

**PENGARUH PEMBERIAN AIR LEMON (*Citrus limon*) PADA GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIBERI MINYAK JELANTAH**

**Skripsi**

**Oleh  
SITI RAQIYA RASYID**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN AIR LEMON (*Citrus limon*) PADA GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIBERI MINYAK JELANTAH**

Oleh  
**SITI RAQIYA RASYID**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada**

**Fakultas Kedokteran  
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

## ABSTRACT

### **EFFECT OF LEMON WATER (*Citrus limon*) TO CORONARY ARTERY HISTOPATHOLOGY OF MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) STRAIN *Sprague dawley* GIVEN BY REUSED COOKING OIL**

By

**SITI RAQIYA RASYID**

**Background:** The use of cooking oil increases with the years, so often cooking oil is used repeatedly (used cooking oil). The consumption of used cooking oil can increase the levels of free radicals and fatty acids in the body which can cause vascular endothelial dysfunction and excessive free fatty acids in the blood will easily attach to the inner walls of blood vessels. There are many ways to reduce the effect of used cooking oil. one of them is by giving lemon water

**Objective:** To know the effect of lemon water to coronary artery histopatology of male white rats given by reused cooking oil.

**Method:** The type of this research is pure laboratory experimental design with post test only control group designs. The population was 8-10 weeks old with 20 male rat samples strain *Sprague dawley* divided into 4 experimental groups.

**Result:** In this study a significant group was found in all groups with an analysis test using Kruskal Wallis with the results obtained p value  $<0.05$ , which was K0: 0,028,K-:0,028,P1: 0,028, and P2: 0,047.

**Conclusion:** There is an effect of giving used cooking oil to the histopathology picture of coronary artery and there is an effect of giving lemon water to the histopathology picture of coronary artery of male *Sprague dawley* white rats (*Rattus norvegicus*) who have been given used cooking oil

Keyword : Lemon water, Reused cooking oil, Coronary artery lumen diameter

## ABSTRAK

### **PENGARUH PEMBERIAN AIR LEMON (*Citrus limon*) PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIBERI MINYAK JELANTAH**

Oleh

**SITI RAQIYA RASYID**

**Latar Belakang:** Penggunaan minyak goreng semakin meningkat seiring bertambahnya tahun., hingga seringkali minyak goreng di gunakan secara berulang (minyak jelantah). Konsumsi minyak jelantah dapat meningkatkan kadar radikal bebas dan asam lemak dalam tubuh yang dapat menyebabkan disfungsi endotel pembuluh darah dan asam lemak bebas yang berlebihan dalam darah akan mudah melekat pada dinding bagian dalam pembuluh darah. Ada banyak cara untuk mengurangi pengaruh minyak jelantah salah satunya adalah dengan pemberian air lemon.

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh pemberian air lemon (*Citrus limon*) terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi minyak jelantah.

**Metode:** Jenis penelitian ini adalah desain eksperimental metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only control group designs*. Populasi berupa tikus putih jantan galur *Sprague dawley* berjumlah 24 ekor yang berusia 8-10 minggu dibagi kedalam 4 kelompok percobaan.

**Hasil:** Pada penelitian ini kelompok bermakna terdapat pada semua kelompok dengan uji analisis menggunakan *Kruskal Wallis* dengan hasil didapatkan nilai  $p < 0,05$  yaitu  $K0: 0,028, K-: 0,028, P1: 0,028,$  dan  $P2: 0,047$ .

**Kesimpulan:** Terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria dan terdapat pengaruh pemberian air lemon terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberi minyak jelantah.

Kata Kunci : Air lemon, Minyak jelantah, Diameter lumen arteri koronaria

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN AIR LEMON  
(*Citrus limon*) PADA GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI ARTERI  
KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus  
norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague  
dawley* YANG DIBERI MINYAK  
JELANTAH**

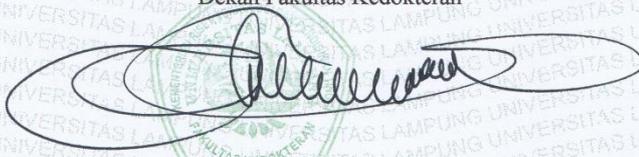
Nama Mahasiswa : Siti Raqiya Rasyid  
Nomor Pokok Mahasiswa : 1418011204  
Program Studi : Pendidikan Dokter  
Fakultas : Kedokteran

**MENYETUJUI**  
Komisi Pembimbing

  
**Dr.dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**  
NIP 197808052005012003

  
**Dr.dr. Ety Apriliana, S.Ked., M.Biomed**  
NIP 197804292002122002

**MENGETAHUI**  
Dekan Fakultas Kedokteran

  
**Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes., Sp.PA**  
NIP 197012082001121001

**MENGESAHKAN**

1. **Tim Penguji**

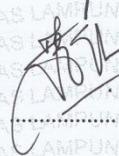
**Ketua : Dr.dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**



**Sekretaris : Dr.dr. Ety Apriliana, S.Ked., M.Biomed**



**Penguji  
Bukan pembimbing : dr.Rizki Hanriko, S.Ked, Sp.PA**



2. **Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes., Sp.PA**  
NIP 197012082001121001

Tanggal Ujian Skripsi: 12 Maret 2019

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siti Raqiya Rasyid  
NPM : 1418011204  
Tempat, Tanggal Lahir : Kotabumi, 10 Juni 1996  
Alamat : Jalan Bumi Harta, Tanjung Senang Cluster Blok  
A1, Tanjung Senang

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Air Lemon (*Citrus limon*) Pada Gambaran Histopatologi Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* Yang Diberi Minyak Jelantah” adalah benar hasil karya peneliti, bukan hasil menjiplak atau hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ternyata ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas, maka saya bersedia bertanggung jawab dan disanksi sesuai dengan pernyataan berlaku. Demikian pernyataan peneliti ini dibuat dengan sebenarnya

Bandar Lampung, April 2019



Siti Raqiya Rasyid

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Kotabumi, Lampung Utara pada tanggal 10 Juni 1996 sebagai anak sulung dari tiga bersaudara dari bapak Azwar Yazid dan ibu Rohani.

Pendidikan penulis dimulai di Taman Kanak-Kanak (TK) Ibnu Rusyd kota Kotabumi, dilanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SDN 4 Tanjung Aman yang diselesaikan pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 7 Kotabumi yang diselesaikna pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 3 Kotabumi yang diselesaikan pada tahun 2014.

Peneliti terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Peneliti aktif di PAKIS sebagai anggota pada tahun 2015 dan juga di Forum Silaturahmi Islam (FSI) IBNU SINA sebagai anggota.

*Kupersembahkan teruntuk mereka yang kusayang  
Ayah, Ibu juga kedua adikku  
Dan dirimu yang selalu berada disamping kami selama ini yang tahu  
tentang sisi gelapku selain Allah swt.  
Senri*

*In your hand, take this key. So long as you have the makings, then  
through this simple act of taking...its wielder you shall one day be. And you  
will find me, friend—no ocean will contain you then. No more borders  
around, or below, or above, so long as you champion the ones you love.*

*- Bequeathing -*

## SANWACANA

Puji syukur tak hentinya penulis ucapkan kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, atas rahmat dan nikmat jasmani, rohani, ilmu, iman, dan Islam sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam senantiasa tercurah pada nabi besar Muhammad Shalallahu'alaihi Wa Sallam beserta keluarga dan para sahabat yang telah mendahului kita. Semoga kita semua termasuk dalam umat beliau yang mendapat syafa'at kelak di hari akhir.

Skripsi dengan judul "*Pengaruh Pemberian Air Lemon (Citrus limon) Pada Gambaran Histopatologi Arteri Koronaria Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Sprague dawley Yang Diberi Minyak Jelantah*" disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penulis menyampaikan rasa hormat, cinta dan kasih sayang juga terima kasih yang tidak terhingga terhadap kedua orang tua penulis, ayahanda Ir. Azwar Yazid, MM, sosok motivator yang selalu mendukung dan mendoakan penulis dan ibunda Rohani wanita yang selalu mendoakan dan ridhonya salah satu alasan Allah SWT mengabulkan doa dan mempermudah dan memberi kelancaran dalam setiap

urusan penulis. Penulis juga mengucapkan rasa terima kasih dan sayang kepada kedua adik penulis M.Arkan Rasyid dan M.Farhan Rasyid.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes., Sp.PA., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr.dr.Susianti, S.Ked, M.Sc selaku Pembimbing Satu atas kesediannya memberikan bimbingan, saran, kritik dan juga motivasi kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
4. Dr.dr. Ety Apriliana, S.Ked, M.Biomed selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
5. dr.Rizki Hanriko, S.Ked, Sp.PA selaku Penguji Utama pada ujian skripsi. Terimakasih atas waktu, ilmu serta saran-saran yang telah diberikan
6. dr. Adityo Wibowo, S.Ked dan dr. Syahzili Mustofa, S.Ked, M.Biomed selaku Pembimbing Akademik penulis, terimakasih atas waktu, ilmu dan saran-saran yang telah diberikan kepada penulis selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung,
7. Bu Nuriyah dan Mas Bayu, yang telah membantu selama penelitian sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

8. Seluruh Staff Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, terimakasih atas semua ilmu dan pelajaran yang telah diberikan selama penulis menempuh pendidikan sehingga memudahkan penulis dalam mencapai cita-cita,
9. Orangtuaku Ir.Azwar Yazid, MM dan Rohani atas dukungan, doa, kerja keras dan motivasi yang senantiasa diberikan selama ini.
10. Kedua adikku M.Arkan Rasyid dan M.Farhan Rasyid atas dukungan dan motivasinya.
- 11 Senri, yang sudah bersama kami sejak kami masih kecil, yang selalu ada disisi kami dalam keadaan apapun sampai waktunya tiba nanti.
12. Salwa Darin Luqyana, Eva Narulita Kurnia Perdana, Monika Rai Islamiah, Summayah Annida, Fitri Sofiatin. Sosok teman, penasihat juga mentor yang mengajarkan penulis tentang cara bermasyarakat yang baik, juga tidak bosan-bosannya mengingatkan dan menarik kami dikala kami mulai menghilang.
13. Anak anak LCS: Ade, Aprina, Desti, Dhita, Diva. Fahma, Firdha, Sarah dan Tipan, yang telah membawaku menuju ke arah yang lebih baik.
14. Anak-anak Alysha Home: Ine, Nadia, Monik, Eva, Salwa, Febri, Lala, Rani, Veivei, Karen dan Oma, terimakasih atas dukungan, bantuan dan kebersamaan selama ini.
15. Keith Shawn yang menjadi patner dalam mengurus tikus-tikus penelitianku, terima kasih atas ilmu dan bantuannya selama ini.

16. CRAN14L 2014 yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terimakasih atas kebersamaan kita selama menempuh pendidikan preklinik, semoga kita selalu diberikan kemudahan dan kelancaran dalam menggapai cita-cita kita.

17. Kakak-kakak dan adik-adik tingkat: terimakasih telah membantu penulis dalam semua proses belajar selama menempuh pendidikan di FK Unila,

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Akan tetapi penulis berharap agar skripsi ini dapat digunakan sebaik-baiknya dan dapat bermanfaat

Bandar Lampung, April 2019

Penulis,

Siti Raqiya Rasyid

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	v
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	vi
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	vii
<b>SANWACANA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Jantung .....	5
2.1.1 Anatomi Jantung .....	5
2.2 Arteri Koronaria .....	6
2.2.1 Anatomi Arteri Koronaria .....	6

2.2.2 Fisiologi Ateri Koronaria .....	7
2.2.3 Histologi Arteri Koronaria .....	8
2.3 Minyak Goreng .....	9
2.4 Minyak Jelantah .....	10
2.5 Radikal Bebas.....	13
2.6 Aterosklerosis .....	14
2.7 Buah Lemon .....	16
2.8 Flavonoid .....	19
2.9 Antioksidan .....	19
2.10 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	21
2.11 Kerangka Penelitian .....	22
2.11.1 Kerangka Teori .....	22
2.11.2 Kerangka Konsep.....	27
2.12 Hipotesis .....	27

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Desain Penelitian .....	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	28
3.3 Populasi dan Sampel .....	28
3.3.1 Kriteria Inklusi .....	31
3.3.2 Kriteria Ekslusi .....	31
3.4 Alat dan Bahan Penelitian .....	31
3.4.1 Alat Penelitian .....	31
3.4.2 Bahan Penelitian .....	32
3.4.3 Bahan Pembuatan Preparat .....	32
3.5 Prosedur Penelitian.....	33
3.5.1 Pemilihan Minyak Goreng dan Pemanasan .....	33
3.5.2 Perhitungan Dosis Pemberian Minyak Goreng .....	34
3.5.3 Pemilihan Hewan Coba Penelitian .....	34

3.5.4 Adaptasi Hewan Coba .....	35
3.5.5 Penyediaan Buah Lemon.....	35
3.5.6 Perhitungan Dosis Pemberian Air Lemon .....	35
3.5.7 Prosedur Pemberian Intervensi .....	36
3.5.8 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian .....	36
3.5.9 Prosedur Pengambilan Arteri Koronaria .....	37
3.5.10 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat .....	37
3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel.....	40
3.6.1. Identifikasi variabel .....	40
3.6.2 Definisi Operasional Variabel .....	41
3.7 Analisis Data .....	42
3.9 Diagram Alur .....	43
3.8 <i>Ethical Clearence</i> .....	44
 <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Hasil Penelitian .....	45
4.1.1. Hasil Pengamatan Lumen Arteri Koronaria Tikus.....	45
4.1.2. Analisis Lumen Arteri Koronaria Tikus.....	48
4.2. Pembahasan.....	50
 <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	55
5.2 Saran.....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>61</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Standar mutu minyak goreng .....	10
Tabel 2.SNI 01-3741-2002 .....	13
Tabel 3. Nutrisi 100 gram lemon mentah.....	18
Tabel 4. Data Biologi Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	22
Tabel 5. Definisi operasional variabel .....	41
Tabel 6. Diameter Ketebalan Lumen Arteri Koronaria .....	46
Tabel 7. Hasil Uji Post Hoc <i>Mann – Whitney</i> .....	49

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Anatomi jantung tampak depan.....	6
Gambar 2. Anatomi Arteri Koronaria .....	7
Gambar 3. Patogenesis Aterosklerosis .....	16
Gambar 4. Buah Lemon .....	17
Gambar 5. Tikus putih galur <i>sprague-dawley</i> .....	21
Gambar 6. Kerangka teori pengaruh air lemon pada arteri koronaria.....	26
Gambar 7. Kerangka konsep .....	27
Gambar 8. Diagram alur.....	43
Gambar 9. Gambaran Lumen Arteri Koronaria Kelompok Perlakuan dengan pewarnaan <i>Hematoksilin Eosin</i> (Pembesaran 400X) .....	47

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar Belakang Masalah**

Minyak goreng adalah bahan pangan yang digunakan untuk kebutuhan dalam skala rumah tangga maupun skala industri atau pabrik yang mengakibatkan konsumsi minyak goreng meningkat (Hajar *et al*, 2016). Di Indonesia sendiri, konsumsi minyak goreng per kapita penduduk tahun 2011 sebesar 8,24 liter/kapita/tahun dan meningkat menjadi 11,68 liter/kapita/tahun pada tahun 2016 (SUSENAS, 2016). Minyak banyak dimanfaatkan oleh masyarakat karena minyak goreng mampu menghantarkan panas, memberikan cita rasa (gurih), tekstur (renyah), warna (coklat), dan mampu meningkatkan nilai gizi (Aladedunye dan Przybylski, 2009). Akibat tingginya frekuensi pemakaian minyak goreng, seringkali minyak goreng digunakan secara berulang – ulang. Minyak goreng yang digunakan berulang – ulang disebut minyak jelantah.

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 karena proses oksidasi (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 seperti hati, jantung, ginjal dan arteri (Susianti, 2014). Apabila deposisi sel lemak terjadi dalam pembuluh darah dapat menyumbat lumen pembuluh darah. Keadaan terjadi penyumbatan pada pembuluh darah ini disebut aterosklerosis. Penyumbatan yang terjadi di arteri koronaria dapat mengakibatkan terjadinya penyakit jantung koroner (Rukmini, 2007). Pada penelitian (Lianda, 2013) menunjukkan bahwa semakin besar frekuensi penggorengan yang dapat menyebabkan peningkatan jumlah sel nekrosis pada sel otot jantung yaitu mulai dari 4x penggorengan sejumlah 12,200 dan semakin tinggi frekuensi penggorengan akan diikuti oleh peningkatan jumlah sel nekrosis pada sel otot jantung salah satunya pada penggorengan 16x jumlah sel otot jantung yang mengalami nekrosis sebanyak 24,560.

Banyak cara yang digunakan untuk mengurangi dan mencegah bahaya dari minyak jelantah. Beberapa cara alami yang digunakan untuk mencegahnya seperti menggunakan buah mengkudu (Andre, 2014), pare (Maliya, 2006), bunga *Rosella* (Sarhini, 2007), atau dengan buah lemon (Afrianti, 2010).

Lemon merupakan buah yang tersedia setiap tahun, namun produksinya ketika musim semi dan musim panas. Lemon memiliki daging buah yang sangat asam karena lemon mengandung asam sitrat sekitar 5% atau lebih dari berat buah lemon. Lemon kaya akan vitamin C dan juga mengandung sejumlah kecil kalium, hesperidin, vitamin B1, B2, flavonoid, niasin dan serat. Lemon

mengandung lemak dan protein dalam jumlah yang sangat kecil. Lemon mengandung karbohidrat sekitar 10 % dan air sebanyak 88-89 %. Sebuah lemon berukuran sedang mengandung sekitar 20 kalori.( Adda, 2016 ; Afrianti, 2010). Air Lemon digunakan sebagai obat oleh masyarakat untuk pengelolaan penyakit hipertensi dan penyakit kardiovaskuler lainnya (Oboh *et al.*, 2015). Pada kulit lemon terdapat D-Limonene yang sangat mempengaruhi bau tajam pada lemon itu sendiri. Aroma lemon sendiri dapat menurunkan stres dan meningkatkan mood. (Adda, 2016 ; Afrianti, 2010).

Melihat hal tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh air lemon pada minyak jelantah. Untuk membuktikannya penelitian akan diuji pada tikus putih (*Rattus norvergicus*).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan penjelasan yang ada pada latar belakang maka dirumuskan permasalahan yaitu :

Apakah terdapat pengaruh pemberian air lemon (*Citrus limon*) terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberi minyak jelantah.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

Mengetahui pengaruh dari pemberian air lemon (*Citrus limon*) terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberi minyak jelantah.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Manfaat Bagi Peneliti, menerapkan ilmu yang telah didapatkan dan menambah pengalaman peneliti.
2. Manfaat Bagi Masyarakat, memberikan wawasan mengenai ada tidaknya pengaruh konsumsi air lemon terhadap minyak jelantah.
3. Manfaat Bagi Peneliti Selanjutnya, dapat menggunakan penelitian ini untuk menjadi landasan penelitian lainnya.

## **BAB 2**

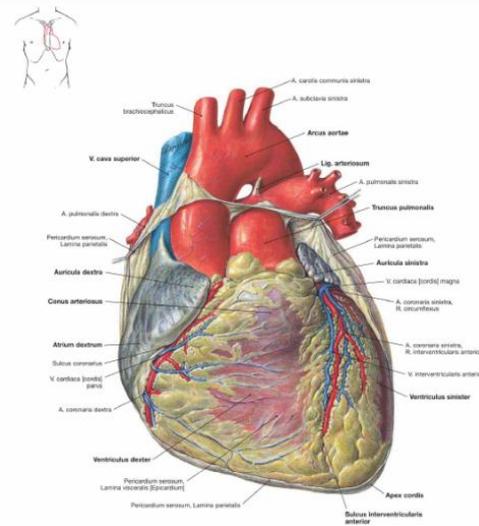
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Jantung**

##### **2.1.1. Anatomi jantung**

Jantung adalah suatu organ berongga dan berotot yang berukuran sekepal tangan masing-masing orang dan memiliki berat 250-300 gram. Jantung terletak di rongga toraks sekitar garis tengah antara sternum di sebelah anterior dan vertebra di posterior (Sherwood, 2011).

Dinding setiap ruang jantung terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan paling luar adalah epikardium yang merupakan perikardium serosa bagian viseral yang berdinding tipis, lapisan di tengah adalah miokardium yang berdinding tebal dan berisi otot-otot jantung dengan kardiomiosi, dan lapisan paling dalam adalah endokardium yang permukaan internal terdiri dari endotelium dan jaringan ikat (Paulsen dan Waschke, 2010).



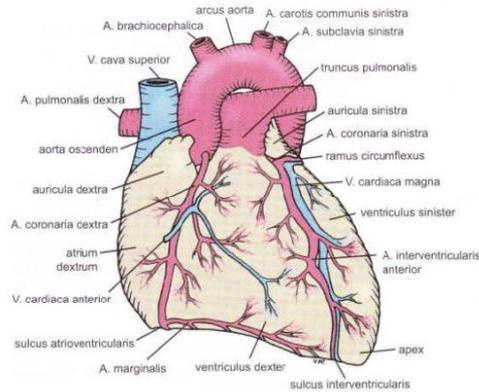
**Gambar 1.** Anatomi jantung tampak depan (Paulsen, 2010)

## 2.2. Arteri Koronaria

### 2.2.1. Anatomi Arteri Koronaria

Arteri koronaria berasal dari bagian proksimal aorta (cabang pertama aorta) terbagi sebagai arteri koronaria kanan (RCA) dan arteri koronaria kiri (LCA). Pembuluh ini terletak tepat di sebelah dalam terhadap epikardium. Arteri koronaria kanan berasal dari sinus aorta kanan dan berjalan di sulkus koronaria ke tepi bawah. Cabang utama arteri koronaria kanan yaitu arteri marginalis dan arteri desenden posterior. Arteri koronaria kiri berasal dari sinus aorta kiri dan bercabang sesudah 1 cm membentuk ramus interventrikular anterior atau arteri desenden anterior sinistra (LAD) yang berjalan ke apeks jantung, dan ramus sirkumfleksa atau arteri sirkumfleksa sinistra

yang berjalan di dalam sulcus koronaria mengelilingi tepi jantung kiri untuk mencapai bagian posterior jantung (Paulsen dan Waschke, 2010). Arteri koronaria dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



**Gambar 2.** Anatomi Arteri Koronaria (Snell, 2008)

### 2.2.2. Fisiologi Ateri Koronaria

Jantung menerima dua pendarahan, yaitu epikardium dan miokardium yang diperdarahi oleh arteri koronaria dan cabang-cabangnya, dan endokardium yang menerima asupan O<sub>2</sub> dan nutrient dari kontak langsung dengan darah di dalam ruang jantung. Miokardium atau otot jantung menerima sebagian besar pasokan darahnya melalui arteri koronaria selama diastol yakni sekitar 70%, hanya sekitar 30% aliran arteri koronaria yang terjadi selama sistol. Hal ini dikarenakan tertekannya cabang-cabang utama arteri koronaria akibat miokardium yang sedang berkontraksi serta pintu masuk ke pembuluh koronaria yang

tertutup secara parsial karena katup aorta yang terbuka, sehingga aliran darah ke sel otot jantung berkurang secara substansial selama sistol (Sherwood, 2011)

### **2.2.3. Histologi Arteri Koronaria**

Arteri koronaria merupakan salah satu pembuluh darah yang elastis dan berukuran sedang - besar. Pembuluh darah umumnya terdiri dari lapisan atau tunika, antara lain: (Junquiera, 2011)

#### **a. Tunika intima**

Tunika ini memiliki satu lapis sel endotel yang ditopang oleh selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar yang terkadang mengandung sel otot polos. Pada arteri, intima dipisahkan dari tunika media oleh lamina elastika interna yang merupakan komponen terluar intima. Lamina ini terdiri dari elastin dan memiliki celah (fenestra) sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat untuk memberikan nutrisi ke sel-sel bagian dalam dinding pembuluh (Junquiera, 2011).

#### **b. Tunika media**

Tunika ini merupakan lapisan tengah, terutama terdiri dari lapisan konsentris sel-sel otot polos yang tersusun secara berpilin. Pada arteri, tunika media memiliki lamina elastika eksterna yang lebih tipis sebagai pemisah dengan tunika adventitia (Junquiera, 2011).

### c. Tunika adventitia

Tunika ini merupakan lapisan terluar dan terdiri dari serat kolagen tipe 2 dan elastin (Junquiera, 2011).

## 2.3. Minyak Goreng

Minyak termasuk dalam kelompok lipida. Salah satu sifat yang khas dan mencirikan golongan lipida adalah daya larutnya dalam pelarut organik (contoh: ether, benzene, khloroform) dan ketidak-larutannya dalam pelarut air. Minyak goreng biasa dipergunakan untuk menggoreng makanan karena memiliki titik didih yang tinggi (sekitar 200°C) sehingga bahan yang digoreng akan menjadi kering akibat kehilangan sebagian besar air yang dikandungnya (Ramdja *et al.*, 2010).

Pada umumnya, minyak goreng nabati maupun hewani mengandung asam lemak jenuh yang bervariasi. Biasanya minyak nabati memiliki kualitas yang lebih baik daripada minyak hewani, karena kandungan asam lemak jenuh yang lebih sedikit. Asam lemak jenuh berpotensi meningkatkan kolesterol darah, sedangkan asam lemak tak jenuh dapat menurunkan kolesterol darah (Khomsan, 2010).

Minyak kelapa sawit mengandung beberapa jenis senyawa karoten, yaitu  $\beta$ -karoten, tokoferol, dan  $\alpha$ -tokoferol.  $\beta$ -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  $\beta$ -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). Standar mutu minyak dapat dilihat pada tabel dibawah.

**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 <sub>2</sub> /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

(Badan Standar Nasional, 2012)

## 2.4. Minyak Jelantah

Adalah minyak yang telah mengalami pemanasan atau penggorengan berulang kali. Proses menggoreng digolongkan menjadi 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 dan Sartika, 2009).

Minyak jelantah selama penggorengan akan mengalami pemanasan dengan suhu yang tinggi (170-200°C) dan berulang. Hal ini akan menyebabkan terjadinya proses oksidasi, hidrolisis dan polimerisasi yang menghasilkan senyawa – senyawa hasil degradasi minyak seperti keton, aldehyd dan polimer yang merugikan kesehatan manusia (Ketaren, 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 aldehyd 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 yaitu berbau tidak normal, asam lemak bebas lebih dari 0.30, bilangan peroksida lebih dari 1.

**Tabel 2.** Standar Mutu Minyak Goreng

Kriteria Uji	Satuan	Syarat
Keadaan bau, warna, rasa	-	Normal
Air	% b/b	Maks 0.30
Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam larut)	% b/b	Maks 0.30
Bahan Makanan Tambahan Sesuai SNI. 022-M dan Permenkes No. 722/Menkes/Per/IX/88		
Cemaran Logam :		
- Besi (Fe)	mg/kg	Maks 1.5
- Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks 0.1
- Raksa (Hg)	mg/kg	Maks 0.1
- Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 40.0
- Timah (Sn)	mg/kg	Maks 0.005
- Seng (Zn)	mg/kg	Maks 40.0/250.0)*
Arsen (As)	% b/b	Maks 0.1
Angka Peroksida	mg O <sub>2</sub> %	Maks 1

Catatan \*Dalam kemasan kaleng (SNI 01-3741-2002)

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).

## 2.5. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul tidak stabil yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*) pada orbit terluarnya. Suatu molekul bersifat stabil bila elektronnya berpasangan, tetapi bila tidak berpasangan molekul tersebut menjadi tidak stabil dan memiliki potensi untuk merusak. Bila molekul tidak stabil ini mengambil satu elektron dari senyawa lain maka molekul tersebut menjadi stabil sedangkan molekul yang

diambil elektronnya menjadi tidak stabil dan berubah menjadi radikal dan memicu reaksi pembentukan radikal bebas berikutnya (reaksi berantai). Pada minyak jelatah radikal bebas terbentuk karna adanya proses oksidasi secara terus menerus terhadap minyak. Radikal bebas dapat memicu reaksi oksidasi pada asam lemak tidak jenuh dalam lipid (reaksi peroksidasi lipid), oksidasi asam amino dalam protein, serta oksidasi kofaktor enzim tertentu sehingga terjadi inaktivasi enzim. (Jannah, 2013)

## **2.6. Aterosklerosis**

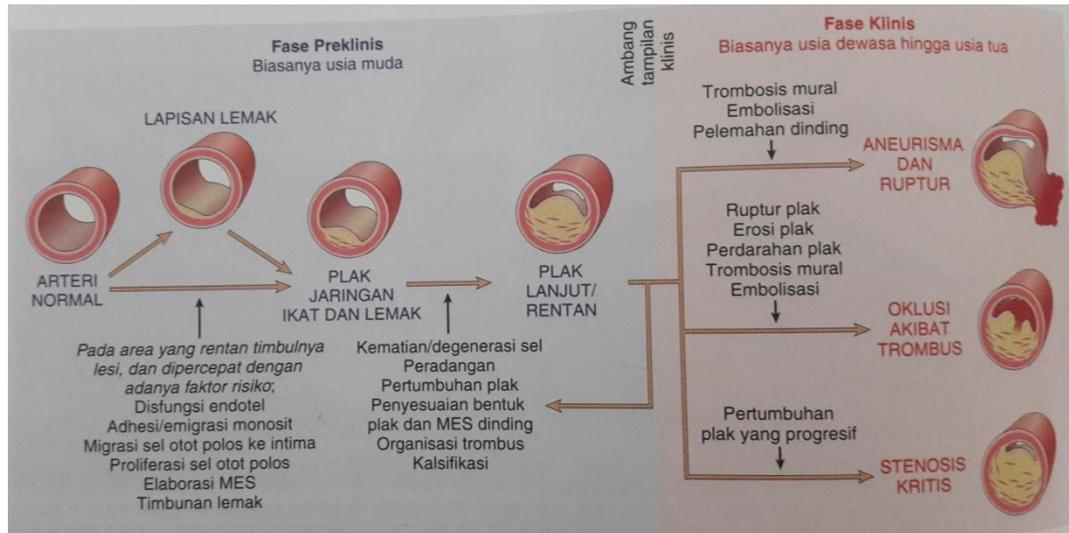
Aterosklerosis adalah proses inflamasi kronis yang dapat menyebabkan terjadinya angina pektoris, infark miokard dan infark cerebral (Okada *et al.*, 2007). Pada umumnya, aterosklerosis dapat menyerang arteri di seluruh tubuh, akan tetapi aterosklerosis lebih sering terjadi pada pembuluh darah yang elastis dan berukuran sedang hingga besar, misalnya pada arteri koronaria. (Sherwood, 2011;Prasetyo & Udadi, 2006).

Berdasarkan pernyataan Prasetyo & Udadi (2006), bahwa berbagai faktor risiko yang dapat menyebabkan aterosklerosis, yaitu disfungsi endotel pembuluh darah, predisposisi genetik, obesitas, usia lanjut, paparan radikal bebas, hipertensi, kurang olahraga, peningkatan kadar homosistein, agen infeksi, dan yang paling sering dikenal yaitu karena adanya peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Plasma kolesterol, khususnya kolesterol yang teroksidasi turut berperan menghasilkan radikal bebas di sel endotel dinding pembuluh darah (Prasetyo & Udadi, 2006; Sherwood, 2011).

Kolesterol yang berlebihan dalam darah akan mudah melekat pada dinding bagian dalam pembuluh darah, terlebih lagi pada dinding yang sudah

mengalami disfungsi endotel. Lalu LDL akan menembus dinding pembuluh darah melalui lapisan sel endotel, masuk ke lapisan dinding pembuluh darah yang lebih dalam yaitu intima. LDL disebut lemak jahat karena memiliki kecenderungan melekat di dinding pembuluh darah sehingga dapat menyempitkan pembuluh darah. LDL ini bisa melekat karena mengalami oksidasi atau dirusak oleh radikal bebas. LDL yang telah menyusup ke dalam intima akan mengalami oksidasi tahap pertama sehingga terbentuk LDL yang teroksidasi. LDL-teroksidasi akan memacu terbentuknya zat yang dapat melekatkan dan menarik monosit menembus lapisan endotel dan masuk ke dalam intima. Selain itu dapat pula menghasilkan zat yang mampu mengubah monosit yang telah masuk ke dalam intima menjadi makrofag. Sementara itu LDL-teroksidasi akan mengalami oksidasi tahap kedua menjadi LDL yang teroksidasi sempurna yang dapat mengubah makrofag menjadi sel busa (*foam cell*) (Tao & Kendall, 2013; Rader & Hobbs, 2005).

Sel busa yang terbentuk akan menumpuk di bawah dinding pembuluh darah dan membentuk *fatty streak*, bentuk paling dini plak aterosklerotik yang dapat berkembang menjadi plak yang matang dan membuat saluran pembuluh darah menjadi lebih sempit sehingga aliran darah menjadi kurang lancar. Plak aterosklerotik pada dinding pembuluh darah bersifat rapuh dan mudah pecah sehingga dapat mengaktifkan pembentukan bekuan darah yang dapat memperparah penyempitan yang ada sehingga memudahkan terjadinya penyumbatan pembuluh darah secara total. (Sherwood, 2011; Rader & Hobbs, 2005).



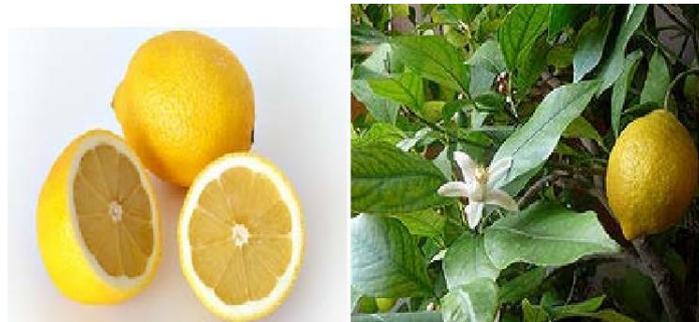
**Gambar 3 .** Patogenesis Aterosklerosis (Kumar, 2013)

## 2.7. Buah Lemon

Lemon merupakan tanaman obat penting dari famili Rutaceae. Hal ini dibudidayakan terutama untuk alkaloid, yang memiliki antikanker dan potensi antibakteri pada ekstrak kasar dari bagian yang berbeda (yaitu, daun, batang, akar, dan bunga) dari Lemon terhadap strain bakteri yang signifikan secara klinis telah dilaporkan (Kawaii *et al.*, 2000). Citrus flavonoid memiliki spektrum besar aktivitas biologis termasuk antibakteri, antijamur, antidiabetes, antikanker dan kegiatan antiviral (Burt, 2004 dan Ortuno *et al.*, 2006).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan langsung dan pembersih radikal bebas, dan memiliki kapasitas untuk memodulasi aktivitas enzim dan menghambat proliferasi sel (Duthie dan Crozier, 2000). Pada tumbuhan, mereka tampaknya memainkan peran defensif terhadap

patogen, termasuk bakteri, jamur dan virus (Sohn *et al.*, 2004). Flavonoid umumnya hadir dalam bentuk glikosilasi pada tanaman, dan bagian gula merupakan faktor penting yang menentukan bioavailabilitas mereka. Lemon merupakan sumber yang kaya flavonoid glikosida, kumarin, dan minyak atsiri (Shahnah *et al.*, 2007). Banyak flavon polimethoxylated memiliki beberapa bioaktivitas yang penting, yang sangat langka di tanaman lain (Ahmad *et al.*, 2006). Selain itu serat dari lemon juga mengandung senyawa bioaktif, seperti polifenol, yang menjadi vitamin C (atau asam askorbat) yang paling penting, dan mereka pasti mencegah dan menyembuhkan kekurangan-vitamin C penyebab kudis (Aronson, 2001). Gambar dan jumlah nutrisi lemon dapat dilihat pada gambar dan tabel dibawah ini.



**Gambar 4.** Buah Lemon (M.Mohanapriya,2013)

### Klasifikasi Lemon

Kingdom : Plantae

Order : Sapindales

Family : Rutaceae

Genus : Citrus

Species : Citrus limon (Rukmana, 2001)

**Tabel 3.** Jumlah nutrisi dari 100 gram lemon mentah

Nutrisi	Jumlah
Energi	121 kJ (29 kcal)
Gula	2.50 g
Lemak	0.30 g
Thiamine (Vit. B1)	0.040 mg (3%)
Riboflavin (Vit. B2)	0.020 mg (1%)
Niacin (Vit. B3)	0.100 mg (1%)
Asam Pantothenik (B5)	0.190 mg (4%)
Vitamin B6	0.080 mg (6%)
Vitamin C	53.0 mg (88%)
Potassium	138 mg (3%)
Magnesium	8 mg (2%)
Folate (Vit. B9)	11 µg (3%)
Zinc	0.06 mg (1%)
Besi	0.60 mg (5%)
Kalsium	26 mg (3%)
Fosfor	16 mg (2%)
Protein	1.10 g
Dietary fibre	2.8 g
Karbohidrat	9.32 g

(Adda, 2016)

## 2.8. Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa polifenol yang secara luas tersebar di seluruh *kingdom plantae*. Sampai saat ini sekitar 3000 varietas flavonoids yang dikenal. Flavonoid menunjukkan beberapa pengaruh biologis seperti antiinflamasi, tindakan anti hepatotoksik dan anti-ulkus. Mereka juga menghambat enzim seperti reduktase aldosa dan xantin oksidase. Mereka memiliki antioksidan kuat dan memiliki kemampuan membersihkan radikal bebas. Banyak memiliki anti alergi, antivirus dan beberapa dari mereka memberikan perlindungan terhadap mortalitas kardiovaskular (Narayana *et al.*, 2001)

Karena sifat antioksidan mereka, flavonoid cenderung memiliki pengaruh besar pada sistem vaskular. radikal oksigen dapat mengoksidasi LDL, yang melukai dinding endotel dan dengan demikian mempromosikan perubahan aterosklerotik. Beberapa studi klinis telah menunjukkan bahwa asupan flavonoid melindungi terhadap penyakit jantung koroner. Flavonoid dalam makanan yang dikonsumsi secara teratur dapat mengurangi risiko kematian akibat penyakit jantung koroner pada pria lanjut usia (Agrawal, 2011)

## 2.9. Antioksidan

Antioksidan adalah zat buatan manusia atau alami yang dapat mencegah atau menunda beberapa jenis kerusakan sel. Antioksidan ditemukan pada banyak makanan, termasuk buah dan sayuran. tumbuhan dan hewan memelihara sistem yang kompleks dari beberapa jenis antioksidan, seperti glutathione, vitamin C, vitamin A, dan vitamin E serta enzim seperti katalase, superoksida

dismutase.dan berbagai peroksida. (Yadav *et al* ,2016) Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Flavonoid memberikan kontribusi pada aktivitas antioksidannya secara in vitro dengan cara flavonoid mengikat (kelasi) ion-ion metal seperti Fe dan Cu. Ion-ion metal seperti Cu dan Fe ini, dapat mengkatalisis reaksi yang akhirnya memproduksi radikal bebas.(Kesuma dan Rina, 2015).

Mekanisme pencegahan timbulnya penyakit kardiovaskuler oleh flavonoid adalah sebagai berikut:

- 1) Mengurangi inflamasi (O'Leary *et al*, 2004 ; Sakata *et al.*, 2003 ; Cho *et al.*, 2003).
- 2) Menurunkan ekspresi adhesi molekuler sel-sel vaskuler (Choi *et al.*, 2004 ; Ludwig *et al.*, 2004).
- 3) Meningkatkan aktivitas nitrik oksida sintase (eNOS) endotelial (Anter *et al.*, 2004)
- 4) Mengurangi agregasi platelet ( Deana *et al.*, 2003 ; Bucki *et al.*, 2000)

## 2.10. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun.

### Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: norvegicus (Krinke,2000)



**Gambar 5.** Tikus putih galur *sprague-dawley* (Estina, 2016)

**Tabel 4.** Data Biologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kriteria	Jumlah
Berat badan	Jantan: 300-400 g Betina: 250-300 g
Lama hidup	2-3 tahun, dapat sampai 4 tahun
Temperature (rektal)	36-39 <sup>0</sup> C (rata-rata 37,5 <sup>0</sup> C)
Kebutuhan air	20-45 ml/hari (dewasa)
Kebutuhan makan	15-30 g/hari (dewasa)
Dewasa	40-60 hari
Tekanan Darah	Sistol: 90-180 Diastol: 60-145
Aktivitas	Nokturnal
SGOT	45,7-80,8 IU/liter
SGPT	17,5-30,2 IU/liter

(Smith dan Mangkoewidjojo, 1988)

## 2.11. Kerangka Penelitian

### 2.11.1. Kerangka Teori

Minyak termasuk dalam kelompok lipida. Salah satu sifat yang khas dan mencirikan golongan lipida adalah daya larutnya dalam pelarut organik ( contoh: ether, benzene, khloroform) dan ketidaklarutannya dalam pelarut air. Minyak goreng biasa dipergunakan untuk menggoreng makanan karena memiliki titik didih yang tinggi (sekitar 200°C) sehingga bahan yang digoreng akan menjadi kering akibat kehilangan sebagian besar air yang dikandungnya (Ramdja *et al.*, 2010).

Minyak jelantah adalah minyak yang telah mengalami pemanasan atau penggorengan berulang kali. 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 dan Sartika, 2009). Minyak jelantah selama penggorengan akan mengalami pemanasan dengan suhu yang tinggi ( $170^{\circ}$ - $200^{\circ}$  C) dan berulang. Hal ini akan menyebabkan terjadinya proses oksidasi, hidrolisis dan polimerisasi yang menghasilkan senyawa – senyawa hasil degradasi minyak seperti keton, aldehyd dan polimer yang merugikan kesehatan manusia (Ketaren, 2008).

Kolesterol yang berlebihan dalam darah akan mudah melekat pada dinding bagian dalam pembuluh darah, terlebih lagi pada dinding yang sudah mengalami disfungsi endotel. Lalu LDL akan menembus dinding pembuluh darah melalui lapisan sel endotel, masuk ke lapisan dinding pembuluh darah yang lebih dalam yaitu intima. LDL disebut lemak jahat karena memiliki kecenderungan melekat di dinding pembuluh darah sehingga dapat menyempitkan pembuluh darah. LDL ini bisa melekat karena mengalami oksidasi atau dirusak oleh radikal bebas. LDL yang telah menyusup ke dalam intima akan mengalami oksidasi tahap pertama sehingga terbentuk LDL yang teroksidasi. LDL-teroksidasi akan memacu terbentuknya zat yang dapat melekatkan dan menarik monosit menembus lapisan endotel dan masuk ke dalam intima. Selain itu dapat pula menghasilkan zat yang mampu mengubah monosit yang

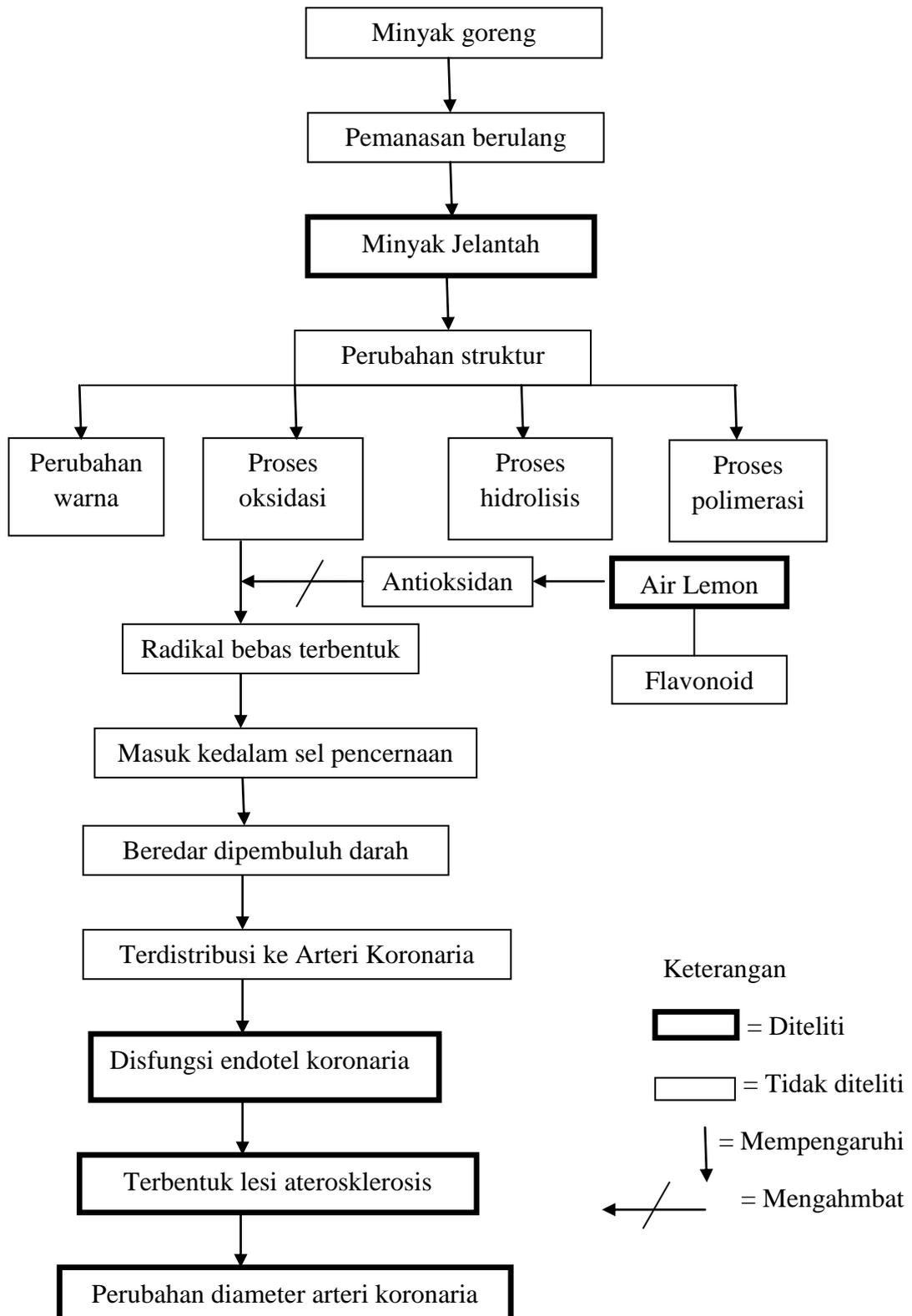
telah masuk ke dalam intima menjadi makrofag. Sementara itu LDL-teroksidasi akan mengalami oksidasi tahap kedua menjadi LDL yang teroksidasi sempurna yang dapat mengubah makrofag menjadi sel busa (*foam cell*) (Tao & Kendall, 2013; Rader & Hobbs, 2005).

Sel busa yang terbentuk akan menumpuk di bawah dinding pembuluh darah dan membentuk fatty streak, bentuk paling dini plak aterosklerotik yang dapat berkembang menjadi plak yang matang dan membuat saluran pembuluh darah menjadi lebih sempit sehingga aliran darah menjadi kurang lancar. Plak aterosklerotik pada dinding pembuluh darah bersifat rapuh dan mudah pecah sehingga dapat mengaktifkan pembentukan bekuan darah yang dapat memperparah penyempitan yang ada sehingga memudahkan terjadinya penyumbatan pembuluh darah secara total. (Sherwood, 2011; Rader & Hobbs, 2005).

Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010).

Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu

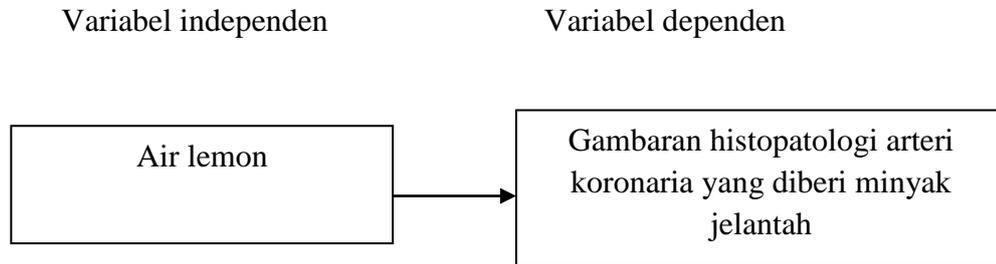
menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Flavonoid memberikan kontribusi pada aktivitas antioksidannya secara in vitro dengan cara flavonoid mengikat (kelasi) ion-ion metal seperti Fe dan Cu. Ion-ion metal seperti Cu dan Fe ini, dapat mengkatalisis reaksi yang akhirnya memproduksi radikal bebas. (Kesuma dan Rina, 2015).



**Gambar 6.** Kerangka teori pengaruh air lemon pada arteri koronaria

### 2.11.2. Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep dari penelitian ini adalah



**Gambar 7.** Kerangka konsep

### 2.12. Hipotesis

1. Terdapat pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvergicus*) jantan galur *Sprague dawley*
2. Terdapat pengaruh pemberian air lemon (*Citrus limon*) per-oral terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberi minyak jelantah.

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik, yang menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test-only control group design*. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berumur 8-10 minggu yang dipilih secara random dan dibagi menjadi 4 kelompok.

#### **3.2. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembedahan, pembuatan preparat histologi dan pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Lampung. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2018-Januari 2019

#### **3.3. Populasi dan Sampel**

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa umur 8-10 minggu. tikus tersebut diperoleh dari Palembang Tikus *Centre* (PTC). Penentuan. Sampel penelitian sebanyak 24 ekor tikus dipilih secara acak

(*random sampling*) yang dibagi dalam 4 kelompok, sesuai dengan rumus Federer.

Rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental adalah:

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

t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok (Aprilia, 2010).

Penelitian ini akan menggunakan 4 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

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

$$(n - 1) \geq 3,5$$

$$n \geq 4,5$$

$$n \geq 5$$

Jadi sampel yang akan digunakan untuk setiap kelompok percobaan adalah 5 ekor tikus dan jumlah kelompok yang akan diberikan intervensi ada 4 kelompok, sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus dari populasi yang ada. Namun untuk mengantisipasi hilangnya objek penelitian, ditambahkan tikus menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = jumlah sampel berdasarkan estimasi

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

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

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

$$N = 5 / 0,9$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka besar sampel koreksi yaitu 6 tikus per kelompok, sehingga jumlah sampel keseluruhan yang digunakan adalah sebanyak 24 ekor tikus. Untuk pemilihan sampel peneliti menggunakan teknik *simple random sampling*. Adapun 4 kelompok tersebut terbagi menjadi:

- a. Kontrol Normal : Hanya diberi pakan dan minum aquades.

Kelompok ini dijadikan kelompok kontrol.

- b. Kontrol Negatif : Tikus diberi minyak jelantah 1,5 mL/hari dengan frekuensi 16x penggorengan selama 28 hari.

- c. Kelompok P1 : Tikus diberi minyak jelantah 1,5 mL/hari dengan frekuensi 16x penggorengan lalu diberi air lemon 1mL/hari selama 28 hari.
- d. Kelompok P2 : Tikus diberi minyak jelantah 1,5 mL/hari dengan frekuensi 16x penggorengan lalu diberi air lemon 2 mL/hari selama 28 hari.

### **3.3.1. Kriteria Inklusi**

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
- b. Sehat
- c. Berat badan antara 200-250 gram
- d. Jenis kelamin jantan
- e. Berusia sekitar 8-10 minggu (dewasa)

### **3.3.2. Kriteria Eksklusi**

- a. Terdapat penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi (satu minggu) di laboratorium.
- b. Mati selama masa penelitian

## **3.4. Alat dan Bahan Penelitian**

### **3.4.1. Alat Penelitian**

Alat penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Neraca analitik Metler Toledo dengan tingkat ketelitian 0,01 g untuk menimbang berat tikus

- b. Spuit oral 3 cc
- c. Sonde
- d. Minor set untuk membedah perut tikus (laparotomi)
- e. Kapas alkohol
- f. Kompor
- g. Penggorengan
- h. Gelas ukur
- i. Mikroskop
- j. Kandang dan wadah pakan tikus

#### **3.4.2. Bahan Penelitian**

Bahan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Minyak jelantah dari hasil pemanasan berulang sebanyak 16x.
- b. Tikus (*Rattus norvergicus*)
- c. Air/aquadest
- d. Air lemon
- e. Pakan tikus standar

#### **3.4.3. Bahan pembuatan preparat**

Bahan yang digunakan adalah:

- a. Formalin
- b. Alkohol 96%
- c. Klorofom
- d. Pewarna Hematoksisilin dan Eosin (H dan E)

### 3.5. Prosedur Penelitian

#### 3.5.1. Pemilihan Minyak Goreng dan Pemanasan

Pemanasan minyak goreng dilakukan untuk merusak minyak dan melihat pengaruhnya terhadap hewan coba. Minyak goreng yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak goreng kemasan yang dilakukan pemanasan berulang untuk menggoreng tahu seperti yang telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya oleh Ilmi *et al.* yang menggunakan teknik menggoreng *deep fat frying* dengan suhu menggoreng tahu sebesar 150-165 °C selama 10 menit.

Minyak goreng yang telah digunakan selama 4x dapat mengubah susunan asam lemak pada minyak dan menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak membran sel (Sartika, 2009). Pada salah satu hasil penelitian yang lain juga menunjukkan bahwa minyak yang dilakukan pemanasan dalam suhu tinggi (>150 °C) secara berulang dapat mengubah struktur kimia minyak sehingga terjadi peningkatan radikal bebas dan asam lemak bebas yang terkandung dalam minyak tersebut (Rukmini, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian Lianda Destrin (2013) pada penelitian ini dipilih minyak goreng dengan 16x penggorengan, yang telah digoreng selama 10 menit persiklus.

### 3.5.2. Perhitungan Dosis Pemberian Minyak Goreng

Pemberian minyak jelantah pada hewan percobaan dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Zhou *et al.* bahwa dengan dosis sebesar 1,5 ml sudah dapat menimbulkan pengaruh terhadap tubuh hewan coba, sehingga pada penelitian ini peneliti juga memberikan dosis perlakuan sebesar 1,5 ml per hari terhadap tikus dengan berat badan 200-250 gram (Zhou *et al.*, 2016).

### 3.5.3. Pemilihan Hewan Coba Penelitian

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. Selain itu, beberapa penelitian sebelumnya banyak menggunakan tikus putih sebagai hewan coba untuk melihat plak ateroskelrosis pada gambaran histopatologi. Penggunaan tikus putih sebagai objek penelitian juga didasarkan etika penelitian pada makhluk hidup, yaitu dalam penelitian yang menggunakan objek makhluk hidup harus menggunakan hewan coba dengan strata terendah (Dannean *et al.*, 2007).

#### **3.5.4. Adaptasi Hewan Coba**

Tikus sebanyak 24 ekor dibagi ke dalam 4 kandang dan diadaptasi selama 1 minggu sebelum perlakuan dimulai. Selama masa adaptasi tikus diberi makan berupa pelet dan air *ad libitum*. Pengukuran berat badan tikus dilakukan sebelum perlakuan.

#### **3.5.5. Penyediaan Buah Lemon**

Buah lemon dibeli di kota Bandar Lampung. Awalnya buah lemon dicuci dengan air mengalir, kemudian buah lemon dipotong dua. Setelah itu buah lemon diperas tanpa ditambahkan air (konsentrasi buah lemon 100%) untuk mendapat air lemon sebanyak 1mL, hal ini dilakukan karena maksimal daya tampung lambung tikus 200 gram adalah 5 ml untuk mencegah terjadinya gangguan keseimbangan elektrolit tubuh tikus dan juga mencegah terjadinya radang pada lambung tikus dikarenakan melebihi daya tampung maksimal pada lambung tikus melebihi daya tampung maksimal pada lambung tikus (Lingga *et al.*, 2010).

#### **3.5.6. Perhitungan Dosis Pemberian Air Lemon**

Pemberian air lemon pada hewan percobaan dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ajugwo *et al.* bahwa dengan dosis sebesar 1ml sudah dapat menimbulkan pengaruh terhadap tubuh hewan coba, sehingga pada penelitian ini peneliti juga memberikan dosis perlakuan sebesar 1 ml per hari terhadap tikus (Ajugwo *et al.*, 2012)

### 3.5.7. Prosedur Pemberian Intervensi

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan, yaitu:

Kontrol Normal : Hanya diberi pakan dan minum aquades.

Kelompok ini dijadikan kelompok kontrol.

Kontrol Negatif : Tikus diberi minyak jelantah 1,5 mL/hari dengan frekuensi 16x penggorengan selama 28 hari.

Kelompok P1 : Tikus diberi minyak jelantah 1,5 mL/hari dengan frekuensi 16x penggorengan lalu diberi air lemon 1mL/hari selama 28 hari.

Kelompok P2 : Tikus diberi minyak jelantah 1,5 mL/hari dengan frekuensi 16x penggorengan lalu diberi air lemon 2 mL/hari selama 28 hari.

Selama dilakukan intervensi semua tikus tetap diberikan pakan dan minum berupa pelet dan air *ad libitum*.

### 3.5.8. Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian

Sebelum dilakukan pembedahan untuk mengambil organ arteri koronaria pada tikus, di akhir perlakuan terlebih dahulu tikus akan dianastesi dengan dimasukan ke dalam toples berisi kapas yang telah dibasahi klorofom. (AVMA, 2013). Selanjutnya dilakukan

laparotomi untuk mengambil organ arteri koronaria. Bangkai tikus dimusnahkan dengan cara pembakaran di tempat khusus.

### **3.5.9. Prosedur Pengambilan Arteri Koronaria**

Proses pengambilan bagian arteri koroner dilakukan dengan mengambil potongan longitudinal dibawah 3 mm dari perbatasan atrium dan ventrikel (Eckman *et al.*, 2013).

### **3.5.10. Prosedur Operasional Pembuatan Preparat**

#### a. Fiksasi

Spesimen berupa potongan organ arteri koronaria difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam, kemudian dicuci dengan air mengalir sebanyak 3 sampai 5 kali.

#### b. *Trimming*

Organ dikecilkan hingga berukuran kurang lebih 3mm, potonganorgan arteri koronaria kemudian dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.

#### c. Dehidrasi

Air dikeringkan dengan meletakkan *tissue cassette* pada tisu pengering, berturut-turut organ arteri koronaria direndam dalam alkohol 70% selama 30 menit, alkohol 96% selama 30 menit,alkohol 96% selama 30 menit, alkohol 96% selama 30 menit , alkohol absolut selama 1 jam, alkohol absolut selama 1 jam, alkohol absolut selama 1 jam, alkohol xylol 1:1 selama 30 menit.

d. *Clearing*

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

e. Impregnasi

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin selama 1 jam, dalam oven dengan suhu 65°C

f. *Embedding*

- Sisa paraffin yang ada pada *pan* dibersihkan dengan cara dipanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
- Paraffin cair disiapkan dengan cara memasukkan paraffin ke di dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven pada suhu diatas 58°C.
- Paraffin cair dituangkan ke dalam *pan*.
- Dipindahkan satu per satu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
- Pan dimasukkan ke dalam air.
- Paraffin yang berisi potongan arteri dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6°C beberapa saat.
- Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
- Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya dan dibuat ujungnya sedikit meruncing

g. *Cutting*

- Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
- Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
- Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*
- 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.
- Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam water bath pada suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
- Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan menempatkannya di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
- Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (Suhu 370°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

h. *Straining*

Pewarnaan ini menggunakan prosedur pulasan *Hematoksilin-Eosin*.

- i. *Mounting*
- j. Pembacaan preparat (Windarti *et al.*, 2014).

### **3.6. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel**

#### **3.6.1. Identifikasi variabel**

Pada penelitian ini terdapat 2 variabel yakni variabel independen (variabel bebas) dan variabel dependent (variabel terikat). Adapun variabel penelitian pada penelitian ini adalah:

1. Variabel Independent

Adalah pemberian air lemon.

2. Variabel Dependent

Adalah perubahan Gambaran histopatologi arteri koronaria yang diberi minyak jelantah.

### 3.6.2. Definisi Operasional Variabel

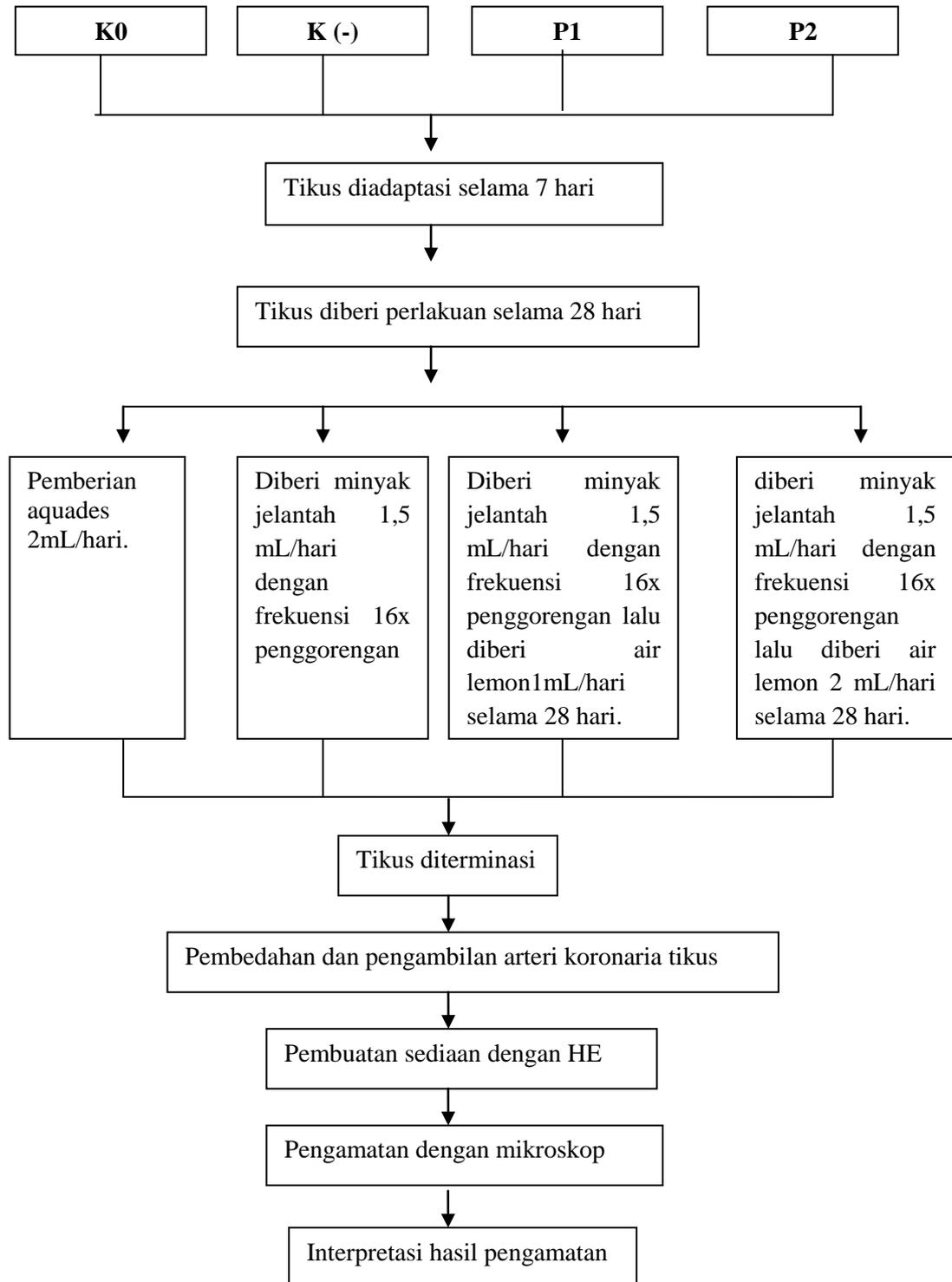
**Tabel 5.** Definisi operasional variabel

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat Ukur	Hasil ukur	Skala
Air lemon	Buah lemon diperas tanpa ditambah air. (Ajugwo <i>et al.</i> , 2012)	1mL/hari 2mL/hari (Rukmini, 2007)	Sput 3cc dan sonde	1mL air lemon dengan kadar 100% tanpa air. (Ajugwo <i>et al.</i> , 2012)	Ordinal
Minyak Jelantah	Minyak goreng dengan 16x penggorengan masing – masing selama 10 menit. (Lianda,, 2013).	1,5 ml/hari (Zhou <i>et al.</i> , 2016).	Sput 3cc dan sonde	Minyak jelantah (Lianda,, 2013).	Ordinal
Gambaran histologi arteri koronaria	Gambaran yang didapat dari arteri koronaria dengan pembesaran 400x. (Suharti, 2014)	Pengukuran dilakukan di setiap potongan melintang arteri koronaria pada delapan zona lapangan pandang, yaitu zona jam 12.00, 1.30, 03.00, 04.30, 06.00, 07.30, 09.00, 10,30. (Kustiyah, 2003)	Mikroskop cahaya pembesaran 400x dengan <i>Software Olympus Stream Image Analysis</i>	Diameter lumen arteri koronaria (Eckman <i>et al.</i> , 2013).	Numerik

### 3.7. Analisis Data

Menggunakan SPSS dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan *Post-Hoc Man Whitney*.

### 3.8. Alur Penelitian



Gambar 8. Diagram alur

### **3.9. *Ethical Clearance***

Izin etik penelitian (*Ethical clearance*) untuk penelitian ini dikeluarkan komite etik penelitian kedokteran dan kesehatan fakultas kedokteran dengan nomor *Ethical Clearance* adalah 3384/UN26.18/PP.05.02.00/2018

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Terdapat pengaruh pemberian air lemon (*Citrus limon*) per-oral terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberi minyak jelantah.

#### **5.2 Saran**

1. Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk meneliti lebih lanjut dalam jangka waktu yang lebih lama dan dengan dosis air lemon yang berbeda.
2. Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk meneliti dengan variasi buah jeruk yang lainnya untuk melihat perbandingan lemon yang digunakan dengan variasi jeruk lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adda Bjarnadottir, MS.2016. Lemons 101: Nutrition Facts And Health Benefits.Authority Nutrition. N.p. [Website] [diunduh 1 April 2017] Tersedia dari : [www.healthline.com/nutrition/foods/lemons](http://www.healthline.com/nutrition/foods/lemons)
- Agrawal, A., 2011. Pharmacological activities of flavonoids: a review.International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. 4(2):1394–1398 [Online Journal] [diunduh 2 April 2017] Tersedia dari: [www.ijpsnonline.com/Issues/1394\\_full.pdf](http://www.ijpsnonline.com/Issues/1394_full.pdf).
- Ahmad, M.M., Z. Salim-ur-Rehman, F.M. Iqbal-Anjum and J.I. Sultan. 2006.Genetic Variability to Essential Oil Composition in Four Citrus Fruit Species. Pak. J. Bot. 38(2): 319-324.
- Afrianti, H. L. 2010. 33 Macam Buah- buahan untuk Kesehatan. Bandung: Alfabeta
- Ajugwo AO, Erhabor T, Adejumo B, Mokogwu T, Digban K, Ojeh G, Nnatuanya I.2012. Nutritional value of lime and lemon in hypercholesterolaemic induced rats. Asian Journal of Medical Sciences. 3(1):13-6.
- Aladedunye FA, Przybylski R. 2009. Degradation and nutritional quality changes of oil during frying. J Am Oil Chem Soc. 86(2):149–156.
- Alvia NL, Kis Djamiatun, Martha I Kartasurya. 2017. Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) terhadap Kolesterol Darah, Soluble ICAM-1 dan Pembentukan Sel Busa pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak dan Kolesterol. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 29(3):202-208
- Aminah S. 2010. Peroxide Value Bulk Cooking Oil and Organoleptic Characteristic of Tempe in Repeated Frying. Jurnal Pangan dan Gizi. 1(1): 7 -14.
- AVMA. 2013. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Schaumburg: American Veterinary Medical Association. Pp. 30-48.

- Ayu R, Sartika D. 2009. Pengaruh Suhu dan Lama Proses Menggoreng (Deep Frying) Terhadap Pembentukan Asam Lemak Trans. *MAKARA SAINS*. 13(1): 23–28.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Survei Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) Tahun 2016: Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Nidya T.P.A. 2017. Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dawley [Skripsi]. Lampung: Universitas Lampung
- 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.
- Burt, S.A. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *Inter. J. Food Microbiol.* 94(3): 223-253.
- Duthie, G. and A. Crozier. 2000. Plant-derived phenolic antioxidants. *Curr. Opin. Lipidol.* 11(1):43-7.
- Eckman DM, Stacey RB, Rowe R, Agostino RD, Kock ND. 2013. Weekly doxorubicin increases coronary arteriolar wall and adventitial thickness. *J. Plos One.* 8(2): 1-6.
- Estina, 2016. Jenis dan ciri-ciri tikus laboratorium disertai gambar. Tersedia dari: <https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-laboratorium-disertai-gambar/>.
- 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.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro*. London : Elviseier
- Gulati, O. P. H. Norsmann, A. Aellig, M. F. Maignam and J. McGunnes. 1985. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 273-323
- Hajar, E. W. I., Purba, A. F. W., Handayani, P., & Mardiah. 2016. Proses Pemurnian Minyak Jelantah Menggunakan Ampas Tebu Untuk Pembuatan Sabun Padat. 6(2): 57–63.
- Haryani K. 2008. Potensi Zeolit Dari Daerah Kemiri, Purworejo Untuk Penjernihan Minyak Goreng Bekas. *TEKNIS* 1(3): 18 -23.
- Hedrich, J.H., J. Baker, R. Lindsey, & S.H. Weisbroth. 2006. *The laboratory rat*. Elsevier inc. Oxford

- Isdadiyanto, Moeljopawiro S, Puniawati SN, Wuryastuty H. 2013. Chitosan mempertipis dinding dan memperbesar diameter lumen arteri koroner tikus putih yang diberi lemak tinggi. *Journal Veteriner*. 14:310-6.
- Junqueira LC, Carneiro J.2011. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. Jakarta: EGC
- Kawaii, S., T. Yasuhiko, K. Eriko, O. Kazunori, Y. Masamichi, K. Meisaku, Chihiro Ito and F. Hiroshi.2000. Quantitative study of flavonoids in leaves of Citrus plants. *J. Agric. Food Chem.*, 48(9): 3865-3871.
- Ketaren S. 2008. *Pengantar teknologi minyak dan lemak pangan*. Jakarta: UI Press.
- Khomsan A. 2010. *Pangan dan gizi untuk kesehatan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2013. Penyakit pada pembuluh darah. Dalam: Asrorudin M, Hartanto H, Darmaniyah N. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Kusumawati, D., 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta :Gadjah Mada University Press
- Kustiyah I, Prasetyo A. 2003. Pengaruh berbagai variasi dosis ekstrak morinda citrifolia terhadap kadar lipid serum dan perkembangan lesi aterosklerosis pada aorta abdominalis tikus Wistar. *Media Medika Indonesia*. 38:4
- Lingga, I.S., Citraningtyas, G., & Lolo, W.A. 2014. Uji Efek Ekstrak Etanol Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* Linn.) sebagai Diuretik pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus* sp). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(3):287-293.
- Mahesya, AP., Susianti & I Windarti.2014. Pengaruh Pemberian Minyak Goreng Bekas yang Dimurnikan dengan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* ) Terhadap Gambaran Hepatosit Tikus. *Juke Unila*. 3(2) :11–19.
- Malarstig, A., Eriksson, P., Hamsten, A., Lindahl, B., Wallentin, L., and Siegbahn, A. 2008. Raised Interleukin - 10 is an Indicator of Poor Outcome and Enhanced Systemic Inflammation in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Heart*, 94(6):724-9
- Malkan, I., Ilmi, B., Khomsan, A., Marliyati, S. A., Masyarakat, D. G., Manusia, F. E., & Bogor, I. P. 2015. Kualitas Minyak Goreng dan Produk Gorengan Selama Penggorengan di Rumah Tangga Indonesia. *jurnal aplikasi teknologi pangan*. 4(2): 61–65.
- Maliya A. 2006. Perbedaan Profil Lipid Serum Dan Perkembangan Lesi Aterosklerotik Aorta Abdominalis Antara Kelompok Yang Diberi Perasan

Pare (*Momordica charantia*) Dan Kontrol. [Tesis]. Semarang :Universitas Diponegoro

- Mochtadi D. 2009. *Gizi Anti Penuaan Dini*. Bandung: Alfabeta.
- Mohanapriya,M. 2013. Health and Medinical Properties of Lemon (*Citrus limonum*) *International journal of ayurvedic & herbal medicine* 3(1): 1095-1100
- Muslimah U, Guntarti A. 2014. Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis(*Garciniamangostana*) Sebagai Antioksidan Alami Pada Minyak Krengseng.Prosiding Seminar Nasional dan Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV”. 22-30.
- Narayana K.R., Reddy M.Spiral., Chauvaldi,M.R.,Krishna,D.R.2001. Bioflavonoids Classification , Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. *Indian Journal of Pharmacology*.33:2–16.
- Nurfadillah,LD., Nurainiwati SA., S.M Agustini.2013. Pengaruh Pemberian Minyak Deep Frying Terhadap Perubahan Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus novergicus strain wistar*).*Saintika Medika*.9(1)
- Pokorn J, Panek J, Trojakova L. 2003. Effect of food component changes during frying on the nutrition value of fried food. *Forum Nutr*. 56(1): 348-50.
- Oboh, G., Bello, F. O., & Ademosun, A. O. 2015. Enzyme Properties of Lemon (*Citrus limon*) and Lime (*Citrus aurantifolia*) Juices. 1395–1406. [Online Journal] [diunduh 2 April 2017] Tersedia dari : <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2088-x>
- Okada, T., Ayada, K., Usui, S., Yokota, K., Cui, J., Kawahara, Y., Inaba, Y.,Hirohata, S., Mizuno, M., Yamamoto, D., Kusachi, S., Matsuura, E., and Oguma, K..2007. Antibodies against heat shock protein 60 derived from *Helicobacter pylori* : Diagnostic implications in cardiovascular disease.*Journal of Auitoimmunity*. 29 : 106-15
- Ortuno, A.A., P. Baidez, M.C. Gomez, I. Arcas, A.G. Porras and J.A. Del Rio.2006. Citrus paradise and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem*.98(2): 351-358.
- Ozben, B., and Endorgan O. 2008. The Role of Inflammation and Allergy in Acute Coronary Syndromes. *Inflammation and Allergy - Drug Targets*. 7(3) :136 - 44
- Paulsen, F. & J.Waschke. 2010. *Sobotta Atlas Anatomi Manusia*.Edisi 23.Jakarta: EGC.

- Prasetyo A, Udadi S. 2006. Aspek Seluler dan Molekuler Aterosklerosis. Media Medika Indonesia. (2)
- Rader DJ, Hobbs HH. 2005. Disorder of lipoprotein metabolism. Dalam: Harrison's principles of internal medicine. Edisi ke-16. New York: Mc Graw Hill.
- Rukmana, H.R. 2001. Jeruk Lemon. Edisi 5. Yogyakarta : Kanisius
- Rukmini A. 2007. Regenerasi Minyak Goreng Bekas dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. Seminar Nasional Teknologi. 24 November. Yogyakarta. Hlm. 1-9.
- Sartika R. 2008. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional. 2(4):155- 160.
- Sayuti K., Yenrina R. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang : Andalas University Press
- Shastri C, Ambalal P, Himanshu J, Aswathanarayana B. 2011. Evaluation of effect of reused edible oils on vital organs of wistar rats. NUJHS. 1(4): 10-5.
- Sri I. 2018. Tebal Dinding dan Diameter Lumen Arteria Koronaria Tikus Putih Setelah Pemberian Teh Kombucha Kadar 100% Waktu Fermentasi 6, 9 dan 12 Hari. Buletin anatomi dan fisiologi. 3(1)
- Suhatri, Dian Z.P, Elisma. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) Terhadap Aterosklerosis Pada Burung Puyuh Jantan (*Coturnix-coturnix japonica*). Jurnal Farmasi Higea, 6(2):174–183.
- Susianti. 2014. Pengaruh Minyak Goreng Bekas Yang Dimurnikan Dengan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Jantung Tikus. Jurnal Andalas. 37(Supl 2):S54–60.
- Sherwood L. 2011. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Jakarta: EGC.
- Snell, R.S., 2008. Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem. Jakarta: EGC.
- Tao L, Kendall K. 2013. Sinopsis organ sistem kardiovaskular, diterjemah oleh Hartono A dan Gunardi S. Tangerang Selatan: Karisma Publishing Group.
- Winarti, Sri. 2010. Makanan Fungsional. Yogyakarta
- Windarti I, Muhartono, Widayana G. 2015. Pengaruh Pemberian Herbisida Paraquat Diklorida Per-Oral Terhadap Derajat Kerusakan Esofagus Tikus

Putih Jantan Galur Sprague dawley. Juke Unila. 5(9): 9-12

Yadav,A., Kumari R, Ashwani Y., Mishra,J.P., Seweta S., Shashi P.2016. Antioxidants and its functions in human body - A Review. Research in Environment and Life Sciences. 9(11) 1328-1331.

Zhou Z, Yuyang W, Yumei J, Diao Y, Strappe P. 2016. Deep-fried oil consumption in rats impairs glycerolipid metabolism, gut histology andmicrobiota structure. Biomed Central. 15(86): 1-11