

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP
PERBEDAAN RERATA KERUSAKAN GAMBARAN HISTOLOGI
JARINGAN USUS HALUS TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR
*Sprague dawley***

SKRIPSI

Oleh

ARIF SIGIT ANANTO



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

THE EFFECTS OF WASTE COOKING OIL ADMINISTRATION TOWARD AVERAGE DIFFERENCE OF DAMAGE IN MALE RATS INTESTINE HISTOLOGY (*Rattus norvegicus*) STRAIN *Sprague dawley*

By

ARIF SIGIT ANANTO

Background: Wasted cooking oil is cooking oil that have cooked several times. Cooking oil that have cooked cause formation of free radical. Free radical can cause oxydative stress reaction on cells in body. Intestine is one of the organs that can easily affected by oxydative stress caused by free radical.

Goal: To know effect of giving wasted cooking oil toward average difference of damage histology view of intestine tissue.

Method: This research use 30 mices Sprague dawley strain that divided in 5 groups. Group 1 (K) without stimulation, but in group 2 (P1), group 3 (P2), group 4 (P3) and group 5 (P4) each group given wasted cooking oil which has been fried as much 1x, 4x, 8x and 12x cooked with dosage 1,5 ml/day orally for 28 days. The view of histopathologic in intestine tissue consist of PMN infiltration and destruction of epithel. The datum has analyzed with Kruskal-Wallis and continued with Mann-Whitney.

Result: Kruskal-Wallis test has resulted in p value of 0,000 while Mann-Whitney test to see the difference between two groups out of all experimental group resulted in $p < 0.05$ (K-P2 0,008; K-P3 0,009; K-P4 0,009; P1-P2 0,017; P1-P3 0,009; P1-P4 0,009; P2-P3 0,026; P2-P4 0,08; P3-P4 0,009) which means that there was average difference of male rats intestine histopathology between two groups except between group K and group P1 with value $p = 0,197$ ($p > 0,05$).

Conclusion: Giving wasted cooking oil has a significant effect toward average difference of damage histology view of intestine tissue.

Keywords: Free radical, intestine, oxydative stress, wasted cooking oil

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP PERBEDAAN RERATA KERUSAKAN GAMBARAN HISTOLOGI JARINGAN USUS HALUS TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*

Oleh

ARIF SIGIT ANANTO

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. Usus halus merupakan salah satu organ yang mudah mengalami stres oksidatif akibat radikal bebas.

Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus.

Metode: Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* yang dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok 1 (K) tikus tidak diberikan perlakuan, sedangkan pada kelompok 2 (P1), kelompok 3 (P2), kelompok 4 (P3) dan kelompok 5 (P4) masing-masing diberikan minyak jelantah yang telah digoreng sebanyak 1x, 4x, 8x dan 12x penggorengan dengan dosis 1,5 ml/hari secara oral selama 28 hari. Gambaran kerusakan pada usus halus terdiri dari infiltrasi PMN dan kerusakan epitel. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitney*.

Hasil: Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), sedangkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antara 2 kelompok percobaan didapatkan nilai $p<0,05$ (K-P2 0,008; K-P3 0,009; K-P4 0,009; P1-P2 0,017; P1-P3 0,009; P1-P4 0,009; P2-P3 0,026; P2-P4 0,08; P3-P4 0,009) yang artinya terdapat perbedaan rerata kerusakan yang bermakna antara 2 kelompok percobaan, kecuali antara kelompok K dengan kelompok P1 dengan nilai $p=0,197$ ($p>0,05$).

Kesimpulan: Pemberian minyak jelantah mempunyai pengaruh secara bermakna terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus.

Kata kunci: minyak jelantah, radikal bebas, stres oksidatif, usus halus

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP
PERBEDAAN RERATA KERUSAKAN GAMBARAN HISTOLOGI
JARINGAN USUS HALUS TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR
*Sprague dawley***

SKRIPSI

Oleh
ARIF SIGIT ANANTO

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada
Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN MINYAK
JELANTAH TERHADAP PERBEDAAN
RERATA KERUSAKAN GAMBARAN
HISTOLOGI JARINGAN USUS HALUS
TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR
*Sprague dawley***

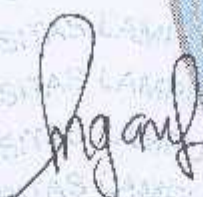
Nama mahasiswa : **Arif Sigit Ananto**

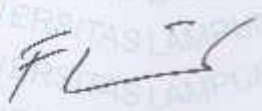
No Pokok Mahasiswa : **1418011029**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**

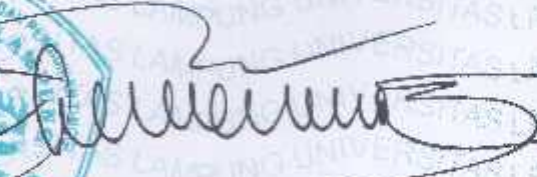



dr. Anggraeni Janar Wulan, M. Sc
NIP 198201302008122001


dr. Oktafany, M. Pd. Ked
NIP 197610162005011003

MENYETUJUI

Dekan Fakultas Kedokteran




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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

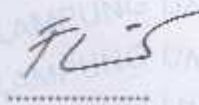
Ketua

: dr. Anggraeni Janar Wulan, M. Sc



Sekretaris

: dr. Oktafany, M. Pd. Ked



Penguji

Bukan Pembimbing

: dr. Rizki Hanriko, Sp.PA.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhtarono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.

NIP 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 4 Juli 2018

A large, stylized black ink signature of Dr. dr. Muhtarono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA. is written over a circular blue stamp. The stamp contains the text "FAKULTAS KEDOKTERAN" and "UNIVERSITAS LAMPUNG".

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **"PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JELANTAH TERHADAP PERBEDAAN RERATA KERUSAKAN GAMBARAN HISTOLOGI JARINGAN USUS HALUS TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) 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.

Bandarlampung, 4 Juli 2018
Pembuat Pernyataan



Arif Sigit Ananto

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Purworejo pada tanggal 18 Oktober 1993 yang merupakan anak tunggal dari Bapak Edy Siswondo dan Ibu Sudarmi.

Pendidikan sekolah dasar (SD) diselesaikan di SD N Wonosri pada tahun 2005, sekolah menengah pertama (SMP) diselesaikan di SMP N 11 Purworejo pada tahun 2008 dan sekolah menengah atas (SMA) diselesaikan di SMA N 9 Purworejo pada tahun 2012.

Tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) tertulis

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif pada organisasi FSI Fakultas Kedokteran pada tahun 2014-2015.

*Sebuah persembahan sederhana untuk
Bapak, Mamak, Pak Khamid dan Bu
Asih serta Keluarga Besarku tercinta*

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 Perbedaan Rerata Kerusakan Gambaran Histologi Jaringan Usus Halus Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

- Bapak dan mamak tercinta yang selalu memberikan doa, nasihat dan motivasi. Semoga Allah SWT selalu melindungi dalam setiap langkah;
- Pak Khamid dan Bu Asih yang telah memberikan dorongan materil dan doanya selama ini;
- Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
- Dr. Dr. Muhartono, M.Kes., S.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
- dr. Anggraeni Janar Wulan, M. Sc selaku Pembimbing Utama yang bersedia meluangkan waktu dan kesediannya untuk memberikan bimbingan, kritik, saran serta nasihat yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini serta memberikan banyak ilmu selama lebih dari setahun terakhir;

- dr. Oktafany, M. Pd. Ked selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia untuk meluangkan waktu, memberikan bimbingan, kritik dan saran;
- dr. Rizki Hanriko, Sp.PA. selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan masukan, kritik, saran serta nasihat bermanfaat dalam penyelesaian skripsi ini;
- Mas Bayu yang sudah memberikan bantuan dalam persiapan alat untuk pembacaan preparat;
- Teman-teman tim penelitian skripsi mbak Nidia, mbak Wulan, mas Agung dan mas Marco yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian bersama.
- 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 pembantu yang turut dalam proses penelitian skripsi;
- Teman-teman sejawat angkatan 2014 yang tidak bisa disebutkan satu persatu;
- Adik-adik tingkat 2015-2017 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..

Bandarlampung, 4 Juli 2018
Penulis

Arif Sigit Ananto

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
DAFTAR SINGKATAN	vi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Pustaka	6
2.1.1 Histologi Usus Manusia	6
2.1.1.1 Membran Mukosa.....	7
2.1.1.2 Lamina Propia Sampai Serosa.....	7
2.1.1.3 Pembuluh Darah dan Saraf	8
2.1.2 Minyak	8
2.1.3 Minyak Goreng	9
2.1.4 Klasifikasi Minyak Goreng	9
2.1.5 Minyak Goreng Bekas.....	10
2.1.6 Lipid Peroksidasi.....	12
2.1.7 <i>Reactive Oxygen Species</i>	14
2.2 Kerangka Teori.....	16
2.3 Kerangka Konsep	19
2.4 Hipotesis	19
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Desain Penelitian	20
3.2 Tempat dan Waktu	20
3.3 Populasi dan Sampel	20
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	23

3.5	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel	23
3.5.1	Identifikasi Variabel	23
3.5.2	Definisi Operasional	23
3.6	Prosedur Penelitian	25
3.6.1	Pemilihan Tikus	25
3.6.2	Adaptasi Tikus	25
3.6.3	Persiapan Minyak Jelantah	26
3.6.4	Prosedur Pemberian Intervensi	26
3.6.5	Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian	27
3.6.6	Prosedur Pembedahan Usus halus	27
3.6.7	Prosedur Operasional Pembuatan <i>Slide</i>	28
3.7	Analisis Data	33
3.8	<i>Ethical Clearance</i>	33

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Gambaran Umum Penelitian	34
4.1.1	Hasil Penelitian	34
4.1.1.1	Kelompok 1 (K)	36
4.1.1.2	Kelompok 2 (P1)	37
4.1.1.3	Kelompok 3 (P2)	38
4.1.1.4	Kelompok 4 (P3)	39
4.1.1.5	Kelompok 5 (P4)	40
4.1.2	Analisis Data	41
4.2	Pembahasan	44
4.3	Keterbatasan Penelitian	47

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan	48
5.2	Saran	48

DAFTAR PUSTAKA	49
-----------------------------	----

LAMPIRAN	52
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional.....	24
2. Perbandingan Rerata Skor Kerusakan Jaringan Usus Halus.....	35
3. Uji Normalitas.....	41
4. Uji <i>Saphiro-Wilk</i> Setelah Data Dinormalkan.....	41
5. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	42
6. Uji <i>Mann-Whitney</i>	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambar Histologi Usus Halus.....	6
2. Perbandingan Penampakan Minyak Goreng dengan Minyak Goreng Jelantah.....	11
3. Mekanisme Perubahan <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i> Menjadi Lipid Peroksida dan Produknya	12
4. Mekanisme Kerusakan Membran Akibat Lipid Peroksidasi	15
5. Kerangka Teori.....	18
6. Kerangka Konsep.....	19
7. Diagram Alur Penelitian	32
8. Kelompok 1 (K) dengan Pewarnaan H.E. Perbesaran 400x.....	36
9. Kelompok 2 (P1) dengan Pewarnaan H.E. Perbesaran 400x.....	37
10. Kelompok 3 (P2) dengan Pewarnaan H.E. Perbesaran 400x.....	38
11. Kelompok 4 (P3) dengan Pewarnaan H.E. Perbesaran 400x.....	39
12. Kelompok 5 (P4) dengan Pewarnaan H.E. Perbesaran 400x.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skor Gambaran Kerusakan Histologi Usus Halus	53
2. Hasil Analisis Data Penelitian.....	54
3. Persetujuan Etik	59

DAFTAR SINGKATAN

IHS	: Indeks Harga Konsumen
MDA	: Malondialdehid
4HNE	: 4-Hydroxynonenal.
MUFA	: Monounsaturated Fatty Acid
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acid
ROS	: Reactive Oxygen Species
H&E	: Hematoksin Dan Eosin
PMN	: Polimorfonuklear
HMGB1	: High Mobility Group Box 1
TLR	: Toll Like Receptor
MHC	: Major Histocompatibility Complex

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Konsumsi minyak goreng di Indonesia tahun 2011 sampai 2015 pada umumnya mengalami peningkatan. Pada tahun 2011 konsumsi minyak goreng sebesar 232,03 kkal/kapita/hari, ditahun 2015 meningkat menjadi 23,46 kkal/kapita/hari menjadi 255,49 kkal/kapita/hari (Sabarella *et al.*, 2016). Minyak goreng termasuk salah satu bahan lemak, baik dari lemak nabati maupun dari lemak hewani. Minyak goreng bermanfaat dalam penghantaran panas, menambah rasa gurih pada makanan, serta mampu menambah nilai gizi dan nutrisi pada makanan (Ketaren, 2008).

Harga minyak goreng setiap tahunnya cenderung mengalami perubahan. Pada tahun 2013 Indeks Harga Konsumen (IHK) dari minyak dan lemak sebesar 99,29 Rp/kapita/bulan, tahun 2014 sebesar 107,87 Rp/kapita/bulan dan terakhir di tahun 2015 berubah menjadi 108,78 Rp/kapita/bulan (Sabarella *et al.*, 2016). Hal tersebut dapat meningkatkan penggunaan minyak berulang terutama oleh para penjual gorengan untuk mengurangi pengeluaran. Dengan meningkatnya produksi dan konsumsi minyak goreng, pemakain minyak berulang kian hari kian meningkat (Hambali *et al.*, 2007).

Proses pemanasan minyak goreng sampai berulang dapat menyebabkan rusaknya asam-asam lemak tak jenuh yang terkandung di dalam minyak. Kerusakan tersebut dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan warna coklat, kenaikan viskositas, peningkatan kandungan asam lemak bebas dan kenaikan indeks peroksida atau radikal bebas. Hal tersebut dapat menimbulkan cita rasa yang kurang baik pada makanan (Ketaren, 2008).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan terdapatnya kenaikan kadar asam lemak bebas terbesar yaitu pada minyak goreng yang telah digunakan sebanyak 4 kali penggorengan, hal tersebut terjadi karena minyak goreng telah mengalami proses pemanasan yang berulang dengan suhu $>100^{\circ}\text{C}$ serta terjadi reaksi *autooksidasi*, *thermal oksidasi*, dan *thermal polimerasi* sehingga terbentuk hidroperoksida (Ketaren, 2008). Hidroperoksida adalah senyawa yang tidak stabil dan dengan cepat terurai menjadi radikal bebas atau lipid peroksida (Ayu *et al.*, 2015).

Meningkatnya indeks peroksida atau radikal bebas dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan di dalam minyak. Asam lemak akan berubah bentuk dari *cis* isomer menjadi *trans* dan juga akan mengalami degradasi menjadi toksik aldehid (Leong *et al.*, 2015; Guillen & Patricia, 2012). Lipid peroksida menyebabkan gangguan pada fungsi membran, inaktivasi reseptor enzim pada membran dan merusak permeabilitas ion, sehingga dapat menyebabkan ruptur membran. Oleh karena itu, lipid peroksida telah terlibat dalam proses patogenesis pada beberapa jenis penyakit (Naito *et al.*, 2011; Leong *et al.*, 2015).

Salah satu peranan lipid peroksida dalam proses patogenesis penyakit adalah pada *intestinum tenue* atau usus halus (Leong *et al.*, 2015). Usus halus merupakan tempat akhir berlangsungnya pencernaan, absorpsi nutrisi dan sekresi endokrin. Peristiwa pencernaan minyak jelantah pun dilakukan pada bagian tersebut melalui sel-sel epitel pelapisnya (Mescher, 2011). Pada penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan sel *monolayer* yaitu sel yang mirip dengan sel usus halus, yang diinduksi oleh lipid peroksida dapat menyebabkan perubahan pada sel tersebut (Yara *et al.*, 2013). Selain itu, peningkatan radikal bebas dapat meningkatkan kerusakan jaringan yang terjadi pada usus halus sehingga dapat mengganggu proses penyerapan nutrisi makanan (Kwiecien *et al.*, 2014).

Hasil dari metabolisme lipid peroksida adalah *Malondialdehid* (MDA) dan *4-Hydroxynonenal* (4HNE). Senyawa ini mengubah membran seluler sehingga menarik grup polar menjadi molekul fosfolipid di dalam lipid bilayer, jalur internal lipid ini menyebabkan membran menjadi lebih hidrofobik dan lebih permeabel. *4-Hydroxynonenal* juga menunjukkan pengaruhnya dalam merusak fungsi membran selama stress oksidatif berlangsung (Kwiecien *et al.*, 2014). Kerusakan yang terjadi memberikan gambaran deskuamasi pada vili-vili usus halus sehingga memicu terjadinya penyakit malabsorpsi dan maldigesti pada intestinal (Mustika, 2015; Sudoyo *et al.*, 2009).

Oleh karena itu, berdasarkan kajian pustaka yang telah dilakukan maka peneliti akan melakukan percobaan tentang pengaruh minyak jelantah terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* setelah diberikan minyak jelantah.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi pada jaringan usus halus pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* setelah diberikan minyak jelantah.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah mengenai dampak pemberian minyak jelantah terhadap usus halus tikus jantan, khususnya di bidang Histopatologi.

1.4.2 Bagi Peneliti

Penelitian ini sebagai salah satu syarat kelulusan jenjang sarjana di Fakultas Kedokteran, Universitas Lampug.

1.4.3 Bagi Pemerintah

Penelitian ini dapat menjadi peringatan adanya bahaya dalam penggunaan minyak jelantah bagi kesehatan, sehingga pemerintah dapat terus mensosialisasikan minyak goreng kemasan dan memperkuat fungsi UU yang telah dibuat.

1.4.4 Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Menambah bahan kepustakaan dalam lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

1.4.5 Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini dapat menjadi referensi untuk penelitian yang serupa dan berkaitan dengan dampak penggunaan minyak jelantah.

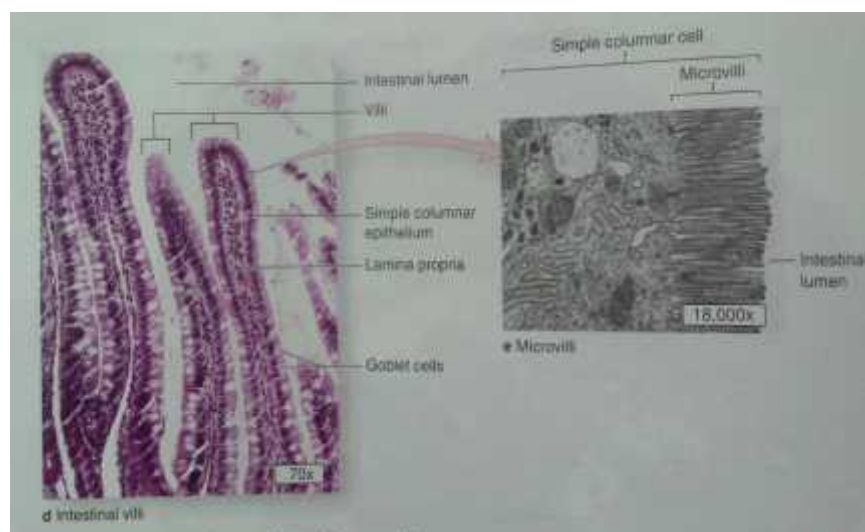
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Histologi usus manusia

Usus halus atau intestinum adalah saluran panjang berkelok yang terdiri dari beberapa bagian yaitu duodenum, yeyenum dan ileum. Panjang dari usus halus sekitar 5-7 meter dan merupakan saluran pencernaan terpanjang. Fungsi utama dari usus halus adalah mencerna makanan yang berasal dari lambung dan mengabsorpsi nutrisi ke dalam kapiler darah dan lakteal limfe. Berdasarkan histologinya usus manusia terdiri atas beberapa bagian yang dijelaskan pada gambar 1 (Mescher, 2011).



Gambar 1. Gambar Histologi Usus Halus (Mescher, 2011)

2.1.1.1 Membran mukosa

Bila dilihat dengan mata telanjang, permukaan usus halus terlihat seperti lipatan-lipatan permanen sirkuler atau semilunar yang disebut *plicae circulares* yang terdiri dari mukosa dan submukosa. Vili merupakan penonjolan mukosa yang terdiri dari epitel dan lamina propria yang dilapisi oleh epitel selapis kolumnar. Di antara vili tersebut terdapat muara kecil dari kelenjar tubular simpleks yang disebut kriptus intestinal atau kriptus liberkuhn. Enterosit adalah sel absorptif yang merupakan sel silindris tinggi, yang memiliki inti lonjong di bagian basal sel. Enterosit berfungsi untuk menyerap molekul nutrien yang dihasilkan dari proses pencernaan. Pada apeks sel terdapat lapisan homogen yang disebut dengan *brush (striated) border* (Mescher, 2011).

2.1.1.2 Lamina propria sampai serosa

Lamina propria usus halus terdiri atas jaringan ikat longgar dengan pembuluh darah, pembuluh limfe, serabut saraf dan sel-sel otot polos. Lamina propria menembus pusat vili usus, yang membawa serta pembuluh darah, limfe dan saraf. Lapisan muskularis berkembang dengan baik di usus halus, yang terdiri atas lapisan sirkular dalam dan longitudinal luar, bagian tersebut dilapisi oleh lapisan serosa tipis dengan mesotel (Victor, 2010).

2.1.1.3 Pembuluh darah dan saraf

Pembuluh darah akan memindahkan hasil pencernaan yang telah diserap, menembus lapisan muskularis dan membentuk pleksus besar di dalam submukosa. Dari submukosa cabangnya meluas melalui muskularis mukosa, lamina propria dan memasuki vili. Persarafan usus dibentuk oleh komponen intrinsik dan komponen ekstrinsik yang menyusun sistem saraf enterik. Komponen intrinsik terdiri atas sejumlah besar komponen neuron kecil dan difus yang membentuk pleksus saraf mienterikus atau *auerbach* pada lapisan muskularis sirkular dalam dan lapisan muskularis longitudinal luar, dan pleksus submukosa atau pleksus *meissner* yang lebih kecil pada submukosa (Mescher, 2011).

2.1.2 Minyak

Minyak merupakan suatu kelompok yang tergolong lipid atau lemak, yaitu senyawa yang berada di alam dan tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik nonpolar. Pelarut tersebut seperti *dietil eter*, *kloroform*, benzena dan hidrokarbon lainnya. Minyak pangan dapat digolongkan ke dalam dua sumber yaitu *visible fats* atau minyak goreng, mentega, margarin, sortening dan *invisible fats* atau telur, daging, ikan, sebagian buah-buahan, biji-bijian, dan kacang-kacangan. Hampir semua bahan pangan mengandung lemak atau minyak meskipun dengan kandungan yang berbeda-beda (Murhadi, 2008).

2.1.3 Minyak goreng

Minyak goreng adalah minyak yang berasal dari lemak tumbuhan yang dimurnikan dalam bentuk cair pada suhu kamar. Minyak goreng biasanya digunakan untuk menggoreng bahan makanan. Minyak goreng juga bisa menjadi sumber energi. Minyak goreng merupakan salah satu bahan optis aktif karena mempunyai struktur molekul *chiral*, yaitu molekul yang mempunyai atom karbon (C) yang mengikat empat atom berbeda (Ketaren, 2008) .

2.1.4 Klasifikasi minyak goreng

Klasifikasi minyak goreng dibagi berdasarkan ada atau tidaknya ikatan rangkap pada struktur molekulnya, yaitu menjadi: minyak dengan asam lemak jenuh (*Saturated fatty acid*) dan minyak dengan asam lemak tak jenuh tunggal (*Monounsaturated fatty acid*/MUFA) maupun majemuk (*Polyunsaturated fatty acid*/PUFA). Minyak dengan asam lemak jenuh merupakan asam lemak yang berikatan tunggal pada rantai hidrokarbonnya. Minyak ini bersifat stabil dan tidak mudah untuk bereaksi atau berubah menjadi jenis asam lemak yang lain. Asam lemak jenuh yang terkandung pada minyak umumnya terdiri dari asam dekanat, asam oktanoat, asam laurat, asam palmitat, asam miristat dan asam stearat (Hambali *et al.*, 2007).

Minyak dengan asam lemak tak jenuh tunggal (*Monounsaturated fatty acid*/MUFA) maupun majemuk (*Polyunsaturated fatty acid*/PUFA) merupakan asam lemak yang memiliki ikatan atom karbon rangkap pada rantai hidrokarbonnya. Semakin banyak ikatan

rangkap pada rantai karbonnya menyebabkan minyak tersebut mudah berubah menjadi asam lemak jenuh. Asam lemak tak jenuh yang terkandung pada minyak goreng adalah asam oleat dan asam linoleat (Ketaren, 2008).

2.1.5 Minyak Goreng Bekas (Minyak Jelantah)

Minyak jelantah adalah minyak yang dihasilkan dari sisa penggorengan, baik dari minyak kelapa maupun minyak sawit. Minyak jelantah dapat menyebabkan minyak menjadi berasap atau berbusa pada saat penggorengan, menyebabkan minyak berubah warna menjadi warna coklat, serta memiliki rasa yang tidak enak dari makanan yang digoreng dengan menggunakan minyak jelantah tersebut (Hambali *et al.*, 2007).

Dalam proses penggorengan terdapat beberapa reaksi yang terjadi, yaitu reaksi *autooksidasi*, *thermal oksidasi*, dan *thermal polimerasi*. Proses *autooksidasi* terjadi selama proses penggorengan ketika minyak goreng bereaksi dengan oksigen. Proses *thermal oksidasi* terjadi karena ada pemanasan dengan suhu yang tinggi dan berkontak langsung dengan oksigen. Proses *thermal polimerasi* terjadi karena pemanasan dengan suhu yang tinggi dan menghasilkan produk dengan berat molekul lebih tinggi daripada sebelumnya (Ketaren, 2008).

Mekanisme reaksi-reaksi kimia yang terjadi akan menghasilkan senyawa lipid peroksida. Lipid peroksida menyebabkan spektrum yang luas dari komponen volatile atau zat menguap pada minyak

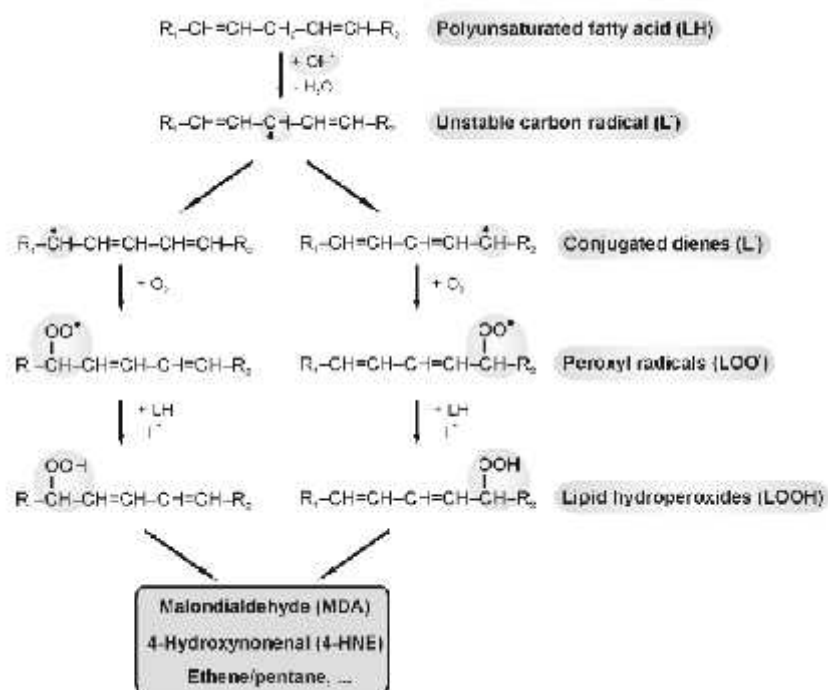
goreng dan nonvolatile atau zat yang tidak menguap pada minyak goreng, yang melibatkan asam lemak bebas, alkohol, aldehid, keton, hidrokarbon, trans isomer, siklik dan komponen *epoxy*. Sebagai hasilnya, ketika minyak di gunakan berulang secara berlebihan menyebabkan rekasi kimia tersebut berubah bentuk, sehingga warna menjadi gelap, peningkatan viskositas dan rasa yang tidak enak. Meskipun reaksi kimia disebabkan karena penggunaan suhu yang kompleks, tetapi hal tersebut juga dipengaruhi yang lainnya. Minyak yang terpapar oleh oksigen pada suhu yang tinggi dapat meningkatkan oksidasi dari *triacylglyceride* dan membentuk hidroperoksida. Hidroperoksida adalah senyawa yang tidak stabil dan dengan cepat terurai menjadi radikal bebas atau lipid peroksida. Mekanisme yang terjadi disebut autoksidasi. Autoksidasi menjadi mekanisme utama terbentuknya lipid peroksida (Leong *et al.*, 2015).



Gambar 2. Perbandingan Penampakan Minyak Goreng Jelantah dengan Minyak Goreng (<http://www.usedoil.org/>)

2.1.6 Lipid peroksidasi

Lipid peroksidasi adalah proses kompleks yang diketahui terjadi pada tumbuhan dan hewan. Hal tersebut melibatkan bentuk dan perkembangan dari lipid radikal, pengambilan oksigen, penyusunan kembali ikatan rangkap pada lemak tak jenuh dan terkadang menyebabkan kerusakan pada membran lipid dengan menghasilkan beberapa produk pengurai, yaitu alkohol, keton, *alkanes*, aldehid dan eter (Dianzani dan Barrera, 2008).



Gambar 3. Mekanisme Perubahan *Polyunsaturated Fatty Acid* menjadi Lipid Peroksida dan Produknya (Silva dan Coutinho, 2010)

Berdasarkan gambar 3 bahwa tahapan pertama dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bertindak sebagai perusak sel adalah peroksida yang terdapat pada komponen selular membran, yaitu membran lipid yang disebut sebagai lipid peroksida. Proses ini menyebabkan ROS bertindak mempengaruhi degradasi oksidatif pada komponen dari membran fosfolipid selular, seperti PUFA. Pada tahap pertama dari lipid peroksidasi, ROS melepaskan atom hidrogen dari ikatan PUFA, diikuti oleh pengurangan ROS dalam air dan perubahan asam lemak menjadi radikal bebas. Radikal ini berasal dari ikatan asam lemak berubah menjadi radikal peroksil. Radikal peroksil yang terbentuk memiliki kebiasaan untuk melepaskan atom hidrogen dari PUFA yang lain menjadi lipid peroksida (Yara *et al.*, 2013).

Lipid peroksida mengalami kehilangan kesetabilan dan akan terurai menjadi radikal bebas. Lipid peroksida di metabolisme melalui jalur β -oksidasi untuk menjadi *malondialdehyde* (MDA) dan 4-*hidroksinonenal* (4-HNE). Komponen lain dari membran seluler, seperti aminoacid atau protein, juga termasuk kedalam proses lipid peroksidasi, akan tetapi berbeda dari lipid peroksida, kecepatan reaksi aminoacid atau protein sangat lambat (Yara *et al.*, 2013).

Hasil dari metabolisme lipid peroksida adalah MDA dan 4HNE yang digunakan sebagai indikator ROS dan berkaitan erat dengan kerusakan jaringan di beberapa organ termasuk lambung dan usus. Produk tersebut memodifikasi beberapa membran seluler sehingga menyebabkan tertariknya grup polar menjadi molekul fosfolipid di

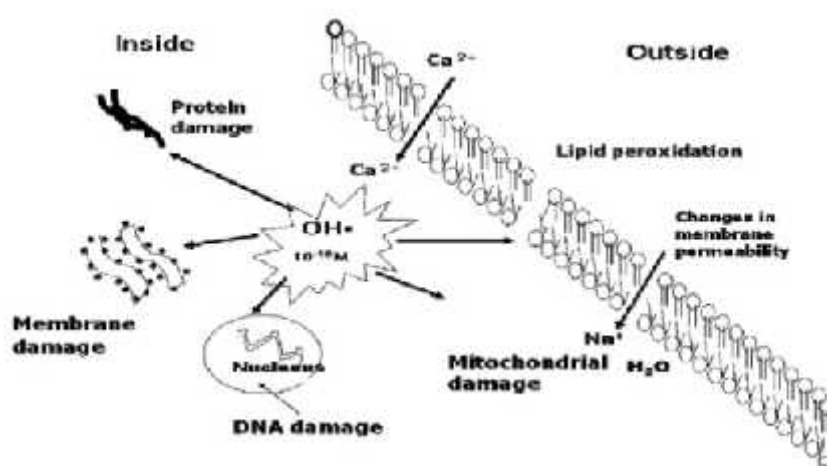
dalam lipid bilayer, jalur internal lipid ini menyebabkan membran menjadi lebih hidrofobik dan permeabel. *4-hidroksinonenal* juga menunjukkan pengaruhnya dalam merusak fungsi membran selama stress oksidatif berlangsung. Hasil metabolisme lipid peroksida ini mempunyai peranan dalam proses patogenesis dari beberapa penyakit seperti aterosklerosis, alzheimer dan *peptic ulcer* (Kwiecien *et al.*, 2014).

Pada penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan sel monolayer yaitu sel yang mirip dengan gambaran usus halus kemudian diinduksi oleh lipid peroksida didapatkan hasil yaitu terjadinya proses inflamasi pada sel-sel tersebut (Yara *et al.*, 2013). Kerusakan yang terjadi memberikan gambaran deskuamasi pada vili-vili usus halus (Mustika, 2015).

2.1.7 *Reactive Oxygen Species*

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan produk metabolisme aerobik yang pada umumnya di produksi secara normal oleh sel. *Reactive Oxygen Species* berfungsi sebagai sinyal molekuler dalam memodulasi ekspresi gen dan pertumbuhan sel. Akan tetapi, produksi ROS yang sangat banyak akan menyebabkan stress oksidatif. Hal tersebut sebagai pemicu terjadinya kerusakan sel oleh oksidasi struktur makromolekuler yaitu lipid, protein dan DNA, sehingga dapat menyebabkan kematian pada sel tersebut. Salah satu contoh dari senyawa ROS adalah peroksida, superoksida dismut dan hidrogen (Yara *et al.*, 2013).

Reactive Oxygen Species merupakan pemicu penyusunan dan aktivasi sistem inflamasi yang merupakan kompleks multiprotein sitoplasmik yang terlibat dalam memediasi inflamasi sel sehingga mampu merespon beberapa agen perusak. Mitokondria dipercaya menjadi sumber utama dalam mengaktivasi sistem inflamasi berdasarkan ROS, meskipun terdapat sumber yang lainnya. Selain mengakibatkan teraktivasinya sistem inflamasi, ROS juga memainkan peranan dalam menghambat proses *mitophagy* yaitu proses penghapusan mitokondria yang rusak. Oleh karena itu, kerusakan mitokondria akan terus berlangsung tanpa adanya penghapusan mitokondria yang rusak, sehingga produksi ROS semakin meningkat dan terus mempengaruhi proses inflamasi. Sel yang mengandung mitokondria rusak kemungkinan dapat mengalami apoptosis, seperti yang terlihat pada gambar 3 (Alfadda dan Sallam, 2012).



Gambar 4. Mekanisme Kerusakan Membran Akibat Lipid Peroksidasi (Repetto *et al.*, 2012)

Lipid peroksidasi bisa digambarkan secara umum sebagai suatu proses dimana oksidan seperti radikal bebas dan non radikal menyerang karbon-karbon ikatan rangkap lipid, terutama *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dengan penyisipan oksigen menghasilkan radikal lipid peroksida dan hidroperoksida (Ayala *et al.*, 2014). Ketika komponen oksidan menargetkan sebuah lipid, komponen tersebut akan menginisiasi proses lipid peroksidasi, ikatan reaksi yang di produksi mengalami perubahan menjadi MDA dan 4-HNE. Hampir beberapa substrat, protein dan DNA merupakan partikel yang rentan untuk mengalami modifikasi karena pengaruh aldehyd. MDA dan 4-HNE memiliki peranan dalam beberapa proses seluler, yaitu dapat menyebabkan meningkatnya reaksi silang dari protein/DNA intramolekular atau intermolekuler. Dengan meningkatkan reaksi silang dari protein/DNA intramolekular dapat mempengaruhi komponen biokimia biomolekuler sel. (Ayala *et al.*, 2014).

2.2 Kerangka Teori

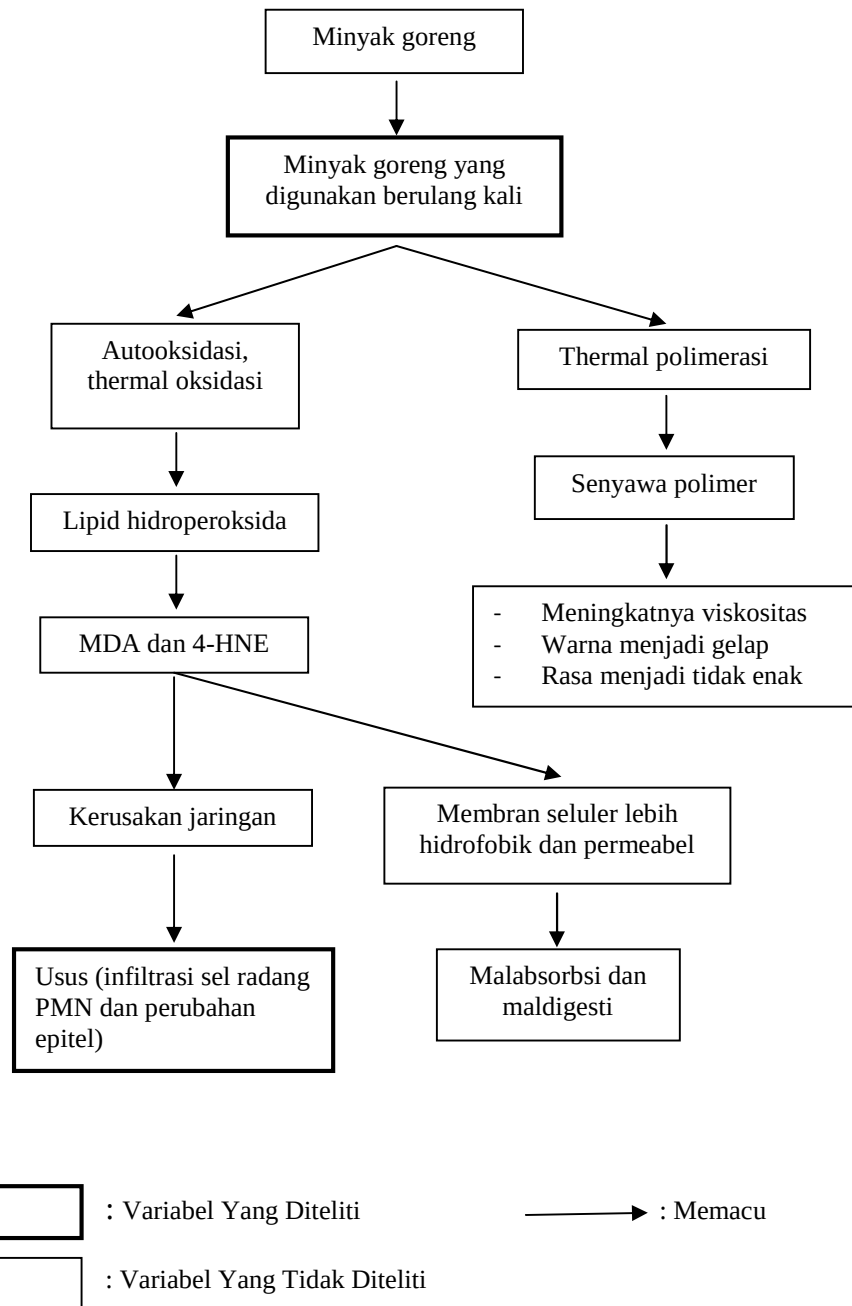
Minyak goreng adalah minyak yang berasal dari lemak tumbuhan yang dimurnikan dalam bentuk cair pada suhu kamar, biasanya digunakan untuk menggoreng bahan makanan (Ketaren, 2008). Minyak jelantah adalah minyak yang dihasilkan dari sisa penggorengan, baik dari minyak kelapa maupun minyak sawit. Minyak jelantah dapat menyebabkan minyak menjadi berasap atau berbusa, berubah warna menjadi warna coklat, serta memiliki rasa yang

tidak enak dari makanan yang digoreng dengan menggunakan minyak jelantah tersebut (Hambali *et al.*, 2007).

Dalam proses penggorengan terdapat beberapa reaksi meliputi reaksi *autooksidasi*, *thermal oksidasi*, dan *thermal polimerasi* (Ketaren, 2008). Minyak yang terpapar oleh oksigen pada suhu yang tinggi dapat meningkatkan oksidasi dari *triacylglyceride* dan membentuk hidroperoksida yang bersifat tidak stabil dan cepat terurai menjadi radikal bebas atau lipid peroksida. Mekanisme yang terjadi disebut autoksidasi. Autoksidasi menjadi mekanisme utama terbentuknya lipid peroksida (Leong *et al.*, 2015).

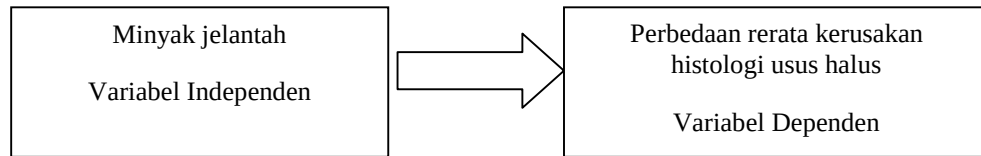
Lipid peroksidasi menyebabkan kerusakan membran lipid dengan menghasilkan beberapa produk pengurai, yaitu alkohol, keton, *alkanes*, aldehid dan eter (Dianzani dan Barrera, 2008). Lipid peroksida mengalami kehilangan kesetabilan dan akan terurai menjadi radikal bebas. Lipid peroksida di metabolisme melalui jalur β -oksidasi untuk menjadi *malondialdehyde* (MDA) dan *4-hidroksinonenal* (4-HNE) (Yara *et al.*, 2013). Hasil dari metabolisme tersebut digunakan sebagai indikator ROS dan berkaitan erat dengan kerusakan jaringan termasuk lambung dan usus berupa inflamasi (Kwiecien *et al.*, 2014; Yara *et al.*, 2013).

Reactive Oxygen Species juga memainkan peranan dalam menghambat proses *mitophagy* yaitu proses penghapusan mitokondria yang rusak. Oleh karena itu, kerusakan mitokondria akan terus berlangsung, sehingga produksi ROS semakin meningkat dan mempengaruhi proses inflamasi. Sel yang mengandung mitokondria rusak kemungkinan dapat mengalami apoptosis (Alfadda dan Sallam, 2012).



Gambar 5. Kerangka Teori Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Perbedaan Rerata Kerusakan Gambaran Histologi Usus Halus Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* (Yara *et al.*, 2013; Kwiecien *et al.*, 2014; Alfadda & Sallam, 2012; Sudoyo *et al.*, 2009 dan Ulrike *et al.*, 2014).

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Perbedaan Rerata Kerusakan Gambaran Histologi Usus Halus Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

2.4 Hipotesis

Ho : Tidak ada pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi usus halus tikus.

H1 : Terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus tikus.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yaitu penelitian yang dilakukan dengan membandingkan hasil pada kelompok kontrol dan perlakuan, pengambilan data dilakukan pada akhir penelitian setelah dilakukan perlakuan.

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemeliharaan dan pemberian intervensi dilakukan di *pet house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat dan pengamatan dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret 2018- Mei 2018.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 8-10 minggu dan memiliki berat 200-250 gram yang diperoleh dari Palembang Tikus Center. Sampel penelitian

sebanyak 28 ekor yang dipilih secara acak yang dibagi menjadi 5 kelompok, sesuai dengan rumus Federer, yaitu:

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

t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel disetiap kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga dapat dijelaskan pada perhitungan ini :

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi, jumlah sampel pada tiap kelompok berjumlah 5 ekor ($n \geq 4,75$) dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 5 kelompok sehingga pada penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih dari populasi yang ada. Mengantisipasi *drop out* pada eksperimental maka dapat dilakukan koreksi dengan menggunakan rumus berikut:

$$N = n/(1-f)$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f =Perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

Sehingga,

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 5/(1-10\%)$$

$$N = 5/0,9$$

$$N = 5,55$$

Jadi sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor dengan masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor (N=5,55) tikus. Kelompok 1 (K) sebagai kelompok kontrol sedangkan kelompok 2 (P1), kelompok 3 (P2), kelompok 4 (P3) dan kelompok 5 (P4) sebagai kelompok perlakuan.

Kriteria inklusi:

- 1) Memiliki berat badan 200-250 gram.
- 2) Sehat (tidak tampak penampakan rambut rontok, kusam, botak dan bergerak aktif).

Kriteria eksklusi:

- 1) Terdapat penurunan berat badan dari 10% setelah masa adaptasi.
- 2) Sakit (keluarnya eksudat yang abnormal dari lubang anus, mata dan genital, penampakan rambut kusam, rontok atau botak, aktivitas kurang atau tidak aktif).

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik Metler Toledo dengan tingkat ketelitian 0,01 gram, spuit oral 3 cc, kompor, penggorengan, gelas ukur, minor set dan mikrotom. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak goreng curah kemasan dengan merk yang sama dan sudah digunakan untuk menggoreng 7 tahu yang berukuran 3,5 x 3,5 x 2,5 cm³ dengan lama penggorengan 6 menit dan diulang sebanyak 1x, 4x, 8x dan 12x penggorengan dengan tahu yang baru, air minum, pelet, ketamine-xylazine, alkohol 70% dan 96% dan pewarna Hematoksin dan Eosin (H&E).

3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Opeasional Variabel

3.5.1 Identifikasi Variabel

- 1) Variabel bebas adalah pemberian minyak jelantah.
- 2) Variabel terikat adalah perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus tikus.

3.5.2 Definisi Operasional

Definisi operasional variabel pada pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus tikus putih jantan galur *Spague dawley* tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Perbedaan Rerata Kerusakan Gambaran Histologi Jaringan Usus Halus Tikus Putih Jantan Galur *Sprague dawley*

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Pemberian minyak jelantah per oral	Frekuensi pemakaian minyak goreng berulang yang berasal dari minyak kemasan: K= tidak diberi minyak P1= 1x penggorengan P2= 4x penggorengan P3= 8x penggorengan P4= 12x penggorengan	Sprit 3 cc dan sonde	Pemberian minyak goreng yang telah dipakai untuk menggoreng tahu sebanyak 1x, 4x, 8x dan 12 x penggorengan ke tikus putih jantan galur <i>Sprague dawley</i> dengan dosis 1,5 mL	Ordinal
Rerata kerusakan gambaran histologi usus halus	Rerata skor presentase penilaian kerusakan gambaran histologi usus halus tikus putih jantan galur <i>Sprague dawley</i> yang dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya	Mikroskop cahaya	Infiltrasi PMN 0= tidak ada infiltrasi PMN 1= infiltrasi PMN di mukosa 2= infiltrasi PMN di submukosa 3= infiltrasi PMN di transmural Kerusakan epitel 0= epitel tidak mengalami perubahan 1= epitel mengalami erosi 2= epitel mengalami kriptitis 3= epitel mengalami abses kriptis Skoring kerusakan histologi jaringan usus halus diambil dari kerusakan tertinggi kemudian dihitung dari skor infiltrasi PMN dan skor kerusakan epitel dengan total skor kerusakan yaitu 0-6 untuk setiap lapang pandang (Ulrike,2014)	Ordinal

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pemilihan Tikus

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tikus ini digunakan sebagai hewan coba karena merupakan mamalia yang memiliki metabolisme mirip dengan manusia dan lebih tenang sehingga mudah untuk ditangani. Akan tetapi, manusia memiliki keberagaman jenis makanan yang dimakan, sehingga kondisi yang didapatkan pada penelitian ini kemungkinan akan berbeda dengan kenyataan pada manusia. Namun tikus ini memiliki kesamaan yang paling tepat dengan manusia. Tikus yang dipilih pada penelitian ini memiliki usia 8-10 minggu, berjenis kelamin jantan dan memiliki berat badan 200-250 gram. Usia 8-10 minggu merupakan golongan dewasa pada tikus sehingga organ yang ada di dalam tubuh tikus sudah berfungsi dengan baik dan golongan tikus dewasa ini rata-rata memiliki berat badan 200-250 gram. Pemilihan tikus jantan karena tikus tersebut tidak dipengaruhi oleh hormonal dan kehamilan sehingga tidak berpengaruh pada hasil penelitian (Akhtar, 2012).

3.6.2 Adaptasi Tikus

Tikus yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 ekor. Tikus tersebut dibagi ke dalam 5 kandang dan diadaptasi selama satu minggu sebelum dilakukan perlakuan. Selama masa adaptasi tikus diberi makan pelet dan minum secara *ad libitum*. Berat badan tikus ditimbang sebelum dilakukan percobaan.

3.6.3 Persiapan Minyak Jelantah

Minyak yang terpapar oleh oksigen pada suhu yang tinggi dapat meningkatkan oksidasi dari triacylglyceride dan membentuk hidroperoksida. Hidroperoksida merupakan senyawa yang tidak stabil dan mudah terurai untuk menjadi radikal bebas (Leong *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya bahwa minyak yang telah digunakan untuk menggoreng sebanyak 4-8 kali dapat menimbulkan kerusakan bagi organ tikus (Shastry *et al.*, 2011). Sedangkan pada penelitian yang menggunakan minyak jelantah dengan dosis 1,5ml/hari dapat menyebabkan kerusakan pada usus halus tikus (Zhou *et al.*, 2016). Oleh karena itu, pada penelitian ini peneliti memakai minyak yang sudah digunakan untuk menggoreng tahu sebanyak 1x, 4x, 8x dan 12x dengan dosis 1,5ml/hari untuk melihat gambaran histologi pada usus halus tikus.

3.6.4 Prosedur Pemberian Intervensi

Pemberian intervensi dilakukan pada kelompok perlakuan selama 28 hari (Azzahra, 2016). Kelompok 1 (K) sebagai kelompok kontrol yang hanya akan diberikan aquades. Kelompok 2 (P1) sebagai kelompok perlakuan coba yang diberikan minyak dengan lama penggorengan sebanyak 1x dan dengan dosis 1,5ml/hari. Kelompok 3 (P2) sebagai kelompok perlakuan coba yang diberikan minyak dengan lama penggorengan sebanyak 4x dan dengan dosis 1,5ml/hari. Kelompok 4 (P3) sebagai kelompok perlakuan coba yang diberikan minyak dengan lama penggorengan sebanyak 8x dan dengan dosis

1,5ml/hari. Kelompok 5 (P4) sebagai kelompok perlakuan coba yang diberikan minyak dengan lama penggorengan sebanyak 12x dan dengan dosis 1,5ml/hari.

3.6.5 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian

Pada akhir penelitian tikus akan dianastesi dengan menggunakan *ketamine-xylazine* dengan dosis 75-100 mg/kg + 5-10 mg/kg secara intraperitoneal dengan durasi selama 10-30 menit. Setelah itu akan dilakukan dislokasi servikal untuk menterminasikan tikus.

3.6.6 Prosedur Pembedahan Usus Halus

Pembedahan pada tikus dilakukan untuk mengambil bagian usus halus tikus dan akan dibuat sediaan mikroskopis. Pembuatan sediaan mikroskopis dengan menggunakan blok paraffin dan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE). Sampel usus difiksasi dengan formalin 10%.

3.6.7 Prosedur Operasional Pembuatan Slide

1) Fixation

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

2) Trimming

- a) Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm.
- b) Potongan organ tersebut dimasukkan kedalam *tissue cassette*.

3) Dehidrasi

a) Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.

b) 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

4) *Clearing*

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

5) *Impregnansi*

Impregnansi dilakukan dengan menggunakan parafin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C.

6) *Embedding*

a) Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.

b) Paraffin cair disiapkan dengan memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu di atas 58°C.

- c) Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
- d) Dipindahkan satu per satu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
- e) Pan dimasukkan ke dalam air.
- f) Paraffin yang berisi potongan hepar dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6⁰C beberapa saat.
- g) Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
- h) Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya dan dibuat ujungnya sedikit meruncing.

7) *Cutting*

- a) Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
- b) Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
- c) Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
- d) 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.
- e) Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* pada suhu 60⁰C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.

- f) Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
- g) *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (Suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.
- h) *Straining* (Pewarnaan) dengan Prosedur Pulasan

8) *Hematoksin–Eosin*:

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

- a) Dilakukan deparafinisasi dalam:
 - Larutan xylol I selama 5 menit
 - Larutan xylol II selama 5 menit
 - Ethanol absolut selama 1 jam
- b) Hydrasi dalam:
 - Alkohol 96% selama 2 menit
 - Alkohol 70% selama 2 menit
 - Air selama 10 menit
- c) Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - Harris hematoksin selama 15 menit
 - Air mengalir
 - Eosin selama maksimal 1 menit
- d) Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
 - Alkohol 70% selama 2 menit

- Alkohol 96% selama 2 menit
- Alkohol absolut 2 menit

e) Penjernihan:

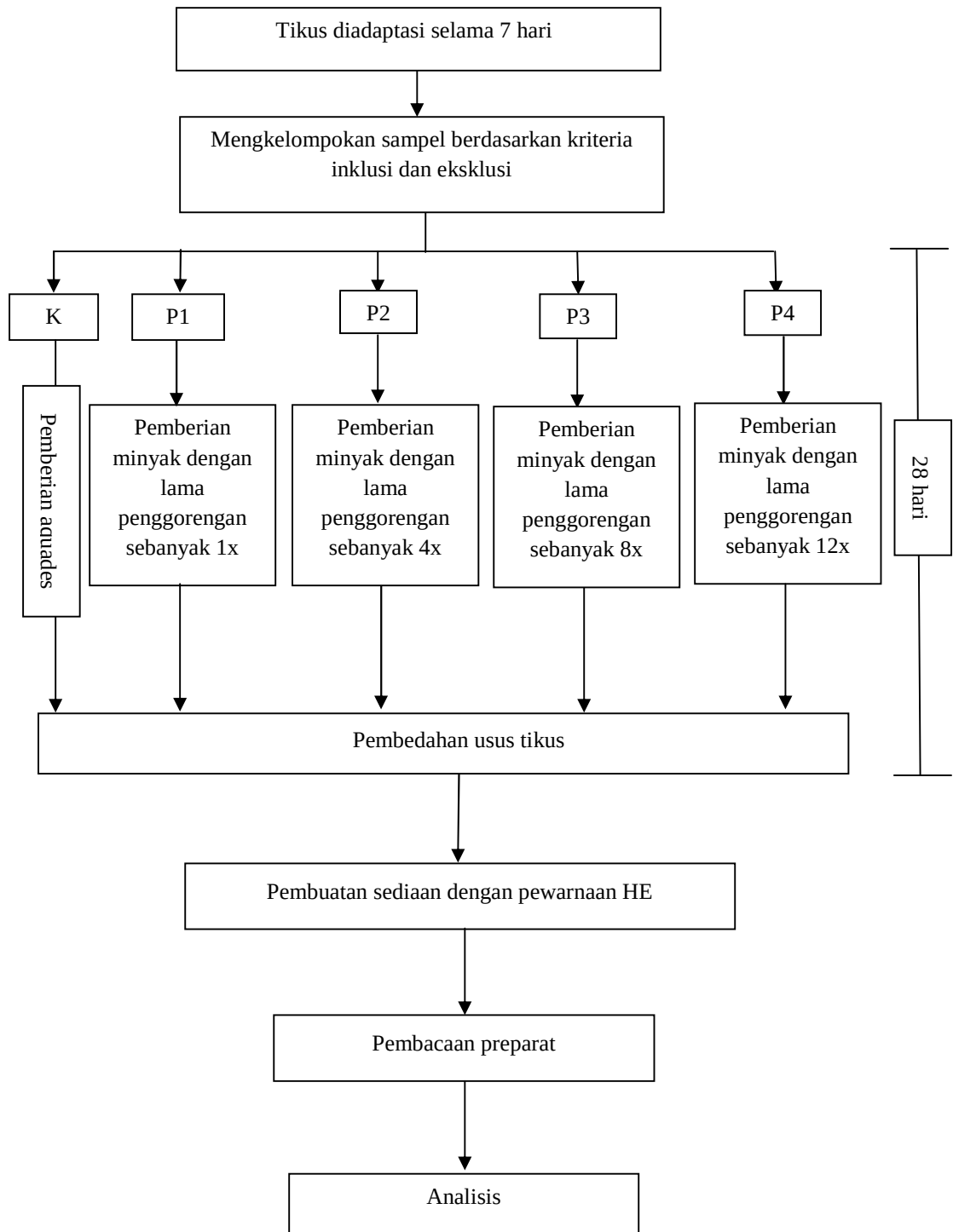
- Xylol I selama 2 menit
- Xylol II selama 2 menit

9) *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.

10) *Slide* dibaca dengan mikroskop

Slide dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dan dibaca oleh peneliti dibawah supervisi dr. Riki Hanriko, Sp. PA Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.



Gambar 7. Diagram Alur Penelitian

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan kerusakan histologi usus halus di bawah mikroskop merupakan skala ordinal yang kemudian diuji dengan menggunakan *software* analisis statistik. Hasil penelitian ini dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Varian data dari uji tersebut didapatkan data yang tidak terdistribusi normal maka dilakukan transformasi data, apabila setelah dilakukan transformasi masih didapatkan varian data yang tidak terdistribusi normal maka digunakan uji non parametrik *Kruskal-walls*, hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antara 2 kelompok maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

3.8 Ethical Clearance

Penelitian ini telah diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan mendapat surat etik dengan nomer 1171/UN26.18/PP.05.02.00/2018.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi jaringan usus halus tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

5.2 Saran

1. Peneliti lain disarankan melakukan penelitian yang lebih lanjut dengan /mengukur nilai asam lemak bebas dan nilai peroksida minyak jelantah.
2. Peneliti lain disarankan melakukan penelitian yang lebih lanjut dengan melihat pengaruh minyak jelantah terhadap organ lain.
3. Peneliti lain disarankan untuk meneliti potensi zat-zat yang dapat mencegah kerusakan organ usus halus dari pengaruh minyak jelantah.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar A. 2012. Animal in public health. Amerika Serikat: Palgrave Macmilan
- Alfadda AA dan Sallam RM. 2012. Reactive oxygen species in health and disease. *Natl. Med. J. India.* 13(6):304–310. <http://doi.org/10.1155/2012/936486>
- Astria PN, AJM Rattu, JVS Sinolungan. 2014. Hubungan antara pengetahuan tentang bahaya penggunaan minyak jelantah dan pendapatan dengan tindakan penggunaan minyak jelantah pada ibu rumah tangga di desa poigar III kecamatan poigar kabupaten bolaang mongondow. Universitas Sam Ratulangi
- Ayala A, Mario FM dan Sandro A. 2014. Lipid peroxidation : production, metabolism, and signaling mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 1(1):1–31.
- Ayu A, Farida R dan Saifudin Z. 2015. Pengaruh penggunaan berulang minyak goreng terhadap peningkatan kadar asam lemak bebas dengan metode alkalimetri. *Cerata journal Of Pharmacy Science.* 6(6):1–7.
- Ayu DF, Hamzah FH. 2010. evaluasi sifat fisik-kimia minyak goreng yang digunakan oleh pedagang makanan jajanan di Kecamatan Tampan Kota Pekanbaru. *Sagu.* 9(1):4-14
- Azzahra F. 2016. Pengaruh Pemberian Minyak Goreng Deep Fraying Terhadap Gambaran Histopatologi Tikus Putih Strain Wistar. [Tesis]. Universitas Muhamadiyah Malang
- Choe E, Min DB. 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. *JFST.* 69:574-578
- Dianzani M dan Barrera G. 2008. Pathology and Physiology of lipid peroxidation and its carbonyl products. *Free Radical Pathophysiology.* 1(1):19–38.
- Goswani G, Bora R, Rathore MS. 2015. Oxidation of cooking oils due to frying and human health; September 2015; New Delhi. India. India: International Conference of Science, Technology and Management.
- Guillen MD, dan Patricia SUPS. 2012. Aldehydes contained in edible oils of a very different nature after prolonged heating at frying temperature: presence of toxic oxygenated α,β unsaturated aldehydes. *Food Chem.* 131(3).

- Hambali E, Siti M, Armansyah T, Abdul WP, dan Roy HR. 2007. Teknologi Bioenergi. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Ilmi 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
- Kamisah Y, Shamil S, Nabillah MJ, Kong SY, Hamizah NAS, Qodriyah HMS *et al.* 2012. Deep-fried Keropok lekors Increase Oxidative Instability in cooking oils. Malays J Medl Sci. 19(4):57-62
- Ketaren. 2008. Minyak dan Lemak Pangan. Universitas Indonesia Press.
- King TC. 2007. Pathology. Philadelphia: Elsvier's Intergrated
- Kumar S, Negi S. 2014. Transformation of waste cooking oil into C-18 fatty acids using a novel lipase produced by penicillium chrysogenum through solid state fermentation. 3 Biotech. 5:847-851
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. Buku ajar patologi. Edisi ke-7. Jakarta: EGC
- KwiecienS, Jasnok K, Magierowski M, Sliwowski Z, Pajdo R, dan Jagiellonian P. 2014. Review article lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. J Physiol Pharmacol. 65(5):613–622.
- Leong XF, Ng CY, Jaarin K dan Mustafa MR. 2015. Effects of repeated heating of cooking oils on antioxidant content and endothelial function. Austin Journal of Pharmacology and Therapeutics. 3(2):1–7.
- Mescher AL. 2011. Histologi Dasar Junqueira : teks & atlas. Jakarta: EGC.
- Murhadi. 2008. Aspek Kimia dan Fisik Minyak dan Lemak Pangan. Lampung: Universitas Lampung.
- Mustika. 2015. Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Gambaran Histopatologi Usus dan Pankreas Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). Aceh: Universitas Syah Kuala.
- Naito Y, Suematsu M, Yoshikawa T. 2011. Free radical and lipid peroxidation. Free Radical Biology in Digestive Diseases. 29(1):1–11.
- Nurfadhilah LD, Sri AN dan SM Agistini. 2013. Pengaruh pemberian minyak goreng *deep frying* terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih strain wistar. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang. 9 (1)
- Repetto M, Jimena S dan Alberto B. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. Lipid Peroxidation. 3–30. <http://doi.org/10.5772/2929>

- Rock KL, Kono H. 2011. The inflammatory response to cell death. *NIH*.3:99-126
- Sabarella, Wieta BK, Sri W, Megawaty M, Sehusman, Yani S. 2016. Buletin Konsumsi Pangan. Pusat Data Dan Sistem Informasi Pertanian.7(1):13.
- Shastri CS, Patel NA, Joshi H, dan Aswathanarayana BJ. 2011. Evaluation of effect of reused edible oils on vital organs of wistar rats. *NUJHS*. 1(4):10-5.
- Silva JP dan Coutinho OP. 2010. Free radicals in the regulation of damage and cell death – basic mechanisms and prevention.4(3):144–167.
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 5. Jakarta: Interna.
- Ulrike E, Christoph L, Katja D, Simone S, Dirk H, Markus MH, *et al.* 2014. A Guide to Histomorphological Evaluation of Intestinal Inflammation in Mouse Models. 7 (8): 1-21.
- Used Cooking Oil Buyer [diunduh 25 November 2017]. Tersedia dari <http://www.usedoil.org>.
- Victor E. 2010. Atlas Histologi diFiore : dengan korelasi fungsional. Jakarta: EGC.
- Yara S, Jean CL, Jean F, Ois B, Edgard D, Devendra A, *et al.* 2013. Iron-Ascorbate-Mediated Lipid Peroxidation Causes Epigenetic Changes in the Antioxidant Defense in Intestinal Epithelial Cells: Impact on Inflammation. *PLoS ONE*.8(5):1–11. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0063456>
- Zhou Z, Yuyang W, Yumei J, Yongjia D, Padraig S, Paul P, et al. 2016. Deep-fried oil consumption in rats impairs glycerolipid metabolism, gut histology and microbiota structure. 15(86):1-11.
- Zweier JL, Talukder MAH. 2006. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Lipid in Health and Disease*. 70:181-190.