

STUDI EKSPERIMENTAL: PENGARUH *VIRGIN COCONUT OIL* TERHADAP KADAR HDL, LDL, dan KATALASE DALAM MENCEGAH DISLIPIDEMIA PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DI INDUKSI ETHANOL KRONIS

Arnesa Lipinsky¹, Intan Komalasari², Titut Harnanik³, Fitri Handajani⁴

Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Kota Surabaya
Provinsi Jawa Timur, Indonesia

Korespondensi dr. Intan Komalasari, Sp.JP, Email dr_intan@ymail.com
Telp/ HP +628113476829

Naskah Masuk 01 Februari 2023, Revisi 20 Maret 2023, Layak Terbit 29 Mei 2023

Abstrak

Konsumsi ethanol merupakan salah satu penyebab dyslipidemia sekunder dan telah menyebabkan kematian penduduk dengan rata-rata usia 20-39 tahun, yang kurang lebih setara dengan 13,5% dari total seluruh kematian menurut WHO 2022. Ditandai dengan ketidakteraturan lemak darah seperti penurunan HDL, peningkatan LDL. Ethanol juga menyebabkan penurunan katalase sehingga ROS dalam tubuh meningkat. VCO telah banyak diteliti terutama untuk antioksidan, antiinflamasi, dan dapat meningkatkan kadar lemak baik. Penelitian ini berfokus pada terapi pencegahan dan bertujuan untuk membandingkan profil HDL, LDL, dan katalase antara tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan setelah pemberian VCO. Design penelitian ini merupakan eksperimental "*post-test only control group design*", terdiri dari 30 tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok: kelompok tanpa perlakuan (K1), kelompok induksi ethanol 4,5g/Kg (20% v/v) (K2), kelompok perlakuan VCO 1ml/hari/270g BB (KP). Hasil Uji one-way ANOVA HDL didapatkan penurunan tidak signifikan pada K1-K2 ($p=0,187$) dan peningkatan signifikan pada K2-KP ($p=0,010$), sedangkan Uji one-way ANOVA LDL didapatkan peningkatan tidak signifikan ($p=0,390$) pada K1-K2 dan penurunan tidak signifikan ($p=0,168$) pada K2-KP, yang menunjukkan bahwa induksi ethanol yang telah dilakukan belum berhasil memengaruhi profil lipid HDL dan LDL darah. Tetapi, hasil Uji one-way ANOVA katalase menunjukkan penurunan yang signifikan pada K1-K2 ($p= 0,028$), dan peningkatan signifikan pada K2-KP ($p=0,001$), yang menunjukkan bahwa induksi ethanol berhasil memengaruhi kadar katalase, dan VCO dapat meningkatkan kadar katalase darah.

Kata kunci : ekstrak *virgin coconut oil*, VCO, ethanol, katalase, lipid

Abstract

Consumption of ethanol is one of the causes of secondary dyslipidemia and has caused the death of people with an average age of 20-39 years, which is approximately equivalent to 13.5% of the total deaths according to WHO 2022. It is characterized by irregular blood lipids such as decreased HDL, increased LDL. Ethanol also causes a decrease in catalase so that ROS in the body increases. VCO has been widely studied, especially for antioxidants, anti-inflammatories, and can increase levels of good fats. This study focuses on preventive therapy and aims to compare HDL, LDL and catalase profiles between the control group and the treatment group after administration of VCO. The design of this study was an experimental "post-test only control group design", consisting of 30 rats which were divided into 3 groups: the untreated group (K1), the ethanol 4.5g/Kg (20% v/v) induction group (K2), the VCO 1ml/day/270g BW (KP) treatment group. The results of the one-way ANOVA HDL test showed no significant decrease in K1-K2 ($p=0.187$) and a significant increase in K2-KP ($p=0.010$), while the one-way ANOVA test of LDL found no significant increase ($p=0.390$) in K1-K2 and no significant decrease ($p = 0.168$) in K2-KP, which indicates that the ethanol induction that has been carried out has not succeeded in affecting the blood HDL and LDL lipid profiles. However, the results of the catalase one-way ANOVA test showed a significant decrease in K1-K2 ($p = 0.028$), and a significant increase in K2-KP ($p = 0.001$), indicating that ethanol induction succeeded in influencing catalase levels, and VCO could increase blood catalase levels

Keyword: virgin coconut oil extract, VCO, ethanol, catalase, lipids).

PENDAHULUAN

Konsumsi alkohol dalam jangka panjang, dapat menyebabkan gangguan metabolisme lipoprotein atau yang disebut dyslipidemia (1,2). Menurut WHO dalam artikel tahun 2022, alkohol menyebabkan kematian penduduk dengan rata-rata usia 20-39 tahun, yang kurang lebih setara dengan 13,5% dari total seluruh kematian, dan pada jurnal epidemiologi dyslipidemia yang dimuat tahun 2018, prevalensi dyslipidemia di Indonesia adalah sekitar 36% (3).

Dislipidemia didefinisikan sebagai gangguan metabolisme lipoprotein yang berarti terjadi disregulasi dari lipid di plasma, yaitu peningkatan abnormal trigliserida di plasma, kolesterol total, dan LDL-cholesterol, serta penurunan HDL-cholesterol. Etiologi dislipidemia diklasifikasikan menjadi primer atau sekunder. Penyebab dari dyslipidemia primer yaitu adanya mutasi dari satu

atau lebih gen yang berakibat produksi berlebih atau defek pada pembuangan TG & LDL kolesterol, serta kurangnya produksi atau pembuangan berlebih HDL(4).

Sedangkan yang menjadi penyebab terpenting dari dyslipidemia sekunder adalah konsumsi alkohol berlebih, serta gaya hidup yang statis. Tentu hal ini akan membawa dampak buruk bagi tubuh, khususnya pada cardiovascular, lipid akan terdeposit pada pembuluh darah, sehingga meningkatkan resiko terpapar penyakit arteri coroner, rupture dinding pembuluh darah, stroke, gangrene, dan atherosclerosis.

Meskipun konsumsi alkohol dosis ringan hingga sedang yaitu 1 minuman setiap hari untuk wanita dan 2 minuman setiap hari untuk pria, dikaitkan dengan manfaat kardioprotektif, namun konsumsi yang berlebihan menghasilkan hasil yang lebih buruk seperti steatosis, sirosis hati, gastritis kronis, dan pankreatitis, penyakit system saraf, kanker, dan

penyakit kardiovaskular (5,6).

Ada beberapa obat-obatan yang sudah digunakan dalam kehidupan sehari-hari untuk penderita yang penyakitnya berhubungan dengan alkohol, seperti Naltrexone, Disulfiram, dan Acamprosate (7).

Namun tentunya masing-masing obat tersebut dapat menyebabkan efek samping. Selain itu, mengonsumsi alkohol dan obat-obatan dapat saling berinteraksi dan menimbulkan efek berbahaya bagi tubuh walaupun tidak diminum di waktu yang bersamaan. Seperti halnya obat, alkohol dapat membuat seseorang mengantuk, maupun pusing.

Meminum alkohol sembari meminum obat atau setelahnya, dapat meningkatkan efek ini, juga memperbesar resiko. Sehingga dapat menyulitkan performa mekanis tubuh hingga cedera serius terutama bagi para orang dewasa.(8).

Oleh karena itu dibutuhkan terapi adjuvant, non-farmakologi yang aman, fungsional, dan sehat walaupun diminum setiap hari. Salah satunya yang cukup dikenal adalah VCO.

VCO (*Virgin coconut oil*) merupakan minyak kelapa murni yang menggunakan daging kelapa segar serta diproses dengan cara mekanis atau alami tanpa melalui proses pemanasan, *refining*, *bleaching*, dan *deodorizing*. Sehingga nilai gizi dan zat aktif nya tetap terjaga yang diketahui memiliki berbagai manfaat sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan menambah jumlah kadar lemak baik pada tubuh.

Berdasarkan pernyataan diatas, penelitian ini berfokus pada terapi pencegahan dan bertujuan untuk membuktikan, mengobservasi, menganalisis pengaruh pemberian ekstrak VCO pada profil HDL, LDL sebagai penanda dyslipidemia. Serta katalase sebagai penanda antioksidan.

METODE

Penelitian eksperimental, design “*post-test only control group design*”, ekstrak VCO merupakan variabel yang di uji, dan ethanol merupakan bahan induksi. Dengan total hewan coba 30 tikus wistar jantan, usia 6 bulan, berat badan 150-180 gram yang dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu kelompok tanpa perlakuan (K1), kelompok dengan induksi ethanol 4,5g/Kg (20% v/v) (K2), kelompok perlakuan VCO 1ml/hari/270g BB (KP). Dengan rincian, untuk kelompok perlakuan, ethanol diberikan 2 jam setelah VCO. Dilakukan selama 6 minggu. Penetapan dosis berdasarkan pada beberapa penelitian sebelumnya (1,9,10).

Penelitian dimulai dari hari pertama dengan pemberian ethanol pada kelompok 2, dan pemberian VCO 2 jam sebelum pemberian ethanol pada kelompok perlakuan. Pada hari ke-42 dilakukan terminasi menggunakan ketamine kemudian dilakukan pengambilan darah dan pemeriksaan variabel yang diteliti yaitu HDL, LDL, katalase menggunakan metode elektrofotometrik. Untuk menganalisis perbedaan antar variabel, data dianalisa secara statistik menggunakan metode statistik One-way ANOVA.

Penelitian ini diselenggarakan di laboratorium biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya dan telah mendapatkan laik etik dari komite etik Fakultas Kedokteran

Universitas Hang Tuah Surabaya.

Pembuatan larutan ethanol dan penentuan dosis

Larutan ethanol 95% di encerkan menjadi 20%, dengan aquadest sebagai vehicle nya. Menggunakan rumus kimia pengenceran $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$, kemudian melakukan convert dosis 4,5g/Kg ethanol ke ukuran ml/kg, yang mana setara dengan 28,125 ml/Kg dan dibulatkan menjadi 28 ml/Kg. (9,11). Kemudian, disesuaikan dengan rata-rata berat badan tikus per kelompok.

Ekstraksi VCO dan dosis

VCO di ekstrak menggunakan proses basah secara tradisional. Sabut kelapa dikupas terlebih dahulu, pecahkan tempurung dengan palu, cukit daging kelapa dan cuci sampai bersih. Parut kelapa lalu diperas hingga keluar santan kentalnya. Masukkan santan kental ke dalam wadah besar lalu ditutup dan diamkan selama 24 jam didalam suhu ruang hingga terbentuk lapisan yang saling terpisah dengan sendiri nya. Pisahkan lapisan krim dan lapisan minyak, selanjutnya lakukan penyaringan dengan menggunakan tisu tanpa aroma atau kertas saring dan kapas. Lakukan berulang kali hingga menemukan tingkat kejernihan yg tinggi. VCO siap dikemas.

VCO di administrasikan menggunakan alat sonde, disesuaikan dengan rekomendasi dosis terapi harian minimal pada

manusia yaitu sebanyak 3 sendok makan per hari atau setara dengan 45ml per hari. Kemudian, dikonversikan ke dosis tikus, $0.018 \times 45 = 0.81$ ml/200 g BB/hari atau setara dengan 1,09 ml/270 g BB/hari. Dosis yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu 1 ml/hari/270 g BB (10)

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar HDL kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok 1 dan 2. Rerata LDL kelompok perlakuan, lebih rendah dibandingkan dengan kelompok 1 dan 2. Rerata katalase kelompok

perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok 1 dan 2. Sebelum uji statistik One-way ANOVA dilakukan pada ketiga data variabel, data diuji normalitasnya dengan *saphiro wilk test* dan diuji homogenitas dengan *Levene test*. Hasilnya didapatkan bahwa ketiga data terdistribusi secara normal dan homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji statistik one-way ANOVA, didapatkan hasil yang signifikan pada K1-K2 juga K2-KP ($p < 0,05$) katalase darah. Tidak signifikan pada K1-K2 dan K2-KP LDL ($p > 0,05$). Tidak signifikan pada K1-K2 HDL tetapi signifikan pada K2-KP HDL.

Tabel 1. Hasil uji *one-way* ANOVA kadar HDL, LDL, katalase darah tikus kelompok 1, 2, dan perlakuan

Kelompok	HDL	LDL	Katalase
	Mean \pm Std.Dev (mg/dl)	Mean \pm Std.Dev (mg/dl)	Mean \pm Std.Dev (U/ml)
K1	17,38 \pm 2,387	6,25 \pm 1,035	1106,63 \pm 57,335
K2	15,00 \pm 2,380	7,43 \pm 2,299	1008,43 \pm 68,215
KP	19,43 \pm 2,760	5,71 \pm 1,604	1170,76 \pm 76,094
<i>P</i> (K1-K2)	0,187	0,390	0,028
Sig	NS	NS	S
<i>P</i> (K2-KP)	0,01	0,168	0,001
Sig	S	NS	S

Keterangan:

Mean = rata-rata

Std.Dev = standar deviasi

HDL = *high density lipoprotein*

LDL = *low density lipoprotein*

P = nilai signifikansi

NS = *not significant*

S = *significant*

PEMBAHASAN

Suplementasi makanan dengan *virgin coconut oil* tidak menyebabkan dyslipidemia, malah mengurangi obesitas. (12). Penelitian (13) menyebutkan, konsumsi harian 30mL

VCO pada orang dewasa sehat, secara signifikan meningkatkan kadar HDL-cholesterol dalam tubuh. MCFA pada VCO yang didapatkan dari hidrolisis minyak kelapa diikuti dengan fraksinasi asam lemak, memiliki

karakteristik yaitu berukuran lebih kecil dan larut air. Sifat lebih larut air inilah yang mempercepat eliminasi MCFA dari darah sehingga tidak menumpuk kolesterol serta plak lemak di dalam darah, dan MCFA juga berjalan mengikuti sistem vena porta dapat dimetabolisme tanpa dibantu lipoprotein. Berbeda halnya dengan LCFA yang berjalan di jalur limfatik memiliki kecenderungan lebih tinggi untuk dikemas bersama dengan fosfolipid dan kolesterol menjadi kilomikron (12,14).

Disamping itu, konsumsi ethanol kronis ternyata juga menghambat aktivitas binding dari PPAR α . Reseptor PPAR α diaktifkan oleh ligan PPAR α yang merupakan natural fatty acid. VCO mengandung MCFA (medium-chain fatty acid) yang adalah ligan alami dari PPAR α . Dengan ini, suplementasi VCO dapat meningkatkan kembali regulasi pembentukan mRNA PPAR α yang dihambat oleh ethanol (15).

Polyphenol dalam VCO, merupakan aktivator alami PPAR α , sehingga meningkatkan regulasi gen yang terkait dengan oksidasi asam lemak seperti ACO dan CPT1 (15). Karena oksidasi asam lemak yang meningkat, maka lipidemia postprandial dan akumulasi lipid dapat ditekan.

Eksresi ABCA1 dan SR-B1 juga meningkat, begitu pula Apo A1 yang akan mengaktifkan LCAT (lecithin cholesterol acyltransferase) dan Apo A2 yang meningkatkan aktivitas dari hepatic lipase, yang mana keduanya merupakan target langsung PPAR α yang berkaitan dengan HDL (16), penting perannya

dalam meningkatkan reverse kolesterol transport sehingga kolesterol berlebih tidak menumpuk dalam darah dan jaringan.

Uptake eksogenus (yang berasal dari jaringan adiposa serta intestinal) dan endogenus “De Novo”, berkontribusi dalam menentukan kadar kolesterol intraseluler. LDL adalah lipoprotein utama dalam darah yang membawa kolesterol dan liver merupakan organ mayor untuk *clearance* LDL.

Enzim-enzim yang terlibat dalam lipogenesis de novo, seperti ACC, FAS, SCD1, DGAT, Lipin diregulasi oleh faktor transkripsi yang disebut SREBP-1c, *sterol regulatory element-binding protein*, yang meningkatkan aktivitasnya saat mengonsumsi ethanol secara akut maupun kronis. Sedangkan untuk sintesis kolesterol diregulasi oleh faktor transkripsi, SREBP-2.

Penelitian oleh (15) menunjukkan kandungan yang tak tersaponifikasi seperti vitamin E pada VCO, khususnya polyphenol, dapat menghambat SREBP-1c dengan mengaktifkan SIRT-1 yang secara tidak langsung menurunkan aktivitas enzim yang terlibat pada metabolisme “De Novo”.

Disamping pembahasan lipogenesis De Novo, konsumsi ethanol kronis secara konstan juga mengaktifkan SREBP-2 pada liver, dan meningkatkan ekspresi HMG-CoA reduktase. Sehingga dapat disimpulkan sintesis kolesterol meningkat (17).

Tocotrienol yang terkandung dalam VCO dapat menurunkan

biosintesis kolesterol yang artinya menurunkan aktivitas enzim HMG-CoA reduktase, glukosa-6-fosfat, dehidrogenase, isositrat dehidrogenase, dan enzim malat dehydrogenase (18) dengan dua cara berbeda (19).

Mekanisme yang pertama, berfokus pada meningkatkan pembentukan dari farnesyl difosfat ke bantuk farnesol. Tocotrienol mengkatalisis defosforilasi dari farnesyl difosfat untuk membentuk farnesol dikarenakan gugus farnesilnya yang apabila dibandingkan dengan gugus yang dimiliki tocopherol yaitu gugus phytyl, tidak dapat melakukan proses reaksi ini. Farnesol meningkatkan degradasi dari HMG-CoA reduktase, sehingga menghilangkan jalur biosintesis kolesterol (19).

Mekanisme yang kedua, tocotrienol menghambat HMG-CoA reduktase secara langsung, pascatranskripsi, dengan menghalangi translasi mRNA HMG-CoA (19).

Namun, seiring dengan peningkatan dari SREBP-2, ada peningkatan *proprotein konvertase subtilisin/kexin type 9* (PCSK9), yang berperan dalam degradasi LDL-reseptor (LDLr) pada liver. Dengan meningkatnya aktivitas PCSK9, maka LDL *clearance* menurun (17). Hal ini menjelaskan dugaan dari penurunan yang tidak signifikan pada K2-KP.

Produk pertama yang dihasilkan dari reduksi oksigen molekuler adalah ROS, yang kemudian di konversi menjadi H₂O₂ oleh antioksidan endogen tubuh

seperti glutathione, SOD, serta, katalase. Namun antioksidan ini akan terhambat apabila terlalu banyak H₂O₂ yang terakumulasi (20).

Penambahan antioksidan dari luar dapat meningkatkan kembali kadar antioksidan dalam tubuh (21). Selain mengandung MCFA, VCO juga mengandung vitamin E sebagai antioksidan yang dapat meningkatkan kadar katalase yang menurun akibat paparan ethanol (20).

Studi menunjukkan (22) toksisitas H₂O₂ dimediasi oleh aktivasi dari NADPH oxidase (Nox1), yang mana katalase sensitif terhadap toksisitas peroksida tersebut. Inhibitor NADPH oxidase (Nox1) diperlukan untuk menghambat efek inflamasi begitu pula superoksida dan radikal peroksida untuk kelangsungan hidup sel. Maka dari itu, VCO yang memiliki kandungan anti-inflamasi yang poten, memungkinkan untuk mencegah aktivasi dari NADPH oxidase (Nox1). Komponen polyphenol pada VCO dapat bertindak sebagai *free radical scavenger* dengan mendonorkan atom hydrogennya.

KESIMPULAN

VCO dapat meningkatkan kadar HDL dan katalase. Serta menurunkan kadar LDL. Akan tetapi, induksi ethanol yang telah dilakukan, belum berhasil memengaruhi profil HDL dan LDL secara signifikan. Diduga berat tikus yang kurang dibandingkan penelitian sebelumnya (1).

SARAN

Peneliti memiliki berbagai keterbatasan yang meliputi: hanya menggunakan satu dosis VCO dan tidak memeriksa kadar ROS serta tes fungsi liver. Sehingga kedepannya, dapat ditambahkan variasi dosis VCO nya serta menambahkan pemeriksaan kadar ROS dan fungsi liver agar dapat mengetahui sejauh mana alkohol telah mengakibatkan *alcoholic fatty liver disease* pada hepar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih diberikan oleh peneliti kepada FK Universitas Hang Tuah Surabaya, pihak lab yang telah membantu sarana prasarana, pihak - pihak yang telah membantu penelitian penulis, termasuk yang mendanai penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Shirpoor A, Salami S, Khadem-Ansari MH, Heshmatian B, Ilkhanizadeh B. Long-term ethanol consumption initiates atherosclerosis in rat aorta through inflammatory stress and endothelial dysfunction. *Vascul Pharmacol* [Internet]. 2012;57(2-4):72-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vph.2012.04.001>
2. Malik DK, Sharma D, Gulia D, Chugh D, Dahiya K. Dyslipidemia in Alcoholic Liver Disease. *Int J Adv Res*. 2016;4(10):1090-4.
3. Lin CF, Chang YH, Chien SC, Lin YH, Yeh HY. Epidemiology of Dyslipidemia in the Asia Pacific Region. *Int J Gerontol*. 2018;12(1):2-6.
4. Purva A, Sharma K, Khan MS. A Review on Dyslipidemia: Types, Risk Factors and Management. *Asian J Pharm Res Dev*. 2020;8(2):96-8.
5. O'Keefe JH, Bybee KA, Lavie CJ. Alcohol and cardiovascular health: the razor-sharp double-edged sword. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2007 Sep 11 [cited 2022 Jul 3];50(11):1009-14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17825708/>
6. Le Daré B, Lagente V, Gicquel T. Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. *Drug Metab Rev* [Internet]. 2019;51(4):545-61. Available from: <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1679169>
7. Akbar M, Egli M, Cho YE, Song BJ, Noronha A. Medications for alcohol use disorders: An overview. *Pharmacol Ther*. 2018;185:64-85.
8. (NIAAA) NI on AA and A. Harmful Interactions: Mixing Alcohol. *Read*. 2014;1-9.
9. Yang C, Tang D. Reference-Dose Place Conditioning with Ethanol in Mice: Empirical and Theoretical Analysis. *Ref Place Cond with Ethanol Mice Empir Theor Anal* [Internet]. 2000;1(2):119-31. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2883454/>
10. Shariq B, Zulhabri O, Hamid K, Sundus B, Mehwish H, Sakina R, et al. Evaluation of Anti-Atherosclerotic Activity of Virgin Coconut Oil in Male Wistar Rats Against High Lipid and High Carbohydrate Diet Induced Atherosclerosis. *Pharm Biosci J*. 2015;(May):10-4.
11. Shirpoor A, Salami S, Khadem-Ansari MH, Heshmatian B, Ilkhanizadeh B. Long-term ethanol consumption initiates atherosclerosis in rat aorta through inflammatory stress and endothelial dysfunction. *Vascul Pharmacol*. 2012 Sep 1;57(2-4):72-7.
12. Dayrit FM. Lauric acid is a medium-chain fatty acid, coconut oil is a medium-chain triglyceride. *Philipp J Sci*. 2014;143(2):157-66.
13. Chinwong S, Chinwong D, Mangklabruks A. Daily Consumption of Virgin Coconut Oil Increases High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Healthy Volunteers: A Randomized Crossover Trial. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2017;2017.
14. Babu AS, Veluswamy SK, Arena R, Guazzi M, Lavie CJ. Virgin coconut oil and its potential cardioprotective effects. *Postgrad Med*. 2014;126(7):76-83.
15. Arunima S, Rajamohan T. Influence of virgin coconut oil-enriched diet on the transcriptional regulation of fatty acid synthesis and oxidation in rats-a comparative study. *Br J Nutr*. 2014;111(10):1782-90.
16. MKing. Peroxisome proliferator-activated receptors, ppar α . 2022.
17. Wang Z, Yao T, Song Z. Chronic alcohol consumption disrupted cholesterol homeostasis in rats: Down-regulation of low-density lipoprotein receptor and enhancement of cholesterol biosynthesis pathway in the liver. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010;34(3):471-8.
18. Jaarin K, Norliana M, Kamisah Y, Nursyafiza M, Qodriyah HMS. Potential role of virgin coconut oil in reducing cardiovascular risk factors: Original article. *Exp Clin Cardiol*. 2014;20(8):3399-410.
19. Ramanathan N, Tan E, Loh LJ, Soh BS, Yap WN. Tocotrienol is a cardioprotective agent against ageing-associated cardiovascular disease and its associated morbidities. *Nutr Metab*. 2018;15(1):1-15.

20. Vysakh A, Ratheesh M, Rajmohanan TP, Pramod C, Premlal S, Girish Kumar B, et al. Polyphenolics isolated from virgin coconut oil inhibits adjuvant induced arthritis in rats through antioxidant and anti-inflammatory action. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2014;20(1):124–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2014.02.026>
21. Kesuma Y. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. 2015. 15–16 p.
22. Illam SP, Narayanankutty A, Raghavamenon AC. Polyphenols of virgin coconut oil prevent pro-oxidant mediated cell death. *Toxicol Mech Methods* [Internet]. 2017;27(6):442–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/15376516.2017.1320458>