 1987). Potensi sumberdaya kelautan ini perlu dimanfaatkan guna pencegahan penyakit jantung koroner.

Minyak atau lemak terdiri dari unit-unit asam lemak, berdasarkan kejenuhannya asam lemak dapat diklarifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Perbedaan keduanya terletak pada ikatan kimianya, dimana asam lemak jenuh tidak memiliki ikatan rangkap. Perbedaan ini menyebabkan adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari kedua kelompok asam lemak tersebut (Ackman, 1982).

Salah satu kelebihan dari lemak ikan adalah mengandung asam lemak tak jenuh yang relatif lebih banyak, terutama asam lemak tidak jenuh C20, C22, C24, dari pada asam lemak jenuhnya. Lemak ikan mengandung 25% asam lemak jenuh dan 75% mengandung asam lemak tidak jenuh (Brody, 1965).

Menurut Apriantono *et al.* (1983) pada beberapa jenis ikan tempat penumpukan lemak (minyak) yang utama adalah hati, sedangkan pada jenis lainnya tempat penumpukan yang utama adalah pada daging ikan itu sendiri. Lemak yang diperoleh dari organ yang sama pada spesies yang sama, akan mempunyai sifat-sifat dan komposisi yang sama pula. Pada umumnya jenis asam lemak yang terkandung dalam lemak ikan hampir sama dengan asam lemak dari tumbuhan atau hewan lainnya. Perbedaannya adalah terletak pada dominasi dari jenis asam lemaknya. Asam lemak utama pada lemak dan minyak ikan adalah berkonfigurasi omega-3, sedangkan pada lemak tumbuhan mengandung asam lemak dengan konfigurasi omega-6 (Bimbo, 1987).

Asam-asam lemak alami yang termasuk asam lemak omega-3 adalah linoleat (C18:, n-3), asam eikosapentaenoat atau EPA (C20:5, n-3) dan asam dekosaheksaenoat atau DHA (C22:6, n-3) (Marinetti, 1990), adapun yang lebih dominan dalam lemak ikan yaitu EPA dan DHA (Husaini, 1989).

Mengkonsumsi asam lemak omega-3 dalam jumlah yang cukup mampu mengurangi kandungan kolesterol dalam darah dan mengurangi resiko terkena penyakit jantung, resiko artherosklerosis serta secara selektif dapat membunuh sel-sel kanker dan menyembuhkan simtom-simtom *rheumathoid arthritis*. Efek klinis dari asam lemak omega-3 dalam menurunkan kadar kolesterol darah diduga disebabkan pengaruhnya terhadap mekanisme produksi lipoprotein transport dalam hati yang disekresikan kedalam darah. Kolesterol dalam darah pada dasarnya ada dalam bentuk lipoprotein. Berdasarkan berat jenisnya lipoprotein dapat dikelompokan kedalam tiga kelompok yaitu Very Low Density Lipoprotein (VLDL), Low Density Lipoprotein (LDL), High Density Lipoprotein (HDL). Asam lemak tidak jenuh khususnya omega-3dapat menghambat sintesa VLDL dan sebagai akibatnya produksi LDL pun berkurang. Tingginya kadar VLDL dan LDL yang disekresikan dapat menimbulkan endapan kolesterol dalam darah, karena VLDL dan LDL merupakan protein transporrt yang membawa trigliserida, kolesterol dan fosfolipid dari hati ke seluruh jaringan. Sedangkan HDL justru akan mengangkut kolesterol ke dalam hati selanjutnya dipecah menjadi asam empedu dan dibuang melalui ekskresi tubuh (Kinsella *et al.*, 1990). Aspek klinis lain yang menguntungkan dari mengkonsumsi asam lemak omega-3 adalah mencegah penyakit arterosklerosis, trombosis dan arthritis. Hal ini diduga karena adanya sifat antagonis asam lemak omega-3 yang dapat menurunkan aktivitas konversi asam linoleat menjadi asam arakhidonat, serta konversi oksidatif asam arakhidonat menjadi eikosanoid (Elisabeth, 1992).

Selama ini yang menjadi sorotan bagi penyebab utama penyakit jantung adalah kolesterol. Kolesterol ini sebenarnya bukan racun yang dapat mematikan, keberadaannya diperlukan karena jenis lipid ini bertindak sebagai prekusor untuk beberapa jenis hormon, vitamin D dan asam empedu. Kolesterol bersifat tidak larut dalam air, dan untuk didistribusikan dalam tubuh harus berikatan dengan protein. Ada tiga jenis lipoprotein yang mengangkut kolesterol dan trigliserida lainnya yaitu HDL, LDL, dan VLDL. Orang yang terserang jantung koroner umumnya memiliki tingkat LDl/VLDL lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat normal. Dengan tingkat LDL/VLDL yang lebih tinggi dan HDL yang lebih rendah dibandingkan dengan tingkat normal. Dengan tingkat LDL dan VLDL yang tinggi akan menyebabkan terjadinya deposisi kolesterol lemak, sisa-sisa sel rusak dan komponen lainnya di sepanjang pembuluh darah sehingga membentuk “kerak” yang mempersempit bahkan menyumbat pembuluh darah. Berkaitan dengan masalah ini, asam lemak omega-3 dapat menurunkan kadar lipida (kolesterol) tersebut dalam darah, yaitu dengan jalan menghambat pembentukan protein dan trigliserida dalam VLDL sehinggga VLDL/LDL dan kolesterol serum darah menjadi rendah pula.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan asam lemak omega-3 pada jenis-jenis ikan laut yang diduga potensial kandungan asam lemak tak jenuhnya, kemudian mempelajari aktivitas omega-3 tersebut secara *in-vivo* menggunakan mencit sebagai model hewan percobaan. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai komposisi asam lemak pada berbagai jenis ikan, terutama potensi asam lemak omega-3 yang terkandung aktivitas omega-3 dalam pencegahan penyakit jantung koroner dan manfaat jenis-jenis ikan laut yang dapat dikonsumsi langsung untuk pencegahan timbulnya penyakit jantung.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Jenis-jenis ikan yang diduga tinggi kandungan asam lemak omega-3nya digunakan dalam penelitian ini. Jenis-jenis ikan tersebut adalah ikan kembung (*Rastrelligger kanagurta*), selar (*Caranx leptolepis*), kueh (*Arropos atropus*), bawal putih (*Pampus argentus*), kakap merah (*Lutjanus sanguineus*), tembang (*Sardinella fimbriata*), tongkol (*Euthynus affinis*) dan kakap (*Lates calcalifer*). Ikan-ikan dalam keadaan segar dikumpulkan dari Tempat Pelelangan Ikan Muara Angke Jakarta dan Pelabuhan Ratu Sukabumi, disimpan dalam freezer sebelum digunakan untuk percobaan. Hewan percobaan untuk uji *in-vivo* adalah tikus jantan jenis Wistar dengan bobot sekitar 66-68 gram berumur tiga minggu, diperoleh dari laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Identifikasi Asam Lemak Omega-3

Kandungan asam lemak ikan diidentifikasi dari khromatogram (peak) hasil fraksinasi metil ester asam lemak dengan khromatografi gas kapiler (50mx),32mm) SP2330. Metil ester diperoleh dari proses metilasi lemak sesuai metode British Standard yang telah dimodifikasi, sedangkan lemak untuk metilasi diekstrak dari bahan dengan metode Bligh –Dyer yang telah dimodifikasi. Asam lemak diidentifikasi dengan membandingkan peak hasil analisa dengan peak asam lemak standar (Sunarya, 1987).

Bioassay Tikus

Tikus percobaan dibagi dalam tiga kelompok, masing-masing terdiri dari 8 ekor tikus. Dua kelompok digunakan untuk perlakuan jenis-jenis ikan yang mengandung asam lemak omega-3 tertinggi dan terendah (diperoleh dari identifikasi) dan satu kelompok digunakan sebagai kontrol. Dalam percobaan ini kedua jenis ikan yang mengandung asam lemak omega-3 diuji responnya melalui diet yang diberikan kepada tikus-tikus percobaan, setelah terlebih dahulu diberikan diet yang mengandung asam lemak jenuh. Pengaturan diet dilakukan sebagai berikut: mulai hari pertama sampai hari ke tiga belas diberikan diet yang mengandung asam lemak jenuh, setelah hari ke empat belas sampai hari ke dua puluh empat diberikan diet yang mengandung asam lemak omega-3 ikan sekaligus sebagai sumber protein. Kelompok tikus kontrol terus diberikan diet asam lemak jenuh sampai hari ke dua puluh empat. Komposisi diet mulai hari pertama sampai hari ketiga belas diberikan normal sesuai standar laboratorium, kecuali komposisi lemaknya mengandung asam lemak jenuh. Sebagai sumber protein digunakan tepung kasein. Diet dan air minum diberikan pada tikus-tikus percobaan secara ad-libitum.

Berat tikus percobaan ditimbang setiap hari. Pada hari ke- dua puluh enam semua tikus percobaan dimatikan. Komponen-komponen biokimiawi serum darah (dipersiapkan dari contoh darah tikus percobaan) yang dianalisis adalah: total kolesterol, kolesterol HDL, kreatin, *serum glutamate-oxalate transaminase* (SGOT) dan *serum glutamate pyruvate* (SGPT), Serum protein dan serum albumin. Pada akhir percobaan seluruh tikus dimatikan, dan organ-organ dalam tikus-tikus percobaan dikeluarkan dan disimpan beku untuk pemeriksaan mikroskopis. Disamping itu pada saat akhir percobaan dilakukan pengukuran tekanan darah tikus-tikus percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaan Asam Lemak

Berdasarkan analisis kualitatif, keragaman asam lemak dapat teridentifikasi 13 jenis asam lemak, yang terdiri dari 3 jenis asam lemak jenuh (SAFA), 3 jenis asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA) dan 7 jenis asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA). Jenis- jenis asam lemak tersebut adalah asam miristat (C14:0), asam palmitat (C16:0), asam palmintoleat (16:1) asam stearat (C18:0), asam oleat (C18:1, n-9), asam vasenat (C18:1, n-7), asam linoleat (C18:2), asam linolenat (C18:3), asam eikosabutaenoat (C20:4) asam dokosabutaenoat (C22:4), asam eikosapentanoat/EPA (C20:5), asam dokosapentanoat (C22:5) dan asam dokosaheksaenoat/DHA (C22:6).

Secara keseluruhan ikan-ikan yang diteliti yaitu tembang (*Sardinella fimbriata*), tongkol (*Euthynus affinis*), kembung(*Rastrelligger kanagurta*), selar (*Caranx/Selaroides/leptolepis*), kueh (*Arropos atropus*), bawal putih

(*Pampus argentus*), kakap merah (*Lutjanus sanguineus*) yang teridentifikasi dominan adalah asam dokosaheksanoat (C22:6) pada asam lemak tak jenuh jamak (PUFA), sedangkan asam oleat (C18:1) pada asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) dan untuk asam lemak jenuh (SAFA) adalah asam palmitat (C16:0) dan asam stearat (C18:0).

Kandungan SAFA yang relatif sama pada ikan-ikan yang diteliti disebabkan asam lemak ini merupakan komponen dasar dari sistem pembentukan lemak pada mahluk hidup. Sedangkan kandungan asam lemak tidak jenuh pada ikan yang tinggi dapat disebabkan karena asam lemak tersebut lebih mudah dimetabolisme dibandingkan dengan asam lemak jenuh. Kandungan MUFA pada ikan bawal, kakap merah dan kakap putih yang tinggi mungkin disebabkan ikan tersebut mendapatkan asam lemak dari mekanisme rantai makanan. Ikan-ikan tersebut termasuk kedalam golongan pemangsa/karnivora. Kandungan PUFA yang tinggi pada ikan kembung, selar, kueh, tembang dan tongkol, berkaitan dengan makanan dan aktivitas ikan tersebut yang termasuk perenang cepat. Aktivitas ikan yang tinggi memerlukan energi yang cukup besar dengan adanya cadangan makanan lemak yang cukup besar.

Keragaan Asam Lemak- Omega-3

Jenis asam lemak omega-3 yang teridentifikasi dari ester asam lemak ikan kembung, selar, kueh, tembang, tongkol, bawal, kakap merah, kakap putih, adalah asam linolenat (C18:3), asam eikosapentanoat/EPA (C20:5) dan asam dokosaheksaenoat/DHA (C22:6). Dalam pembahasan selanjutnya total asam lemak omega-3 dihitung hanya dari jumlah asam linoleat, EPA dan DHA.

Persentase total omega-3 (dari total asam lemak pada ikan-ikan yang diteliti berturut-turut yaitu kakap sebesar 35,19%, tongkol 30,78%, selar 30,76%, kembung 26,94%, kakap merah 17,05% dan bawal putih 10,31%. Adanya variasi dalam kandungan asam lemak omega-3 dari ikan-ikan yang diteliti diduga disebabkan oleh faktor makanan (Ackman, 1982) menjelaskan kandungan asam lemak omega-3 pada ikan bukan merupakan hasil sintesa murni tubuh ikan, melainkan hasil pembentukan dari rantai makanan yang meliputi phytoplankton, zooplankton, algae, copepoda, dan kerang-kerangan (shellfish).

Ikan tongkol mengandung DHA sebesar 23,47% dan EPA sebesar 6,03%; kembung mengandung DHA 20,57% dan EPA 4,95%; kakap mengandung DHA 20,57% dan EPA 4,5%; selar mengandung DHA 21,56% dan EPA 7,3%; tembang mengandung DHA 15,69% dan EPA 4,33%; kakap merah mengandung 17,05% dan EPA tidak teridentifikasi; bawal mengandung DHA 7,04% dan EPA 2,13%.

Rasio DHA dan EPA yang cukup besar pada ikan-ikan tersebut menunjukkan perbedaan DHA dan EPA menurut habitat dan spesies yang mencolok. Fenomena ini relatif sama dengan penelitian pada penelitian ikan tuna diperairan Bali dan Sulawesi Utara (Sunarya et al., 1995). Perbedaan tersebut sangat dimungkinkan karena komposisi lemak dan asam lemak pada ikan sangat tergantung pada spesies, habitat dan jenis makanan (Ackman, 1982).

Pengaruh Diet Terhadap Biokimia Serum dan Organ Dalam pada Tikus

Pengaruh diet terhadap nilai biokimia serum tikus dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh diet terhadap nilai biokimia serum pada tikus

KOMPONEN SERUM	KASEIN ASAM LEMAK JENUH (KONTROL)	PERSENTASE RELATIF Omega-3 IKAN 30%	PERSENTASE RELATIF Omega-3 IKAN 10%
Total Kolesterol (mg/dl)	63,11	46,22	56,10
HDL (mg/dl)	47,47	38,97	42,97
Trigliserida (mg/dl)	69,97	36,22	58,47
Total Lipid (mg/dl)	242,15	236,47	237,17
B- Lipoprotein	42,85	70,22	55,97
Glukosa (mg/dl)	146,22	142,00	133,97
Total Protein (g/dl)	5,49	5,65	5,38
Kreatin (mg/dl)	4,45	3,52	2,21
A/G	0,75	0,68	0,67
GOT (IU/L)	160,40	101,46	103,47
GPT (IU/L)	55,00	24,60	22,03

Secara keseluruhan tikus-tikus percobaan yang diberi diet asam lemak jenuh (kontrol) mempunyai kandungan kolesterol, kolesterol HDL, trigliserida dan lipid yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa asam lemak omega-3 dari ikan dapat menurunkan komponen-komponen biokimia serum darah tersebut. Kandungan B-lipoprotein pada serum darah tikus yang diberi diet asam lemak jenuh mengalami penurunan yang nyata, sedangkan kadar glukosa dan protein tidak berubah, baik pada kelompok tikus yang diberi diet asam lemak omega-3 30% dan 10% maupun kelompok tikus kontrol. Rendahnya B-lipoprotein pada kelompok tikus kontrol ada hubungannya dengan mekanisme perubahan fisiologis akibat diberi diet yang mengandung asam lemak jenuh.

Nilai kreatin A/G mengalami peningkatan secara nyata pada kelompok tikus yang diberi diet asam lemak jenuh, sedangkan kelompok tikus yang diberi diet asam lemak omega-3 mengalami penurunan. Nilai serum GOT dan GPT secara nyata meningkat pada kelompok tikus yang diberi diet asam lemak jenuh, dan menurun pada kelompok tikus yang diberi diet asam lemak jenuh omega-3. Peningkatan SGOT dan SPGT menunjukan adanya kerusakan fisiologis pada tikus-tikus yang mengkonsumsi asam lemak jenuh.

Berdasarkan hasil analisis komponen-komponen serum darah tikus tersebut diatas dapat memberikan gambaran bahwa pemberian diet asam lemak omega-3 setelah hari ke tiga belas mampu menurunkan atau menstabilkan komponen biokimia serum darah pada keadaan normal. Mekanisme penurunan kadar kolesterol pada serum darah tikus percobaan dapat digambarkan seperti yang dikemukakan Kinsella *et al.* (1982).

Tekanan darah pada tikus-tikus kelompok asam lemak omega-3 (30% dan 10%) serta asam lemak jenuh berturut-turut adalah 135,43$\pm$6,40 mm/Hg, 136$\pm$1,02mm/Hg, dan 180,67$\pm$0,41 mm/Hg. Tekanan darah kelompok tikus yang diberi diet asam lemak jenuh mempunyai tekanan darah yang lebih tinggi dari grup tikus yang tak diberi diet asam lemak omega-3.

Pengaruh pemberian diet asam lemak jenuh terhadap organ-organ dalam tikus terutama jantung, hati, ginjal dan limpa secara makroskopis terlihat adanya hipertrofi.

Hipertrofi pada jantung menunjukan sangat nyata bila diukur dari bobotnya yang rata-rata lebih besar kelompok tikus yang diberi asam lemak jenuh dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi diet asam lemak omega-3.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil analisis keragaan asam lemak pada ikan-ikan kembung, tembang, selar, tongkol, kueh, bawal putih, kakap merah dan kakap putih yang yang diteliti, teridentifikasi 13 jenis asam lemak terdiri dari 3 asam lemak jenuh, 3 asam lemak tidak jenuh tunggal dan 7 jenis asam lemak tidak jenuh. Asam lemak omega-3 yang teridentifikasi dominan adalah asam eikosapentaenoat/EPA dan asam dokosaheksaenoat/DHA.

Pengujian aktivitas asam lemak omega-3 pada mencit menunjukan bahwa pemberian diet protein ikan yang mengandung asam lemak omega-3 telah memberikan perubahan berarti terhadap komponen-komponen serum darah tikus-tikus percobaan. Asam lemak omega-3 mampu menurunkan atau menstabilkan komponen-komponen serum darah, dan menurunkan tekanan darah pada tikus-tikus percobaan. Pengamatan secara makroskopis terhadap beberapa organ dalam tikus-tikus percobaan tidak memperlihatkan adanya hipertrofi pada kelompok yang diberi diet asam lemak omega-3.

Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menguji kelayakan konsumsi dari ikan yang potensial kandungan asam lemak omega-3nya.