

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

Oleh

WULAN NOVENTI



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2017

ABSTRACT

THE EFFECT OF ORAL REUSED COOKING OIL TO KIDNEY HISTHOPATHOLOGY IN MALE RATS (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* STRAIN

by

WULAN NOVENTI

Background: Reused cooking oil is cooking oil that has been heated repeatedly. Heating oil will lead to the formation of free radicals. Free radicals can cause oxidative stress reaction in various cells in the body. Kidney is one organ that is prone to oxidative stress caused by free radicals.

Objective: To determine whether the waste cooking oil can affect kidney histopathology of rat (*Rattus norvegicus*) male Sprague Dawley.

Method: The study used 30 rats Sprague Dawley were divided into 5 groups: control (K) mice that were not given the treatment, in treatment 1 (P1), treatment 2 (P2), treatment 3 (P3) and treatment 4 (P4) each given cooking oil 1x, 4x, 8x and 12x heated with a dose of 1.5 ml / day orally within 28 days. Overview damage to the kidney consists of inflammatory cell infiltration, edema tubules, bowman spatium edema, and necrosis. Data were analyzed using statistical test of Kruskal-Wallis followed by Mann-Whitney.

Result: Based on the statistical test results obtained are significant differences, but P1 with P2 ($p = 0.228$) not gained significant difference.

Conclusion: Reused cooking oil can cause kidney histopathology damage in rats.

Keywords: Reused cooking oil, free radicals, kidney histopathology, oxidative stress

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*

Oleh

WULAN NOVENTI

Latar belakang: Minyak jelantah adalah minyak goreng yang telah dipanaskan berulang kali. Pemanasan minyak goreng akan menyebabkan pembentukan senyawa radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya reaksi stres oksidatif pada berbagai sel dalam tubuh. Ginjal merupakan salah satu organ yang mudah mengalami stres oksidatif akibat radikal bebas.

Tujuan: Untuk mengetahui apakah minyak jelantah dapat mempengaruhi gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Metode: Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu kontrol (K) tikus yang tidak diberikan perlakuan, pada perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3) dan perlakuan 4 (P4) masing-masing diberikan minyak jelantah 1x, 4x, 8x dan 12x penggorengan dengan dosis 1,5 ml/hari secara oral dalam waktu 28 hari. Gambaran kerusakan pada ginjal terdiri dari infiltrasi sel radang, edema tubulus, edema *spatium* bowman, dan nekrosis. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik *Kruskal–Wallis* yang dilanjutkan dengan Uji Statistik *Mann–Whitney*.

Hasil: Berdasarkan uji statistik diperoleh hasil terdapat perbedaan bermakna, kecuali antara P1 dengan P2 ($p=0,228$) tidak didapatkan perbedaan bermakna.

Kesimpulan: Minyak jelantah dapat menyebabkan kerusakan gambaran histopatologi pada ginjal tikus.

Kata kunci : ginjal, minyak jelantah, radikal bebas, stres oksidatif

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

Oleh

WULAN NOVENTI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar

SARJANA KEDOKTERAN

pada

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS LAMPUNG

2017

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN MINYAK
JELANTAH TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR
Sprague dawley**

Nama Mahasiswa : **Wulan Noventi**

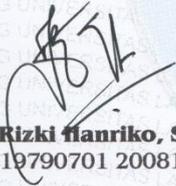
Nomor Pokok Mahasiswa : 1318011178

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

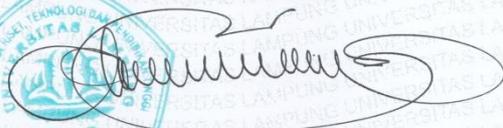
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


dr. Rizki Hanriko, Sp.PA.
NIP 19790701 200812 1 003


dr. Mukhlis Imanto, M.Kes., Sp.THT-KL
NIP 19780227 200312 1 001

2. Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.
NIP 19701208 200112 1 001

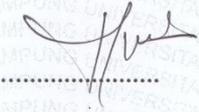
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

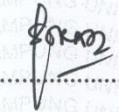
Ketua : dr. Rizki Hanriko, Sp.PA.



Sekretaris : dr. Mukhlis Imanto, M.Kes., Sp.THT-KL



**Penguji
Bukan Pembimbing : Soraya Rahmanisa, S.Si., M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.
NIP.19701208 200112 1 001**

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Januari 2017

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

1. Skripsi dengan judul “PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, Desember 2016

Pembuat Pernyataan


6000
ENAM RIBU RUPIAH

Wulan Noventi

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Way Jepara pada tanggal 19 November 1994, merupakan anak kedua dari empat bersaudara, dari Ayahanda Jasmuin dan Ibunda Suminten Rosmiati.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK IT Baitul Muslim tahun 2001, Sekolah Dasar (SD) Negeri 2 Labtu pada tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Way Jepara pada tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2013.

Tahun 2013, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif pada organisasi FSI Fakultas Kedokteran dan Lunar pada tahun 2013-2016.

Sebuah persembahan untuk Bapak dan Ibu

**Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman
di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan
beberapa derajat (Q.s. al-Mujadalah : 11)**

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad S.A.W.

Skripsi Ini Berjudul “Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague Dawley*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
- Dr. dr. Muhartono, M.Kes., Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
- dr. Rizki Hanriko, Sp.PA selaku Pembimbing Utama yang bersedia meluangkan waktu dan kesediaannya untuk memberikan bimbingan, kritik, saran serta nasihat yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini serta memberikan banyak ilmu selama lebih dari setahun terakhir ini;
- dr. Muklis Imanto, M.Kes., Sp.THT-KL selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia untuk meluangkan waktu, memberikan bimbingan, kritik, saran;

- Ibu Soraya Rahmanisa, S.Si, M.Sc selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan masukan, kritik, saran dan nasihat bermanfaat dalam penyelesaian skripsi ini;
- dr. Aggraini Janar Wulan, M.Sc selaku Pembimbing Akademik atas waktu dan bimbingannya;
- Ayahanda dan Ibunda tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, nasehat, motivasi, dan selalu mendoakan anak-anaknya. Semoga Allah SWT selalu melindungi dalam setiap langkah;
- Kakak saya, drg. Rian Hermawan, yang selalu menjadi panutan dan selalu memberikan saran dalam banyak hal termasuk pemilihan judul skripsi ini. Serta Adik-adik saya, Anatasya Ayu Puspita dan Zidan Septian yang selalu memberikan doa dan semangat;
- Seluruh Staf Dosen FK Unila atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita;
- Seluruh Staf TU, Administrasi dan Akademik FK Unila, serta pegawai membantu yang turut dalam proses penelitian skripsi ini;
- Mas Bayu Putra, Bu Nuriyah, Mbak Romi yang sudah banyak membantu dan nasehat-nasehat yang diberikan;
- Staf, karyawan dan dokter hewan di Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Lampung atas bantuannya

dalam pembuatan preparat serta ilmu yang telah diberikan;

Tim penelitian saya (Nidya Tiaz Putri, Trinovita, M Agung Yudistira, Marco Manza, Dara Marissa) atas kerjasamanya dalam melakukan penelitian ini;

- Sahabat-sahabat saya Anti-Wacana (Farras Cahya Puspita, Hesti Ariyanti, Nidya Tiaz Putri, Siti Masruroh) yang saling membantu dan memberikan semangat atas kegiatan selama perkuliahan ini;
- Keluarga Arbenta 2013 yang saling membantu, mendukung dan mendoakan selama hampir empat tahun ini;
- Rekan kerja seperjuangan Asdos PA, Nidya Tiaz Putri, Meti Destriani, Annisa Mardiyah, Dani Kartika, Irfan Silaban, Serafina Subagio dan Made Agung Yudistira atas kerjasamanya selama ini;
- Sahabat-sahabat saya tercinta, Nindya Lukita Kusdiana Putri, Elvin Yufira, Prizka Putri Pahlawan, Olvi Palwa Putri yang selalu memberikan dukungan dan doa;
- Teman-teman sejawat angkatan 2013 yang tidak bisa disebutkan satu persatu;
- Kakak-kakak dan adik-adik tingkat (Angkatan 2002-2016) yang sudah memberikan semangat kebersamaan dalam satu kedokteran.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua. Aamiin

Bandar Lampung, Desember 2016

Penulis

Wulan Noventi

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
ABSTRACT	ii
ABSTRAK	iii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN.....	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
PERSEMBAHAN.....	ix
SANWACANA.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Minyak Goreng.....	7
2.1.1 Gambaran umum.....	7
2.1.2 Minyak Jelantah.....	9

2.2 Radikal Bebas	12
2.3 Ginjal.....	15
2.3.1 Anatomi Ginjal.....	15
2.3.2 Histologi Ginjal	16
2.3.3 Fisiologi Ginjal	21
2.3.4 Ginjal Tikus	22
2.4 Proses Kerusakan Ginjal Akibat Minyak Jelantah	23
2.5 Kerangka Teori.....	25
2.6 Kerangka Konsep	27
2.7 Hipotesis	27

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.3 Populasi dan Sampel	29
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel	33
3.6 Prosedur Penelitian	35
3.7 Analisis Data.....	45
3.8 <i>Ethical Clearence</i>	45

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian	47
4.2 Pembahasan	58

BAB V KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	66

DAFTAR PUSTAKA	67
----------------------	----

LAMPIRAN	72
----------------	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1 . Anatomi ginjal secara umum	15
Gambar 2. Nefron ginjal.....	16
Gambar 3. Glomerulus	17
Gambar 4. Tubulus ginjal	19
Gambar 5. Kerangka Teori	26
Gambar 6. Kerangka Konsep	27
Gambar 7. Diagram Alur Penelitian	44
Gambar 8. Gambar histopatologi ginjal kelompok kontrol	47
Gambar 9. Gambar histopatologi ginjal kelompok P1.....	48
Gambar 10. Gambar histopatologi ginjal kelompok P2.....	49
Gambar 11. Gambar histopatologi ginjal kelompok P3.....	50
Gambar 12. Gambar histopatologi ginjal kelompok P4.....	51
Gambar 13. Grafik perbandingan rerata skor kerusakan ginjal.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1 Standar Mutu Minyak Goreng.....	9
Tabel 2 Devinisi Operasional	34
Tabel 3 Skor Kerusakan Ginjal	52
Tabel 4. Total dan Rerata Skor Kerusakan Ginjal.....	53
Tabel 5. Hasil analisis uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	55
Tabel 6. Hasil analisis uji <i>Mann Whitney</i>	56

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak goreng adalah minyak nabati yang telah dimurnikan dan dapat digunakan sebagai bahan pangan. Minyak goreng yang telah digunakan berulang kali disebut minyak jelantah. Beberapa penyakit seperti PJK (penyakit jantung koroner), rasa gatal pada tenggorokan, dislipidemia, obesitas, atherosclerosis, disebabkan oleh penggunaan minyak goreng bekas (Widayat, 2007).

Stres oksidatif memperantarai kerusakan ginjal, mulai dari gagal ginjal akut, nefropati obstruksi, hiperlipidemia dan kerusakan glomerulus, sampai gagal ginjal kronis. Glomerulus lebih sensitif terhadap stres oksidatif dibandingkan dengan bagian nefron lainnya. Stres oksidatif merubah struktur dan fungsi dari glomerulus karena pengaruh radikal bebas terhadap sel-sel mesangial dan endotel (Dafriani, 2012). Sel epitel tubulus ginjal terutama TKP, sangat peka terhadap suatu iskemia. Salah satu gangguan pada ginjal akibat produksi radikal bebas yang berlebih salah satunya adalah *Acute Tubular Necrosis* (ANT) secara patologis ditandai dengan kerusakan dan kematian sel tubulus ginjal akibat iskemia atau nefrotoksik (Rinawati & Aulia, 2011).

Minyak goreng merupakan salah satu kebutuhan penting yang diperlukan oleh masyarakat Indonesia. Penduduk Indonesia mengkonsumsi minyak goreng perkapita sebesar 8,24 liter/kapita/tahun pada tahun 2011 dan meningkat menjadi sebesar 9,33 liter/kapita/tahun pada tahun 2012 (kemendeg, 2013). Kebutuhan minyak goreng dalam negeri meningkat setiap tahunnya. Minyak Goreng juga menyumbang 1,3% dari angka inflasi nasional. (Kementrian Perindustrian, 2013). Minyak goreng dapat memberikan rasa gurih, tekstur dan penampakan bahan pangan menjadi lebih menarik sehingga minyak merupakan medium penggoreng bahan pangan yang banyak dikonsumsi masyarakat luas (Fauziah *et al.*, 2013). Masih cukup tingginya harga minyak goreng bagi sebagian masyarakat serta kurangnya pengetahuan membuat masyarakat sering kali menggunakan minyak goreng yang telah dipakai hingga berulang kali. Kebiasaan tersebut juga dikarenakan adanya pendapat bahwa makanan yang dicampur dengan jelantah lebih sedap (Amalia, 2010).

Minyak yang digunakan untuk proses penggorengan akan mengalami 4 perubahan besar yang terjadi, yaitu perubahan warna, oksidasi, polimerisasi dan hidrolisis. Pembentukan flavor yang menyimpang juga sering terjadi pada minyak yang telah digunakan selama proses penggorengan. Kondisi ini menyebabkan terjadinya dekomposisi komponen penyusun minyak. Hasil dekomposisi tersebut mempunyai pengaruh negatif terhadap kualitas minyak maupun rasa dan nilai gizi hasil gorengannya (Rukmini, 2007). Proses pemanasan juga akan menyebabkan lepasnya asam lemak dari trigliserida sehingga asam lemak bebas mudah sekali teroksidasi menjadi aldehid, keton,

asam-asam dan alkohol yang menyebabkan bau tengik (Mualifah, 2009). Pemanasan minyak goreng yang berulang kali (lebih dari 2 kali) pada suhu tinggi ($>160^{\circ}\text{C}$) menyebabkan kerusakan minyak. Ironisnya, masyarakat Indonesia saat ini cenderung menitikberatkan nilai ekonomis daripada nilai kesehatan yang saat ini lebih cenderung diabaikan (Widayat, 2007).

Minyak penggorengan pertama memiliki kandungan lemak tak jenuh yang tinggi, sehingga memiliki nilai tambah. Sementara pada penggorengan selanjutnya minyak tersebut akan memiliki kandungan asam lemak jenuh yang semakin tinggi, sehingga pada akhirnya akan rusak. Asam lemak jenuh berpotensi meningkatkan kolestrol darah, sedangkan asam lemak tak jenuh dapat menurunkan kolestrol darah (Khomsan, 2010). Proses oksidasi dalam pemanasan minyak goreng akan menyebabkan pembentukan senyawa peroksida dan hidroperoksida yang merupakan radikal bebas. Penggunaan minyak goreng berulang dapat menyebabkan deposisi sel lemak diberbagai organ tubuh. Hal ini akan menyebabkan kerusakan pada berbagai organ tubuh salah satunya ginjal (Susianti, 2014).

Penelitian Aisyah (2010) membuktikan bahwa pemberian minyak jelantah terhadap tikus meningkatkan kadar kolesterol darah lebih tinggi daripada minyak baru dan minyak hasil pemurnian. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Siswanto (2015) mengenai bilangan peroksida minyak goreng disimpulkan bahwa terdapat pengaruh frekuensi penggorengan terhadap bilangan peroksida pada minyak goreng curah maupun minyak goreng

forifikasi vitamin A. Rata-rata bilangan peroksida terendah terdapat pada penggorengan ke nol dan terus meningkat hingga penggorengan keempat. Penelitian yang dilakukan oleh Shasty *et al.* (2011) selama 8 minggu menunjukkan hasil tikus yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah digunakan berulang mengalami peningkatan berat badan yang signifikan, peningkatan parameter biokimiawi (SGOT, SGPT dan ALT), serta secara histopatologi menunjukkan perubahan ukuran sel hati, jantung, ginjal dan testis. Namun penelitian minyak jelantah dengan frekuensi penggorengan yang berbeda-beda dan pengaruhnya terhadap organ ginjal belum pernah dilakukan khususnya di Universitas Lampung.

Dengan melihat banyaknya masalah kesehatan akibat penggunaan minyak jelantah, maka peneliti tertarik untuk meneliti secara langsung perubahan histopatologi pada ginjal tikus jantan galur *Sprague dawley* akibat mengkonsumsi minyak jelantah.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah per-oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*?
- 1.2.2 Apakah frekuensi penggorengan minyak jelantah berpengaruh terhadap derajat kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak jelantah per-oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
- 1.3.2 Untuk mengetahui pengaruh frekuensi penggorengan minyak jelantah terhadap derajat kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.4 Manfaat

- 1.4.1 Bagi Peneliti
Penelitian ini sebagai wujud pengaplikasian disiplin ilmu yang telah dipelajari sehingga dapat mengembangkan wawasan keilmuan peneliti
- 1.4.2 Bagi Masyarakat
Memberikan gambaran kepada masyarakat mengenai bahaya dan efek buruk dari penggunaan minyak jelantah.
- 1.4.3 Bagi peneliti lain
Memberikan gambaran dan referensi dalam melakukan penelitian terkait pengaruh konsumsi minyak jelantah terhadap ginjal yang akan dilakukan selanjutnya.

1.4.4 Bagi Ilmu kedokteran

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan bagi institusi pendidikan, guna menambah dan memperkaya pengetahuan mengenai bahaya mengkonsumsi minyak jelantah terhadap ginjal.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Goreng

2.1.1 Gambaran Umum

Minyak digolongkan dalam kelompok lipida. Salah satu sifat yang khas dan mencirikan golongan lipida adalah daya larutnya dalam pelarut organik (misalnya ether, benzene, khloroform) atau sebaliknya ketidak-larutannya dalam pelarut air. Minyak goreng biasa dipergunakan untuk menggoreng makanan karena memiliki titik didih yang tinggi (sekitar 200⁰ C) sehingga bahan yang digoreng akan menjadi kering akibat kehilangan sebagian besar air yang dikandungnya (Ramdja *et al.*, 2010).

Produksi minyak goreng kelapa sawit digolongkan menjadi dua jenis, yaitu minyak goreng curah dan minyak goreng kemasan. Minyak goreng yang dijual ke pasar tanpa merek dan label produk disebut minyak goreng curah. Sementara itu, Minyak goreng kemasan (bermerek) merupakan minyak goreng yang dengan menggunakan kemasan khusus dan mempunyai merek

perusahaan produsen serta label produk (Siswanto & Mulasari, 2015).

Minyak kelapa sawit mengandung beberapa jenis senyawa karoten, yaitu β -karoten, tokoferol, dan α -tokoferol. β -karoten adalah provitamin A yang larut dalam lemak. Karena terdapat dalam bentuk transisomer, karoten tersebut lebih mudah dikonversikan menjadi vitamin A. Namun proses penggorengan pada suhu tinggi akan menyebabkan degradasi β -karoten dan provitamin A yang terkandung dalam minyak kelapa sawit tersebut akan hilang. Pada dasarnya kualitas minyak goreng akan menurun akibat proses penggorengan berulang dan suhu yang tinggi (Budiyanto *et al.*, 2010). Berikut adalah standar mutu minyak goreng menurut SNI 3741-2013 (Muslimah, 2014).

Tabel 1. Standar Mutu Minyak Goreng

Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
Keadaan		
-Bau	-	Normal
-Warna	-	Normal
Kadar air dan bahan menguap	% (b/b)	Maksimal 0,15
Bilangan asam	Mg KOH/g	Maksimal 0,15
Bilangan peroksida	Mek O ₂ /kg	Maksimal 10
Minyak pelican	-	Negatif
Asam linoleat (C18:3) dalam komposisi asam lemak minyak	%	Maksimal 2
Cemaran logam		
- Kadnium (Cd)	Mg/kg	Maksimal 0,2
- Timbal (Pb)	Mg/kg	Maksimal 0,1
- Timah (Sn)	Mg/kg	Maksimal 40,0/250,0*
- Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maksimal 0,05
Cemara arsen (As)	Mg/kg	Maksimal 0,1

Catatan : *dalam kaleng kemasan

2.1.2 Minyak jelantah

Minyak jelantah adalah minyak yang telah mengalami pemanasan atau penggorengan berulang kali. Proses menggoreng digolongkan menjadi 2 (dua) cara, yaitu *pan frying* dan *deep frying*. *Pan frying* merupakan proses menggoreng dengan minyak yang minimal. Sebaliknya, menggoreng cara *deep frying* membutuhkan minyak dalam jumlah banyak sehingga bahan makanan dapat terendam seluruhnya di dalam minyak. Tingginya kandungan asam lemak tak jenuh menyebabkan minyak mudah rusak oleh proses penggorengan (*deep frying*), karena selama proses menggoreng minyak akan

dipanaskan secara terus menerus pada suhu tinggi serta terjadinya kontak dengan oksigen dari udara luar yang memudahkan terjadinya reaksi oksidasi pada minyak (Ayu & Sartika, 2009).

Selama proses penggorengan minyak dapat mengalami reaksi oksidasi, polimerisasi dan hidrolisis (Haryani, 2008) :

a. Reaksi Oksidasi

Perubahan warna minyak goreng disebabkan karena reaksi-reaksi yang terjadi selama penggorengan. Oksidasi minyak terjadi karena beberapa faktor, seperti paparan oksigen, cahaya, dan suhu tinggi. Oksidasi minyak terdiri atas tiga tahap yaitu, inisiasi, propagasi dan terminasi. Oksidasi biasanya dimulai dengan pembentukan peroksida dan hiperoksida. Selanjutnya terjadi penguraian asam-asam lemak disertai dengan konversi hiperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas. Karbonil volatil, asam-asam hidroksi, asam-asam keto dan asam-asam epoksi yang juga merupakan hasil oksidasi akan memunculkan aroma yang tidak diharapkan dan warna minyak menjadi gelap (Aminah, 2010).

b. Reaksi hidrolisis

Dalam reaksi hidrolisis minyak atau lemak akan diubah menjadi asam lemak dan gliserol. Reaksi hidrolisa yang dapat mengakibatkan kerusakan minyak atau lemak terjadi karena terdapatnya sejumlah air dalam minyak atau lemak sehingga menghasilkan flavor dan bau tengik (Budiyanto *et al.*, 2010). Kerusakan minyak juga bisa terjadi selama penyimpanan. Kesalahan penyimpanan dalam jangka waktu tertentu mengakibatkan pecahnya ikatan trigliserida pada minyak dan selanjutnya membentuk gliserol dan asam lemak bebas (Fauziah, *et al.*, 2013).

c. Reaksi Polimerisasi

Pembentukan senyawa polimer selama proses menggoreng terjadi karena reaksi polimerisasi adisi dari asam lemak tidak jenuh. Hal ini terbukti dengan terbentuknya bahan menyerupai gum yang mengendap di dasar tempat penggorengan (Haryani, 2008).

Ditinjau secara kimiawi, minyak jelantah mengandung senyawa karsinogenik yaitu asam lemak bebas, bilangan peroksida, bilangan iod, bilangan penyabunan dan kadar air yang nilainya melebihi SNI. Kadar asam lemak bebas dalam minyak jelantah akan semakin tinggi seiring dengan lamanya waktu

penggorengan begitu juga pada bilangan peroksida atau radikal bebas (Mochtadi, 2009).

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah spesies kimiawi dengan satu elektron tak berpasangan di orbital terluar (Kumar *et al.*, 2013). Pada dasarnya elektron yang tidak berpasangan akan berusaha kuat untuk dapat berpasangan dengan elektron lain guna memperoleh stabilitas, baik dengan proses reduksi maupun oksidasi. Reduksi adalah proses menerima elektron dari sumber lain. Sebaliknya, oksidasi adalah menghibahkan elektron yang tak berpasangan tersebut ke sumber lain. Oleh karena itu, radikal bebas sangat tidak stabil dan bereaksi cepat dengan senyawa lain (Mallick *et al.*, 2010).

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*) (Arief, 2012). ROS dapat berasal dari dalam maupun luar tubuh. ROS yang berasal dari dalam tubuh, misalnya akibat proses respirasi sel, proses metabolisme aerob (autooksidasi), oksidasi enzim, dan proses inflamasi, sedangkan yang berasal dari luar tubuh dapat disebabkan karena polutan, seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, radiasi sinar matahari, makanan berlemak, kopi, alkohol, obat, minyak goreng jelantah, bahan racun pestisida, dan lain

sebagainya. Selain itu, ROS juga dapat dipicu oleh stres atau olahraga yang berlebihan (Pham-Huy & He, 2008)

ROS secara konstan diproduksi dan dieliminasi di dalam tubuh, selama sel masih memiliki pertahanan endogen melawan zat tersebut. Kadar ROS yang rendah diduga berperan dalam homeostatis tetapi apabila kadar ROS berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif sehingga muncul berbagai kelainan patologis (Albake *et al.*, 2016). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan dalam tubuh menyebabkan terjadinya stres oksidatif, yaitu peristiwa dimana radikal bebas yang berupa molekul reaktif, yang muncul melalui suatu reaksi biokimiawi dari sel normal merusak membran sel dan menyebabkan berbagai gangguan fungsi tubuh (Adji, 2008). Radikal bebas dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan DNA, karbohidrat, protein dan lipid (Hanachi *et al.*, 2009).

Menurut Kumar dan Robbins (2007), terdapat tiga reaksi yang paling relevan dengan jejas sel yang diperantarai radikal bebas, yaitu:

- a. Peroksidasi lipid membran. Ikatan ganda pada lemak tak jenuh membran mudah terkena serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal lemak menghasilkan peroksida, yang tidak stabil dan reaktif, dan terjadi reaksi autokatalitik.
- b. Fragmentasi DNA. Reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklear menimbulkan rusaknya untai tunggal.

- c. Ikatan silang protein. Radikal bebas mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik. Reaksi bebas juga bisa secara langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida.

Reaksi antara oksigen dan radikal bebas akan menyebabkan peroksidasi lemak dalam selaput organel sampai merusak retikulum endoplasma, mitokondria dan komponen mikrosom lain. Lemak yang terdapat dalam membran mempunyai ikatan rangkap antara beberapa atom karbon. Ikatan ini mudah diserang radikal bebas yang berasal dari oksigen. Interaksi antara lemak-radikal menghasilkan peroksidase yang keadaannya tidak menetap dan reaktif, dan timbul reaksi autokatalisis, mengakibatkan kerusakan parah selaput organel dan sel (Underwood dan Cross, 2009).

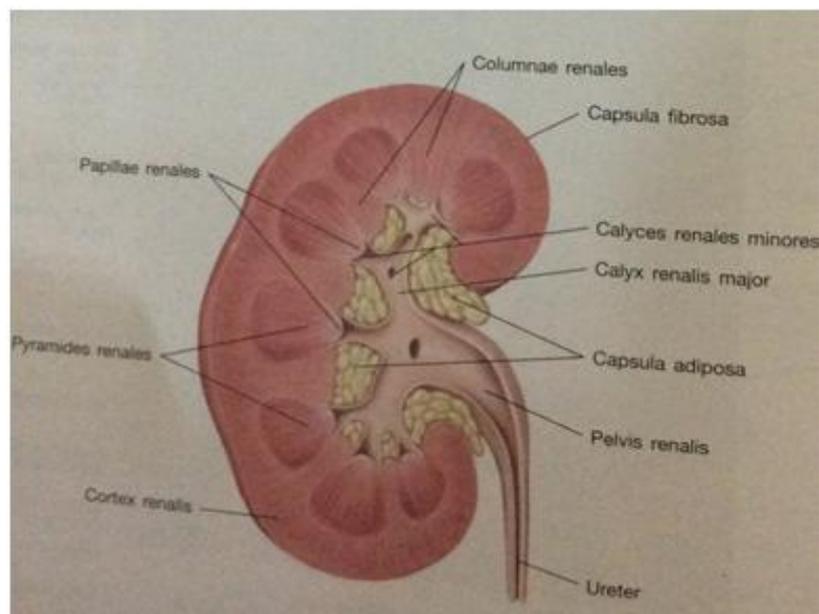
Radikal yang masuk kedalam tubuh akan mengalami tiga tahap yaitu tahap inisiasi merupakan tahapan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas, tahap propagasi merupakan tahap di mana radikal bebas cenderung bertambah banyak dengan membuat reaksi rantai dengan molekul lain dan tahap terminasi apabila terjadi reaksi antara radikal bebas dengan suatu senyawa pembasmi radikal (*scavenger*). Nilai peroksida pada minyak jelantah menyebabkan terbentuknya radikal bebas baru dan bertambahnya reaksi berantai yang dapat menyebabkan radikal bebas menjadi lebih reaktif (Aisyah *et al.*, 2015). Radikal bebas

masuk ke dalam tubuh dan dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ, salah satunya ginjal (Susianti, 2014).

2.3 Ginjal

2.3.1 Anatomi

Ginjal terletak retroperitoneal pada dinding abdomen posterior, satu pada setiap sisi columna vertebralis setinggi vertebra T12-13. Selama hidup, ginjal berwarna coklat kemerahan dan memiliki ukuran panjang sekitar 10 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2,5 cm. Ginjal diperdarahi oleh arteri dan vena renalis. Saraf simpatis postganglionik yang menuju ginjal berasal dari Ganglion corticorenalis. KGB regional ginjal adalah Nodi lymphoidei lumbales di sekitar Aorta dan IVC (Paulsen & Waschke, 2010).

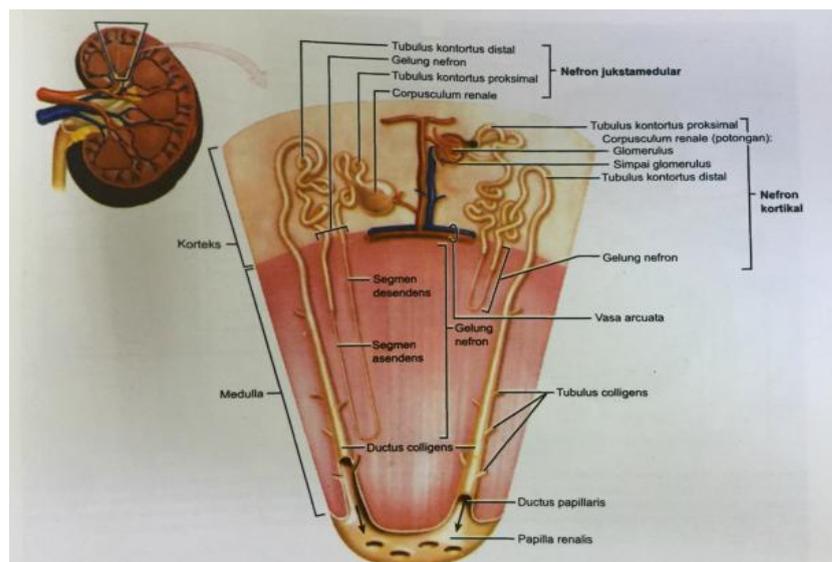


Gambar 1. Anatomi ginjal secara umum (Sumber: Tank & Gest, 2010)

2.3.2 Histologi

Ginjal bagian luar disebut korteks dan ginjal bagian dalam disebut medula. Medula ginjal pada manusia terdiri atas 8-15 piramida ginjal dan dipisahkan oleh columna renalis. Piramida ginjal disertai jaringan korteks didasarnya dan disepanjang sisinya membentuk lobus ginjal (Mescher, 2011).

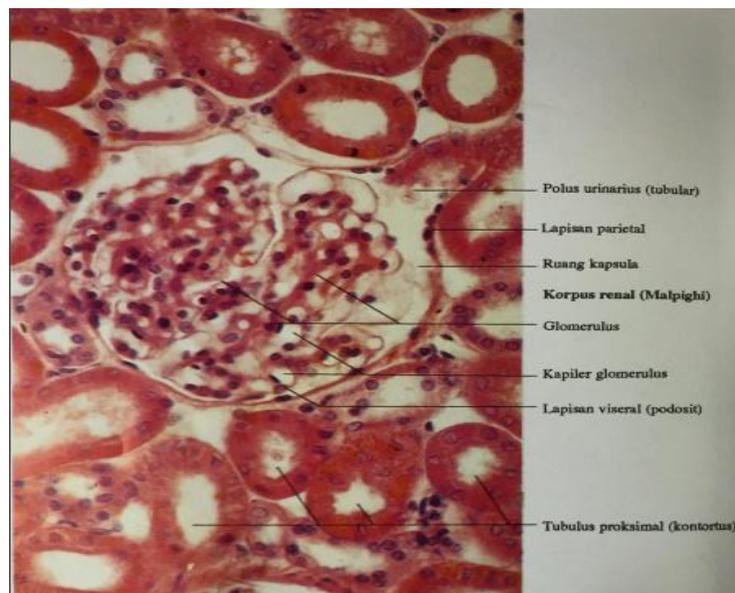
Setiap ginjal terdiri atas 1-1,4 juta nefron yang merupakan unit fungsional ginjal. Setiap nefron muncul di korteks, di corpusculum renale yang berhubungan dengan kapiler glomerulus. Dari corpusculum renale ini terjulur tubulus kontortus proksimal dan ansa henle, lalu tubulus kontortus distal dan tubulus colligens yang bergabung menjadi ductus colligens (Mescher, 2011).



Gambar 2. Nefron ginjal (Sumber: Mescher, 2011)

a. Korpuskel Ginjal

Setiap korpuskel ginjal terdiri atas glomerulus dan kapsula bowman. Glomerulus adalah seberkas kapiler yang dikelilingi oleh simpai epitel berdinding ganda disebut kapsula bowman. Kapsula bowman memiliki dua lapisan, yaitu lapisan viseral yang menyelubungi kapiler ginjal, dan lapisan parietal yang membentuk permukaan luar simpai tersebut. Diantara kedua lapis simpai bowman terdapat ruang kapsular atau perkemihan yang menampung cairan yang disaring melalui dinding kapiler dan lapisan viseral (Mescher, 2011).



Gambar 3. Glomerulus (Sumber: Geneser, 2007)

Lapisan viseral simpai terdiri atas sel epitel khusus bercabang, yaitu podosit. Setiap podosit menjulurkan banyak pedikel sehingga membungkus kapiler glomerulus. Lapisan parietal kapsul glomerulus terdiri atas epitel selapis gepeng. Namun, di

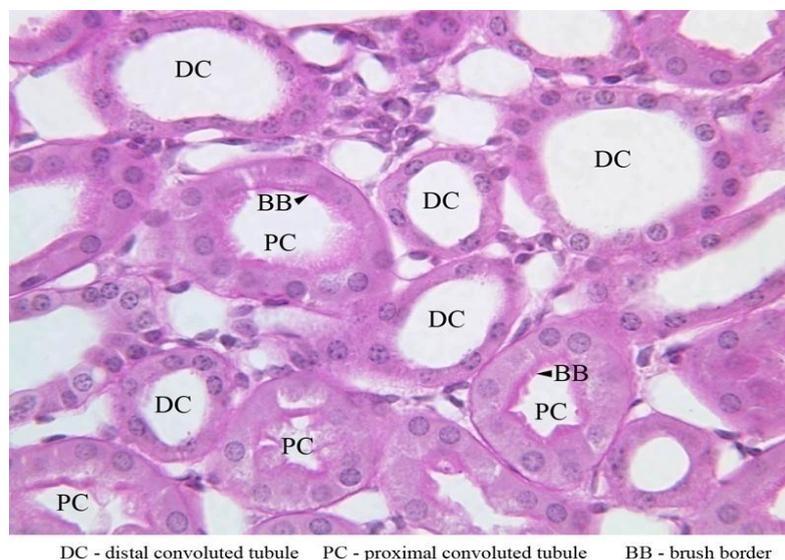
kutub tubular berubah menjadi epitel selapis kuboid yang menjadi ciri khas tubulus proksimal. Selain podosit, terdapat sel khusus lainnya yang mengelilingi kapiler glomerulus, yaitu sel mesangial. Sel ini berfungsi sebagai makrofag di daerah intraglomerular serta mengatur aliran darah glomerulus (Eroschenko, 2010).

b. Tubulus Kontortus Proksimal (TKP)

Tubulus kontortus proksimal terdapat banyak pada korteks ginjal dengan diameter sekitar 60 μm dan panjang sekitar 14 mm. TKP terdiri dari 2 (dua) pars, yakni di dekat korpuskulus ginjal terdapat pars konvoluta dan di medulla dan korteks terdapat pars rekta yang berjalan turun, lalu bergabung menjadi ansa Henle. Tubulus berlekuk ini lebih panjang dari TKD sehingga lebih sering tampak pada potongan korteks ginjal. Sel-sel TKP memiliki sitoplasma asidofilik karena terdapat banyak mitokondria. Apeks sel membentuk suatu *brush border* yang merupakan kumpulan mikrovili panjang untuk reabsorpsi (Mescher, 2011).

Pada orang sehat TKP menyerap kembali 80% air, natrium dan klorida dari ultrafiltrat. Selain itu, TKP menyerap kembali semua protein, asam-asam amino dan glukosa dari ultrafiltrat. Bahan-bahan tersebut dikembalikan ke dalam jala-jala kapiler

peritubular dari labirin kortikal untuk didistribusikan ke bagian tubuh lain. Perpindahan natrium melalui mekanisme transport aktif mempergunakan suatu pompa natrium-kalium-ATPase dalam plasmalema basal, klorida dan air juga ikut serta secara pasif. TKP juga mensekresi asam-asam organik, basa dan zat-zat lain ke ultrafiltrat (Gartner & Hiatt, 2012)



Gambar 4. Tubulus ginjal (Sumber: Eroschenko, 2010)

c. Ansa Henle (Gelung Nefron)

Ansa henle adalah kelanjutan dari TKP, bentuknya lebih lurus dan pendek yang memasuki medula membentuk struktur U dengan segmen descendens dan ascendens. Keduanya terdiri atas selapis epitel kuboid didekat korteks, tetapi berubah menjadi epitel skuamosa di dalam medula. Ansa henle memiliki diameter lebih sempit dari pada tubulus proksimal, yaitu 12 μ m (Mescher, 2012). Segmen tipis ansa henle dilapisi oleh epitel

selapis gepeng dan menyerupai kapiler. Yang membedakan adalah pada ansa henle tipis epitelnya lebih tebal dan tidak terdapat sel darah dilumennya (Eroschenko, 2010).

d. Tubulus Kontortus Distal (TKD)

Tubulus kontortus distal terdiri dari selapis sel kuboid yang berbeda dari sel kuboid TKP karena lebih kecil, tidak memiliki *brush border*, serta ditemukan lebih banyak nukleus. TKD memiliki fungsi utama untuk mereabsorpsi secara aktif ion natrium dari filtrat tubulus. Selain itu, TKD juga menyekresi H^+ dan NH^+ kedalam urin tubulus, suatu aktivitas yang penting untuk pemeliharaan keseimbangan asam-basa di darah (Eroschenko, 2010).

e. Aparatus Jukstaglomerus

Sel jukstaglomerular di arteriol glomerulus aferen dan sel makula densa di tubulus kontortus distal membentuk Aparatus Jugstaglomerular (JGA). Sitoplasma sel jukstaglomerular mengandung granula sekretorik terbungkus membran yang berisi enzim renin. Fungsi dasar JGA adalah autoregulasi laju filtrasi glomerulus (GFR) dan pengaturan tekanan darah. Sel di aparatus ini bekerja sebagai baroreseptor dan kemoreseptor (Mescher, 2012).

f. Tubulus Colligens

Tubulus colligens merupakan bagian terakhir setiap nefron yang saling bergabung membentuk ductus colligens, kemudian berjalan di tepi piramida ginjal dan bermuara ke dalam calix. Epitel yang melapisi tubulus ini adalah epitel kuboid. Tubulus colligens memiliki diameter 40 μ m, sementara diameter ductusnya mencapai 200 μ m. Di medula, ductus colligens merupakan komponen utama mekanisme pemekatan urine. Sel-sel ductus colligens banyak mengandung aquaporin yaitu protein integral yang ditemukan pada sebagian besar membran sel yang berfungsi sebagai pori selektif untuk pasase molekul air (Eroschenko, 2010).

2.3.3 Fisiologi Ginjal

Ginjal berfungsi vital sebagai pengatur komposisi kimia dan volume darah serta lingkungan dalam tubuh dengan mengekskresikan zat terlarut dan air secara selektif. Fungsi vital ginjal dicapai dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus dengan reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal. Kelebihan zat terlarut dan air di ekskresikan keluar tubuh dalam urin melalui sistem pengumpulan urin (Price & Wilson, 2006).

Menurut Sherwood (2012), fungsi ginjal antara lain:

- a. Mempertahankan keseimbangan H_2O di tubuh
- b. Mempertahankan osmolaritas cairan tubuh yang sesuai, terutama melalui regulasi keseimbangan H_2O
- c. Mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion CES
- d. Mempertahankan volume plasma yang tepat, yang penting dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri
- e. Membantu mempertahankan keseimbangan asam-basa tubuh yang tepat dengan menyesuaikan pengeluaran H^+ dan HCO_3^- di urin
- f. Mengekskresikan produk-produk sisa metabolisme
- g. Menghasilkan hormon eritropoietin untuk merangsang produksi sel darah merah
- h. Menghasilkan hormon renin untuk memicu suatu reaksi berantai yang penting dalam penghematan garam oleh ginjal
- i. Mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya.

2.3.4 Ginjal Tikus

Anatomi ginjal tikus mirip dengan ginjal manusia, terdiri dari sepasang organ yang berbentuk seperti kacang yang terletak retroperitoneal. Namun, keduanya dilapisi oleh lemak sehingga tidak melekat langsung pada dinding tubuh. Ginjal ini berada dalam posisi mendatar dorsoventral dan memiliki

luas cembung ke arah lateral. Terdapat dua lapisan ginjal yaitu korteks dan medulla (Cook, 2007).

Kerusakan pada ginjal tikus akibat pemberian minyak jelantah (minyak bekas penggorengan berulang) adalah akibat kandungan *Reactive oxygen species* (ROS) dalam minyak tersebut yang dapat merusak membran sel dan merusak komponen intrasel termasuk asam nukleat, protein, dan lipid (Panjaitan, 2007).

2.4 Proses Kerusakan Ginjal Akibat Minyak Jelantah

Minyak goreng yang dilakukan pemanasan berulang akan membentuk radikal alkoksi, peroksi, hidroksi yang merupakan radikal bebas golongan *reactive oxygen spesies* (ROS) yang dapat terserap dalam makanan (E. Choe & Min, 2015). Bila makanan yang digoreng dengan menggunakan minyak jelantah tersebut dimakan, maka dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ seperti hati, ginjal, jantung dan arteri (Susianti, 2014).

Ginjal berfungsi untuk mengeliminasi substansi asing dan sisa metabolisme sehingga meningkatkan kemungkinan terpapar oleh zat-zat yang beredar dalam aliran darah. Tubulus proksimal menjadi tempat akumulasi awal zat kimia yang disekresi secara aktif dari darah ke urin. Selain itu, jika substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka

akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Hal ini menyebabkan zat-zat toksik ini akan terakumulasi dan menyebabkan kerusakan pada ginjal (Zulfiani *et al.*, 2013). Stres oksidatif mengakibatkan kelebihan radikal bebas yang akan bereaksi dengan lemak, protein, dan asam nukleat seluler sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi ginjal. Terdapat tiga reaksi yang paling relevan dengan jejas sel yang diperantarai radikal bebas, yaitu peroksidasi lipid, fragmentasi DNA dan ikatan silang protein. Radikal bebas bersama dengan unsur lipid dapat menyebabkan reaksi peroksidasi lipid sehingga dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan kematian sel akibat nekrosis (Kumar & Robbins, 2007). Membran sel membantu pengaturan keluar masuk berbagai zat melalui proses transport pasif dan aktif, dan juga sebagai tempat melekatnya berbagai enzim. Hilangnya integritas membran sel menyebabkan penumpukan kelebihan cairan jaringan dalam sel sehingga terjadi pembengkakan sel yang merupakan fase menuju kematian sel (Latumahina, 2011).

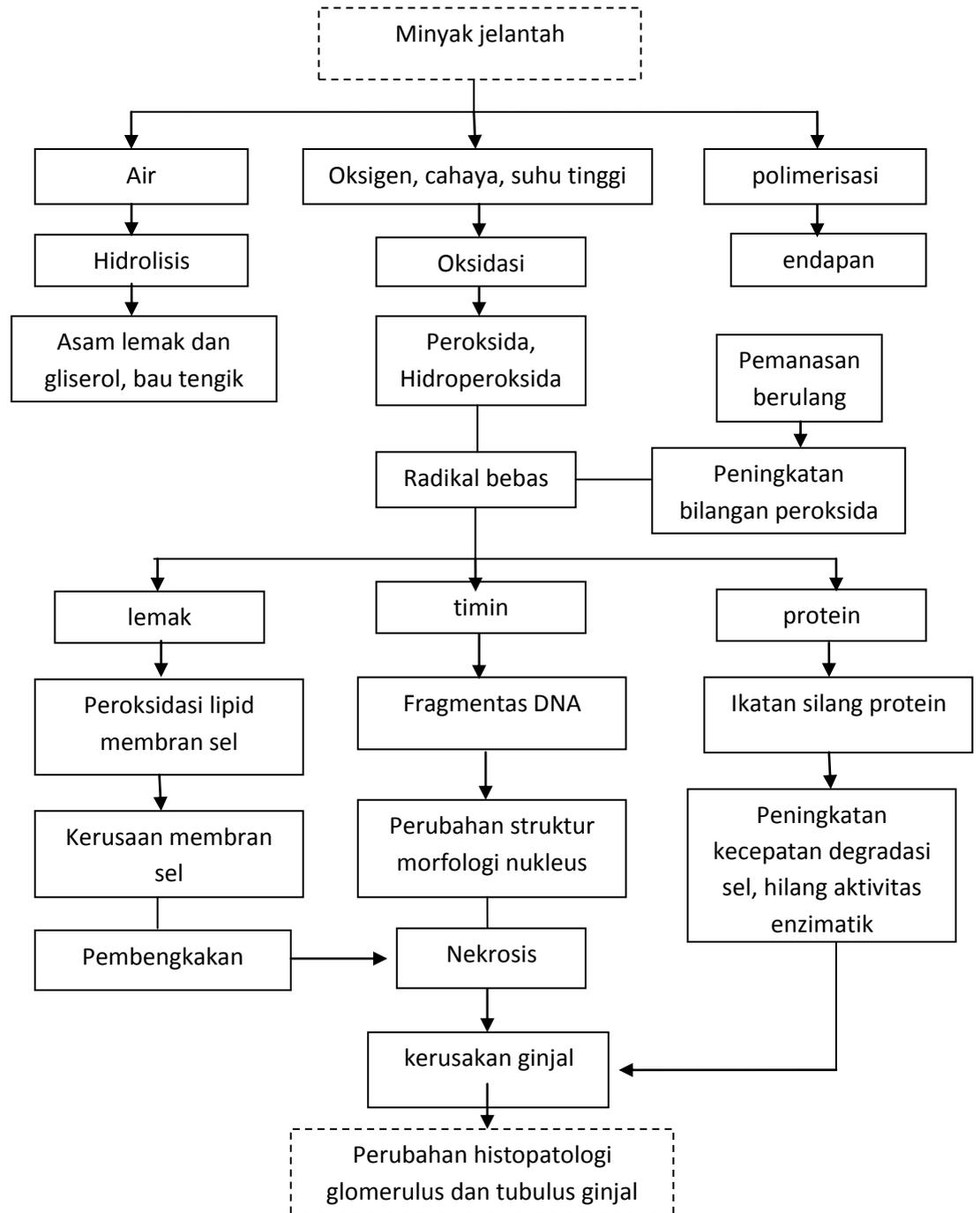
Fragmentasi DNA yang dipicu oleh enzim endonuklease menyebabkan perubahan morfologi nukleus diantaranya piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Piknosis adalah keadaan dimana ukuran inti sel mengecil, kromatin memadat, dan warna tampak lebih basofil. Karioreksis adalah terjadinya fragmentasi inti sel dan terdapat fragmen-fragmen materi kromatin yang tersebar di dalam sel. Kariolisis adalah kondisi di mana sifat basofilia kromatin inti sel memudar oleh karena aktivitas enzim

DNAase dan dalam waktu 1 – 2 hari inti sel menghilang (Kumar & Robbins, 2013).

Radikal bebas yang bereaksi dengan timin dapat menyebabkan kerusakan DNA sehingga menimbulkan kerusakan pada untai tunggal DNA dan menyebabkan sel mengalami deplesi cadangan energi sehingga sel dapat mengalami nekrosis. Radikal bebas yang berinteraksi dengan unsur protein menginisiasi ikatan silang yang diperantarai sulfhidril yang menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik. Reaksi radikal bebas secara langsung dapat menyebabkan fragmentasi polipeptida (Kumar & Robbins, 2013).

2.5 Kerangka Teori

Berdasarkan tinjauan pustaka diatas, minyak jelantah dapat merusak organ ginjal melalui berbagai mekanisme. Dengan demikian, dapat dibentuk kerangka teori sebagai berikut :



Keterangan:

 : Variabel Yang Diteliti

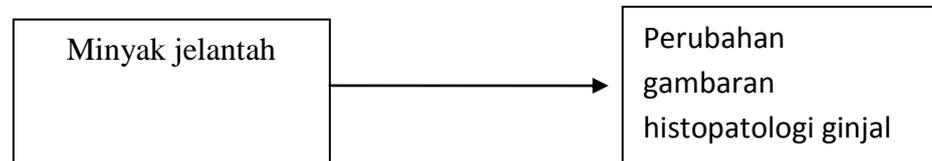
 : Variabel Yang Tidak Diteliti

Gambar 5. Kerangka teori kerusakan histopatologi ginjal karena minyak jelantah.

2.6 Kerangka Konsep

Variabel independen

Variabel dependen



Gambar 6. Kerangka Konsep pengaruh minyak jelantah terhadap histopatologi ginjal.

2.7 Hipotesis

1. Terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah per-oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
2. Terdapat pengaruh frekuensi penggorengan minyak jelantah terhadap derajat kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode rancangan acak lengkap dengan pola *post test control group design*. Penelitian dilakukan dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kelompok kontrol. Digunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* jantan dewasa (berumur 8-10 minggu) yang dipilih secara *random* dan dibagi menjadi 5 kelompok.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama empat bulan. Pemberian Intervensi kepada hewan coba dilakukan di *Pethouse* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tempat pembedahan hewan coba dan pembuatan preparat histopatologi di Balai Veteriner Lampung. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis dan pengambilan data dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 8–10 minggu (dewasa) yang diperoleh dari Palembang Tikus *Centre* (PTC). Sampel penelitian sebanyak 30 ekor yang dipilih secara acak yang dibagi dalam 5 kelompok, sesuai dengan rumus Frederer.

Rumus Frederer, rumus yang digunakan dalam penentuan besar sampel untuk uji eksperimental yakni $(t-1)(n-1) \geq 15$. Dimana t merupakan kelompok perlakuan dan n adalah besar sampel setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi, sampel yang digunakan pada setiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor (pembulatan) dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih. Untuk mengantisipasi hilangnya eksperimen maka dilakukan koreksi dengan rumus:

$$N = f \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

N= besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Sastroasmoro & Ismael, 2010).

sehingga,

$$N = \frac{5}{1-f}$$

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6 \text{ (pembulatan)}$$

Jadi, keseluruhan sampel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah 30 ekor tikus putih yang dibagi ke dalam 5 kelompok.

Adapun keempat kelompok tikus ini terdiri dari:

1. Kelompok 1 merupakan kelompok tikus putih diberi aquades. Kelompok ini digunakan sebagai kelompok kontrol.
2. Kelompok 2 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah 1x penggorengan secara per-oral dengan dosis 1,5mL/hari selama 28 hari.
3. Kelompok 3 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah 4x penggorengan secara per-oral dengan dosis 1,5mL/hari selama 28 hari.

4. Kelompok 4 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah 8x penggorengan secara per-oral dengan dosis 1,5mL/hari selama 28 hari.
5. Kelompok 5 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minyak jelantah 12x penggorengan secara per-oral dengan dosis 1,5mL/hari selama 28 hari.

3.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih jantan *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley*
- b. Sehat (rambut tidak kusam, rontok, botak, dan aktif)
- c. Berat badan 200-250 gram
- d. Usia 8-10 minggu (dewasa)
- e. Tingkah laku dan aktivitas normal
- f. Tidak ada kelainan anatomi yang tampak

3.3.2 Kriteria Eksklusi

- a. Keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus, genital setelah masa adaptasi
- b. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
- c. Tikus mati selama waktu penelitian dilakukan

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu :

- 1) Tikus putih
- 2) Air/aquades
- 3) Minyak jelantah dari minyak kemasan dengan 1x,4x,8x,12x penggorengan
- 4) Pakan dan minum tikus
- 5) Ketamine-xylazine

3.4.2 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi yaitu larutan formalin 10% untuk fiksasi, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, etanol, xylol, pewarna Hematoksisilin dan Eosin (H & E) dan entelan.

3.4.3 Alat penelitian

Peralatan yang dibutuhkan untuk penelitian yaitu:

- 1) Sduit 3 cc
- 2) Neraca analitik *Metler Toledo*
- 3) Kompor dan penggorengan
- 4) Sonde
- 5) Minor set, untuk membedah perut tikus (*laparotomy*)
- 6) Kapas alkohol

7) Kandang dan botol minum tikus

8) Mikroskop cahaya

3.4.4 Alat dalam Pembuatan Preparat Histologi

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi adalah *object glass, deck glass, tissue cassette, rotary microtome, oven, waterbath, platening table, autotechnicome processor, staining jar, staining rack, kertas saring, histoplast* dan *paraffin dispenser*.

3.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.5.1 Identifikasi Variabel

Pada penelitian ini terdapat 2 variabel yakni variabel bebas (variabel *independen*) dan variabel terikat (variabel *dependen*).

Adapun variabel penelitian pada penelitian ini adalah :

1. Variabel Bebas adalah pemberian minyak jelantah peroral
2. Variabel Terikat adalah perubahan histopatologi ginjal

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel penelitian ini yaitu:

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Pemberian minyak jelantah yang berasal dari minyak goreng kemasan	Frekuensi penggorengan tahu dengan minyak goreng kemasan pada suhu 150-165°C dan durasi 10 menit setiap siklus (Ilmi <i>et al</i> , 2015). K = diberi aquades, P1= 1x, P2= 4x, P3= 8x, P4= 12x.	Sprit 3 cc dan sonde	Pemberian minyak jelantah yang telah dipakai sebanyak 1x, 4x, 8x, dan 12x penggorengan ke tikus putih jantan galur <i>Sprague dawley</i> dengan dosis 1,5 mL	Kategorik ordinal
Perubahan gambaran histopatologi ginjal	Skor penilaian gambaran kerusakan ginjal tikus dilihat dengan melakukan pengamatan sediaan histopatologi pada 5 lapang pandang.	Mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x	Kerusakan glomerulus 0= gambaran normal 1= infiltrasi sel radang 2= edema <i>spatium</i> bowman 3= nekrosis Kerusakan tubulus 0= gambaran normal 1= infiltrasi sel radang 2= pembengkakan sel epitel tubulus 3= nekrosis Kriteria Penilaian derajat kerusakan ginjal diambil dari kerusakan tertinggi kemudian dihitung dari skor kerusakan tubulus ginjal dan skor kerusakan glomerulus dengan total skor kerusakan yaitu 0-6 (Muhartono <i>et al</i> , 2016).	Numerik

3.6. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh minyak jelantah terhadap histopatologi ginjal pada hewan coba.

3.6.1 Pemilihan hewan coba

Hewan coba sebagai model dipilih Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tikus ini dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia serta pengaruh diet dapat benar-benar dikendalikan dan terkontrol. Keuntungan menggunakan tikus putih adalah lebih tenang dan lebih mudah ditangani (Isroi, 2010).

Kriteria tikus pada percobaan yakni memiliki usia 8-10 minggu dan berjenis kelamin jantan. Hal ini dikarenakan berdasarkan penelitian sebelumnya umur tersebut sudah digolongkan dewasa dan sudah terbentuk organ tubuh yang matur. Golongan ini memiliki rata-rata berat badan 200-250 gram. Alasan dipilih tikus jantan karena tidak terpengaruh hormonal dan kehamilan sehingga tidak berpengaruh pada hasil penelitian. Berikut adalah taksonomi dari spesies *Rattus norvegicus* (Akhtar, 2012).

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mammalia

Subkelas : Theria
Ordo : Rodentia
Subordo : Myomorpha
Famili : Muridae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*
Galur : *Sprague dawley*

3.6.2 Adaptasi Tikus

Tikus sebanyak 30 ekor dibagi ke dalam 5 kandang dan diadaptasi selama 1 minggu sebelum perlakuan dimulai. Selama masa adaptasi tikus diberi makan berupa pelet dan air. Pengukuran berat badan tikus sebelum perlakuan.

3.6.3 Pemilihan minyak goreng dan penentuan dosis

a. Pemilihan minyak goreng

Kadar asam lemak bebas dalam minyak jelantah akan semakin tinggi seiring dengan frekuensi dan lama waktu penggorengan begitu juga pada bilangan peroksida atau radikal bebas (Muchtadi, 2009). Minyak goreng yang telah digunakan untuk menggoreng sebanyak 4 sampai 8 kali dapat merusak organ tikus (Shastry *et al.*, 2011). Penelitian lain yang pernah dilakukan yaitu menggunakan minyak goreng dengan frekuensi pemakaian 5 dan 10 kali dapat merusak aorta tikus (Xian *et al.*, 2012). Oleh karena

itu pada penelitian ini dipilih minyak goreng dengan 1x, 4x, 8x dan 12x penggorengan. Peneliti menggunakan minyak goreng kemasan, yaitu minyak goreng yang melalui 2x penyaringan. Proses penyaringan minyak goreng sebanyak 2 kali menyebabkan kandungan asam lemak tak jenuh menjadi lebih tinggi. Tingginya asam lemak tak jenuh menyebabkan minyak mudah rusak oleh proses penggorengan (deep frying), karena selama proses menggoreng minyak akan dipanaskan secara terus menerus pada suhu tinggi serta terjadinya kontak dengan oksigen dari udara luar yang memudahkan terjadinya reaksi oksidasi pada minyak (Sartika, 2009).

b. Perhitungan dosis

Pemberian minyak goreng bekas kepada hewan percobaan dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya. Dosis yang dipakai untuk menginduksi tikus dengan minyak goreng ialah 1,5mL/hari. Dimana pada dosis tersebut mengakibatkan kerusakan histopatologi pada usus tikus (Zhou *et al.*, 2016).

3.6.4 Prosedur Pemberian Intervensi

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan. Kelompok 1 (K-) sebagai kontrol negatif, dimana hanya diberi aquades. Kelompok 2 (P1) sebagai kelompok perlakuan, dimana tikus diberikan minyak jelantah 1x

penggorengan dengan dosis 1,5mL/hari. Kelompok 3 (P2) sebagai kelompok perlakuan, dimana tikus diberikan minyak jelantah 4x penggorengan dengan dosis 1,5mL/hari. Kelompok 4 (P3) sebagai kelompok perlakuan, dimana tikus diberikan minyak jelantah 8x penggorengan dengan dosis 1,5mL/hari. Kelompok 5 (P4) sebagai kelompok perlakuan, dimana tikus diberikan minyak jelantah 12x penggorengan dengan dosis 1,5mL/hari.

3.6.5 **Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian**

Sebelum dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal pada tikus, di akhir perlakuan terlebih dahulu tikus akan dianestesi dengan menggunakan *ketamine-xylazine* dengan dosis 75–100 mg/kg ditambah 5–10 mg/kg secara intraperitoneal dengan selama 10–30 menit. Setelah dianestesi, tikus diterminasi dengan cara melakukan dislokasi servikal (AVMA, 2013). Selanjutnya dilakukan laparotomi untuk mengambil organ ginjal. Bangkai tikus dimusnahkan dengan cara pembakaran ditempat khusus.

3.6.6 **Prosedur Operasional Pembuatan Slide**

Metode teknik pembuatan preparat histopatologi antara lain sebagai berikut:

a). *Fixation*

1. Spesimen berupa potongan organ telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam.
2. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

b). *Trimming*

1. Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm.
2. Potongan organ tersebut dimasukkan kedalam *tissue cassette*.

c). *Dehidrasi*

1. Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.
2. Dehidrasi dengan:
 - Alkohol 70% selama 0,5 jam.
 - Alkohol 96% selama 0,5 jam.
 - Alkohol 96% selama 0,5 jam
 - Alkohol 96% selama 0,5 jam
 - Alkohol absolut selama 1 jam.
 - Alkohol absolut selama 1 jam.
 - Alkohol absolut selama 1 jam.
 - Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam

d). *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing–masing selama 1 jam.

e) *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65⁰ C.

f). *Embedding*

1. Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Paraffin cair disiapkan dengan memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58⁰ C.
3. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
4. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. Pan dimasukkan ke dalam air.
6. Paraffin yang berisi potongan mata dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6⁰ C beberapa saat.
7. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
8. Siap dipotong dengan mikrotom

g). *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron.
Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* suhu 60⁰C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
7. *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37⁰C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

h). *Staining* (pewarnaan) dengan Harris Hematoksilin–Eosin.

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut.

- 1) Dilakukan *deparaffinisasi* dalam:
 - a) Larutan *xylol* I selama 5 menit
 - b) Larutan *xylol* II selama 5 menit
 - c) Ethanol absolut selama 1 jam
- 2) *Hydrasi* dalam:
 - a) Alkohol 96% selama 2 menit
 - b) Alkohol 70% selama 2 menit
 - c) Air selama 10 menit
- 3) *Pulasan inti* dibuat dengan menggunakan:
 - a) Harris hematoksilin selama 15 menit
 - b) Air mengalir
 - c) Eosin selama maksimal 1 menit
- 4) Lanjutkan *dehidrasi* dengan menggunakan:
 - a) Alkohol 70% selama 2 menit
 - b) Alkohol 96% selama 2 menit
 - c) Alkohol absolut 2 menit
- 5) *Penjernihan*:
 - a) *Xylol* I selama 2 menit
 - b) *Xylol* II selama 2 menit

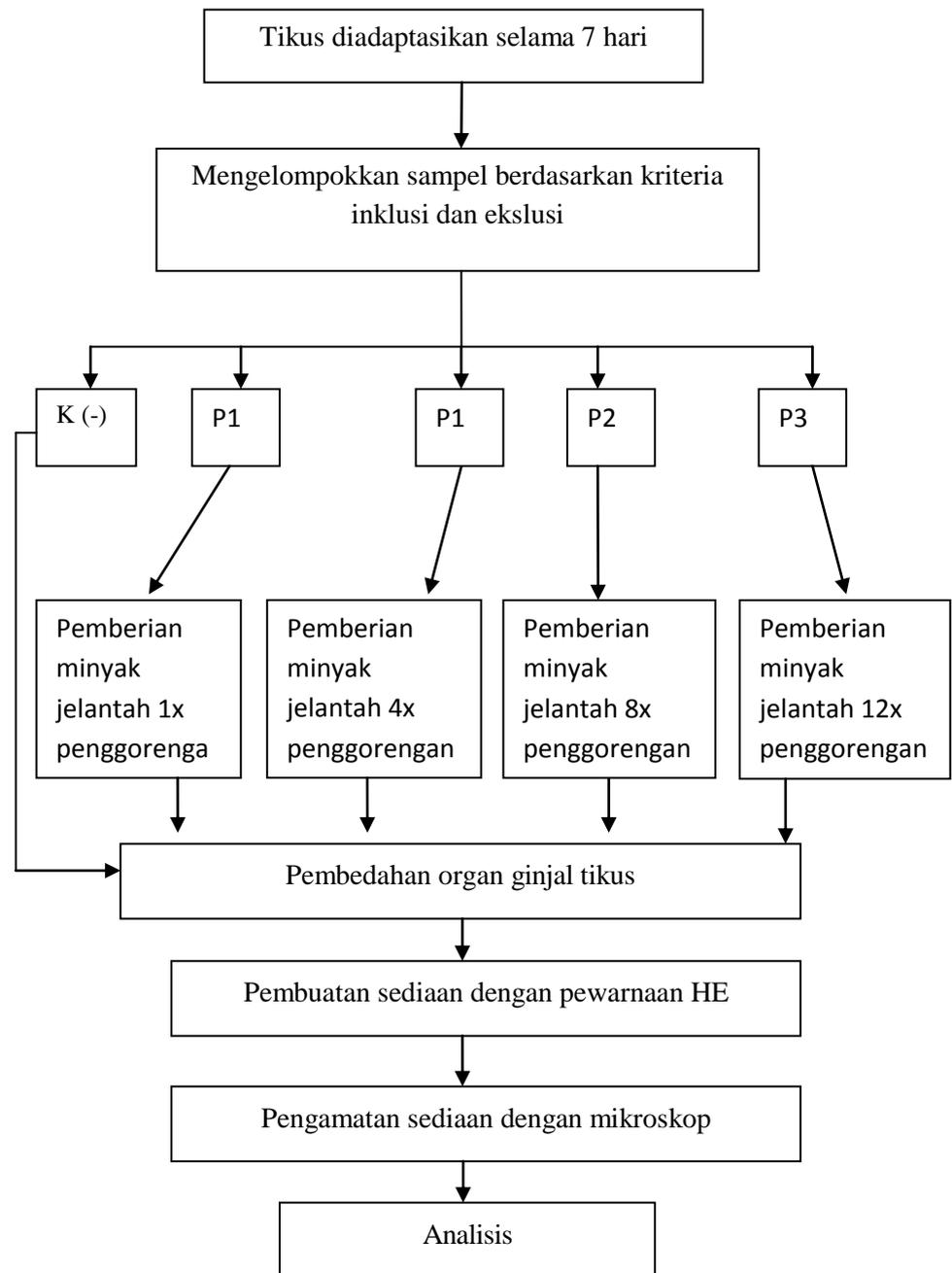
j). *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*

Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

k). *Slide* dibaca dengan mikroskop

Slide dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dan pembimbing ahli.

Adapun alur penelitian yang dilakukan pada penelitian kali ini adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Diagram Alur Penelitian

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik. Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Hasil analisis *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa data tidak terdistribusi normal. sehingga dilakukan normalitas data tetapi data tetap tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, digunakan uji nonparametrik *KruskalWallis*. Hipotesis dianggap bermakna bila $p < 0,050$. Pada uji *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,050$, sehingga dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post-Hoc Mann Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.8 Ethical Clearance

Penggunaan hewan coba dalam penelitian harus mementingkan aspek kesejahteraan hewan coba dan perlakuan secara manusiawi. Dalam penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, juga harus diterapkan prinsip 3R data protokol penelitian, yaitu *replacement*, *reduction* dan *refinement*. *Replacement* adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan. *Reduction* adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang

optimal. Dalam penelitian ini sampel dihitung berdasarkan rumus Frederer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok. *Refinemenet* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi yaitu bebas dari rasa lapar dan haus, bebas dari ketidaknyamanan dan bebas dari nyeri. Untuk itu penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK Unila dengan nomor surat No:102/UN26.8/2017 karena penelitian ini memanfaatkan hewan percobaan dalam pelaksanaannya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah per-oral terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
2. Terdapat pengaruh frekuensi penggorengan minyak jelantah terhadap derajat kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

5.2 Saran

1. Peneliti lain disarankan menguji lebih lanjut untuk membandingkan tingkat kerusakan organ ginjal akibat minyak jelantah dengan bahan penggorengan lain.
2. Peneliti lain disarankan untuk meneliti potensi zat-zat yang dapat mencegah kerusakan organ ginjal dari pengaruh minyak jelantah.
3. Peneliti lain disarankan untuk meneliti urin tikus secara mikroskopik untuk mengetahui ada atau tidak zat yang terekskresi bersama urin akibat kerusakan ginjal akibat minyak jelantah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji D. 2008. Hubungan Konsentrasi Malondialdehida, Glukosa dan total kolesterol pada tikus putih yang diinjeksi dengan streptozotocin. *J. Sains Vet.* 26(2): 73–77.
- Aisyah. 2010. Pengaruh Penggunaan Minyak Jelantah Setelah Penyerapan dengan Ampas Tebu Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida dalam Darah Mencit. [Skripsi]. Universitas Andalas.
- Aisyah S, Budiman H, Florenstina D, Aliza D, Salim MN, Balqis U. 2015. The effect of Administrating Waste Cooking Oil to Histopathology of Rat (*Rattus norvegicus*) liver. *Jurnal Medica Veterinaria.* 9(1): 1–4.
- Akhtar A. 2012. *Animal in Public Health.* United States: Palgrave Macmillan.
- Albike RD, Estiasih T, Maligan JM. 2016. Fraksi Tidak Tersabunkan (Ftt) Dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit (Dalms) Sebagai Sumber Antioksidan : Kajian Pustaka Unsaponifiable Fraction From Palm Fatty Acid Distillate as Antioxidant Source : *Jurnal Pangan Dan Agroindustri.* 4(2): 494–498.
- Amalia F, Retnaningsih, Johan IR. 2010. Perilaku Penggunaan Minyak Goreng Serta Pengaruhnya Terhadap Keikutsertaan Program Pengumpulan Minyak Jelantah Di Kota Bogor. *IPB.* 3(2): 184–189.
- American Veterinary Medical Association. 2013. *AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition.* Schaumburg: American Veterinary Medical Association. Pp. 30-48.
- Aminah S. 2010. Peroxide Value Bulk Cooking Oil and Organoleptic Characteristic of Tempe in Repeated Frying. *Jurnal Pangan dan Gizi.* 1(1): 7-14.
- Arief S. 2012. Radikal Bebas. *Bulletin Pediatrik Unair.* 1: 1-9.
- Ayu R, Sartika D. 2009. Pengaruh Suhu dan Lama Proses Menggoreng (Deep Frying) Terhadap Pembentukan Asam Lemak Trans. *MAKARA SAINS.* 13(1): 23–28.
- Azzahra F. 2016. Pengaruh Pemberian Minyak Goreng Deep Fraying Terhadap Gambaran Histopatologi Tikus Putih Strain Wistar. [Tesis]. Universitas Muhammadiyah Malang.

- Budiyanto, Silsia D, Efendi Z, Janika R. 2010. Changes On B-Carotene, Free Fatty Acid And Peroxide Values Of Red Palm Olein Oil During Heating. *AGRITECH*. 30(2): 75–79.
- Cook MJ. 2010. The Anatomy of The Laboratory Mouse. <http://www.informatics.jax.org/cookbook/figures/figure64.shtml>. Diakses pada tanggal 1 September 2016.
- Defriani P. 2012. Tinjauan Kepustakaan Efek Teh Rosella Terhadap Faal Ginjal Pengguna Alkohol. journal.mercubaktijaya.ac.id/downloadfile.php?file=5b.pdf. Diakses pada 13 September 2016.
- E. Choe, Min DB. 2015. Chemistry of Deep-Fat Frying Oils. *Journal Of Food Science*. 72(5):77–86.
- Edoryansyah PA. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Akibat Paparan Minyak Jelantah. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret.
- Eroschenko V. 2010. Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Fauziah, Sirajudin S, Najamuddin U. 2013. Analisis Kadar asam Lemak Bebas Dalam Gorengan Dan Minyak Bekas Hasil Penggorengan Makanan Jajanan Di Workshop UNHAS. FKM Unhas. 1–9.
- Gartner LP, Hiatt JL. 2012. Atlas Berwarna Histologi. Edisi ke-5. Tangerang Selatan: Binarupa Aksara.
- Geneser F. 2007. Atlas Berwarna Histologi. Batam: Binarupa Aksara.
- Halliwell B, Gutteridge JM. 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. Edisi ke-4. New York: Oxford University Press.
- Hanachi P, Moghadam H, Latiffah AL. 2009. Investigation Of Lipid Profiles And Lipid Peroxidation In Patients With Type-2 Diabetes. *European J of Sci Res*. 28(1):6-13.
- Haryani K. 2008. Potensi Zeolit Dari Daerah Kemiri, Purworejo Untuk Penjernihan Minyak Goreng Bekas. *TEKNIS* 1(3): 18-23.
- IImi IMB, Khomsan A, Marliyati SA. 2015. Kualitas Minyak Goreng dan Produk Gorengan Selama Penggorengan di Rumah Tangga Indonesia. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 4(2):61-65.
- Isroi. 2010. Tikus untuk Penelitian di Laboratorium. <http://isroi.wordpress.com/2010/03/02/tikus-untuk-penelitian-dilaboratorium/>. Diakses pada tanggal 22 Agustus 2016.
- Kementrian Perdagangan Republik Indonesia. 2015. Kemendag Mendorong Masyarakat Untuk Beralih Dari Minyak Goreng Curah Ke Minyak Goreng Kemasan, (5). Diakses dari www.kemendag.go.id

- Kementrian Perindustrian. Kebutuhan minyak goreng capai 4,2 juta ton. Diakses pada tanggal 17 Agustus 2016.
- Khomsan A. 2010. Pangan dan Gizi untuk Kesehatan. Jakarta: PT. Rajagrafindo Persada.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2013. Buku Ajar Patologi. Edisi ke-7. Jakarta: EGC.
- Latumahina GJ, Kakisina P, Moniharapon M. 2011. Peran Madu Sebagai Antioksidan dalam Mencegah Kerusakan Pankreas Mencit (*Mus Musculus*) Terpapar Asap Rokok Kretek. *Molluca Medica*. 4(1): 106-116.
- Mallick AR, Ghosh AK, Sarma A Das. 2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions : An Overview. *International Journal of Pharma Science and Research (IJPSR)*. 1(3): 185–192.
- Manurung RD. 2011. Manfaat pemberian madu terhadap perubahan kadar ureum dan kreatinin serta makroskopik ginjal dan histopatologi tubulus proksimal ginjal mencit (*Mus musculus l.*) jantan yang diberi rhodamin B. [Tesis]. FKUSU.
- Mescher AL. 2011. Histologi Dasar JUNQUEIRA. Edisi ke-12. Jakarta: EGC.
- Mochtadi D. 2009. Gizi Anti Penuaan Dini. Bandung: Alfabeta.
- Moore KL, Dalley AF. 2013. Anatomi Berorientasi Klinis. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga.
- Mualifah S. 2009. Penentuan Angka Asam Thiobarbiturat Dan Angka Peroksida Pada Minyak Goreng Bekas Hasil Pemurnian Dengan Karbon Aktif Dari Biji Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk). [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Muhartono, Windarti I, Liantari DS, Susianti. 2016. Risiko Herbisida Paraquat Diklorida terhadap Ginjal Tikus Putih Sprague dawley. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 29(1):43-46.
- Muslimah U, Guntarti A. 2014. Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana l.*) Sebagai Antioksidan Alami Pada Minyak Krengseng. Prosiding Seminar Nasional dan Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV”. 22-30.
- Novarianto H, Tulalo M. 2007. Kandungan Asam Laurat Pada Berbagai VARIETAS Kelapa Sebagai Bahan Baku VCO. *LITTRI*. 13(1): 28–33.
- Panjaitan RGP, Handharyani E, Chairul, Masriani, Zakiah Z, Manalu W. 2007. Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus. *MAKARA*. 11(1): 11–16.

- Paulsen F, Waschke J. 2010. Sobotta Atlas Anatomi Manusia. Edisi 23. Jakarta: EGC.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*. 4(2): 89.
- Pramudanti DR, Padaga MC, Winarso D. 2010. Effect of Water Extract of Mango's Mistletoe Therapy (*Dendrophthoe pentandra*) to Albumin Levels and Animal Kidney Histopathology of Rats (*Rattus norvegicus*) Model Hypercholesterolemia. *Kedokteran Hewan UB*.
- Price S, Wilson L. 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Edisi ke-6. Jakarta : EGC.
- Ramdja AF, Febrina L, Krisdianto D. 2010. Pemurnian Minyak Jelantah Menggunakan Ampas Tebu Sebagai Adsorben. *Teknik Kimia Unsri*. 17:7-14.
- Rinawati W, Aulia D. 2011. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) sebagai Penanda Baru Nekrosis Tubular Akut. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 61(2): 81–85.
- Rukmini A. 2007. Regenerasi Minyak Goreng Bekas Dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. *Seminar Nasional Teknologi*; 24 November 2007; Yogyakarta.
- Sartika RAD. 2009. Pengaruh Suhu Dan Lama Proses Menggoreng (Deep Frying) Terhadap Pembentukan Asam Lemak Trans. *MAKARA SAINS*. 13(1) : 23-28
- Sastroasmoro S, Ismael S. 2010. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. Jakarta: Sagung Seto.
- Shastri CS, Ambalal PN, Himanshu J, Aswathanarayana BJ. 2011. Evaluation Of Effect Of Reused Edible Oils On Vital Organs Of Wistar Rats. *Nitte University Journal of Health Science*. 1(4): 10-15.
- Sherwood L. 2011. Fisiologi Manusia Dari Sel Ke sistem. Edisi ke-6. Jakarta: EGC.
- Siagian M, Jusuf AA, Handini M. 2014. Pengaruh Pajanan Monosodium Glutamat Terhadap Fungsi dan Gambaran Histologis Ginjal Tikus Serta Perubahannya Pasca Penghentian Pajanan. *J Indon Med Assoc*. 64(7).
- Siswanto W, Mulasari SA. 2015. Pengaruh Frekuensi Penggorengan Terhadap Peningkatan Peroksida Minyak Goreng Curah Dan Forifikasi Vitamin A. *Kesmas*, 9(1): 1–10.
- Soepraptini J, Ridho SF, Koesnoto SP. 2012. Histopathology of Renal Male Rats of Femoral Fracture with *Cissus quadrangularis* Plant Extract and Calcium Carbonate Therapy. *VetMedika J Klin Vet*. 1(1): 5-8.
- Susianti. 2014. Pengaruh Minyak Goreng Bekas Yang Dimurnikan Dengan

Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Dan Jantung Tikus. *MKA*. 37: 55–60.

Tangkudung M, Kadir S, Pateda SM. 2013. Perubahan Kadar Asam Lemak Bebas Pada Minyak goreng Curah, Minyak Jagung Dan Minyak Zaitun Setelah Proses Penggorengan Berulang. *Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Dan Keolahragaan Universitas Negeri Gorontalo*.

Tank PW, Gest TR. 2010. *Atlas Anatomi Lippincott Williams & Wilkins*. Jakarta: PT Gelora Aksarab Pratama.

Uderwood JCE, Cross SS. 2009. *General and Systematic Pathology*. Edisi ke-5. British: Elsevier.

Widayat. 2007. Studi Pengurangan Bilangan Asam , Bilangan Peroksida dan Absorbansi dalam Proses Pemurnian Minyak Goreng Bekas dengan Zeolit Alam Aktif. *Jurnal Rekayasa Kimia Dan Lingkungan*. 6(1): 7–12.

Winarno. 2014. *Kelapa Pohon Kehidupan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Xian TK, Omar NA, Ying LW, Hamzah A, Raj S, Jaarin K, et al. 2012. Reheated Palm Oil Consumption and Risk of Atherosclerosis: Evidence at Ultrastruktural Level. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-6

Zhou Z, Wang Y, Jiang Y, Diao Y, Strappe P, Prenzler P, et al. 2016. Deep-Fried Oil Consumption In Rats Impairs Glycerolipid Metabolism, Gut Histology And Microbiota Structure. *Lipids in Health and Diseases*. 15:86.

Zulfiani, Ilyas S, Hutahaean S. 2013. Pengaruh pemberian vitamin c dan e terhadap gambaran histologis hepar mencit. 2–7.