

Gambaran Anatomi Mikroskopik dan Kadar Malondialdehida pada Hati Mencit setelah pemberian Minyak Kelapa Sawit Bekas Menggoreng

Oeij, Anindita Adhika¹, Wahyuni Lukita Atmadja²,
Sadiah Achmad³, Aming Tohardi⁴

^{1,4}Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha,

²Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Pelita Harapan,

³Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran

Abstract

Palm oil has been widely used in Indonesia as cooking oil. Repeated heating at high temperatures will damage the cooking oils by the formation of peroxide, aldehyde, ketone, alcohol, and hydrocarbon compound. Previous studies reported that giving cooked and oxidized cooking oils to livestock has resulted in various poisonous phenomena. To examine liver damage caused by using cooked palm oil, 36 male Balb/c mice are divided randomly into 6 groups (n = 6), and to each group were administered orally: (1) water, (2) fresh palm oil, (3) 4 times cooked palm oil, (4) 10 times cooked palm oil, (5) 20 times cooked palm oil, and (6) 40 times cooked palm oil; using gavage needle at a dose of 0,5 ml/100 g body weight/day, once a day for 7 successive days. On the eighth day, part of the liver of each mouse was examined histologically, stained using Hematoxylin-Eosin to count the number of necrotic hepatocytes in 20 centrilobular regions randomly. The number of neutrophils stained using Naphthol AS-D chloroacetate esterase were also counted in 20 centrilobular regions randomly. The other part of the liver was homogenized to determine the concentration of malondialdehyde (MDA) using TBARS method. The results show a significant increase ($p < 0,05$) in the number of necrotic hepatocytes, the number of neutrophils, and the concentration of MDA of the groups treated with 10, 20, and 40 times cooked palm oil compared with the group treated with fresh palm oil. Further studies about the toxicology of cooked palm oils are warranted to elucidate the biomolecular basis underlying the xenobiotic metabolism and the defence mechanisms of the liver.

Keywords: cooked palm oil, hepatocytes, neutrophils, MDA

Pendahuluan

Di Indonesia makanan yang digoreng sangat disukai dan dikonsumsi secara luas oleh berbagai lapisan masyarakat dari segala tingkat usia¹. Bahan makanan yang digoreng menempati porsi yang cukup besar dari menu makanan sehari-hari. Dalam proses penggorengan, minyak berfungsi sebagai medium penghantar panas, menambah rasa gurih, dan menambah nilai gizi serta kalori dalam bahan pangan². Menggoreng merupakan suatu

cara memasak bahan pangan yang banyak dilakukan di Indonesia dan menggunakan minyak goreng yang berfungsi sebagai penghantar panas yang mematangkan bahan makanan. Suhu penggorengan yang dianjurkan biasanya berkisar 177°C-201°C, tergantung pada bahan yang digoreng¹. Sebagian besar minyak goreng yang dipasarkan dan umum digunakan di Indonesia adalah minyak kelapa sawit (*palm oil*).

Selama proses penggorengan, minyak goreng mengalami berbagai reaksi kimia, antara lain: hidrolisis, oksidasi, isomerisasi, dan polimerisasi. Kerusakan minyak karena pemanasan pada suhu tinggi disebabkan oleh proses oksidasi dan polimerisasi; kerusakan minyak selama proses menggoreng juga dapat mempengaruhi mutu dan nilai gizi dari bahan makanan yang digoreng².

Oksidasi minyak goreng akan menghasilkan peroksida lipid sebagai produk primer, selanjutnya dekomposisi peroksida lipid akan menghasilkan epoksida, aldehida jenuh, aldehida tidak jenuh, keton, dan hidrokarbon³. Pembentukan senyawa polimer selama proses menggoreng terjadi karena reaksi polimerisasi tambahan dari asam lemak tidak jenuh. Hal ini terbukti dengan terbentuknya bahan menyerupai gum (*gummy material*) yang mengendap di dasar wadah penggoreng. Jika minyak dipanaskan berulang-ulang, maka proses destruksi minyak akan bertambah cepat; hal ini disebabkan meningkatnya kadar peroksida pada tahap pendinginan yang akan mengalami dekomposisi jika minyak tersebut dipanaskan kembali¹.

Timbulnya racun dalam minyak yang dipanaskan telah banyak dipelajari. Jika minyak tersebut diberikan pada ternak atau disuntikkan ke dalam darah, akan timbul gejala diare, kelambatan pertumbuhan, pembesaran organ, deposit lemak yang tidak normal, kanker, kontrol tidak sempurna pada pusat saraf, dan mempersingkat umur. Peroksida lipid dalam aliran darah mengakibatkan denaturasi lipoprotein yang mempunyai kerapatan rendah. Lipoprotein dalam keadaan normal berfungsi sebagai alat transportasi trigliserida, sehingga bila

mengalami denaturasi akan mengakibatkan deposisi lemak dalam pembuluh darah dan menimbulkan gejala aterosklerosis². Sunityoso dkk⁴ melaporkan terjadinya degenerasi hingga nekrosis hepatosit pada hati mencit yang diberi minyak kelapa (*coconut oil*) bekas menggoreng.

Dibandingkan dengan minyak kelapa, minyak kelapa sawit lebih lazim digunakan sebagai minyak goreng oleh masyarakat Indonesia. Minyak kelapa sawit mempunyai kandungan asam lemak tidak jenuh yang lebih tinggi yakni 49,81% (kandungan asam lemak tidak jenuh dari minyak kelapa adalah 8-10%)¹, sehingga pada proses penggorengan dengan menggunakan suhu tinggi akan lebih mudah rusak sebagai akibat dari proses oksidasi yang terjadi pada ikatan rangkapnya².

Pada penelitian ini akan diteliti pengaruh penggunaan minyak kelapa sawit bekas menggoreng yang telah dipanaskan puluhan kali pada suhu tinggi, sesuai dengan kebiasaan para ibu rumah tangga dan pedagang gorengan dalam pemakaian minyak goreng. Disamping itu, walaupun telah dilaporkan adanya kerusakan hepatosit akibat pemberian minyak kelapa bekas menggoreng, namun belum pernah dilaporkan hubungan antara kerusakan hepatosit dan peningkatan jumlah neutrofil sebagai akibat dari respon peradangan hati, serta peningkatan kadar malondialdehida hati untuk mengetahui proses kerusakan hepatosit yang terjadi sebagai akibat reaksi rantai radikal bebas yang berlebihan.

Bahan dan Cara Bahan

Binatang percobaan yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*)

L.) jantan galur Balb/c, umur 8 minggu, berat badan 25-30 gram, dan diperoleh dari PT Bio Farma, Bandung. Sebelum penelitian dimulai, mencit diadaptasikan dengan suasana laboratorium selama 7 hari. Mencit diberi makan pelet yang didapat dari PT Bio Farma dan minum air *ad libitum*.

Cara

Tiga puluh enam ekor mencit dibagi menjadi 6 kelompok ($n = 6$), masing-masing dengan perlakuan sebagai berikut: (1) diberikan air minum, (2) diberikan minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan, (3) diberikan minyak kelapa sawit bekas menggoreng 4 kali, (4) diberikan minyak kelapa sawit bekas menggoreng 10 kali, (5) diberikan minyak kelapa sawit bekas menggoreng 20 kali, (6) diberikan minyak kelapa sawit bekas menggoreng 40 kali. Dosis air minum dan minyak kelapa sawit yang diberikan adalah 0,5 ml/100 g BB/hari. Volume air minum dan minyak kelapa sawit yang diberikan pada setiap ekor mencit disesuaikan dengan berat badan masing-masing. Pemberian dilakukan per oral dengan *gavage needle* dan dilaksanakan pada waktu yang sama setiap hari selama 7 hari berturut-turut.

Pada hari ke-8, semua mencit dikorbankan dengan cara dislokasi leher. Sebagian jaringan hati mencit dibuat preparat histologik untuk pemeriksaan gambaran anatomi mikroskopik hati. Untuk pengamatan hepatosit dilakukan pewarnaan Hematoksin-Eosin, sedangkan untuk pengamatan neutrofil, sayatan dipulas menurut prosedur pewarnaan *Naphthol AS-D chloroacetate esterase*. Sisa jaringan hati dihomogenisasi untuk mengukur malondialdehida hati dengan metode

TBARS (*thiobarbituric acid-like reactive substance*)⁵.

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah hepatosit yang nekrosis pada 20 area perisentral, jumlah neutrofil pada 20 area perisentral, dan kadar malondialdehida hati. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji ANAVA, dilanjutkan *Student Newman-Keuls test* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$) dianggap signifikan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hepatosit yang Nekrosis

Gambaran anatomi mikroskopik pada hati mencit setelah pemberian minyak kelapa sawit bekas menggoreng menunjukkan terjadinya degenerasi dan nekrosis pada hepatosit. Hepatosit yang mengalami nekrosis akan memberikan gambaran mikroskopik berupa: kerusakan membran sel (membran sel tidak utuh), vakuola dalam sitoplasma, gambaran inti yang bervariasi dari piknotik, karioreksis, dan kariolisis¹². Hasil penghitungan disajikan dalam Tabel 1.

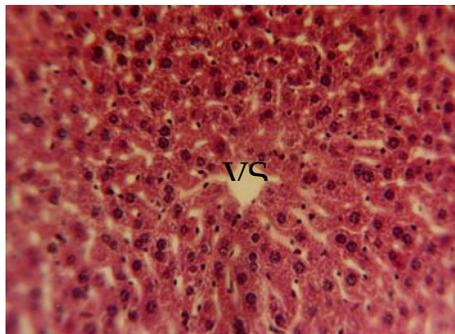
Analisis statistik dengan menggunakan uji ANAVA menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna ($p \leq 0,001$) diantara keenam kelompok perlakuan.

Uji selanjutnya dengan *Student Newman-Keuls test* menunjukkan perbedaan secara bermakna ($p < 0,05$) antara K VI dengan K V, K IV, K III, K II dan K I; K V dengan K IV, K III, K II dan K I; K IV dengan K III, K II dan K I.

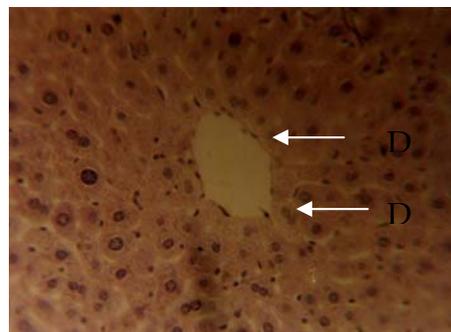
Tabel 1. Jumlah hepatosit yang nekrosis dari masing-masing kelompok

Mencit	P e r l a k u a n					
	Air minum (Kelompok I)	Minyak kelapa sawit tidak dipanaskan (Kelompok II)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 4 kali (Kelompok III)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 10 kali (Kelompok IV)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 20 kali (Kelompok V)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 40 kali (Kelompok VI)
1	19	10	18	34	83	151
2	16	16	26	64	111	143
3	28	5	26	74	99	167
4	10	17	16	62	116	177
5	9	21	22	75	142	189
6	12	35	29	88	62	201
Rata-rata	15,667	17,333	22,833	66,167	102,167	171,333

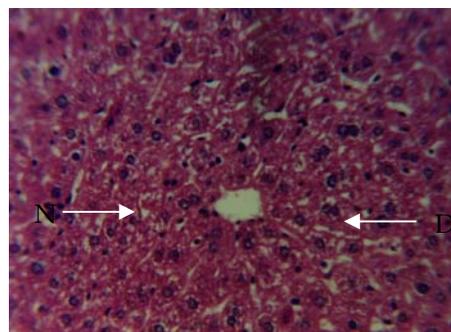
Gambar-gambar berikut ini memperlihatkan gambaran anatomi mikroskopik sel-sel parenkim hati dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin dari masing-masing kelompok.



Gambar 1. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok I (kelompok mencit yang diberikan air minum). Hepatosit tampak normal dengan inti bulat, sitoplasma homogen, dan membran sel utuh. Di tengah tampak vena sentralis (VS). HE 400X

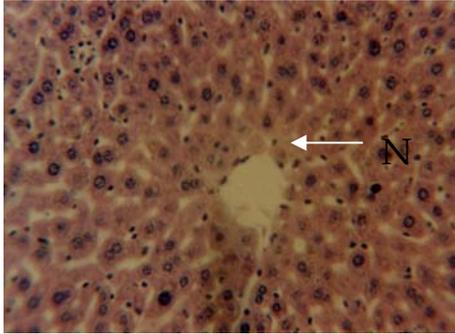


Gambar 2. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok II (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan). Secara umum hepatosit tampak normal, tapi ada pula yang mengalami degenerasi (D) dengan pembengkakan sel dan vakuola sitoplasmik. HE400X

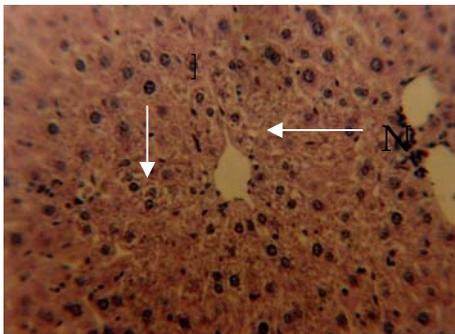


Gambar 3. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok III (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 4 kali). Hepatosit masih tampak normal, beberapa menunjukkan gambaran degenerasi (D) dengan pembengkakan sel dan vakuola sitoplasmik. Tampak pula hepatosit yang mengalami nekrosis (N) dengan membran sel yang

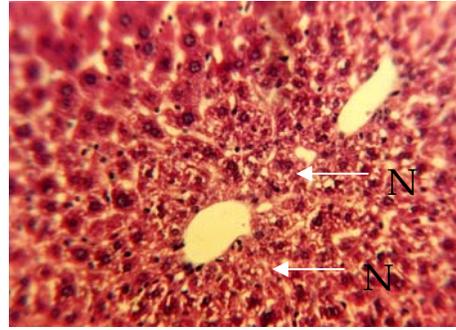
rusak, vakuola sitoplasmik, dan inti sel mengalami piknosis, karioreksis, atau kariolisis. HE 400X



Gambar 4. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok IV (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 10 kali). Beberapa hepatosit di area perisentral tampak nekrosis (N), dan memberikan gambaran berupa membran sel yang tidak utuh, vakuola sitoplasmik, dan kerusakan inti sel. HE 400X



Gambar 5. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok V (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 20 kali). Hepatosit di area perisentral mengalami nekrosis (N), tampak membran sel tidak utuh, vakuola sitoplasmik, dan inti sel yang rusak (bervariasi dari piknosis, karioreksis, dan kariolisis). HE 400X



Gambar 6. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok VI (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 40 kali). Banyak hepatosit di area perisentral yang mengalami nekrosis dan memberikan gambaran berupa kerusakan membran sel, vakuola sitoplasmik, dan kerusakan inti sel. HE 400X

Peningkatan Jumlah Neutrofil

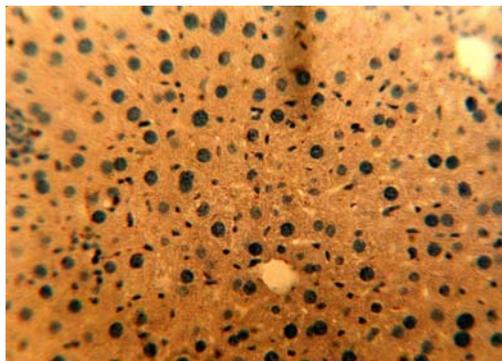
Hati dari mencit yang diberi minyak kelapa sawit bekas menggoreng menunjukkan gambaran anatomi mikroskopik berupa peningkatan jumlah neutrofil di daerah sekitar vena sentralis. Hasil penghitungan disajikan dalam Tabel 2.

Analisis statistik dengan menggunakan uji ANAVA menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna ($p \leq 0,001$) diantara keenam kelompok perlakuan. Uji selanjutnya dengan *Student Newman-Keuls test* menunjukkan perbedaan secara bermakna ($p < 0,05$) antara K VI dengan K V, K IV, K III, K II dan K I; K V dengan K IV, K III, K II dan K I; K IV dengan K III, K II dan K I.

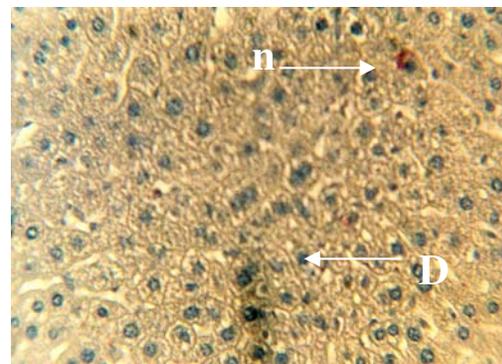
Tabel 2. Jumlah neutrofil pada area perisentral dari masing-masing kelompok

Mencit	P e r l a k u a n					
	No	Air minum (Kelompok I)	Minyak kelapa sawit tidak dipanaskan (Kelompok II)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 4 kali (Kelompok III)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 10 kali (Kelompok IV)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 20 kali (Kelompok V)
1	18	6	12	53	68	84
2	4	24	9	13	87	78
3	10	6	22	40	95	103
4	12	31	19	33	52	105
5	14	6	6	50	89	118
6	13	3	38	69	41	88
Rata-rata	11,833	12,667	17,667	43	72	96

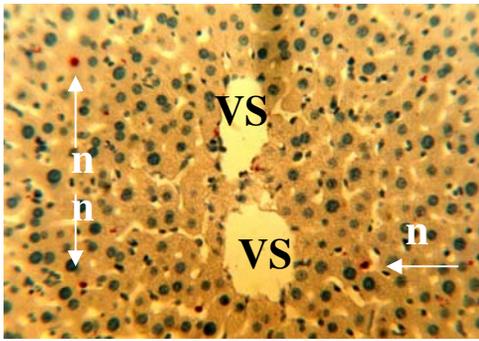
Gambar-gambar berikut ini memperlihatkan gambaran anatomi mikroskopik dari peningkatan jumlah neutrofil dengan pewarnaan *Naphthol AS-D chloroacetate esterase* pada masing-masing kelompok.



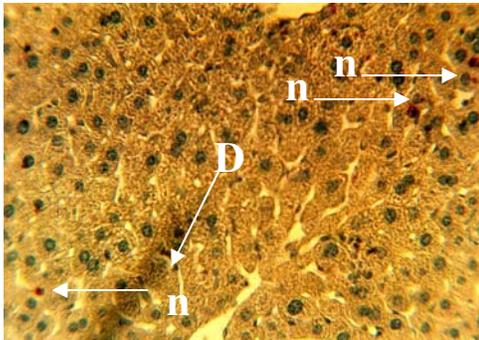
Gambar 7. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok I (kelompok mencit yang diberikan air minum). Neutrofil tidak tampak, hepatosit tampak normal. Naphthol 400X



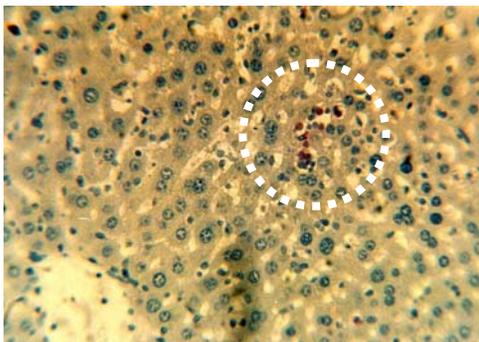
Gambar 8. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok II (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan). Tampak neutrofil (n) berwarna merah terang, beberapa hepatosit menunjukkan gambaran degenerasi (D) dengan pembengkakan sel dan vakuola sitoplasmik. Naphthol 400X



Gambar 9. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok III (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 4X). Tampak beberapa neutrofil (n) berwarna merah terang di sekitar vena sentralis (VS). Naphthol 400X



Gambar 10. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok IV (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 10X). Tampak neutrofil (n) berwarna merah terang, hepatosit menunjukkan gambaran degenerasi (D) dengan pembengkakan sel dan vakuola sitoplasmik. Naphthol 400X



Gambar 11. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok V (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 20X). Neutrofil (dalam lingkaran) dalam jumlah banyak tampak di sekitar area nekrotik, berwarna merah terang. Naphthol 400X



Gambar 12. Gambaran anatomi mikroskopik hati mencit kelompok VI (kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 40X). Neutrofil (dalam lingkaran) dalam jumlah banyak tampak di dalam sinusoid hati, berwarna merah terang. Naphthol 400X

Kadar Malondialdehida (MDA) Hati

Hasil uji asam tiobarbiturat menunjukkan terjadinya peningkatan nilai absorbansi MDA hati yang diukur pada hari ke-8 setelah pemberian minyak kelapa sawit bekas menggoreng pada mencit. Hasil pengukuran absorbansi dari masing-masing kelompok disajikan dalam Tabel 3.

Untuk menentukan kadar malondialdehida dari nilai absorbansinya, maka dibuat kurva baku malondialdehida dengan cara mengukur absorbansi dari MDA murni dari berbagai konsentrasi.

Tabel 3. Nilai absorbansi malondialdehida (MDA) hati dari masing-masing kelompok

Mencit		P e r l a k u a n				
No	Air minum (Kelompok I)	Minyak kelapa sawit tidak dipanaskan (Kelompok II)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 4 kali (Kelompok III)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 10 kali (Kelompok IV)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 20 kali (Kelompok V)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 40 kali (Kelompok VI)
1	0,097	0,114	0,112	0,131	0,152	0,184
2	0,086	0,102	0,112	0,131	0,154	0,187
3	0,108	0,108	0,114	0,125	0,172	0,162
4	0,088	0,108	0,102	0,142	0,162	0,194
5	0,081	0,086	0,097	0,131	0,161	0,184
6	0,102	0,095	0,097	0,122	0,155	0,2
Rata-rata	0,094	0,102	0,106	0,130	0,159	0,185

Tabel 4. Kadar malondialdehida hati (dalam μM) dari masing-masing kelompok

Mencit		P e r l a k u a n				
No	Air minum (Kelompok I)	Minyak kelapa sawit tidak dipanaskan (Kelompok II)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 4 kali (Kelompok III)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 10 kali (Kelompok IV)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 20 kali (Kelompok V)	Minyak kelapa sawit dipanaskan 40 kali (Kelompok VI)
1	2,731	3,213	3,157	3,695	4,291	5,199
2	2,419	2,873	3,157	3,695	4,348	5,284
3	3,043	3,043	3,213	3,525	4,858	4,574
4	2,476	3,043	2,873	4,008	4,574	5,482
5	2,278	2,419	2,731	3,695	4,546	5,199
6	2,873	2,675	2,731	3,44	4,376	5,652
Rata-rata	2,637	2,878	2,977	3,676	4,499	5,232

Selanjutnya dengan menggunakan regresi linier, didapatkan persamaan garis dari kurva baku tersebut yaitu:

$$Y=0,00069+0,03526X$$

Y: nilai absorbansi

X: konsentrasi MDA(μM)

Dengan menggunakan persamaan tersebut, diperoleh kadar malondialdehida hati dari masing-masing mencit seperti yang disajikan dalam Tabel 4.

Analisis statistik dengan menggunakan uji ANAVA menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna ($p \leq 0,001$) diantara keenam kelompok perlakuan. Uji selanjutnya dengan *Student Newman-Keuls test* menunjukkan perbedaan secara bermakna ($p < 0,05$) antara K VI dengan K V, K IV, K III, K II dan K I; K V dengan K IV, K III, K II dan K I; K IV dengan K III, K II dan K I.

Pembahasan

Pemberian minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan berulang-ulang

pada mencit menimbulkan kerusakan hepatosit pada area perisentral. Hasil pemeriksaan anatomi mikroskopik menunjukkan gambaran nekrosis hepatosit berupa membran sel yang tidak utuh, sitoplasma yang mengandung banyak vakuola, dengan inti sel yang terlihat lebih basofil dan gambaran yang bervariasi mulai dari piknosis, karioreksis, serta kariolisis; terlihat pula gambaran degenerasi yang ditandai dengan pembengkakan hepatosit dan vakuola sitoplasmik.

Nilai rata-rata tertinggi dari nekrosis hepatosit didapatkan pada kelompok VI yaitu kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 40 kali dengan dosis 0,5 ml/100 g BB/hari per oral, yakni 171,333. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sunityoso dkk⁴ yang menunjukkan terjadinya kerusakan hepatosit berupa degenerasi hingga nekrosis hepatosit yang meningkat sejalan dengan banyaknya ulangan pemakaian minyak kelapa bekas menggoreng.

Nekrosis hepatosit diduga disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terbentuk selama proses pemanasan minyak kelapa sawit dengan suhu tinggi dan dilakukan berulang-ulang. Pada pemanasan dengan suhu tinggi, terjadi kerusakan minyak goreng akibat proses oksidasi dan polimerisasi pada asam lemak tidak jenuh yang terkandung dalam minyak kelapa sawit. Makin banyak ikatan rangkap yang terdapat dalam asam lemak tidak jenuh, makin cepat rusak minyak tersebut². Produk primer dari proses oksidasi minyak goreng adalah senyawa peroksida, selanjutnya dekomposisi peroksida lipid akan menghasilkan epoksida, aldehida jenuh, aldehida tidak jenuh, keton, dan hidrokarbon³. Pada pemanasan yang

dilakukan berulang-ulang, proses kerusakan minyak goreng yang terjadi akan bertambah cepat, akibat meningkatnya kadar peroksida pada tahap pendinginan dan peroksida tersebut akan mengalami dekomposisi jika minyak goreng tersebut dipanaskan kembali². Di samping itu, menurut Jaeschke^{6,7} zat-zat toksik pun dapat menginduksi pembentukan senyawa oksigen reaktif. Senyawa oksigen reaktif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh jamak yang terdapat dalam lipid membran sel hepatosit, sehingga menimbulkan kerusakan membran sel hepatosit yang mengakibatkan terjadinya nekrosis hepatosit.

Nilai rata-rata tertinggi dari peningkatan jumlah neutrofil didapatkan pada kelompok VI yaitu kelompok mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 40 kali dengan dosis 0,5 ml/100 g BB per oral, yakni 96.

Peningkatan jumlah neutrofil ini diduga disebabkan oleh terjadinya respon peradangan hati yang dimaksudkan untuk menghancurkan atau membatasi penyebaran agen penyebab timbulnya jejas⁸. Kerusakan hepatosit dan senyawa-senyawa yang terdapat dalam minyak kelapa sawit bekas menggoreng akan mengaktifkan sel Kupffer yang terletak di dalam sinusoid hati. Sel Kupffer yang teraktivasi akan menghasilkan TNF α dan IL-1^{9,10}. TNF α dan IL-1 akan mengubah karakteristik permukaan sel endotel dan merangsang sel endotel untuk mengekspresikan berbagai peptida adhesi untuk neutrofil, limfosit, dan monosit, seperti ELAM-1, ICAM-1, PADGEM dan VCAM-1. Berbagai jenis sitokin tersebut tidak hanya menyebabkan sekuestrasi neutrofil

sebagai sel radang yang pertama dan yang paling banyak ditemukan pada proses peradangan akut¹¹, tetapi juga menyebabkan adhesi neutrofil ke sel endotel pembuluh darah dan migrasi transendotelial neutrofil ke jaringan parenkim hati¹⁰. Penelitian Lukita-Atmadja dkk^{12,13} memperlihatkan bahwa pada proses peradangan hati yang ditimbulkan dengan pemberian endotoksin, terjadinya akumulasi masif neutrofil akan menyebabkan kerusakan sel-sel parenkim hati. Selain itu, pada penelitian Jaeschke dkk¹⁴ mengenai jejas iskemia-reperfusion, ditemukan pula bahwa neutrofil berperan penting dalam nekrosis hepatosit. Hal ini dapat terjadi, karena neutrofil seperti juga sel Kupffer dapat menghasilkan senyawa oksigen reaktif^{3,6,7} yang dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid pada hepatosit yang pada akhirnya dapat menyebabkan nekrosis hepatosit. Hal ini juga tampak pada hasil penelitian ini, dimana terdapat peningkatan jumlah nekrosis hepatosit yang sejalan dengan peningkatan jumlah neutrofil.

Kadar malondialdehidat hati pada mencit yang diberikan minyak kelapa sawit yang dipanaskan 10 kali, 20 kali, dan 40 kali meningkat secara bermakna ($p \leq 0,001$). Nilai tertinggi rata-rata dari kadar MDA hati mencit didapatkan pada kelompok VI, yakni $5,232 \mu\text{M}$.

Pemberian minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan puluhan kali pada mencit akan menimbulkan kerusakan hati dan membangkitkan respon peradangan hati. Mekanisme dari jejas hati ini diduga berhubungan dengan radikal bebas yang akan berlanjut dengan terjadinya peroksidasi lipid. Malondialdehidat merupakan senyawa aldehidat yang terbentuk sebagai produk sekunder peroksidasi lipid.

Pada kelompok III, yaitu kelompok mencit ($n=6$) yang diberi minyak kelapa sawit yang dipanaskan 4 kali dengan dosis $0,5 \text{ ml}/100 \text{ g BB}/\text{hari}$ per oral, didapatkan hasil penghitungan rata-rata nekrosis hepatosit adalah $22,833$, peningkatan jumlah neutrofil rata-rata adalah $17,667$, dan kadar MDA hati rata-rata adalah $2,977 \mu\text{M}$. Analisis statistika dengan *Student Newman-Keuls test* tidak menemukan perbedaan secara bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok I, II, dan III, baik untuk nilai rata-rata nekrosis hepatosit, peningkatan jumlah neutrofil, maupun kadar MDA hati. Hasil ini menyokong anjuran Tien Muchtadi, bahwa dalam penggunaannya sebagai minyak goreng, sebaiknya minyak kelapa sawit dipakai menggoreng tidak lebih dari 4 kali, karena pada proses penggorengan dengan suhu mencapai 200°C , rantai kimia minyak goreng akan terurai, sehingga terbentuk senyawa-senyawa yang bersifat toksik sebagai hasil degradasi peroksida lipid dari minyak goreng yang teroksidasi^{2,3,15}.

Jika ditinjau dari tingkat kerusakan, baik nekrosis hepatosit, peningkatan jumlah neutrofil, maupun kadar MDA hati, terlihat adanya peningkatan kerusakan sejalan dengan banyaknya ulangan pemakaian minyak kelapa sawit bekas menggoreng. Kerusakan terbesar tampak pada hati mencit kelompok VI yang diberikan minyak kelapa sawit yang telah dipanaskan 40 kali. Sebaliknya pada hati dari mencit yang diberikan air minum, minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan, ataupun minyak kelapa sawit yang dipanaskan 4 kali, tidak didapatkan kerusakan hati yang bermakna secara statistik.

Kesimpulan

Pemberian minyak kelapa sawit bekas menggoreng yang telah dipanaskan 10 kali, 20 kali, dan 40 kali pada mencit menyebabkan terjadinya perubahan gambaran anatomi mikroskopik berupa nekrosis hepatosit secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan pemberian minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan.

Pemberian minyak kelapa sawit bekas menggoreng yang telah dipanaskan 10 kali, 20 kali, dan 40 kali pada mencit menyebabkan terjadinya perubahan gambaran anatomi mikroskopik berupa peningkatan jumlah neutrofil secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan pemberian minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan.

Pemberian minyak kelapa sawit bekas menggoreng yang telah dipanaskan 10 kali, 20 kali, dan 40 kali pada mencit menyebabkan terjadinya peningkatan kadar malondialdehida hati secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan pemberian minyak kelapa sawit yang tidak dipanaskan.

Tingkat kerusakan, baik nekrosis hepatosit, peningkatan jumlah neutrofil, ataupun kadar MDA hati, meningkat sejalan dengan banyaknya ulangan pemakaian minyak kelapa sawit bekas menggoreng.

Daftar Pustaka

1. Winarno FG. Minyak Goreng dalam Menu Masyarakat. Jakarta: Balai Pustaka, 1999.
2. Ketaren S. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), 1986.
3. Halliwell B. Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. New York: Oxford University Press Inc, 1999.
4. Sunityoso S. Kusmana D. Luthfirda Furqonita D. Perubahan Struktur Histologik Organ Hati Mencit (*Mus musculus L.*) yang Dicekok Minyak Kelapa Bekas Gorengan. *Majalah Kedokteran Indonesia*, Volume: 48, Nomor: Maret 1998; 114-120.
5. Ohkawa H. Ohishi N. Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry* 95, 1979; 351-358.
6. Jaeschke H. Mechanisms of Oxidant Stress-Induced Acute Tissue Injury. *Reactive Oxygen-Induced Tissue Injury*. The Society for Experimental Biology and Medicine 1995; 104-111.
7. Jaeschke H. Ho YS. Fisher MA. Lawson JA. Farhood A. Reactive Oxygen and Inflammatory Liver Injury. In: *Cells of The Hepatic Sinusoid*, Volume 7. Leiden: Kupffer Cell Foundation, 1999; 211-215.
8. Crawford JM. The Liver and The Biliary Tract. In: *Robbins Pathologic Basic of Disease*. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company 1999; 846-848.
9. Ito Y. Lukita-Atmadja W. Machen NW. Baker GL. McCuskey RS. Effect of Intravenous Immunoglobulin G on The TNF α -mediated Hepatic Microvascular Inflammatory Response. *Shock*, Vol 11 No. 4, 1999; 291-295.
10. Rieder H. Meyer zum Buschenfelde KH. Ramadori G. Functional spectrum of sinusoidal endothelial liver cells: Filtration, endocytosis, synthetic capacities and intercellular communication. *Journal of Hepatology*, 1992;15; 237-250.
11. Thomson AD. Cotton RE. *Lecture Notes on Pathology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications Limited, 1997; 27. Jaeschke H. Farhood A. Smith CW. Neutrophils contribute to Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Liver in vivo. *FASEB J* 1990; 14; 3355-9.
12. Lukita-Atmadja W. Barlian A. Ito Y. Baker GL. McCuskey RS. Curcuminoids Minimize the Hepatic Microvascular and Parenchymal Inflammatory Response. In: *Cells of the Hepatic Sinusoid*, Volume 7. Leiden: Kupffer Cell Foundation, 1999; 241-242.

13. Lukita-Atmadja W. Ito Y. Baker GL. McCuskey RS. The Role of Curcuminoids In The Improvement of Hepatic Microvascular and Inhibiting The Accumulation of Neutrophil During Endotoxemia. MKB, Volume 31 No. 2, 1999; 65-69.
14. Jaeschke H. Farhood A. Smith CW. Neutrophils contribute to Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Liver in vivo. FASEB J, 1990;14; 3355-9.
15. Varcellotti JR. St Angelo AJ. Spanier AM. Lipid Peroxidation in foods. Acs symposium series 500 American Chemical Society, 1992; 1-11.

