

**KERUSAKAN SEL HATI DAN PENINGKATKAN
KOLESTEROL SERUM MENCIT AKIBAT PEMBERIAN
MINYAK GORENG BEKAS PAKAI**

*(Hepatocyte Degeneration and Cholesterol Serum Level Increase in Mouse as an
Effect of Heated Palm Oil Administration)*

Ika Rahmawati Sutejo *, Rosita Dewi **

Abstract

The purpose of this study were to prove that the administration of heated palm oil can cause hepatocytes damage and cholesterol serum level incerase in mouse. This research was an experimental research using 38 male Mus musculus, Swiss derived. They were divided into 3 groups; 9 were the first negative control by aquadest administration, 9 were the second negative control by fresh palm oil administration, and 20 were intervention by 27-times heated palm oil administration. The dose of administration was 1 ml/100 gram body weight, every day for 14 days. Parameter used in examining liver microscopically was the percentage of hepatocytes getting degeneration of each vision field by 100-times magnificence. The result of microscopic examination were normal hepatocytes for aquadest administration group, fatty degeneration for fresh palm oil administration group, fatty degeneration and central zone necrosis for 27-times heated palm oil group. The average value of cholesterol serum level in aquadest administration group was $101,44 \pm 8,71$ mg/dl, in fresh palm oil administration group was $104,66 \pm 7,75$ mg/dl, and in 27-times heated palm oil group was $130,15 \pm 12,26$ mg/dl. It could be concluded that administration of 27-times heated palm oil for 14 days can cause degeneration of hepatocytes ($p < 0,05$) and cholesterol serum level increase ($p < 0,05$).

Keyword: heated palm oil, fatty degeneration, necrosis hepatocyte, cholesterol

PENDAHULUAN

Makanan yang diolah dengan cara digoreng banyak digemari masyarakat. Penelitian tentang perilaku gizi menyatakan bahwa sebagian besar responden lebih menyukai makanan yang diolah dengan cara digoreng; dari 29,7 gram asam lemak jenuh yang dikonsumsi, 5,93 gram per hari berasal dari non-gorengan dan 23,77 gram per hari berasal dari gorengan (Rustika, 2005). Hasil survey Nadirawati

* Ika Rahmawati Sutejo adalah Dosen Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember

** Rosita Dewi adalah Dosen Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

terhadap ibu rumah tangga di Cianjur menyatakan 62,8% sampel masih menggunakan minyak jelantah (Nadirawati, 2010). Masalahnya adalah apakah konsumsi gorengan tersebut aman bagi kesehatan karena proses pemanasan berulang dengan menggunakan minyak akan menghasilkan senyawa yang berbahaya, misalnya asam lemak jenuh dan radikal bebas (peroksida) yang diyakini dapat menimbulkan gangguan fungsi pada organ tubuh.

Hati merupakan organ terbesar dan metabolismenya paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan, sebagian besar obat, dan toksikan. Kerusakan pada hati dapat diamati lebih awal daripada organ lain sehingga dapat digunakan untuk memberikan gambaran pengaruh toksisitas minyak. Penelitian terhadap kerusakan sel hati mencit yang diberi diet minyak kelapa bekas gorengan menyimpulkan bahwa kerusakan sel hati mencit meningkat sebanding dengan semakin seringnya frekuensi pemakaian minyak goreng. Penelitian ini memberikan diet minyak kelapa bekas dengan frekuensi penggorengan 9 kali, 18 kali, dan 27 kali terhadap 3 kelompok dengan dosis 1 ml setiap 100 gram bobot badan mencit per hari pada hari pertama, ketiga, dan kelima percobaan. Hasilnya menunjukkan gambaran kerusakan sel hati terparah pada sampel mencit kelompok yang diberi minyak bekas 27 kali penggorengan (Sunityoso, 1998). Hati merupakan organ utama yang berperan dalam metabolisme kolesterol. Kelebihan kolesterol akan dibawa ke hati untuk dibuang melalui saluran empedu. Jika terjadi kerusakan hati, kadar kolesterol darah akan meningkat.

Berdasarkan bahaya yang ditimbulkan radikal bebas dan asam lemak jenuh hasil pemanasan minyak berulang, peneliti ingin membuktikan apakah pemberian minyak goreng bekas 27 kali pakai selama 14 hari masa percobaan dapat mengakibatkan kerusakan selhati mencit dan peningkatan kadar kolesterol serum mencit.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan 38 mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss Derived, dengan bobot badan 30-40 gram, dan berumur 2-3 bulan. Sampel dibagi dalam tiga kelompok, yaitu 9 mencit dalam kelompok kontrol negatif pertama dengan pemberian aquadest, 9 mencit dalam kelompok kontrol negatif kedua dengan pemberian minyak goreng tanpa pemanasan, dan 20 mencit dalam kelompok perlakuan dengan pemberian minyak goreng bekas 27 kali pakai. Pemberian aquadest dan minyak dilakukan dengan volume yang sama, yaitu 1 ml setiap 100 gram bobot badan mencit per oral, setiap hari selama 14 hari (penelitian subakut atau subkronis). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tahu, aquadest, minyak goreng curah (minyak goreng kelapa sawit) tanpa pemanasan, minyak goreng curah yang telah dipakai untuk menggoreng tahu 27 kali, eter, dan formalin 10%.

Pembuatan preparat histologi hati dilakukan dengan menggunakan metode parafin dan pewarnaan HE. Parameter yang digunakan dalam pengamatan mikroskopik hati mencit adalah persentase rata-rata sel hati yang mengalami

degenerasi tiap lapangan pandang dengan pembesaran mikroskop 100 kali. Perbedaan tingkat keparahan degenerasi sel hati antarkelompok penelitian dianalisis dengan menggunakan Uji Mann-Whitney.

Pengukuran kadar kolesterol serum mencit dilakukan dengan menggunakan *kolorimetri enzimatik CHOD-PAP*, sampel darah berasal dari jantung (ventrikel kanan). Perbedaan kadar kolesterol serum mencit pada masing-masing kelompok dianalisis dengan uji statistik Anova satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengamatan Mikroskopik Hati Mencit

Tingkat keparahan degenerasi sel hati diklasifikasikan dalam lima kategori berdasarkan persentase rata-rata sel hati yang mengalami degenerasi tiap lapangan pandang, yaitu (-): tidak terjadi degenerasi sel hati, (+1): <25% sel-sel hati mengalami degenerasi, (+2): 25-50% sel-sel hati mengalami degenerasi, (+3): >50% sel-sel hati mengalami degenerasi, (+4): >50% sel-sel hati mengalami degenerasi dan terdapat ciri-ciri nekrosis.

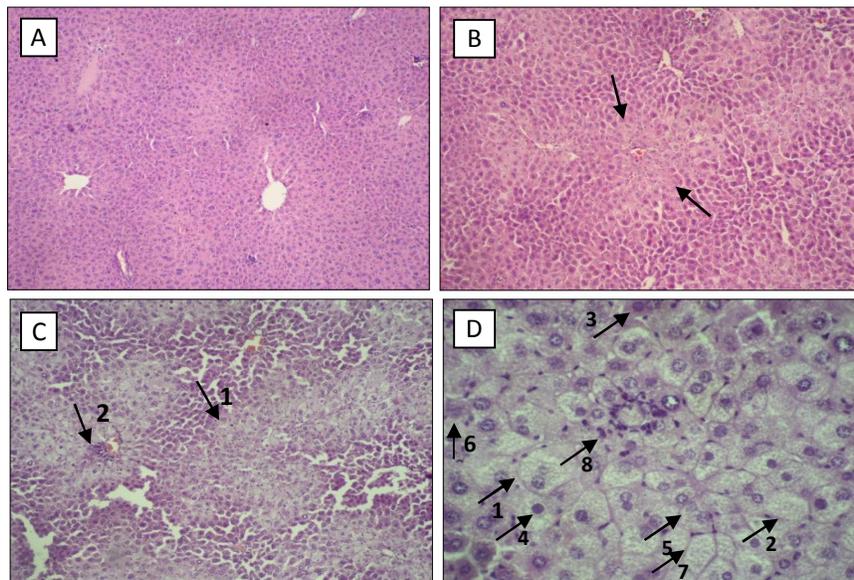
Pada kelompok mencit yang diberi aquadest, 7 sampel memiliki gambaran mikroskopik hati yang normal, 1 sampel tidak dapat diamati secara mikroskopik karena preparat histologi hati mengalami kerusakan (banyak dijumpai artefak), dan 1 sampel mengalami degenerasi 25-50% sel-sel hati tiap lapangan pandang. Pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng tanpa pemanasan, 5 sampel mengalami degenerasi >50%, 3 sampel mengalami degenerasi 25-50%, dan 1 sampel mengalami degenerasi <25% sel-sel hati tiap lapangan pandang. Pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai, 18 sampel mengalami degenerasi >50% dan ditemukan ciri-ciri nekrosis, dan 2 sampel mengalami degenerasi 25-50% sel-sel hati tiap lapangan pandang yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Preparat yang Mengalami Kerusakan Sel-Sel Hati

Kelompok Mencit dengan Pemberian:	Sel-Sel Hati yang Mengalami Degenerasi (%)				
	0	<25	25-50	>50	>50 dengan nekrosis
Aquadest	87,5	0	12,5	0	0
Minyak goreng tanpa pemanasan	0	11,1	33,3	55,5	0
Minyak goreng bekas 27 kali pakai	0	0	10	0	90

Hasil pengamatan mikroskopik hati mencit pada kelompok yang diberi aquadest adalah tampak sel-sel hati yang tersusun regular, perbandingan sitoplasma dan inti sel normal, serta vena sentralis dan sel endotel tampak jelas. Hasil pengamatan mikroskopik hati mencit pada kelompok yang diberi minyak goreng tanpa pemanasan menunjukkan adanya fokus-fokus degenerasi lemak yang ditandai

dengan adanya mikrovesikular (vakuola lemak) dan peningkatan jumlah *granule* (*round glass appearance*) pada sitoplasma, hilangnya sitoplasma (*clear cell*), sel membengkak (*balloned cell*), serta ukuran inti bervariasi dan struktur kromatin jelas. Hasil pengamatan mikroskopik hati mencit pada kelompok yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai menunjukkan susunan sel-sel hati yang tidak teratur, degenerasi lemak yang ditandai dengan adanya mikrovesikular (vakuola lemak) dan jumlah *granule* yang sangat meningkat (*round glass appearance*) pada sitoplasma, sel membengkak (*ballooned cell*), membran sel rusak, inti sel terdesak ke tepi (*crescent cell*), struktur kromatin jelas, dan tampak nekrosis sel yang ditandai dengan adanya fragmen sel, sel tanpa pulasan inti, atau tidak tampaknya sel disertai reaksi radang; kromatin menggumpal menjadi untaian kasar; inti menjadi massa yang mengerut, memadat, dan menjadi sangat basofilik (biru tua), yang disebut piknosis; inti piknotik pecah menjadi banyak partikel basofilik kecil-kecil (karioreksis) atau mengalami lisis (kariolisis) yang dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil analisis data dengan menggunakan uji statistik Uji Mann-Whitney didapatkan perbedaan tingkat keparahan degenerasi sel hati antara ketiga kelompok mencit ($p < 0,05$).



Gambar 1. Foto Preparat Hati Mencit

(A) Kelompok mencit yang diberi aquadest. Tampak sel-sel hati tersusun regular dengan perbandingan inti sel dan sitoplasma normal (pembesaran 100x).

(B) Kelompok mencit yang diberi minyak goreng tanpa pemanasan. Tampak fokus degenerasi lemak, yaitu sitoplasma lebih pucat dan ukuran sel lebih besar daripada sel hati normal; 25-50% sel-sel hati mengalami degenerasi (pembesaran 100x).

(C) Kelompok mencit yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai. Tampak: 1. fokus degenerasi lemak (sitoplasma lebih pucat dan ukuran sel lebih besar daripada sel normal); 2. nekrosis ditandai adanya kumpulan sel radang (pembesaran 100x).

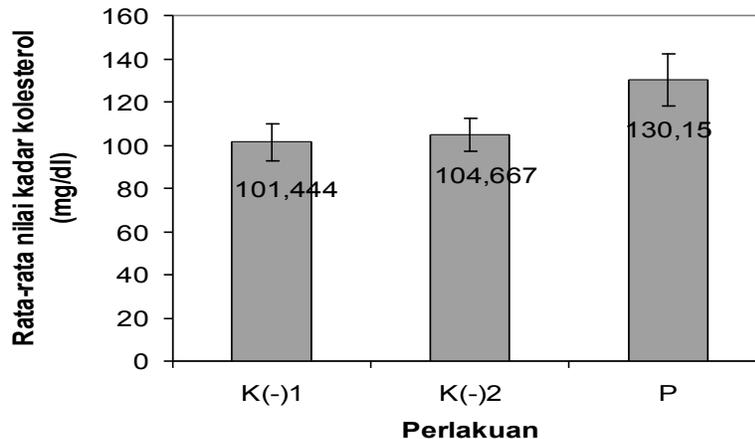
(D) Kelompok mencit yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai. Tampak susunan sel hati *irregular*, polimorfism, ciri-ciri degenerasi lemak, yaitu: 1. *ballooned cell*, 2. *microvesicular*, 3. inti sel hiperkromatin, dan ciri-ciri nekrosis: 4. piknosis, 5. kariolisis, 6. karioreksis, 7. sel tanpa inti, 8. kumpulan sel radang (pembesaran 400x).

Terdapat kerusakan sel hati pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng tanpa pemanasan dibandingkan dengan yang diberi aquadest. Hal ini terjadi karena kandungan asam lemak jenuh pada minyak goreng curah. Minyak goreng curah merupakan minyak kelapa sawit yang mempunyai kandungan asam lemak dengan perbandingan 49% asam lemak jenuh dan 50% asam lemak tak jenuh (Kamsiah *et al*, 2001). Tingginya asupan asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh dalam minyak ini akan meningkatkan absorpsi asam lemak di usus sehingga asam lemak di darah juga tinggi. Adanya transpor asam lemak berlebihan yang diangkut dari luar ke dalam hati mengakibatkan terjadinya penumpukan asam lemak dalam sel hati. Asam lemak jenuh yang disimpan di hati dalam jumlah besar dapat menimbulkan perlemakan hati. Asam lemak tak jenuh dalam jumlah banyak pada membran mikrosomal sel hati meningkatkan kepekaan membran terhadap aktivitas radikal bebas yang bersifat autokatalitik. Aktivitas radikal bebas ini menghasilkan lipid peroksida yang menyebabkan kerusakan REK sehingga polisom akan terlepas (Wu *and* Cederbaum, 2003 dan Ong & Goh, 2002). Sintesis protein terganggu, lemak yang ada dalam hati tidak bisa berikatan dengan protein membentuk lipoprotein untuk diangkut keluar hati. Akumulasi lemak dalam hati berlangsung terus menerus sehingga terjadi degenerasi lemak (Mulyani, 1997).

Kerusakan sel hati paling berat dapat diamati pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai. Tanda-tanda sel yang mengalami nekrosis dapat ditemukan pada kelompok ini antara lain karioreksis, piknosis inti, dan kariolisis. Mekanisme terjadinya kerusakan sel hati pada dasarnya sama dengan mekanisme kerusakan sel hati akibat diet minyak, yaitu disebabkan oleh adanya radikal bebas. Perbedaannya adalah sumber radikal bebas yang memacu kerusakan sel hati; kerusakan sel hati akibat pemberian minyak terjadi akibat radikal bebas yang berasal dari metabolisme tubuh normal, sedangkan kerusakan sel hati akibat pemberian minyak goreng bekas pakai terjadi akibat radikal bebas yang berasal dari proses penggorengan yang jika bergabung dengan radikal bebas hasil metabolisme tubuh jumlahnya jauh lebih besar sehingga kerusakan sel hati yang ditimbulkan lebih berat. Penelitian serupa menggunakan tikus putih dalam dua kelompok. Kelompok pertama diberi diet ransum tinggi asam lemak jenuh dan kelompok lainnya diberi ransum tinggi asam lemak tak jenuh selama 2 bulan. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa diet lemak tinggi yang kaya akan asam lemak jenuh maupun asam lemak tidak jenuh dapat menyebabkan degenerasi lemak dan nekrosis fokal pada hati (Mulyani, 1997). Penelitian lain yang memberikan diet oral minyak bekas pakai pada tikus Wistar selama 12 minggu menunjukkan adanya perubahan gen dan lesi prakanker pada sel hati hewan coba (Srivastava, 2010). Kerusakan organ yang terjadi juga sebanding dengan lamanya pemanasan minyak; semakin lama minyak dipanaskan, kerusakan hati, ginjal, dan jantung pada tikus coba juga semakin parah (Farak *et al.*, 2010).

Hasil Pemeriksaan Kadar Kolesterol Serum Mencit

Nilai rata-rata kadar kolesterol serum mencit pada kelompok yang diberi aquadest adalah $101,44 \pm 8,71$ mg/dl, pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng tanpa pemanasan meningkat menjadi $104,66 \pm 7,75$ mg/dl ($p > 0,05$), dan pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai, meningkat 25 % dari kadar kolesterol serum mencit yang diberi aquades ($p < 0,05$). Rerata kadar kolesterol serum dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Nilai Rerata Kadar Kolesterol Serum Mencit

Pada kelompok mencit yang diberi aquadest, didapatkan kadar kolesterol rata-rata sebesar $101,44 \pm 8,71$ mg/dl. Nilai ini merupakan nilai kelompok kontrol negatif dan merupakan nilai normal karena meskipun kadar kolesterol dipengaruhi oleh faktor hereditas, makanan, dan lingkungan, faktor-faktor ini dikendalikan dan dibuat sama pada ketiga kelompok mencit.

Pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng tanpa pemanasan terjadi peningkatan kadar kolesterol serum dibanding kelompok kontrol dengan pemberian aquadest tetapi peningkatan tidak bermakna karena kandungan asam lemak pada minyak kelapa sawit tidak meningkatkan kadar kolesterol. Kandungan asam lemak yang ada pada minyak kelapa sawit terdiri dari 49% asam lemak jenuh (SAFA), 40% asam lemak tak jenuh rantai tunggal (MUFA) dan 10% asam lemak tak jenuh rantai ganda (PUFA) (Kamsiah *et al*, 2001 & Edem, 2002). Pencernaan lemak yang terdiri atas asam lemak tak jenuh yang tinggi dapat menekan konsentrasi kolesterol darah (Guyton *and* Hall, 2006). Penelitian pada 40 wanita Brazil yang mengalami obesitas menyimpulkan bahwa konsumsi minyak kelapa tidak meningkatkan profil lipid (Assuncao, 2009).

Kadar kolesterol serum pada kelompok mencit yang diberi minyak goreng bekas 27 kali pakai meningkat sebesar 25% dari kadar kolesterol serum kelompok mencit yang diberi aquadest. Peningkatan kadar kolesterol ini terjadi karena jumlah asam lemak jenuh yang dihasilkan dari proses hidrolisis saat pemanasan minyak meningkat secara berlebihan. Diet asam lemak yang sangat jenuh dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol darah 15-25% (Guyton *and* Hall, 2006) Keadaan ini disebabkan oleh peningkatan timbunan asam lemak dalam hati yang

kemudian menyebabkan peningkatan secara berlebihan asetil-KoA. Asetil-KoA merupakan bahan dasar pembentuk kolesterol. Hal ini didukung oleh penelitian dengan memberikan minyak kelapa sawit yang dipanaskan berulang terhadap tikus jantan selama 20 minggu yang menyimpulkan bahwa semakin sering minyak kelapa sawit dipanaskan, semakin tinggi kadar kolesterol LDL serum (Kamsiah et al, 2001).

Peningkatan kadar kolesterol darah selain disebabkan oleh kandungan asam lemak jenuh dalam minyak juga disebabkan oleh kerusakan yang terjadi pada sel hati. Kerusakan sel hati mempunyai pengaruh terhadap kadar kolesterol serum karena hati merupakan organ tubuh utama yang melaksanakan fungsi sintesis dan ekskresi kolesterol.

Peningkatan kadar kolesterol serum terjadi karena gangguan mekanisme ekskresi kolesterol yang berlebihan oleh hati ke dalam empedu sebagai kolesterol atau garam empedu. Asam empedu primer disintesis di hati dari kolesterol, diekskresikan ke dalam empedu, disimpan, dan dikeluarkan ke usus sewaktu makan. Asam empedu yang diekskresikan ke dalam usus sebagian kembali ke hati melalui siklus enterohepatik, kurang lebih 400 mg per hari yang dikeluarkan bersama feses (Murray, 2009). Meskipun jumlah ini kecil, ini adalah cara utama pengeluaran kolesterol oleh tubuh. Bila sel-sel hati rusak dan peredaran enterohepatik terputus, maka akan terjadi kenaikan asam empedu dalam darah demikian juga kadar kolesterol juga meningkat dalam darah. Kerusakan sel hati maupun pengaruh asam lemak jenuh dari makanan mengakibatkan peningkatan kadar kolesterol serum pada kelompok mencit yang diberikan minyak goreng bekas 27 kali pakai. Penelitian serupa dengan menggunakan tikus galur Wistar yang diberi diet makarel yang digoreng dengan menggunakan minyak kelapa bekas pakai selama 12 hari. Kesimpulan dari penelitian ini menyebutkan bahwa pemberian minyak kelapa bekas pakai sebanyak 10% dari makanan menyebabkan kerusakan sel-sel hati dan meningkatkan kadar lemak total dan kolesterol serum (Ammu *et al*, 2000).

Gangguan kesehatan lain yang diakibatkan karena penggunaan minyak goreng yang berulang kali dipanaskan yaitu meningkatkan tekanan darah, penyebab terbentuknya plak aterosklerosis, toksik terhadap organ reproduksi dan organ lain seperti ginjal, paru, serta jantung (Ebong *et al*, 1999).

SIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian minyak goreng bekas 27 kali pakai selama 14 hari masa percobaan mengakibatkan kerusakan sel hati mencit dan meningkatkan kadar kolesterol serum mencit. Pada waktu yang akan datang diharapkan dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan gangguan kesehatan lain akibat penggunaan minyak goreng bekas pakai.

DAFTAR RUJUKAN

- Ammu, K. *et al.* 2000. Repeated Use of Oil for Frying Fish: Effects of Feeding the Fried Fish to Rats. *Molecular Nutrition and Food Research* Volume 44, Issue 5, pages 368–372.
- Assuncao, et al., 2009. Lipid: Effect of Dietary Coconut Oil on the Biochemical and Antopometry Profil of Women Presenting Abdominal Obesity. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19437058>.
- Ebong, P. E., Owu, D.U., and Isong E.U. 1999. Influence of palm oil (*Elaeis guineensis*) on Health. *Plant Foods for Human Nutrition* Volume 53, Number 3, 209-222.
- Edem, D.O. 2002. Palm oil: Biochemical, Physiological, Nutritional, Hematological, and Toxicological Aspects: a Review. *Plant Foods Hum Nutr* Vol 57(3-4):319-41.
- Farag, R. S. *et al.* 2010. Effect of non-fried and fried oils of varied fatty acid composition on rat. *Organs. Agric. Biol. J. N. Am.*, 2010, 1(4): 501-509.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Terjemahan oleh Setiawan, I. Jakarta: EGC.
- Kamsiah, J., Aziz, S.N., Siew, S.T. *et al.* 2001. "Change in Serum Lipid Profile and Malondialdehyd Flowing Consumpt of Fresh or Heated Red Palm Oil". <http://www.med.journal-ias.org/14-2/kamsiah.pdf>.
- Mulyani, G.T. 1997. *Efek Diet Lemak Jenuh dan Lemak Tak Jenuh terhadap Pembentukan Lipid Peroksida dalam Darah Tikus Percobaan*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. 2009. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Terjemahan oleh Andry H. Jakarta: EGC.
- Nadirawati & Muthmainnah, N.N. 2010. Pengetahuan Ibu Rumah Tangga tentang Kolesterol dan Penggunaan Minyak jelantah di Desa Neglasari Kecamatan Bojong Picung Cianjur. *Jurnal Keperawatan Soedirman* volume 5, no.2, Juli 2010.
- Ong, A. S. H. & Goh, S. H. 2002. Palm oil: A healthful and cost-effective dietary component. *Food and Nutrition Bulletin*, vol. 23.
- Rustika. 2005. *Telaah Profil Lipid*. www.majalah-farmacia.com/forum.php?mid=22.
- Srivastava S., *et al.* 2010. Genotoxic and carcinogenic risks associated with the dietary consumption of repeatedly heated coconut oil. *Br J Nutr*. Nov;104(9):1343-52.
- Sunityoso, S., Kusmana, D., Luthfirda dkk. 1998. "Perubahan Struktur Histologik Organ Hati Mencit (*Mus Musculus L.*) yang Dicekok Minyak Kelapa Bekas Gorengan". *Majalah Kedokteran Indonesia*. Volume: 48(3): 114-29.
- Wu, D., Cederbaum, A.I. 2003. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. <http://www.pubs.niaaa.nih.gov/arh27-4/277-284.htm>. [Oktober 2004].