

PENGARUH FREKUENSI PENGGORENGAN MINYAK JELANTAH TERHADAP HEPAR TIKUS WISTAR (*RATTUS NOVERGICUS*)

Indah Mustikasari¹, Fanti Saktini², Ainun Rahmasari Gumay³

¹Mahasiswa Program Studi S-1 Ilmu Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Ilmu Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

Latar Belakang : Penggunaan minyak goreng secara berulang-ulang menyebabkan oksidasi asam lemak tidak jenuh yang kemudian membentuk gugus peroksida (radikal bebas) dan monomer siklik. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, retikulum endoplasma, mengacaukan proses oksidasi, dan menyebabkan pembengkakan hati. **Tujuan :** Mengetahui pengaruh frekuensi penggorengan minyak jelantah terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar (*Rattus norvegicus*). **Metode :** Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true eksperimental* laboratorik dengan *Post Test Only with Control Group Design*. Sampel sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, diadaptasi selama 7 hari. Kelompok K1 hanya diberi pakan dan minum standar, Kelompok K2, P1, P2, dan P3 diberi pakan dan minyak jelantah dengan frekuensi 1x, 3x, 6x dan 9x penggorengan dengan dosis 1.5 ml/hari selama 30 hari. Parameter histopatologi yang dinilai adalah gambaran sel hepar normal, degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Analisis data dengan Chi Square. **Hasil :** Didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok K1 yang tidak diberi minyak jelantah dengan kelompok P2 yang diberi minyak 6x penggorengan ($p=0,050$), kelompok K1 yang tidak diberi minyak jelantah dengan kelompok P3 yang diberi minyak jelantah 9x penggorengan ($p=0,031$), dan kelompok P1 yang diberikan minyak jelantah 3x penggorengan dengan kelompok P2 yang diberikan minyak jelantah 6x penggorengan ($p=0,050$) serta didapatkan juga pada kelompok P1 yang diberikan minyak jelantah 3x penggorengan dengan kelompok P3 yang diberikan minyak jelantah 9x penggorengan ($p=0,031$). **Kesimpulan :** Terdapat pengaruh frekuensi penggorengan minyak jelantah terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

Kata Kunci : Minyak jelantah, frekuensi penggorengan, kerusakan mikroskopis hepar.

ABSTRACT

Background : Repeated use of cooking oil causes oxidation of unsaturated fatty acids that can form the peroxide group (free radicals) and cyclic monomer. Free radicals cause the destruction of cell membrane, endoplasmic reticulum, disorganized oxidation process, and liver enlargement. **Aim :** To understand the effects of frying frequency of used cooking oil on liver microscopic image of wistar mice (*Rattus norvegicus*). **Methods :** This research used laboratory True Experimental design with Post Test Only with Control Group Design. Sample of 25 male wistars that had met the inclusion and exclusion criteria would then be put to adapt for 7 days. Group K1 was fed standard food and water whereas group K2, P1, P2, and P3 were fed standard food and used cooking oil with frying frequency of 1x, 3x, 6x, and 9x with dosage of 1.5ml/day for 30 days. Histopathology parameter that was examined was normal liver microscopic image, parenchymatose degeneration, hydropic degeneration, and necrosis. The data was analyzed with Chi Square. **Result :** There was a significant difference on group K1 which was not given used cooking oil with group P2 which was given oil that had been

used 6 times ($p=0.050$), group K1 which was not given used cooking oil with group P3 which was given used cooking oil that had been used 9 times ($p=0.031$), and group P1 which was given used cooking oil that had been used 3 times with group P2 which was given used cooking oil that had been used 6 times ($p=0.050$), and also group P1 which was given used cooking oil that had been used 3 times with group P3 which was given used cooking oil that had been used 9 times. **Conclusion** : The frying frequency of used cooking oil can cause alteration in liver microscopic image of wistar mice.

Keywords : used cooking oil, frying frequency, microscopic damage to the liver

PENDAHULUAN

Meningkatnya penyakit degeneratif menurut studi epidemiologi yang dilakukan menunjukkan keterkaitan antara pola konsumsi dan gaya hidup secara signifikan. Masyarakat yang mengkonsumsi diet tinggi lemak mempunyai risiko lebih tinggi untuk menderita penyakit degeneratif seperti penyakit hati dan penyakit kardiovaskular.¹ Makanan yang diolah dengan cara digoreng merupakan makanan yang cukup populer dan banyak diminati di kalangan masyarakat. Salah satu komponen penting dalam menggoreng makanan adalah minyak goreng. Minyak goreng adalah minyak yang dimasak bersama bahan pangan atau dijadikan sebagai medium penghantar panas dalam memasak bahan pangan.²

Berdasarkan data Survei Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) 2012, terjadi peningkatan rata-rata konsumsi minyak goreng pada tahun 2012. Untuk tahun 2011, rata-rata konsumsi minyak goreng di

Indonesia adalah 8,24 liter perkapita, sedangkan pada tahun 2012 mencapai angka 9,33 liter perkapita.³

Banyak masyarakat menengah ke bawah memakai minyak goreng secara berulang-ulang, dengan lama pemanasan yang berbeda-beda untuk membuat aneka makanan, padahal pemanasan yang lama ataupun berulang-ulang dapat mempercepat destruksi minyak akibat meningkatnya kadar peroksida. Penggunaan minyak goreng secara berulang-ulang ini menyebabkan oksidasi asam lemak tidak jenuh yang kemudian membentuk gugus peroksida dan monomer siklik, gugus peroksida itu dikenal juga dengan istilah radikal bebas. Konsumsi minyak jelantah dalam kurun waktu tertentu akan menyebabkan deposisi sel lemak di berbagai organ tubuh, hal ini dapat mengakibatkan kerusakan pada berbagai organ tubuh seperti hati, jantung, ginjal dan arteri.⁴

Hati merupakan organ terbesar dan metabolismenya paling kompleks di

dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan, sebagian besar obat, dan zat toksik. Kerusakan pada hati dapat diamati lebih awal dari pada organ lain sehingga dapat digunakan untuk memberikan gambaran pengaruh toksisitas minyak.⁴

Penelitian menunjukkan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, retikulum endoplasma, mengacaukan proses oksidasi, dan menyebabkan pembengkakan hati. Dalam jangka panjang dapat mengakibatkan terjadinya degenerasi lemak, bahkan nekrosis pada sel hepar.⁵

Berdasarkan uraian teori di atas, peneliti tertarik untuk meneliti secara langsung tentang pengaruh pemberian minyak setelah beberapa kali penggorengan terhadap gambaran mikroskopis hepar dari tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only group design*. Penelitian ini menggunakan 5 (lima) kelompok yang terdiri atas 5 tikus tiap kelompoknya, yaitu: Kelompok kontrol 1 (merupakan kelompok yang tidak diberikan minyak jelantah), kelompok

kontrol 2 (merupakan kelompok yang diberikan minyak jelantah 1 kali penggorengan dengan dosis 1.5 ml/hari), kelompok perlakuan 1 (merupakan kelompok yang diberikan minyak jelantah 3 kali penggorengan dengan dosis 1.5 ml/hari), kelompok perlakuan 2 (merupakan kelompok yang diberikan minyak jelantah 6 kali penggorengan dengan dosis 1.5 ml/hari), dan kelompok perlakuan 3 (merupakan kelompok yang diberikan minyak jelantah 9 kali penggorengan dengan dosis 1.5 ml/hari). Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah tikus wistar jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram, tikus aktif, tidak ada kelainan anatomi dan kriteria dropout dari penelitian ini adalah tikus mati pada saat penelitian.

Untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan maka pengambilan sampel dilakukan dengan *allocation random sampling*. Randomisasi langsung dilakukan karena sampel diambil dari tikus Wistar yang sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah minyak jelantah, sedangkan variabel tergantung yang digunakan adalah gambaran mikroskopis hepar pada tikus wistar.

Uji hipotesis yang digunakan adalah uji komparatif Chi-Square karena kelompok-kelompok pengukuran dalam penelitian ini tidak berpasangan dan berjumlah lebih dari dua kelompok, serta variabel-variabel dalam penelitian ini berskala kategorikal (ordinal/ordinal). Nilai p dianggap bermakna apabila $p < 0.05$.

HASIL

Penelitian ini dilakukan Maret – September 2018 di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Laboratorium Sentral Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk pembuatan preparat histopatologi dan Interpretasi hasil mikroskopis sampel jaringan hepar dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr Kariadi Undip. Penelitian ini menggunakan sampel preparat hepar tikus wistar yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus wistar yang memenuhi kriteria inklusi.

Derajat dari degenerasi dan nekrosis hepar didapatkan dengan cara melihat preparat histopatologi. Dikatakan terdegenerasi dan nekrosis bila ditemukan adanya perubahan sel. Terdapat degenerasi parenkimatososa dengan sel hepatosit tampak pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergrandula, degenerasi hidropik dengan sel hepatosit tampak sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola vakuola tampak jernih, sel tampak membesar dan nekrosis dengan nukleus mengkerut (piknosis), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen (kariokinesis), nukleus lisis (kariolisis), membran sel mengalami lisis sehingga batas antar sel tidak nampak jelas. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x untuk melihat lapangan pandang kecil. Penilaian derajat degenerasi dan nekrosis dilakukan pada 5 lapangan pandang yang kemudian hasilnya akan dijumlahkan.

Tabel 1.Perbandingan kerusakan Degenerasi Hepar Tikus Wistar antar kelompok

Kelompok	Sel hepar						p
	1		2		3		
	n	%	n	%	n	%	
K1	3	60	2	40	0	0	0,037*
K2	2	40	3	60	0	0	

P1	3	60	2	40	0	0
P2	0	0	5	100	0	0
P3	0	0	3	60	2	40

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Hasil Uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $p < 0,05$, sehingga dapat disampaikan bahwa terdapat pengaruh pemberian frekuensi minyak jelantah terhadap gambaran mikroskopis hepar

antar kelompok. Untuk mengetahui antara kelompok mana yang terdapat perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji analisis *Mann Whitney test*.

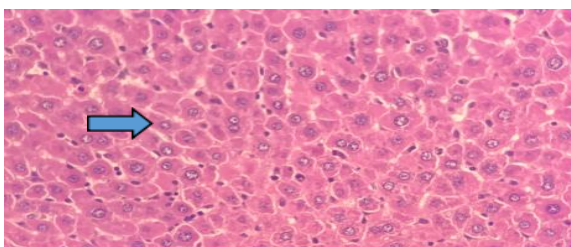
Tabel 2. Uji *Mann Whitney* Degenerasi dan Nekrosis Hepar Tikus Wistar

Kelompok	K2	P1	P2	P3
K1	$p=0,549$	$p=1,000$	$p=0,050^*$	$p=0,031^*$
K2	–	$p=0,549$	$p=0,134$	$p=0,058$
P1		–	$p=,050^*$	$p=0,031^*$
P2			–	$p=0,134$

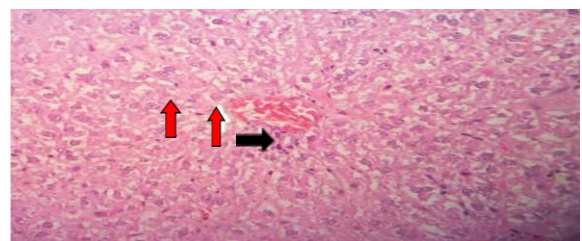
Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Hasil uji beda antar kelompok didapatkan bahwa skor nilai derajat degenerasi pada hepar antar kelompok K1 dengan P2 dan P3, P1 dengan P2 dan P3 ditemukan hasil yang bermakna yaitu $p < 0,05$. Sedangkan kelompok K1 dengan K2 dan P1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna di mana $p > 0,05$.

berbentuk bulat, mempunyai sitoplasma utuh, berwarna ungu, membran sel tidak rusak, dan inti sel bulat tidak padat (panah biru). Pembesaran 400x, pengecatan HE. Diambil dari K1 tikus 1.

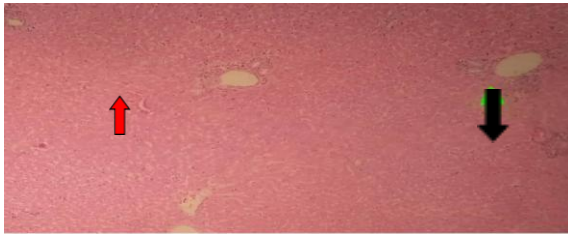


Gambar 1. Gambaran jaringan hepar normal (skor 1), sel hepatosit tampak sel

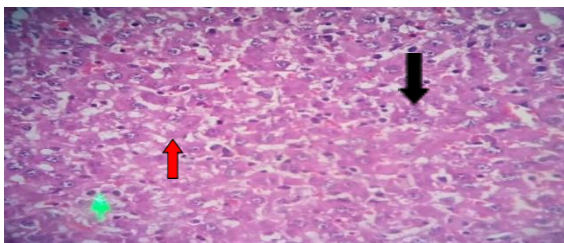


Gambar 2. Gambaran jaringan hepar degenerasi parenkimatos (skor 2), sel hepatosit tampak pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergranula (panah merah). Disekitar vena sentralis

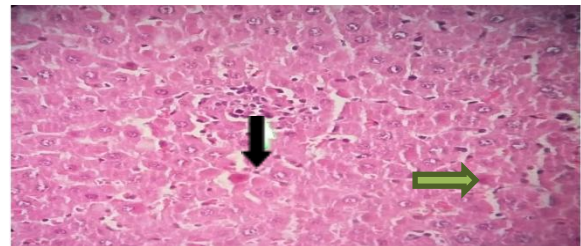
tampak sedikit sel radang (panah hitam).
Pembesaran 400x, pengecatan HE.
Diambil dari K2 tikus 1.



Gambar 3. Gambaran jaringan hepar degenerasi parenkimatososa (skor 2), sel hepatosit tampak pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergranula (panah merah). Disekitar vena sentralis tampak banyak sel radang (panah hitam). Pembesaran 400x, pengecatan HE. Diambil dari P1 tikus 1.



Gambar4. Gambaran jaringan hepar degenerasi parenkimatososa (skor 2), sel hepatosit tampak pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh, bergranula (panah merah) dan tampak banyak sel radang (panah hitam). Pembesaran 400x, pengecatan HE. Diambil dari P2 tikus 1.



Gambar 5. Gambaran jaringan hepar degenerasi hidropik (skor 3), sel hepatosit tampak sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola vakuola tampak jernih, sel tampak membesar (panah hijau) dan tampak sel radang (panah hitam). Pembesaran 400x, pengecatan HE. Diambil dari P3 tikus 1.

PEMBAHASAN

Kelompok K1, K2, dan P1 didapatkan hasil tidak bermakna karena pemberian minyak goreng <4 kali penggorengan. Pemanasan minyak terputus (dipanaskan-didinginkan-dipanaskan) selama beberapa hari menyebabkan destruksi minyak makin cepat dan mengalami dekomposisi. Minyak goreng yang digunakan lebih dari 4 kali pemanasan akan mengalami oksidasi (reaksi dengan udara) yang ditandai dengan terbentuknya peroksida.⁶

Degenerasi parenkimatososa sering terlihat pada proses-proses septik atau toksik dan pada peracunan-peracunan. Sesuai dengan hal tersebut, minyak jelantah dapat mengakibatkan kerusakan pada hati, karena minyak jelantah

mengandung radikal bebas yang bersifat toksik sehingga hati akan mengalami degenerasi.⁷

Minyak jelantah merupakan minyak goreng yang digunakan berulang kali penggorengan. Minyak goreng yang mengalami pemanasan pada suhu yang tinggi dan digunakan untuk penggorengan secara terus-menerus menyebabkan kerusakan minyak, karena minyak teroksidasi sehingga membentuk peroksida yang lebih tinggi yang dapat menyebabkan rusak sel tubuh. Berdasarkan hasil analisis nilai peroksida, semakin tinggi tingkat frekuensi penggorengan maka nilai peroksidanya juga semakin tinggi. Nilai peroksida minyak jelantah bekas penggorengan berulang kali ternyata memiliki nilai peroksida lebih tinggi.⁸

Minyak jelantah yang memiliki nilai peroksida yang tinggi dapat menjadi sumber radikal bebas yang bersifat karsinogen pada tubuh. Radikal bebas adalah suatu molekul yang mempunyai jumlah elektron ganjil atau elektron tidak berpasangan tunggal pada lingkaran luarnya, sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak jaringan. Senyawa radikal bebas yang terdapat pada minyak jelantah menyebabkan berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa

proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu metabolisme sel, karena secara kimia molekulnya tidak lengkap, sehingga radikal bebas mencari partikel dari molekul lain, yang dapat menimbulkan senyawa tidak normal dan menyebabkan reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel. Komponen membran sel yang mengandung asam lemak jenuh ganda sangat rentan terhadap serangan radikal bebas pada organ hati.⁹

Radikal yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami tiga tahap yaitu tahap inisiasi merupakan tahapan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas, tahap propagasi merupakan tahap di mana radikal bebas cenderung bertambah banyak dengan membuat reaksi rantai dengan molekul lain dan tahap terminasi apabila terjadi reaksi antara radikal bebas dengan suatu senyawa pembasmi radikal (scavenger).⁹

Nilai peroksida pada minyak jelantah menyebabkan terbentuknya radikal bebas baru dan bertambahnya reaksi berantai yang dapat menyebabkan radikal bebas menjadi lebih reaktif. Sel hati dapat terinduksi mengalami gangguan metabolis oleh berbagai bahan yang masuk melalui makanan misalnya toksin, obat, makanan dan minuman. Seperti pada penelitian ini, perlakuan yang diberikan

pada tikus wistar secara oral yaitu pemberian bahan bersifat toksin dengan nilai peroksida yang tinggi, yang merupakan sumber radikal bebas. Pemberian toksin secara terus-menerus menyebabkan kerusakan pada organ hati yaitu pada sel-selnya sehingga organ hati tersebut tidak dapat berfungsi secara maksimal.

Mekanisme kerusakan sel hati yang disebabkan oleh minyak jelantah yaitu minyak jelantah mengandung radikal bebas dengan indikator peroksida masuknya zat kimia ke dalam hati membentuk radikal (molekul dengan elektron yang tidak berpasangan sehingga reaktif), radikal bebas ini berikatan dengan O₂ di dalam tubuh membentuk peroksil (peroksi radikal), peroksil mengabsorpsi atom hidrogen dari molekul lipid tak jenuh, sehingga terjadi reaksi berkepanjangan yang menghasilkan peroksida-peroksida yang lain yaitu peroksinitrit, peroksil dan peroksinitrit ini bersifat lipofilik yang menyebabkan peroksida lipid dalam membran dan didalam sel ini yang terserang adalah mitokondria, kemudian melepaskan ribosa dan retikulum endoplasmik, sehingga pemasokan energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur retikulum endoplasmik terlambat dan sintesis protein menurun

sekali sehingga sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida dan terjadilah kerusakan sel hati.⁴

Kelompok P3 adalah kelompok perlakuan dengan jejas terberat sehingga didapatkan skor 3 kerusakan hepar paling tinggi, hal ini sesuai dengan teori apabila jejas yang diberikan lebih besar maka degenerasi parenkimatososa akan berlanjut menjadi degenerasi hidropik.¹⁰ Penelitian ini didapatkan sebaran sel radang pada lumen dan sekitar vena sentralis namun berdasarkan penilaian dengan metode Manja Roenigk, sebaran sel radang tidak termasuk ke dalam aspek penelitian.

Respon radang merupakan reaksi terhadap jejas seluler yang hanya berlangsung pada jaringan yang mempunyai pembuluh darah dari organisme multiseluler. Tujuan terjadinya reaksi radang pada umumnya untuk membuang atau menetralsir penyebab serta merintis perbaikan. Kejadian penting di dalam jaringan selama berlangsungnya respon radang akut yaitu perubahan vasoaktif, peningkatan permeabilitas kapiler, respon seluler dari leukosit, bekerjanya mediator endogen dan eksogen.^{7,10}

Hasil penelitian ini sama dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Ika Rahmawati *Rosita Dewi yang bertujuan

untuk menguji kerusakan sel hati dan peningkatan kolesterol serum mencit akibat pemberian minyak goreng bekas pakai, yang dilakukan dengan 38 tikus mencit jantan galus swiss 30-40 gram, umur 2-3 bulan, dibagi 3 kelompok : kelompok pertama dengan 9 mencit dalam kelompok kontrol negatif diberi aquades, kelompok dua dengan 9 mencit dalam kelompok kontrol positif diberi minyak gorengan tanpa pemanasan dan kelompok tiga dengan 20 mencit diberikan minyak goreng bekas pakai 27 kali penggorengan. Pemberian minyak dan aquades diberikan dengan volume yang sama yaitu 1 ml setiap 100 gram bobot badan, peroral setiap hari selama 14 hari. Dihasilkan gambaran mikroskopis hepar kelompok 1 Normal, kelompok 2 terdapat 5 preparat mengalami degenerasi 50%, 3 preparat mengalami degenerasi 25% -50% dan 1 preparat <25% dan kelompok 3 terdapat 18 preparat mengalami degenerasi >50% dan 2 preparat degenerasi 25%-50%. Hal ini disebabkan akibat radikal bebas, dimana kerusakan hepar sebanding dengan lamanya pemanasan minyak, semakin lama minyak dipanaskan, kerusakan mikroskopis hepar tikus juga semakin parah.¹¹

Hasil penelitian ini sama dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh

Nagao Totani dan Yuko Ojiri, dengan 16 tikus wistar jantan umur 9 minggu dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok 1 diberi makanan yang mengandung 7% minyak tidak segar (minyak jelantah) dan kelompok 2 diberi makanan yang mengandung 7% minyak segar, dilakukan selama 12 minggu, penelitian ini didapatkan hasil terjadinya pembengkakan pada kelompok 1, bercak merah tua, pendarahan dan degenerasi lemak, dimana terbukti bahwa minyak jelantah (minyak penggorengan berkali kali) dapat menyebabkan kerusakan hepar.¹²

Kelemahan dari penelitian ini adalah waktu adaptasi yang lebih lama dari yang sudah direncanakan sebelumnya (7 hari menjadi 14 hari) dikarenakan berat badan tikus belum mencapai kriteria inklusi penelitian ini, akibat hal tersebut pakan pelet yang dikonsumsi tikus menjadi lebih banyak, dan penelitian ini memakai penggorengan ayam potong dimana ayam potong diberikan suntik estrogen, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) yang merupakan spektrum kelainan hati dengan gambaran khas berupa steatosis (perlemakan) makrovesikular yang muncul akibat toksin (suntik estrogen) dimana hal ini dapat menyebabkan bias dari penelitian ini.

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh frekuensi penggorengan minyak jelantah terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Mensink RP, Zock PL, Kester ADM, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* Mei 2003;77(5):1146–55.
2. Ketaren, S. Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: Universitas Indonesia; 2008.
3. Badan Pusat Statistik. 2014. Distribusi Perdagangan Komoditi Minyak Goreng Indonesia 2014. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
4. Rukmini A. 2007. Regenerasi Minyak Goreng Bekas dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. Seminar Nasional Teknologi. 24 November. Yogyakarta. Hlm. 1-9.
5. Panjaitan RGP, Handharyani E, Chairul M, Zakiah Z, Manalu W. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makara Kesehat.* 2007;11(1):11–16.
6. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Elsevier Health Sciences; 2014 Aug 27.
7. Sartika RAD. Pengaruh suhu dan lama proses penggorengan (Deep Frying) terhadap pembentukan asam lemak trans. *MAKARA Sci Ser.* 14 Oktober 2010;13(1)
8. Rahayu, A. 2006. Uji Pendahuluan Analisis Nilai Peroksida Minyak Jelantah Bermerek dan tidak Bermerek. Skripsi. Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah. Malang.
9. Setiati. 2003. Radikal Bebas, antioksidan, dan proses menua. *Jurnal Medika.* 6:11-25
10. Tjahjono, Putranto BE, Kasno, Prasetyo A, Sadhana U, Wijaya I. Pendoman Kuliah Mahasiswa Patologi Anatomi 2. Sandhana U, editor. Semarang: Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2013. 8-12 p.
11. Sutejo IR. Kerusakan Sel Hati dan Peningkatan Kolesterol Serum Mencit akibat Pemberian Minyak

Goreng Bekas Pakai. IKESMA.
2012;8(1).

12. Totani N, Ojiri Y. Mild ingestion of used frying oil damages hepatic and renal cells in Wistar rats. *J leo Sci.* 2007;56(5):261-7