

**UJI TOKSISITAS CAMPURAN MINYAK GORENG
KONTAMINASI BAHAN PLASTIK TERHADAP
LEVEL SGPT DAN SGOTSERTA
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh:
BINTAR GARDA SUPANGAT
125130107111048



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**UJI TOKSISITAS CAMPURAN MINYAK GORENG
KONTAMINASI BAHAN PLASTIK TERHADAP
LEVEL SGPT DAN SGOT SERTA
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
BINTAR GARDA SUPANGAT
125130107111048



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**



repository.ub.ac.id

**Toxicity Test Against Contaminated Frying Oil Blends
Plastic Material Against SGPT and SGOT Levels and Histopathology
Liver in rats (*Rattus norvegicus*).**

ABSTRACT

Snacks in the market are sold in lots fried with cooking oil mixed with plastic. The mixture of cooking oil and plastic is heated above 95°C so that it is well mixed. Mixture of cooking oil and plastic as toxic and free radicals or ROS (Reactive oxygen system). The first organ that is exposed to toxic substances and free radicals is liver, damaged liver is characterized by increased levels of SGPT and SGOT. This study aimed to determine the toxicity test of mixed cooking oil and plastic against SGPT and SGOT levels and liver histopathology in rats. The experimental animals were rats (*Rattus norvegicus*) with an age of 8-12 weeks with a body weight of 150-250 grams. Rats were divided into 4 groups with group 1 negative control, 3 treatment groups (P1, P2, P3). Rats were induced by cooking oil and plastic mixture in a sonde orally as much as P1: 0.5ml, P2: 1ml, P3: 1.5ml. Data analysis was both quantitative and qualitative. Quantitative data used, namely examination of SGPT and SGOT levels using the ANOVA test with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$) while the qualitative data used were liver histopathology depiction of liver tissue damage seen in inflammatory cells, and necrosis. The mixture of cooking oil and plastic increased SGPT and SGOT levels very significantly ($P < 0.01$) to an average SGPT of 36.94 ± 0.45 U / L with an increase of 72.45%, and an average of SGOT 84.59 ± 1.8 U / L with an increase of 40.3%. The conclusion were that the treatment of cooking oil contaminated with plastic components causes a very significantly increase in both of SGPT and SGOT levels of liver and the presence of histopathological damage to liver tissue can be seen in the presence of inflammatory cells, and necrosis.

Kata kunci: *Frying oil, Plastic, Mice, Histopatology, Liver, Level SGPT and SGOT.*

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng Kontaminasi Bahan Plastik Terhadap Level SGPT dan SGOT serta Histopatologi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*).

Oleh:

BINTAR GARDA SUPANGAT

NIM. 125130107111048

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji

Pada Tanggal 22 Juli 2019

Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.Dr.Ir.Chanif Mahdi,Ms

NIP.195204121980021001

drh.Fajar Shodiq P,M.Biotek

NIP.198705012015041001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc.

NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bintar Garda Supangat

NIM : 125130107111048

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng Kontaminasi Bahan Plastik Terhadap Level SGPT dan SGOT serta Histopatologi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termasuk di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2019

Yang menyatakan,

(Bintar Garda Supangat)

NIM. 125130107111048

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun Skripsi penelitian dengan judul **“Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng Kontaminasi Bahan Plastik Terhadap Level SGPT dan SGOT serta Histopatologi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*)”** sebagai tugas akhir atau skripsi sebagai syarat kelulusan menjadi Sarjana Kedokteran Hewan.

Skripsi ini disusun berdasarkan diskusi dengan berbagai pihakserta literatur yang penulis baca dari beberapa referensi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof.Dr.Ir.Chanif Mahdi,Ms dandrh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech selaku dosen pembimbing yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis pada saat penulisan tugas akhir ini.
2. drh.M. Arfan Lesmana,M.Vet dan drh.Rahadi Swastomo,M.Vetselaku dosen penguji atas segala ilmu, dukungan, serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
3. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Keluarga tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dorongan, dukungan dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.
5. Rekan seperjuangan Rizal Nur Fadli, Bagus, Rumenega, Rizqiza Andro, Apim, untuk waktu dan inspirasi yang diberikan untuk penulis.

6. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
7. Sahabat-sahabat tercinta untuk waktu dan inspirasi yang diberikan.

Penulis sadar bahwa proposal ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Penulis



Uji Toksisitas Terhadap Campuran Minyak Goreng Kontaminasi Bahan Plastik Terhadap Kadar SGPT dan SGOT Serta Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*).

ABSTRAK

Jajanan dipasar yang dijual banyak digoreng dengan minyak goreng dicampur dengan plastik. Campuran minyak goreng dan plastik dipanaskan diatas suhu 95° agar tercampur merata dengan baik. Campuran minyak goreng dan plastik sebagai zat toksik dan radikal bebas atau ROS (*Reactive oksigen system*). Organ yang pertama terkena zat toksik dan radikal bebas diantaranya adalah hepar, hepar yang rusak ditandai dengan kenaikan kadar SGPT dan SGOT. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji toksisitas campuran minyak goreng dan plastik terhadap kadar SGPT dan SGOT serta gambaran histopatologi hepar pada tikus putih. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) dengan usia 8-12 minggu dengan berat badan 150-250 gram. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok dengan kelompok 1 kontrol negatif, kelompok 3 perlakuan. Hewan coba tikus diinduksi campuran minyak goreng dan plastik secara sonde per oral sebanyak P1: 0,5ml, P2: 1ml, P3: 1,5ml. Analisa data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif yang digunakan, yaitu pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT hepar menggunakan uji ANOVA dengan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0.05$) sedangkan data kualitatif yang digunakan yaitu gambaran histopatologi hepar terlihat adanya kerusakan jaringan hepar terlihat sel radang, dan nekrosis. Campuran minyak goreng dan plastik mampu meningkatkan kadar SGPT dan SGOT sangat signifikan ($P < 0,01$) hingga rata-rata SGPT $36,94 \pm 0,45$ U/L dengan peningkatan 72,45%, serta rata – rata SGOT $84,59 \pm 1,8$ U/L dengan peningkatan 40,3%. Kesimpulan pemberian minyak goreng yang terkontaminasi komponen plastik menyebabkan peningkatan jumlah kadar SGPT dan SGOT hepar sangat signifikan dan adanya kerusakan histopatologi jaringan hepar terlihat adanya sel radang, dan nekrosis.

Kata kunci: *Minyak goreng, Plastik, Tikus putih, Histopatologi Hepar, kadar SGPT dan SGOT.*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian.....	4
1.3 Batasan Masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Minyak Goreng.....	7
2.2 Plastik	8
2.2.1 Plastik Polyethylene.....	10
2.3 Respon Tubuh terhadap Toksin	11
2.4 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	12
2.4.1 Deskripsi dan Klasifikasi	12
2.4.2 Kadar SGPT dan SGOT Normal Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	13
2.4.3 Histologi Hepar Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	14
2.4.4 Histopatologi hepar akibat keracunan	16
BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN	17
3.1 Kerangka Teori	17
3.2 Kerangka Konsep	18
3.3 Hipotesis Penelitian	19
BAB 4. METODE KEGIATAN	20
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20



4.2	Populasi dan Sampel Penelitian	20
4.3	Variabel Penelitian	20
4.4	Rancangan Penelitian.....	20
4.5	Tahapan Penelitian.....	23
4.6	Alat dan Bahan	23
4.6.1	Alat	23
4.6.2	Bahan	24
4.7	Prosedur Penelitian	24
4.7.1	Aklimatasi Hewan Coba	24
4.7.2	Perlakuan Campuran Minyak Goreng Plastik	25
4.7.3	Pengambilan Sampel Darah	25
4.7.4	Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT	25
4.7.5	Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar	26
4.7.6	Pewarnaan <i>Haematoxylin</i> dan Eosin (HE)	27
4.7.7	Analisa Data	28
BAB 5.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
5.1	Kadar Serum Glutamat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) Tikus Hasil Perlakuan	30
5.1.1	Penetapan Kadar Serum Glutamat Piruvat Transminase	
BAB 6.	KESIMPULAN DAN SARAN	51
6.1	Kesimpulan	51
6.2	Saran	51
	DAFTAR PUSTAKA.....	52
	LAMPIRAN.....	55

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Makanan adalah hal yang dibutuhkan makhluk hidup seperti manusia dalam mencukupi kebutuhan energi untuk dapat hidup. Seiring berkembangnya zaman, jenis dari makanan itu sendiri semakin banyak, mulai dari makanan yang digoreng menggunakan minyak, makanan cepat saji, makanan tahan lama yang menggunakan pengawet didalamnya, serta jajanan yang biasa dijual di daerah pasaran atau tempat pembelajaran. Jajanan pasar sendiri jenis yang banyak dijual merupakan tipe jajanan gorengan, dimana jajanan tersebut digoreng menggunakan minyak goreng menggunakan minyak goreng. Menurut Cahandar dan Suhanda (2006), jajanan (*street food*) sudah menjadi bagian yang tidak terpisahkan dari kehidupan masyarakat baik masyarakat di perkotaan maupun di pedesaan. Konsumsi jajanan masyarakat diperkirakan terus mengalami peningkatan karena terbatasnya waktu anggota keluarga untuk mengolah makanan sendiri. Keunggulan jajanan sendiri diantaranya adalah mudah didapat, harga relatif murah, mudah didapatkan, serta rasa yang enak dan cocok dengan selera kebanyakan masyarakat. Untuk menarik konsumen, biasanya para penjual jajanan pasar menggunakan bahan pengawet makanan hingga bahan pengawet yang tidak semestinya agar jajanan yang mereka pasarkan terlihat lebih menarik untuk dibeli. Dewasa ini, di Indonesia, khususnya di pasaran banyak dilaporkan dan ditemukan jajanan pasar gorengan yang dicampur dengan plastik. Hal ini jelas sangat berbahaya,

karena plastik yang dipanaskan dengan minyak goreng dapat terurai dan hal ini jelas beracun jika dikonsumsi. Peningkatan persentase asam lemak bebas dari minyak disebabkan adanya pertukaran komponen air pada bahan pangan yang digoreng menggunakan minyak sebagai media penggorengan (Ketaren, 2008). Reaksi hidrolisa maupun oksidasi dapat terjadi karena terdapat kandungan air dalam minyak, sehingga terbentuk asam lemak bebas dan gliserol (Muchtadi, 2009 dalam Fauziah, 2013). Konsumsi makanan yang mengandung asam lemak bebas akan berakibat pada kenaikan kadar LDL dan menurunkan kadar HDL darah, sehingga kemampuan dalam mengendalikan gula darah akan berkurang. Konsumsi asam lemak trans 5 gr/hari dapat menaikkan resiko penyakit jantung hingga 25% dan akibat adanya radikal bebas juga dapat menyebabkan penyakit lever, jantung koroner, kolesterol, dan lain-lain (Hildayani, 2013 dalam Fauziah, 2013). Kerusakan minyak atau lemak akibat pemanasan suhu tinggi (200-250°C) akan mengakibatkan keracunan dalam tubuh dan menimbulkan penyakit seperti diare, pengendapan lemak dalam pembuluh darah, kanker dan menurunkan nilai cerna lemak (Fauziah dkk., 2013).

Dalam proses pembungkusan makanan, plastik berbahan dasar polietilen merupakan bahan yang paling sering digunakan. Bahan campuran pembuat plastik (*plastisizer*) dapat terurai masuk tercampur dalam bahan makanan jika pengemasan dilakukan dengan cara tidak benar dan hal ini dapat membuat makanan menjadi toksik jika dikonsumsi. Contoh dari *plastisizer* salah satunya adalah asam tereftalat. Asam tereftalat merupakan senyawa berupa

kristal putih sebagai bahan baku pembuatan serat sintetis yang tidak dapat dicerna dalam tubuh (Zuliyanto, dkk., 2013). Jika asam tereftalat tercampur dalam bahan makanan akibat suhu tinggi, komponennya dapat terurai dan merusak kualitas makanan melalui pembentukan senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas dapat mengkontaminasi minyak atau bahan makanan, sehingga makanan tersebut mengandung senyawa radikal bebas berlebihan.

Radikal bebas merupakan atom atau molekul dengan elektron bebas yang memiliki tenaga besar dengan fungsi fisiologis tertentu. Organ hepar memiliki kapasitas tinggi mengikat bahan kimia dan menetralkan racun yang masuk ke dalam tubuh. Pemeriksaan fungsi hepar salah satunya yaitu *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT). Enzim ini akan keluar dari sel hepar apabila sel hepar mengalami kerusakan sehingga dengan sendrinya akan menyebabkan peningkatannya kadarnya dalam serum darah. SGPT adalah suatu enzim yang berfungsi sebagai katalis berbagai fungsi tubuh. SGPT dianggap lebih spesifik untuk menialai kerusakan hepar dibandingkan SGOT.

Radikal bebas dapat merusak membran normal dari hepar, saat radikal bebas meningkat, maka akan dinetralisasi oleh enzim antioksidan superoksida dismutase (SOD). Zat ini dapat dijumpai di lingkungan, seperti pada asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, sinar ultraviolet matahari bahkan radiasi (Arief, 2007). Apabila jumlah SOD dalam tubuh menurun menyebabkan radikal bebas meningkat dalam tubuh sehingga pembuluh – pembuluh darah kapiler menyempit dan mengakibatkan oksigenasi dan nutrisi ke organ hepar terganggu dan terjadi

cedera sel hepar. Kurangnya perhatian dan penelitian tentang kualitas minyak goreng yang baik menyebabkan masyarakat menggunakannya secara tidak tepat. Dalam beberapa kasus, ditemukan produsen yang mencampurkan plastik ke dalam minyak goreng. Gorengan plastik ini berpotensi menyebabkan kanker jika dikonsumsi dalam jangka waktu lama karena campuran tersebut mengandung zat karsinogenik (Fadillah, 2013 dalam Azizi, 2014). Secara kasat mata, minyak goreng tercampur plastik sulit dikenali, dan disamping itu belum terdapat metode pasti untuk digunakan dalam menguji minyak goreng, yang membuat minyak goreng tercampur plastik ini sulit dideteksi. (Azizi, 2014).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek toksisitas pengaruh pemberian campuran minyak goreng dan plastik pada tikus (*Rattus norvegicus*) dengan melihat kadar SGPT dan SGOT serta histopatologi hepar.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

1. Apakah pemberian campuran minyak goreng dan plastik dapat menyebabkan peningkatan kadar SGPT dan SGOT tikus (*Rattus norvegicus*) ?
2. Apakah pemberian campuran minyak goreng dan plastik menimbulkan kerusakan jaringan hepar pada histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini dibatasi pada hal-hal berikut ini:

1. Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan dengan umur 8 – 12 minggu dan berat badan 150 – 250 gr (Widyaastuti *et al.*, 2012), yang diperoleh dari Laboratorium Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Penggunaan hewan model telah mendapat sertifikasi laik etik Nomor: 1002-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.
2. Minyak Goreng yang digunakan merupakan minyak ber merk fresh well yang sering digunakan oleh pedagang makanan ringan gorengan.
3. Plastik yang digunakan merupakan plastik bening (golongan polyethylene) yang biasa digunakan membungkus makanan dan obat.
4. Variabel yang diamati adalah kadar SGPT dan SGOT pada darah tikus putih (*Rattus norvegicus*), diamati dengan metode enzimatik menggunakan spektrofotometer.
5. Histopatologi hepar yang diamati dengan metode analisis deskriptif, menggunakan pewarnaan *haematoxylin eosin* (HE), dan diamati dengan mikroskop cahaya.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka penelitian ini memiliki tujuan yaitu :

1. Mengetahui pengaruh pemberian campuran minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik terhadap peningkatan kadar SGPT dan SGOT tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian campuran minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik terhadap perubahan gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa informasi kepada masyarakat mengenai dampak bahaya yang ditimbulkan dari campuran minyak goreng yang terkontaminasi komponen plastik jika dikonsumsi terhadap saluran pencernaan. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai rujukan untuk pengembangan penelitian terkait masalah pangan khususnya di Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Goreng

Minyak goreng merupakan salah satu kebutuhan yang penting diperlukan oleh masyarakat Indonesia. Minyak goreng sendiri merupakan minyak nabati yang telah diproses pemurnian dan dapat digunakan sebagai bahan pangan. Selain memiliki nilai kalori paling besar diantara gizi lainnya, minyak juga dapat memberikan rasa gurih, tekstur dan penampakan bahan pangan lebih menarik, serta permukaan yang kering (Dewi dan Hidajati, 2012).

Penggunaan minyak goreng berulang dengan pemanasan pada suhu tinggi akan menghasilkan kadar asam bebas. Kandungan asam lemak bebas yang timbul menandai suatu penurunan mutu atau kerusakan pada minyak itu sendiri. Kerusakan minyak selama proses menggoreng akan memengaruhi mutu dan nilai gizi dari bahan makanan yang digoreng. Minyak dapat rusak akibat adanya oksidasi dan polimerasi, sehingga akan menghasilkan bahan dengan rupa yang kurang menarik, cita rasa yang tidak enak, serta kerusakan kandungan vitamin dan asam lemak esensial yang terdapat dalam minyak tersebut (Fauziah, dkk., 2013). Menurut Sutiah dkk (208), selama proses penyimpanan, minyak serta lemak mengalami perubahan fisiko-kimia yang dapat disebabkan oleh proses hidrolisis maupun oksidasi. Penyimpanan yang salah dalam waktu tertentu dapat menyebabkan pecahnya ikatan trigliserida pada minyak sehingga terbentuk senyawa gliserol dan asam lemak bebas.

Kadar air yang terbentuk dalam minyak merupakan salah satu parameter untuk menentukan tingkat kemurnian minyak dan berhubungan dengan kekuatan daya simpan, sifat goreng, bau, dan rasa. Kadar air sangatlah menentukan kualitas dari minyak yang dihasilkan. Kadar air dalam minyak itu sendiri berperan dalam proses oksidasi maupun hidrolisis minyak, dimana akhirnya dapat menyebabkan bau yang kurang sedap atau tengik. Semakin tingginya kadar air dalam minyak, maka minyak tersebut akan semakin cepat tengik (Mualifah, 2009).

Anwar (2012) mengungkapkan, jumlah asam lemak bebas akan semakin meningkat seiring dengan lamanya proses penggorengan. Asam lemak yang terkandung dalam minyak goreng digunakan sebagai salah satu indikasi kualitas minyak goreng. Reaksi hidrolisis pada minyak akan lebih mudah terjadi pada minyak yang mengandung komponen asam lemak rantai pendek dan tak jenuh dibandingkan asam lemak rantai panjang dan jenuh. Hal tersebut dikarenakan asam lemak rantai pendek tak jenuh akan lebih larut dalam air. Penambahan minyak baru pada proses penggorengan akan memperlambat terjadinya reaksi hidrolisis pada minyak yang digunakan.

2.2 Plastik

Plastik merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengemas suatu makanan maupun jajanan. Sekarang ini, plastik banyak digunakan untuk mengemas berbagai macam makanan, padahal kandungan senyawa plastik itu dapat bereaksi dengan makanan yang dibungkus tersebut pada kondisi tertentu. Menurut Winarno (1994), bahan kemasan plastik dibuat melalui

proses yang disebut polimerisasi. Polimerisasi sendiri merupakan suatu proses yang akan menghasilkan suatu bentuk polimer dari suatu monomer, dimana komponen utama plastik itu sendiri adalah monomer. Selain bahan dasar monomer, plastik juga mengandung bahan aditif yang diperlukan untuk memperbaiki sifat fisiko kimia plastik tersebut, yang disebut komponen non plastik.

Bahan kemasan plastik dibuat dan disusun melalui proses yang disebabkan polimerisasi dengan menggunakan bahan mentah monomer, yang tersusun saling menyambung menjadi satu dalam bentuk polimer. Kemasan plastik memiliki keunggulan yaitu sifatnya yang kuat namun ringan, inert, tidak korosif dan dapat diberi warna. Bahan ini memiliki kelemahan yaitu adanya zat-zat monomer dan molekul kecil lain dalam bahan makanan yang dikemas. Berbagai jenis bahan kemasan lemas seperti polietilen, polipropilen, nilon poliester dan film vinil dapat digunakan secara tunggal untuk membungkus makanan atau dalam bentuk lapisan dengan bahan lain yang direkatkan bersama (Winarno, 1994).

Plastik sebagai bahan yang dibuat dari proses dan senyawa kimia memiliki sifat fisiko kimia, yaitu:

- a. Plastik *Termoset*, yaitu jenis plastik yang mengalami perubahan bersifat *irreversible*. Pada suhu tinggi, jenis plastik ini berubah menjadi arang. Ini disebabkan karena struktur kimianya yang bersifat 3 dimensi dan cukup kompleks. Pemakaian termoset dalam industri pangan terutama untuk membuat tutup botol. Plastik tidak akan kontak langsung dengan produk

karena tutup selalu diberi lapisan perapat yang sekaligus berfungsi sebagai pelindung (Winarno, 1994).

- b. Plastik *Termoplastik*, plastik jenis ini merupakan jenis polimer yang paling banyak dipakai untuk mengemas atau kontak dengan bahan makanan. Plastik jenis ini dapat menjadi lunak jika dipanaskan dan mengeras setelah dingin. Hal ini dapat terjadi berulang tanpa terjadi perubahan khusus. Termoplastik termasuk turunan etilena ($\text{CH}_2 = \text{CH}_2$) dan bisa dinamakan plastik vinil karena mengandung gugus vinyl ($\text{CH}_2 = \text{CH}$) (Sulchan, 2007).

2.1.1 Plastik Polyethylene

Polietylen merupakan film yang lunak, transparan dan fleksibel, kuat terhadap benturan, kekuatan sobek yang baik serta akan melunak dan mencair pada suhu $110\text{ }^\circ\text{C}$. Berdasarkan sifat permeabilitasnya yang rendah dan sifat mekanik yang baik, polietylen memiliki ketebalan 0.001 hingga 0.01 inchi, dimana plastik jenis ini banyak digunakan untuk mengemas makanan. Karena sifatnya thermoplastik, polietylen mudah dibuat kantung dengan derajat kerapatan yang baik (Sacharow dan Griffin, 1970) dalam Nurminah (2002).

Konversi etilen menjadi polietylen (PE) secara komersial awal mulanya dilakukan dengan tekanan tinggi, namun saat ini sudah ditemukan dengan cara tanpa tekanan tinggi. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Etilen Polimerisasi Polietylen

Gambar 1.1 Konversi etilen menjadi polietylen (PE)

Polietilen sendiri dibuat dengan proses polimerisasi adisi dari gas etilen yang diperoleh dari hasil samping industri minyak dan batubara. Proses polimerisasi itu sendiri dilakukan dengan dua cara, yakni polimerisasi yang dilakukan dalam bejana bertekanan tinggi (1000-3000 atm) sehingga menghasilkan molekul makro dengan banyak percabangan yaitu campuran dari rantai lurus dan bercabang. Cara yang kedua yaitu polimerisasi dengan bejana bertekanan rendah (10-40 atm) yang menghasilkan molekul makro rantai lurus tersusun secara paralel (Nurminah, 2002).

2.3 Respon Tubuh terhadap Toksin

Keracunan dapat menginduksi terjadinya hepatotoksisitas yang ditandai dengan kenaikan kadar *laktat dehidrogenase*, kadar bilirubin serum, serta pemanjangan masa protrombin. Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. Respon imunitas pada racun bertujuan menetralkan efek toksisitas dari suatu racun dan mengeliminasinya. Respon imun terhadap racun dalam tubuh umumnya diawali dengan rangsangan pada makrofag untuk memproduksi sitokin seperti *Tumor Necrotic Factor* (TNF), IL-1, IL-6, dan IL-8. Proses ini akan memacu terjadinya reaksi peradangan yang menyebabkan kerusakan sel, hipotensi, aktivasi sistem koagulasi, gagal organ multipel, dan berakhir dengan kematian. Antibodi yang mengandung reseptor sitokin dan antagonisnya, berperan dalam menghilangkan sejumlah sitokin dalam sirkulasi dan mencegah sitokin berikatan pada sel target (Pribadi, 2006).

Antibodi yang beredar dalam sirkulasi akan menetralkan molekul antifagositik dan toksin lainnya yang masuk, baik akibat bakteri maupun jamur. Mekanisme netralisasi sistem imun terhadap toksin terjadi melalui dua cara. Pertama, melalui kombinasi antibodi di dekat sisi aktif infeksi yaitu secara langsung menghambat reaksi toksin dengan sel target. Kedua, melalui kombinasi antibodi yang terletak jauh dari sisi aktif infeksi yaitu dengan mengubah konformasi alosterik toksin agar tidak dapat bereaksi dengan sel target. Dengan ikatan kompleks bersama antibodi, toksin tidak dapat berdifusi sehingga rawan terhadap fagositosis (Pribadi, 2006)

1.3 Tikus (*Rattus norvegicus*)

2.4.1 Deskripsi dan Klasifikasi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk dalam hewan mamalia yang memiliki ciri-ciri bertubuh panjang, kepala sempit, dan berekor panjang. Telinga tikus ini tebal dan pendek dengan rambut halus dan matanya berwarna merah (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Suckow *et al.*, 2006).

Bobot badan tikus jantan pada umur 12 minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4 – 5 tahun dengan berat badan jantan rata-rata 267 – 500 gram dan betina rata-rata 225 – 325 gram. Tikus putih memiliki kebutuhan

pakan sebesar 10% dari berat badan dan kebutuhan minum sebesar 15 – 30 ml perhari (Sirois, 2005). Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Suckow *et al.* (2006):

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo: Sciurognathi

Famili : Muridae

Sub-Famili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*

Galur/*Strain*: Wistar, Sprague Dawley

2.4.2 Kadar SGPT dan SGOT Normal Tikus (*Rattus norvegicus*)

Pengujian untuk fungsi hepar dapat dilakukan dengan menentukan kadar enzim yang terlibat dalam proses metabolisme hepar, antara lain dengan penentuan kadar enzim transaminase yaitu Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) (Kang *et al.*, 2008). SGOT atau disebut juga sebagai *Aspartat Aminotransaminase* (AST) adalah enzim yang banyak terdapat di jantung dibandingkan hati. Walaupun jumlahnya di hepar sedikit, namun SGOT juga akan meningkat di hampir semua penyakit hepar, terutama pada keadaan nekrosis akibat virus atau toksin (Gaze, 2007). SGPT atau juga sering disebut

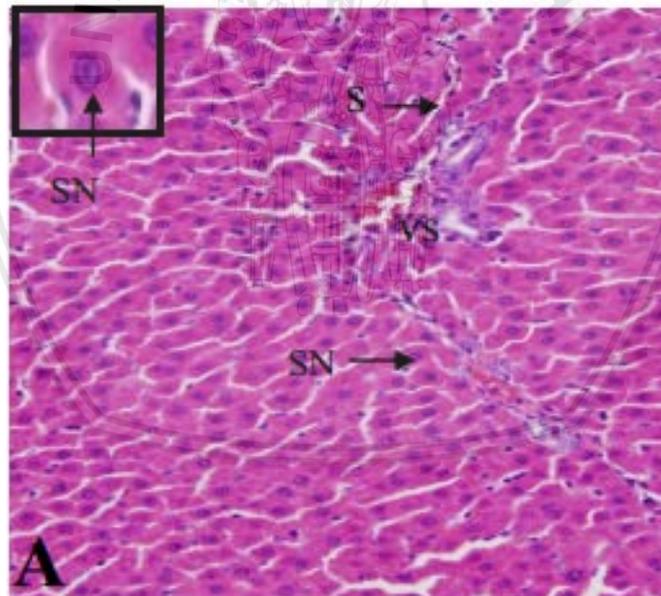
sebagai *Alanine Aminotransferase* (ALT) adalah enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), yang bersifat sangat spesifik untuk indikator penyakit hati dibandingkan dengan enzim yang lain. Deteksi SGPT dalam serum juga menjadi petunjuk adanya kerusakan hati yang kuat karena sangat sedikit kondisi selain hati yang berpengaruh terhadap kadar SGPT dalam serum (Giboney, 2005).

Kadar SGPT normal pada tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar adalah 17,5 – 30,2 U/L, sedangkan kadar SGOT normalnya yaitu 45,7 – 80,8 U/L. Kenaikan kadar transaminase serum disebabkan oleh sel-sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis atau hancur sehingga enzim-enzim tersebut masuk ke dalam peredaran darah. Kadarnya dalam darah tidak hanya disebabkan oleh kerusakan hati karena enzim-enzim tersebut terutama SGOT juga terdapat di organ lain seperti jantung, otot rangka, otak, ginjal, dan kantung empedu (Hartono dkk., 2005 ; Nurrochmad dan Murwanti, 2000 ; Shyamal *et al.*, 2010).

2.4.3 Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hati adalah organ pertama yang dikenai oleh zat-zat kimia yang diabsorpsi dari saluran pencernaan. Metabolisme obat, racun, atau berbagai senyawa terutama terjadi dalam hati, sehingga kemungkinan terjadinya kerusakan organ ini menjadi sangat besar. Secara umum sel-sel hati akan bereaksi terhadap zat-zat racun yang masuk ke dalam tubuh dan akan mengaktifkan mekanisme pertahanan di dalam hati dengan menginduksi sistem perlindungan (Grattagliano *et al.*, 2009).

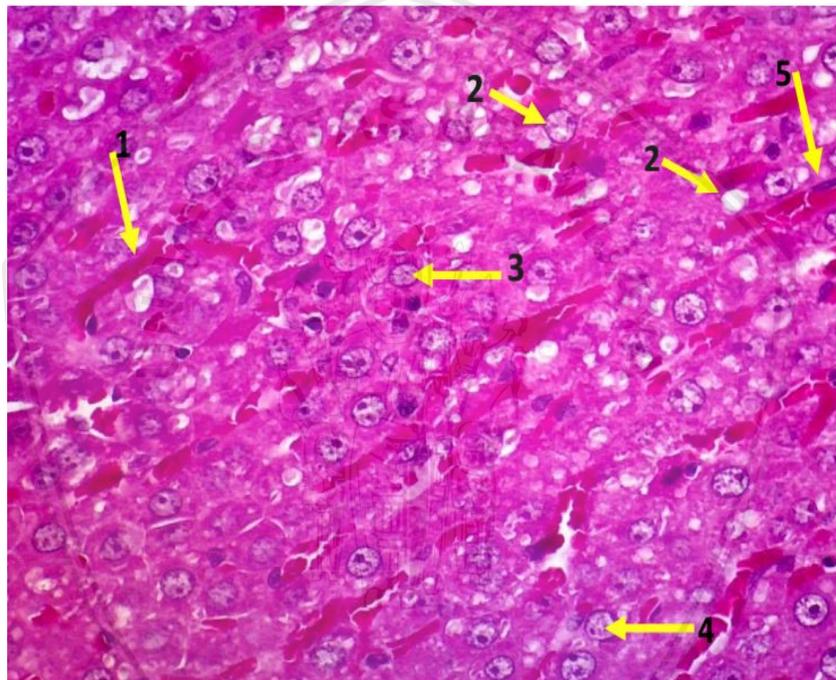
Apabila proses metabolisme tidak berjalan dengan normal, maka akan menimbulkan berbagai penyakit, terutama berhubungan dengan penyakit metabolik. Sel-sel yang terdapat di hati akan terdeposit sehingga akan mengalami perubahan. Hepar juga mempunyai kemampuan untuk mengeluarkan toksikan dengan kapasitasnya yang lebih tinggi dalam proses biotransformasi toksikan. Tetapi paparan oleh berbagai bahan toksik secara berlebih dapat menyebabkan kerusakan hepar dan berpengaruh pada perubahan morfologi makroskopik maupun mikroskopiknya (Jayanti, 2011 ; Prasetyawan dkk., 2012). Histologi normal hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Wulandari *et al.*, 2013):



Gambar 2.2 Histologi hepar tikus (HE, 400x). Sel hepatosit normal (SN) dan sinusoid (S) memancar secara sentrifugal dari vena sentralis (VS), dan tidak tampak adanya degenerasi lemak pada sel hati (Wulandari *et al.*, 2013)

2.4.4 Histopatologi hepar akibat keracunan

Gambaran histopatologi hepar akibat paparan racun golongan piretroid (sipermetrin) dengan dosis 2000 mg/ Kg BB, terlihat sinusoid terisi butir – butir eritrosit dan adanya vakuola-vakuola keil yang menandakan adanya degenerasi lemak mencapai 75% dalam delapan lapang pandang.

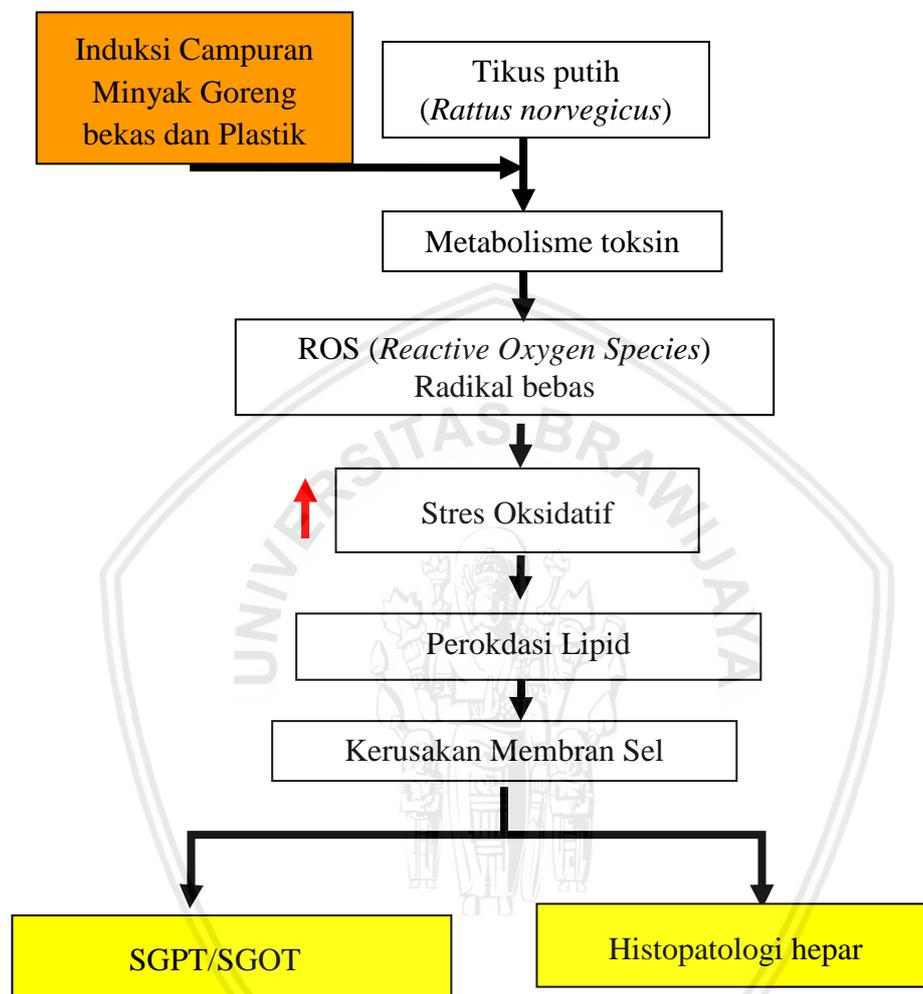


Gambar 2.7 Histologi hepar tikus (HE, 400x). Kongesti pada sinusoid (1) Degenerasi lemak (2) Kariolisis (3) Karioreksis (4) Sel kupffer (5). (Susantiet *al.*, 2000).



BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori

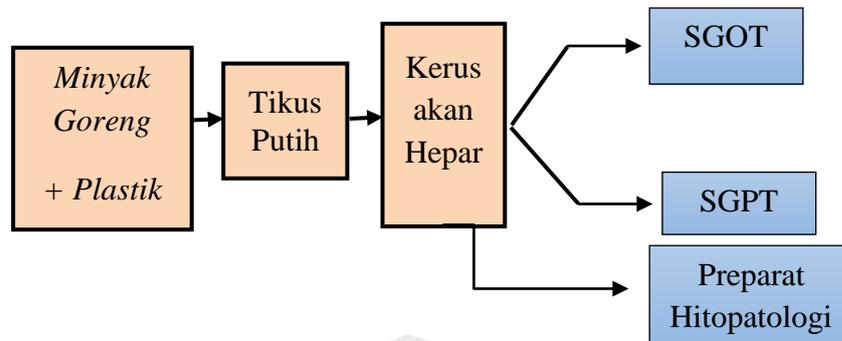
Keterangan:

↓ : Patomekanisme ↑ : Peningkatan

■ : Variabel terikat

■ : Paparan

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

Campuran minyak goreng yang telah dipanaskan diberi plastik golongan polyethylene ke dalam minyak dengan titik didih sekitar 60°C. Kemudian minyak didiamkan agar suhu normal lalu diinduksikan secara peroral dengan sonde akan masuk ke dalam tubuh dan diabsorpsi oleh usus untuk dibawa ke hepar. Setelah absorpsi, menyebabkan perlemakan mikrovesikuler, nekrosis sentribulus, dan nekrosis massif pada hepar. Perlemakan terjadi akibat penumpukan asam lemak dalam plasma darah. *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif, terdiri dari kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* (O_2^*) dan *hidroxyl radicals* (OH^*), serta nonradikal seperti *hidrogen peroxide* (H_2O_2). ROS muncul adanya reaksi oksidasi dari dioxin yang direspon oleh metabolisme tubuh dan di katalis pada enzim hepar. Ketidakseimbangan radikal bebas dengan antioksidan akan menyebabkan keadaan stress oksidatif, yaitu ketika jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi pertahanan antioksidan. Radikal bebas yang terakumulasi dalam tubuh bersifat lipofilik di mana dalam mencapai kestabilannya radikal

tersebut akan mengikat lipid dari membran hepatosit hepar sehingga terjadi kerusakan membran sel hepar dan akhirnya menimbulkan nekrosis. Stress oksidatif yang menimbulkan kerusakan dan nekrosis sel-sel hepar tersebut akan mengaktivasi enzim SGPT dan SGOT, indikator utama kerusakan sel hepar, untuk diekskresikan keluar dari sel-sel hepar dan didistribusikan ke peredaran darah.

Racun yang dimetabolisme akan masuk dalam tubuh dari keadaan stress oksidatif akibat efek hepatotoksik yang ditandai dengan meningkatnya kadar SGPT dan SGOT dalam darah sertanampak pada histopatologi hepar.

3.3 Hipotesis Penelitian

Dari rumusan permasalahan yang tertera, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terjadi peningkatan kadar SGPT dan SGOT tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi campuran minyak goreng dan plastik.
2. Terjadi perubahan dan perbedaan pada preparat histopatologi hepar hewan coba tikus yang diberikan perlakuan P1(0,5ml), P2(1ml), P3(1,5ml) (induksi campuran minyak goreng dan plastik) dan histopatologi hepar hewan coba tikus kontrol negatif K(-).

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Malang. Pembuatan preparat histopatologi Hepar dan penghitungan jumlah Kadar SGOT dan SGPT dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dimulai mulai bulan Juni hingga bulan Juli 2016.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* berjenis kelamin jantan, umur 8 - 10 minggu dengan berat badan 150 - 200 gram dalam kondisi sehat, bergerak aktif serta tanpa cacat fisik.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Variasi volume pemberian Minyak goreng dicampur Plastik.

Variabel Terikat : Histologi Hepar dan Kadar SGOT SGPT.

Variabel Kontrol: Tikus putih jantan dengan berat 150 - 200 gram, metode pemberian, kandang, pakan, minum.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *Experimental* dengan menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *wistar* yang telah mendapat persetujuan laik

etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Nomor: 1002-KEP-UB. Jumlah hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 ekor yang dikelompokkan menjadi 4 perlakuan dengan masing-masing perlakuan memiliki 6 ulangan. Penggunaan hewan coba telah dihitung menggunakan rumus Federer dalam Kusrieningrum (2008) yaitu sebagai berikut :

Gambar 3.3 Rumus Federer (Kusrieningrum (2008))

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

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

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

Keterangan :

t = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah ulangan yang diperlukan

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian (Hubungan Perlakuan dan Ulangan)

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
K-						
P1						
P2						
P3						

Keterangan :

K (-) = Kelompok tikus yang diberi ransum dan minum secara *ad libitum* mulai hari ke- 1 hingga hari ke- 7, tidak diberikan induksi campuran minyak goreng dan plastik.

- P1 = Kelompok tikus yang diberi ransum standar dan minum secara *ad libitum*, serta diinduksi campuran minyak goreng dan plastik dengan jumlah 0,5ml / 200 gram BB secara peroral mulai hari ke-1 hingga hari ke-14.
- P2 = Kelompok tikus yang diberi ransum standar dan minum secara *ad libitum*serta diinduksi campuran minyak goreng dan plastik dengan jumlah 1ml / 200 gram BB secara peroral mulai hari ke-7 hingga hari ke- 14.
- P3 = Kelompok tikus yang diberi ransum standar dan minum secara *ad libitum*serta diinduksi campuran minyak goreng dan plastik dengan dosis 1,5ml/200gram BB mulai hari ke-1 hingga ke- 14 dosis 1,5ml dan secara peroral.

Tabel 4.2 ANOVA (*Analysis of Variance*)

S.V.	df ^x	SS	MS ^{xx}	F ^{xxx} Calc	F5%	F1%
Treatment	3				3,24	5,29
Error	16					
Total	19					

Keterangan :

$$x). \text{ d.f. varieties (treatment) } = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{d.f. total} = nt - 1 = 20 - 1 = 19$$

$$\text{d.f. error} = \text{df total} - \text{df varieties} = 19 - 3 = 16$$

$$xx). \text{ MS Varietas} = \frac{\text{SS Varietas}}{\text{df Varietas}}$$

$$\text{MS error} = \frac{\text{SS error}}{\text{df error}}$$

$$xxx). \text{ F Calculated} = \frac{\text{MS Varietas}}{\text{MS error}}$$

4.5 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan antara lain :

1. Persiapan Minyak Goreng dan Plastik.
2. Persiapan Penggorengan Minyak Goreng dicampur Plastik.
3. Persiapan Hewan Coba Tikus.
4. Pemberian Minyak Goreng yang sudah tercampur dengan plastik pada tikus.
5. Preparasi organ Hepar.
6. Pengukuran kadar SGPT dan SGOT.
7. Pembuatan preparat histopatologi Hepar.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang tikus, botol minum tikus, sekam, *box* pakan, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, sarung tangan (*glove*), *masker*, spuit 3 cc, tabung *venoject*, timbangan digital, gelas ukur 10 ml, *object glass*, *cover glass*, mikrotom, mikroskop cahaya (Olympus BX51), kamera digital, *vortex*, *centrifuge* (Thermoscientific Sorvall Biofuge Primo R Centrifuge), *appendorf micropipette* ukuran 10 – 100 μ l, spektrofotometer UV-VIS, pot organ, *autoclave*, *disposable syringe*, *timer*, inkubator, dan lemari pendingin.

4.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar umur 8 – 12 minggu, plastik golongan polyethilen dan minyak goreng bermerk freshwell.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 8 – 12 minggu dengan berat badan tikus antara 150 – 250 gram. Aklimatisasi hewan coba selama satu minggu dengan tujuan mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungannya yang baru. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan coba. Pemberian pakan selama masa adaptasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 20 gram/ekor/hari dalam bentuk pelet (10% dari berat badan) dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Komposisi pakan standar berdasarkan *Association of Analytical Communities* (2005) terdiri atas 5% karbohidrat, 10% protein, 3% lemak, dan 13% vitamin dan mineral. Tikus putih harus dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dan dipelihara pada ruang bersuhu 26°C – 27°C dengan kelembaban ruang 83% (Saputri *et al.*, 2008).

4.7.2 Perlakuan Campuran Minyak Goreng Plastik

Minyak goreng dipanaskan dengan suhu diatas 95⁰ di dalam wajan menggunakan kompor. Plastik ditimbang 0,5 kg dengan jumlah

minyak 1 liter, kemudian plastik tersebut di masukkan dalam minyak yang sudah dipanaskan. Minyak goreng dan plastik diaduk dalam wajan agar larut dalam minyak goreng selama kurang lebih 10 menit. Setelah itu minyak goreng yang sudah di goreng di diamkan agar suhu minyak menurun normal lalu di berikan pada hewan coba sesuai jumlah 0,5 ml, 1 ml, dan 1,5 ml, memasukannya menggunakan sonde.

4.7.3 Pengambilan Sampel Darah

Eutanasi sampel dilakukan dengan cara melakukan dislokasi pada bagian leher tikus, kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan dengan cara langsung pada bagian jantung (intracardial) menggunakan spuit 3 cc, kemudian darah diletakan dalam tabung *venoject*, dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit kemudian disentrifus untuk mendapatkan serum (Dirgahariyawan, 2015).

4.7.4 Pengukuran Kadar SGPT/SGOT

Pengukuran kadar SGPT dan SGOT dilakukan dengan metode spektrofotometrik dengan mencampurkan sampel serum dengan *reagen*. *Reagen* SGPT dan SGOT terdiri atas *reagen* I dan II. Serum darah dan *reagen* SGPT/SGOT dicampur pada temperatur ruangan (15 – 30°C). Serum darah diambil sebanyak 100 µl dan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah 60 detik, absorbansi yang terukur dibaca dan dicatat. Kemudian campuran tersebut dibawa kembali ke suhu ruang dan diinkubasi lagi

pada suhu 37°C selama 60 detik. Absorbansi terus diukur mulai menit pertama hingga ketiga. Absorbansi yang terukur kemudian dihitung dengan rumus untuk mendapatkan total kadar SGPT dan SGOT dalam darah. Penghitungan kadar SGPT/SGOT dilakukan dengan rumus (Deny dan Mohammad, 2013):

$$\text{SGPT (U/L)} = \Delta \text{ Abs/min} \times 1768$$

$$\text{SGOT (U/L)} = \Delta \text{ Abs/min} \times 1746$$

4.7.5 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

Pembuatan preparat histopatologi hepar diawali dengan eutanasi dengan cara dislokasi leher tikus, dilanjutkan dengan pembedahan untuk pengambilan organ hepar. Organ hepar yang diperoleh dicuci menggunakan NaCl fisiologis 0,9% untuk menghilangkan darah yang masih tersisa. Proses pembuatan preparat histologi menurut Jungquiera dan Carneiro (2007) meliputi prosedur fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*, penempelan di *object glass*, dan pewarnaan (**Lampiran 7**).

Organ hepar difiksasi menggunakan PFA 4%, kemudian didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dari konsentrasi 70% selama 24 jam, etanol 80% selama 2 jam, etanol 90%, 95%, dan etanol absolut selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan penjernihan dengan cara merendam jaringan dalam larutan Xylol I selama 20 menit dan Xylol II selama 30 menit. Infiltrasi dan *embedding* dengan menggunakan parafin cair pada inkubator bersuhu 58°C – 60°C.

Trimming dilakukan dengan cara menjepit cetakan dalam mikrotom dan jaringan dipotong dengan ketebalan 5 μm . Sediaan disimpan dalam inkubator suhu 38°C – 40°C selama 24 jam untuk selanjutnya diwarnai dengan pewarna *Haematoxylin* dan *Eosin* (Muntiha, 2001).

4.7.6 Pewarnaan *Haematoxylin* dan *Eosin* (HE)

Pewarnaan HE dilakukan dengan cara meletakkan preparat yang akan diwarnai pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan, yaitu: xylol (2x3 menit), etanol absolut (2x3 menit), etanol 90% (3 menit), etanol 80% (3 menit), kemudian dibilas dengan aquades. Selanjutnya ditetaskan larutan *haematoxylin* selama 6 – 7 menit, lalu dibilas dengan aquades selama satu menit. Kemudian preparat ditetesi dengan larutan pembiru selama satu menit dan dibilas lagi dengan aquades selama satu menit. Prosedur selanjutnya adalah ditetesi larutan *eosin* selama 1 – 5 menit dan kembali dibilas dengan aquades selama satu menit. Kemudian preparat dicelupkan ke dalam etanol 80% sebanyak 10 kali celupan, ke dalam etanol 90% sebanyak 10 kali celupan, ke dalam etanol absolut sebanyak 10 kali celupan, lalu direndam dalam etanol absolut selama satu menit. Setelah itu preparat direndam dalam xylol sebanyak tiga kali 3 menit. Kemudian preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat dan selanjutnya ditutup dengan *cover glass*. Hasil pewarnaan diamati di bawah mikroskop cahaya (**Lampiran 8**) (Muntiha, 2001).

4.7.7 Analisa Data

Data penelitian berupa pengukuran kadar SGPT/SGOT secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer. Analisa data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif yang dilakukan analisis statistika dengan pola analisis ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam uji *One-Way* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur dengan tingkat signifikansi $\alpha=5\%$ menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Package for The Social Science (SPSS) version 22.0 for Windows*. Data kualitatif yang dilakukan pengamatan histopatologi hepar yang mengalami hepatosit, sel radang dan nekrosis sel – sel hepar dan dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya.

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mengamati histopatologi hepar dan kadar SGOT dan SGPT yang diinduksi dengan minyak bekas penggorengan yang telah terkontaminasi komponen plastik. Identifikasi gambaran histopatologi preparat hepar menggunakan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) untuk mengetahui gambaran kerusakan yang terjadi pada histologi hepar tikus putih melalui hasil pewarnaan yang terbentuk. (Hartono dkk., 2005 ; Nurrochmad dan Murwanti, 2000 ; Shyamal *et al.*, 2010).

Inti sel dari jaringan akan berwarna biru akibat adanya ikatan antara *hematoxylin* bermuatan positif dengan asam nukleat DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*) yang bermuatan negatif. Pewarna *eosin* akan berikatan dengan sitoplasma dan matriks sel yang mengakibatkan warna merah pada bagian tersebut (Junquiera dan Carneiro, 2005). Pengamatan histopatologi hepar menggunakan mikroskop pembesaran 400x. Untuk dapat dilakukan perhitungan secara statistik mengenai adanya peningkatan maupun penurunan kadar SGOT dan SGPT terhadap variabel bebas jumlah induksi minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik pada hepar tikus putih. (Hartono dkk., 2005).

Minyak goreng bekas terkontaminasi komponen plastik dalam hepar akan menyebabkan reaksi stress oksidatif pada jaringan hepar karena molekul radikal bebas yang mengkontaminasi minyak goreng. Molekul radikal bebas yang kekurangan elektron atau memiliki elektron tidak berpasangan akan merusak membran lipid sel-sel jaringan hepar dengan cara mengambil

elektron pada membran sel sehat, sehingga akan mengganggu keseimbangan permeabilitas membran sel dan mengakibatkan adanya kerusakan jaringan. (Grattagliano *et al.*, 2009).

5.1 Kadar Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) Tikus Hasil Perlakuan

5.1.1 Penetapan Kadar Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT)

Hasil uji homogenitas pada kadar Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) tikus hasil perlakuan menunjukkan data yang homogen (Lampiran 8), sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA. Uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa uji toksisitas campuran minyak goreng dan plastik memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar SGPT (**Lampiran 10**). Uji *Post Hoc* dengan uji Tukey HSD atau uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat signifikansi $\alpha = 5\%$ menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan (**Lampiran 10**). Hasil uji *Post Hoc* kadar SGPT dalam darah tikus putih hasil perlakuan disajikan dalam Tabel dan grafik kenaikan kadar SGPT dapat dilihat pada **Tabel 5.1, 5.2, 5.3** serta Gambar Grafik SGPT **Gambar 5.1** dalam berikut ini :

Tabel 5.1 Hasil Uji *Post Hoc* kadar SGPT dalam darah tikus hasil perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar SGPT (U/L)	Peningkatan terhadap kontrol negatif (%)
Kontrol Negatif	21,42± 0,08 ^a	-
P1 (0,5ml)	21,76± 0,05 ^a	1,58
P2 (1ml)	32,81± 0,34 ^b	53,17
P3 (1,5ml)	36,94± 0,45 ^c	72,45

Keterangan: Angka dengan notasi (a, b, c,) perbedaan yang signifikan setiap perlakuan ($p < 0,05$).

Tabel 5.2 Tabel Rata-Rata Kadar SGPT

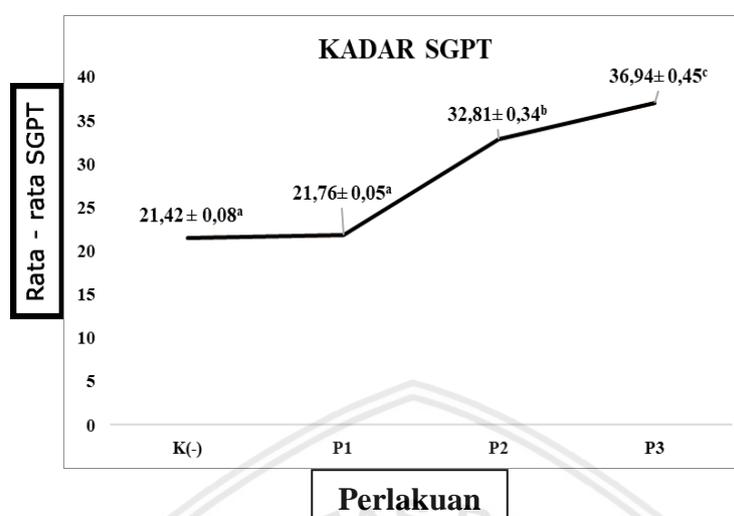
Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
K-	21,3	21,5	21,4	21,4	21,5	107,1	21,42 ± 0,08 ^a
P1(0,5ml)	21,7	21,7	21,8	21,8	21,8	108,8	21,76 ± 0,05 ^a
P2(1ml)	32,2	32,9	33,0	33,0	32,98	164,09	32,81 ± 0,34 ^b
P3(1,5ml)	36,8	36,6	36,6	37,7	37,00	184,7	36,94 ± 0,45 ^c

Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 5.3 Tabel ANOVA Kadar SGPT

S.V.	df ^x	SS	MS ^{xx}	F ^{xxx} Calc	F5%	F1%
Treatment	3	925,754	308,585	3638,755	3,24	5,29
Error	16	1,357	.085			
Total	19	927,111				

Keterangan : Fhitung > Ftabel 1%, maka ditetapkan terdapat perbedaan yang nyata perlakuan ($p < 0,01$).



Gambar 5.1 Grafik nilai rata-rata kadar SGPT yang memiliki pola serupa. Kadar terendah pada kelompok negatif, P1, lalu berturut-turut meningkat pada kelompok P2, dan P3.

Uji *Post Hoc* dengan uji Tukey HSD atau uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat signifikansi $\alpha=5\%$ menunjukkan P1 (0,5ml) belum adanya perbedaan nyata terlihat notasi sama terhadap kontrol negatif K(-), sedangkan P2(1ml), dan P3(1,5ml) ada kenaikan signifikan terhadap kontrol negatif K(-) terlihat dari notasi yang berbeda berdasarkan dari **Tabel 5.2**.

Nilai rata-rata kadar SGPT tertinggi, yaitu kelompok perlakuan P3(1,5ml) sebesar $36,94 \pm 0,45$ U/L, dijadikan sebagai acuan keberhasilan uji toksisitas campuran minyak goreng dan plastik terlihat nyata kenaikan kadar SGPT dalam darah tikus yang berikan campuran minyak goreng dan plastik. Kelompok kontrol negatif K(-), dan P1(0,5ml) masing-masing dibandingkan dengan kelompok P3(1,5ml) terlihat kelompok perlakuan kontrol negatif dan kelompok perlakuan P1(0,5ml) terlihat belum adanyakenaikan signifikan menandakan kerusakan sel-sel hepar belum parah atau nekrosis. Kelompok

perlakuan P3(1,5ml) menunjukkan kemampuan campuran minyak goreng dan plastik untuk menaikkan kadar SGPT dalam serum darah tikus. Kelompok kontrol negatif dan P1(0,5ml) masing-masing memiliki nilai rata-rata kadar SGPT sebesar $21,42 \pm 0,08$ U/L dan $21,76 \pm 0,05$ U/L dilihat dari nilai kadar tersebut menunjukkan bahwa kelompok negatif dan perlakuan P1(0,5ml) belum mengalami peningkatan signifikan dikarenakan peningkatan terhadap % yaitu sebesar 1,58% kemungkinan pada metabolisme hepar tikus ini masih dapat meregulasi induksi dari campuran minyak goreng dan plastik. Nilai rata-rata tertinggi ditunjukkan oleh kelompok P2(1ml) dan P3(1,5ml) dengan nilai rata-rata sebesar P2(1ml) $32,81 \pm 0,34$ U/L dan P3(1,5ml) $36,94 \pm 0,45$ U/L atau mengalami peningkatan sebesar P2(1ml) 53,17% dan P3(1,5ml) 72,45%.

Kenaikan nilai rata-rata kadar SGPT secara berturut-turut pada kelompok P2(1ml), dan P3(1,5ml) menunjukkan bahwa semakin besar jumlah campuran minyak goreng dan plastik yang diberikan, maka semakin tinggi kadar SGPT. Hasil perbandingan keempat kelompok perlakuan tersebut terhadap kelompok P2(1ml) menunjukkan bahwa kelompok P3(1,5ml) memiliki presentase kenaikan nilai kadar SGPT yang paling tinggi.

5.1.2 Penetapan Kadar Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT)

Dilakukan pemeriksaan kadar SGOT pada penelitian ini. Pemeriksaan yang pertama dilakukan terhadap semua tikus setelah pembagian kelompok sebelum tikus diberikan campuran minyak goreng yang terkontaminasi oleh bahan plastik. Pada pembagian kelompok

pemberian jumlah untuk perlakuannya diantaranya P1 (0,5ml), P2(1ml), P3(1,5ml).

Hasil uji homogenitas pada kadar Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) tikus hasil perlakuan menunjukkan data yang homogen (**Lampiran 8**), sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA. Uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa uji toksisitas campuran minyak goreng dan plastik memberikan pengaruh yang signifikan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar SGPT (**Lampiran 10**). Uji *Post Hoc* dengan uji Tukey HSD atau uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat signifikansi $\alpha = 5\%$ menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan (**Lampiran 10**). Hasil uji *Post Hoc* kadar SGOT dalam darah tikus putih hasil perlakuan disajikan dalam Tabel dan Gambar Grafik kenaikan kadar SGOT dapat dilihat pada **Tabel 5.4, 5.5, 5.6** serta Kadar Grafik SGPT **Gambar 5.4** dalam berikut ini :

Tabel 5.4 Hasil Uji *Post Hoc* kadar SGOT dalam darah tikus hasil perlakuan.

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar SGOT (U/L)	Peningkatan terhadap kontrol negatif (%)
Kontrol Negatif	60,27 ± 0,11 ^a	-
P1 (0,5ml)	62,74 ± 0,60 ^b	0,8
P2 (1ml)	64,19 ± 0,33 ^c	7,7
P3 (1,5ml)	84,59 ± 1,8 ^d	40,3

Keterangan: Angka dengan notasi (a, b, c,) perbedaan yang signifikan setiap perlakuan ($p < 0,05$).

Tabel 5.5 Tabel Rata-Rata Kadar SGOT

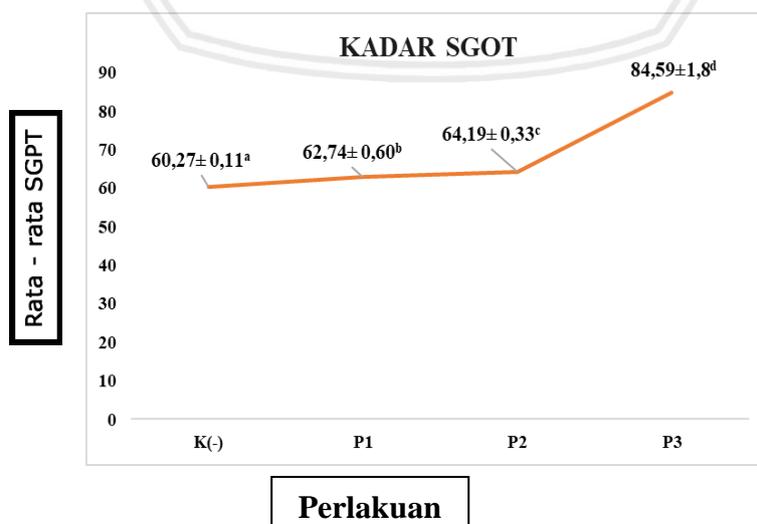
Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
K-	60,3	60,1	60,3	60,23	60,4	30,13	60,26± 0,11 ^a
P1(0,5ml)	62,23	62,56	62,6	62,53	63,8	313,72	62,74± 0,60 ^b
P2(1ml)	63,9	63,9	64,7	64,17	64,3	320,97	64,19± 0,33 ^c
P3(1,5ml)	82,3	83,42	84,9	85,1	87,24	422,96	84,59± 1,8 ^d

Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (p<0,05).

Tabel 5.6 Tabel ANOVA Kadar SGOT

S.V.	df ^x	SS	MS ^{xx}	F ^{xxx} Calc	F5%	F1%
Treatment	3	1886,050	628,683	630,210	3,24	5,29
Error	16	15,961	.998			
Total	19	1902,011				

Keterangan : Fhitung > Ftabel 1%, maka ditetapkan terdapat perbedaan yang nyata perlakuan (p<0,01).



Gambar 5.2 Grafik nilai rata-rata kadar SGOT yang memiliki pola serupa. Kadar terendah pada kelompok negatif, P1, lalu berturut-turut meningkat pada kelompok P2, dan P3.

Uji *Post Hoc* dengan uji Tukey HSD atau uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat signifikansi $\alpha=5\%$ menunjukkan P1 (0,5ml), P2 (1ml), dan P3 (1,5ml) ada kenaikan signifikan terhadap kontrol negatif K(-) terlihat dari notasi yang berbeda berdasarkan dari **Tabel 5.5**.

Nilai rata-rata kadar SGOT tertinggi, yaitu kelompok perlakuan P3(1,5ml) sebesar $84,59 \pm 1,8$ U/L, dijadikan sebagai acuan keberhasilan uji toksisitas campuran minyak goreng dan plastik terlihat nyata kenaikan kadar SGOT dalam darah tikus yang berikan campuran minyak goreng dan plastik. Kelompok kontrol negatif K(-), dan P1(0,5ml) masing-masing dibandingkan dengan kelompok P3(1,5ml) terlihat kelompok perlakuan kontrol negatif dan kelompok perlakuan P1(0,5ml) terlihat adanya kenaikan signifikan menandakan kerusakan sel-sel hepar atau nekrosis. Kelompok perlakuan P3(1,5ml) menunjukkan kemampuan campuran minyak goreng dan plastik untuk menaikkan kadar SGOT dalam serum darah tikus. Kelompok kontrol negatif K(-) dan P1(0,5ml) masing-masing memiliki nilai rata-rata kadar SGOT sebesar $60,27 \pm 0,11$ U/L dan $62,74 \pm 0,60$ U/L dilihat dari nilai kadar tersebut menunjukkan bahwa kelompok negatif K(-) dan dilihat dari perlakuan P1(0,5ml) belum mengalami peningkatan signifikan dikarenakan peningkatan terhadap % yaitu sebesar 0,8% kemungkinan pada metabolisme hepar tikus ini masih dapat meregulasi adanya induksi campuran minyak goreng dan plastik sebesar 0,5 ml. Nilai rata-rata tertinggi berurutan ditunjukkan oleh

kelompok P2(1ml) dan P3(1,5ml) dengan nilai rata-rata sebesar P2(1ml)64,19 \pm 0,33U/L dan P3(1,5ml)36,94 \pm 0,45U/Latau mengalami peningkatan sebesar P2(1ml)7,7% dan P3(1,5ml)40.3%.

Kenaikan nilai rata-rata kadar SGOT secara berturut-turut pada kelompok P2(1ml), dan P3(1,5ml) menunjukkan bahwa semakin besar pemberian campuran minyak goreng dan plastik yang diberikan, maka semakin tinggi kadar SGOT. Hasil perbandingan keempat kelompok perlakuan tersebut terhadap kelompok P2(1ml) menunjukkan bahwa kelompok P3(1,5ml) memiliki presentase kenaikan nilai kadar SGOT yang paling tinggi.

5.1.3 Pembahasan Pengaruh Campuran Minyak Goreng dan Plastik terhadap SGPT dan SGOT

Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) merupakan enzim yang digunakan sebagai indikator utama kerusakan pada sel atau jaringan hepar. Kenaikan kadar transaminase serum disebabkan oleh sel-sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis atau hancur sehingga enzim-enzim tersebut masuk ke dalam peredaran darah dan diedarkan ke seluruh tubuh. Kadarnya dalam darah tidak hanya disebabkan oleh kerusakan hati karena enzim-enzim tersebut terutama SGOT juga terdapat di organ lain seperti jantung, otot rangka, otak, ginjal, dan kantung empedu. Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT dalam serum darah biasa diamati dengan metode spektrofotometri Hartono dkk., 2005 ; Nurrochmad dan Murwanti, 2000 ; Shyamal *et al.*, 2010).

Nilai rata-rata kadar SGPT kontrol negatif sebesar $21,42 \pm 0,08$ U/L mendekati kadar normal SGPT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar sebesar 17,5 – 30,2 U/L, (Hartono dkk., 2005), sedangkan nilai rata-rata kadar SGOT kelompok negatif sebesar $60,27 \pm 0,01$ U/L sudah sesuai dengan kadar normal SGOT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar sebesar 45,7 – 80,8 U/L (Shyamal *et al.*, 2010). Hal ini karena kelompok kontrol negatif merupakan kelompok tikus yang hanya mendapat ransum dan air minum secara *ad libitum* selama 21 hari, sehingga tubuh tikus mengalami keseimbangan jumlah radikal bebas yang ada. Keseimbangan jumlah radikal bebas dengan antioksidan menghindarkan dalam tubuh tikus dari terjadinya peroksidasi lipid yang akan merusak struktur membran dan organel sel hepatosit (Hartono dkk., 2005).

Kelompok perlakuan P1(0,5ml), P2(1ml), P3(1,5ml) memiliki kadar SGPT dan SGOT yang tinggi diakibatkan oleh pemberian campuran minyak goreng dan plastik yang merangsang efek toksik pada tubuh tikus. Campuran minyak goreng dan plastik menjadikan organ hati sebagai organ sasarannya dan memiliki sifat hepatokarsinogenik, mutagenik, dan teratogenik. (Hartono dkk., 2005).

ROS (*Reactive Oksigen System*) atau radikal bebas menghasilkan dioxin dan dapat memicu kanker hati pada manusia, hewan laboratorium, dan hewan ternak. Hewan yang mengalami paparan radikal bebas melalui pakannya umumnya akan mengalami anoreksia, ikterus, depresi, keluar cairan dari hidung, gangguan saluran pencernaan, penurunan fungsi organ reproduksi,

ascites atau hidrothoraks, penurunan bobot badan, peningkatan bobot organ hati, penurunan produksi, serta gangguan pertumbuhan. ROS yang berikatan dengan campuran minyak goreng mampu menimbulkan efek immunosupresi dengan menghambat proses fagositosis *in vitro*, pemusnahan intrasel, dan menurunkan kemampuan makrofag peritoneal untuk produksi oksigen radikal pada tikus. Selain itu radikal bebas yang disebabkan oleh campuran minyak goreng dan plastik juga menghambat sintesis dan menurunkan kemampuan beberapa sitokin *pro-inflammatory* (Pribadi, 2006).

Metabolisme dan mekanisme aksi campuran minyak goreng dan plastik yang tertelan dimulai dari absorpsi pada saluran pencernaan. Setelah absorpsi, racun dimetabolisme di hati dengan enzim mikrosom menghasilkan jenis radikal bebas lain seperti dioxin, dioxin merupakan senyawa sangat reaktif (Dhanasekaran *et al.*, 2011). Peningkatan pembentukan radikal bebas menyebabkan peningkatan kelompok oksigen reaktif dan selanjutnya menimbulkan kondisi stress oksidatif, yaitu ketika jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi pertahanan antioksidan. Radikal bebas yang terakumulasi dalam tubuh bersifat lipofilik di mana dalam mencapai kestabilannya radikal tersebut akan mengikat lipid dari membran hepatosit hepar sehingga terjadi kerusakan membran sel hepar dan akhirnya menimbulkan nekrosis. Stress oksidatif dan akumulasi lipid yang menimbulkan kerusakan dan nekrosis sel-sel hepar tersebut akan mengaktivasi enzim Serum Glutamat Piruvat Transaminase(SGPT) dan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase(SGOT), indikator utama

kerusakan sel hepar, untuk diekskresikan keluar dari sel - sel hepar dan didistribusikan ke peredaran darah (Bures *et al.*, 2011).

Peningkatan presentase kadar SGPT dan SGOT secara berturut-turut pada perlakuan P1(0,5ml), P2(1ml), dan P3(1,5ml) terhadap kelompok kontrol negatif K(-), campuran minyak goreng dan plastik mampu mengikat radikal bebas yang masuk ke dalam saluran pencernaan dengan mekanisme *binding* komponen asam teikoat pada permukaan dinding sel mitokondria akan mengabsorpsi radikal bebas sehingga radikal bebas akan dimetabolisme di hepar. Gagalnya radikal bebas yang dimetabolisme oleh tubuh membuat keadaan stress oksidatif akibat efek hepatotoksik yang ditandai dengan meningkatnya kadar SGPT dan SGOT (Hernandez *et al.*, 2009).

Nilai rata-rata kadar SGPT dan SGOT kelompok P3(1,5ml) yang lebih tinggi dari nilai rata-rata kadar SGPT dan SGOT kelompok P1(0,5ml) dan P2(1ml) mengindikasikan bahwa pemberian campuran minyak goreng dan plastik sebesar 1,5 ml pada perlakuan P3 tersebut melebihi batas yang dapat diterima oleh tikus putih, sehingga radikal bebas yang bekerja mengikat kandungan campuran minyak goreng dan platik sehingga tidak dimetabolisme oleh hati justru berubah menjadi patogen oportunistik (Bures *et al.*, 2011).

Campuran minyak goreng adalah salah satu jenis penyebab radikal bebas berikatan dengan ROS (*Reactive Oksigen System*) yang mampu menyebabkan stress oksidatif dalam tubuh tikus. Campuran minyak goreng dan plastik ini menyebabkan iinflamasi dan immunomodulasi, dikarenakan

inflamasi akibat infeksi ataupun trauma serta meningkatkan imunitas tubuh sehingga tidak rentan terhadap serangan penyakit. Campuran minyak goreng dan plastik mengikat radikal bebas akan meningkatkan fungsi *barrier* usus terhadap infeksi radikal bebas dengan cara berkompetisi dalam hal penempelan pada saluran pencernaan, serta dapat penyerapan radikal bebas melalui mekanisme *binding* dan aktivasi. Umumnya ROS bersifat patogen, namun dalam jumlah yang berlebihan atau ketika tubuh berada dalam kondisi yang lemah maka cenderung akan memunculkan sifat patogen dengan menurunkan imunitas tubuh sehingga tubuh lebih rentan terhadap infeksi (Bures *et al.*, 2011 ; Fugelsang *and* Edwards, 2007 ; Kankaapaa *et al.*, 2007).

5.2 Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi Campuran Minyak Goreng Dengan Plastik.

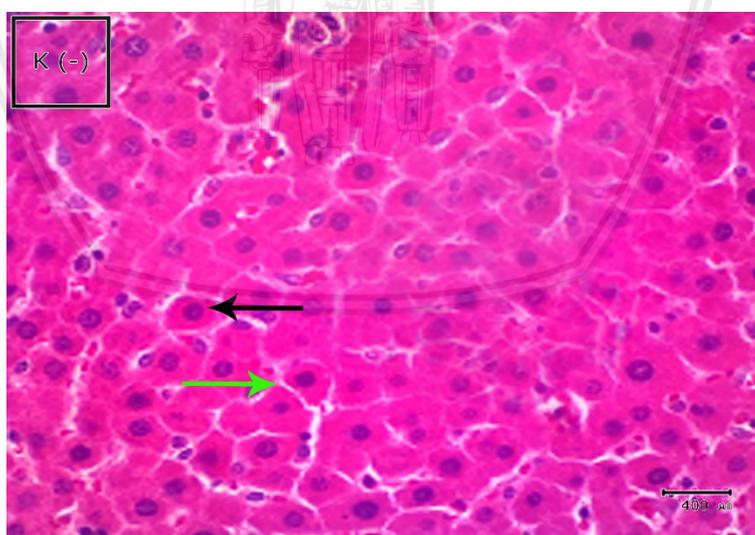
Minyak goreng bekas yang terkontaminasi plastik memiliki jumlah bilangan peroksida yang tinggi dan meningkat dari jumlah ambang batas bilangan peroksida minyak goreng yang masih layak dikonsumsi. Standar maksimal bilangan peroksida minyak yang masih bisa dikonsumsi menurut SNI 01-3741-2002 yaitu sebanyak 10 mg O₂/ Kg sampel minyak, sedangkan dari minyak sampel terkontaminasi komponen plastik yang diuji, menunjukkan bilangan peroksida 14 mg O₂/ Kg. Peningkatan bilangan peroksida minyak ini disebabkan oleh plastik yang digoreng bersama minyak, karena komponen plastik yang tidak stabil pada suhu tinggi akan memicu pembentukan radikal bebas berlebih yang dapat mengkontaminasi minyak goreng. Perhitungan bilangan peroksida minyak terkontaminasi komponen plastik dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Hasil yang didapat menunjukkan, semakin tinggi pemberian volume sampel minyak goreng yang terkontaminasi komponen plastik akan memberikan efek toksik yang meningkat pada organ pencernaan jika dikonsumsi, ditandai dengan peningkatan jumlah sel radang pada organ terpapar. Semakin kecil volume sampel dari minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik akan memiliki dampak yang relatif sedikit pada jaringan. Dari data hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kadar peningkatan volume pemberian minyak goreng bekas terkontaminasi komponen plastik juga dapat meningkatkan kadar SGOT dan SGPT serta kerusakan jaringan salah satunya ditandai dengan peningkatan jumlah sel radang secara signifikan ($p < 0,05$) yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1, Tabel 5.4.**

Hasil dari penelitian pengaruh uji toksisitas campuran minyak goreng dan plastik pada hewan coba tikus putih pada pemeriksaan gambaran histopatologi hepar dilakukan dengan pewarnaan Hematoksin-eosin (HE) dianalisa secara dekriptif menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Histologi hepar dalam keadaan normal ditunjukkan pada kelompok kontrol negatif K(-). Secara normal hepar terdiri dari bagian hepar yang disebut lobulus hepar, yang dipisahkan oleh jaringan ikat interstitial. Pada jaringan interstitial terdapat area yang dilewati oleh tiga macam pembuluh, yaitu cabang arteri hepatis, cabang vena porta, dan duktus biliaris. Area tersebut disebut dengan area porta, atau segitiga portalis, atau trigonum kiernan. Struktur potongan melintang lobulus hepar akan terlihat sebagai struktur yang berderet dan radier, dengan vena

sentralis sebagai pusat dan celah-celah pembuluh diantara sel-sel hepatosit yang disebut sinusoid hepar. (Dirgahariyawan, 2015).

Histopatologi organ hepar tikus putih hasil perlakuan dengan pewarnaan *Haematoxylene Eosin* (HE) menunjukkan adanya perbedaan hasil dari setiap perlakuan. Pada **Gambar 5.3**. K(-), yaitu kelompok tikus kontrol negatif, dapat diamati bahwa sel hepatosit terlihat jelas berbentuk polihedral, memiliki sitoplasma berwarna merah muda, dengan inti sel bulat berwarna ungu, dan memiliki batas antar hepatosit yang jelas. Sinusoid juga terlihat jelas di antara sel-sel hepatosit. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa kondisi hepar berada dalam keadaan normal. Histologi hepar kontrol negatif K(-) ditunjukkan pada **Gambar 5.3** berikut ini:



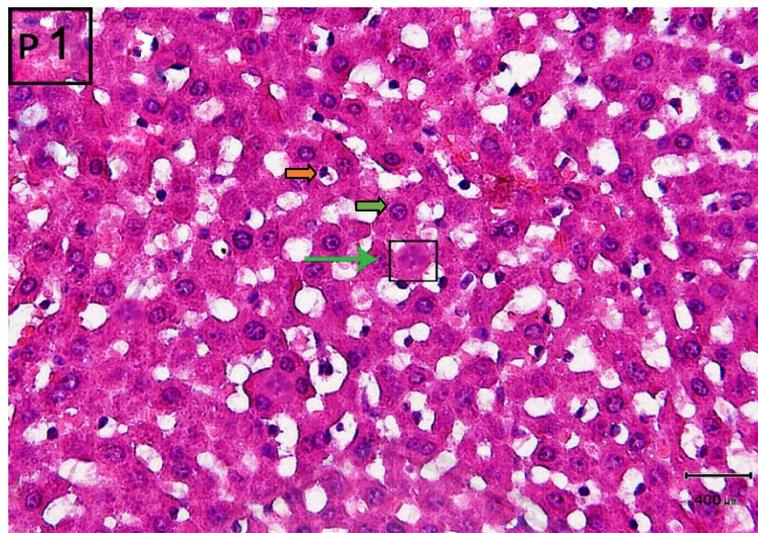
Gambar 5.3 : Histopatologi hepar tikus kelompok Kontrol Negatif, semua sel hepatosit tampak normal . (Perwarna H.E pembesaran 400x).(➡): Sel Hepatosit Normal; (➡): Sinusoid

Secara normal hepar terdiri dari bagian hepar yang disebut lobulus hepar, yang dipisahkan oleh jaringan ikat interstitial. Pada jaringan interstitial

terdapat area yang dilewati oleh tiga macam pembuluh, yaitu cabang arteri hepatica, cabang vena porta, dan duktus biliaris. Area tersebut disebut dengan area porta, atau segitiga portalis, atau trigonum kiernan. Struktur potongan melintang lobulus hepar akan terlihat sebagai struktur yang berderet dan radier, dengan vena sentralis sebagai pusat dan celah-celah pembuluh diantara sel-sel hepatosit yang disebut sinusoid hepar. (Dirgahariyawan, 2015).

Gambaran mikroskopik hepar menunjukkan adanya sel kupffer di sinusoid hepar, yang memiliki fungsi untuk melakukan fagositosis terhadap sel-sel eritrosit yang sudah tua, hemoglobin, sel-sel asing, serta mensekresi sitokin. Sel hepar atau hepatosit merupakan sel utama penyusun hepar yang berbentuk polihedral dengan enam permukaan atau lebih. Antar hepatosit dalam lobulus memiliki batas sel yang jelas. Setiap sel memiliki sebuah inti berbentuk bulat dan terletak di bagian tengah sel (Dirgahariyawan, 2015).

Pada **Gambar 5.4**, P1(0,5ml), yaitu kelompok tikus kontrol positif yang diberi induksi campuran minyak goreng dan plastik sebanyak 0,5 ml/200 gr BB selama 14 hari, terlihat bahwa kerusakan sel nekrosis. Ada beberapa sel hepatosit masih memiliki struktur dan batas sel yang jelas, dengan sitoplasma berbentuk polihedral berwarna merah muda serta inti sel bulat berwarna ungu. Meskipun di beberapa lapang pandang masih ditemui sel-sel hepatosit yang mengalami nekrosis, dalam satu lobulus hepar lebih banyak ditemukan struktur sel-sel hepatosit.



Gambar 5.4 : Hepatosit Tikus yang mengalami nekrosis yang di tandai dengan adanya sel radang. (Perwarna H.E pembesaran 400x). (→): Sel Nekrosis, (→): Sel Radang inflamasi

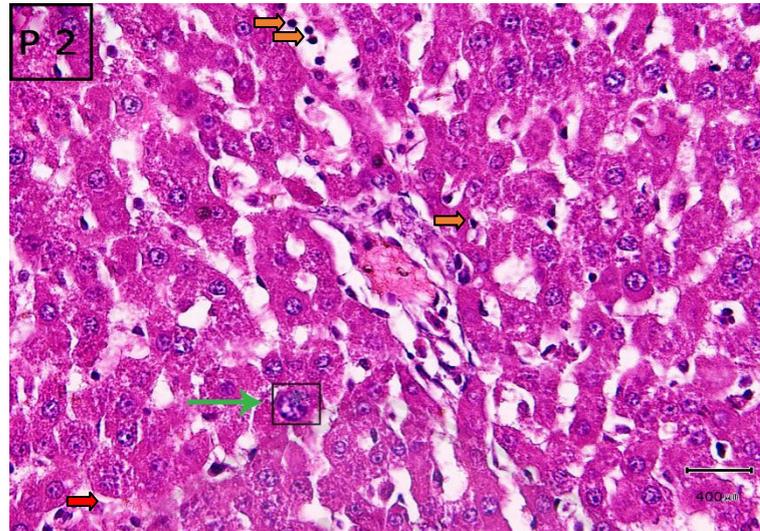
Perubahan pada sel yang mengalami nekrosis terjadi pada sitoplasma dan organel-organel sel lainnya. Inti sel yang mati akan menyusut (piknotik), menjadi padat, batasnya tidak teratur, dan berwarna gelap. Selanjutnya inti sel hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Proses ini disebut karioreksis, kemudian inti sel yang mati akan menghilang (kariolisis). Kerusakan struktur membran dikarenakan oleh hilangnya fungsi membran plasma sel untuk mempertahankan homeostasis ionik dan cairan, sehingga sitoplasma sel menjadi bengkak, pucat, dan akhirnya rusak (Puspawati, 2009).

Perubahan sel tersebut terjadi akibat adanya paparan campuran minyak goreng dan plastik yang dimetabolisme oleh tubuh dan oksidasi ROS sehingga menyebabkan dioxin berikatan sel darah dan menimbulkan perubahan sel hepatosit, adanya sel radang atau inflamasi pada sel hepatosit, dan pada perlakuan P1(0,5ml) sel hepatosit nampak mulai adanya sel yang nekrosis, disebabkan

paparan perlakuan P1(0,5ml) masih dapat diregulasi oleh sistem metabolisme hepar tubuh tikus.

Pada **gambar 5.5**, gambaran histopatologi hepar pada kelompok perlakuan P2(1ml) yang diberi induksi campuran minyak goreng dan plastik sebanyak 1ml/200 gr BB selama 14 hari, menunjukkan bahwa jumlah sel yang mengalami nekrosis dalam satu lobulus meningkat sangat pesat, struktur sel rusak, banyak terjadi karioreksis dan kariolisis, disebabkan oleh oksidasi ROS yang dimetabolisme oleh tubuh berikatan dengan dioxin dan dioxin masuk dalam peredaran darah, akibat paparan campuran minyak goreng dan plastik pada perlakuan P2(1ml) hepar bekerja keras untuk memetabolisme dioxin dalam tubuh sehingga menimbulkan perubahan pada histopatologi hepar tikus, terlihat batas – batas sel tidak dapat diamati dengan jelas, begitu pula dengan sinusoid yang mengalami proliferasi akibat banyaknya sel yang lisis akibat sel radang hepatosit yang kemudian terjadi inflamasi. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian campuran minyak goreng kontaminasi plastik sebanyak 1ml/200gr mampu memberikan efek hepatotoksik pada tikus putih.

Kerusakan sel-sel hepar yang disebabkan oleh bahan toksik umumnya disebabkan oleh hasil metabolisme bahan toksik, yang selanjutnya akan menginduksi respon imun, bahkan mempengaruhi biokimia sel. (Kaplowitz, 2002).



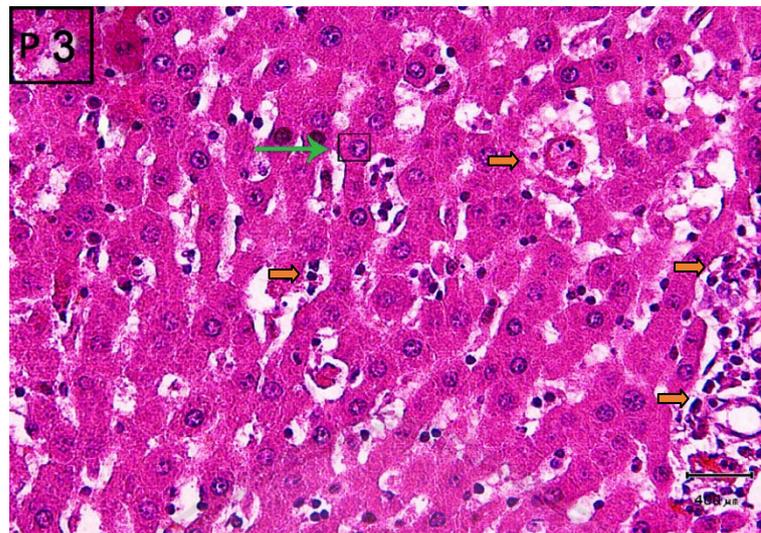
Gambar 5.5 : Hepatosit Tikus yang mengalami karioreksis beberapa kariolisis . (Perwarna H.E pembesaran 400x). (→): Sel Hepatosit Karioreksis; (→): Sinusoid, (→): sel radang inflamasi

Terjadinya nekrosis pada sel-sel hepar ini dapat diamati dengan adanya perubahan pada sitoplasma dan inti sel. Pada saat membran plasma sel rusak, berbagai enzim dan sitosol akan dilepaskan ke dalam darah dan hal ini dapat digunakan sebagai penanda kuantitatif terhadap luas dan tipe kerusakan sel hepar (Kaplowitz, 2002).

Sel yang telah cedera atau sel radang kemudian bisa mengalami inflamasi lalu ada robekan membran plasma dan perubahan inti sehingga sel mati atau nekrosis (Ngabekti dan Isnaeni, 2000). Campuran minyak goreng dan plastik yang di induksikan dalam tikus putih akan dimetabolisme tubuh sehingga mempengaruhi sirkulasi darah. Darah yang mengandung campuran minyak goreng dan plastik tersebut akan menyebabkan kerusakan berbagai organ termasuk organ hepar. Hal ini diakibatkan oleh kemampuan campuran minyak goreng dan plastik untuk membentuk radikal bebas dalam tubuh serta menurunkan

kemampuan antioksidan sehingga terjadinya stres oksidatif dan menimbulkan gangguan dalam proses biokimia normal sistem hepatobilier (Santosa, 2005)

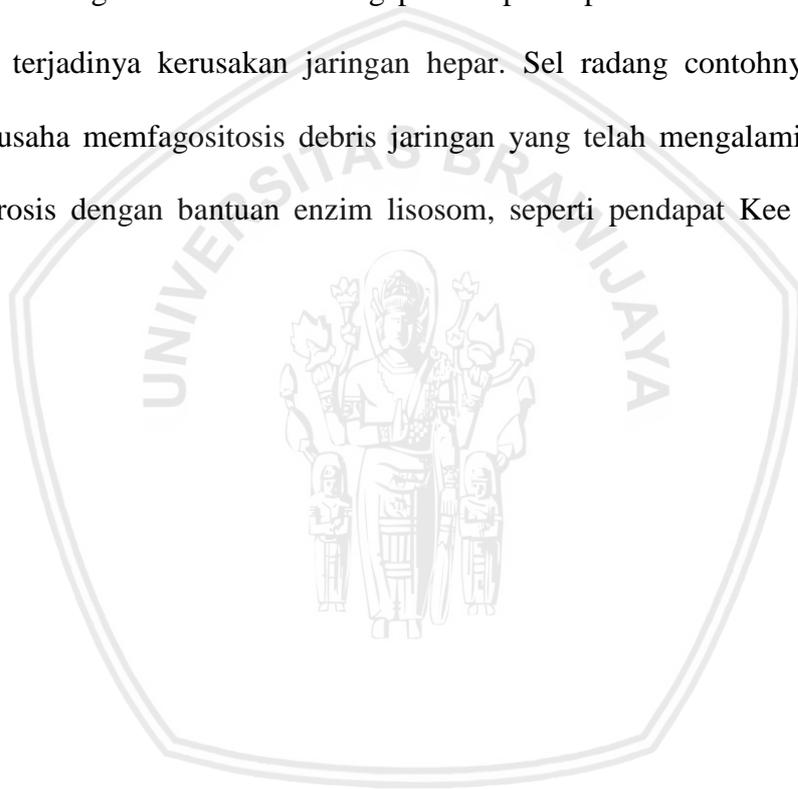
Pada **Gambar 5.6** gambaran histopatologi hepar pada kelompok P3(1,5ml) kelompok tikus kontrol positif yang diberi induksi campuran minyak goreng dan plastik sebanyak 1.5 ml/200 gr BB selama 14 hari, terjadi kerusakan sel hepatosit dalam jaringan hepar, menunjukkan bahwa sel mengalami nekrosis lebih banyak atau parah dan terlihat inflamasi atau sel radang pada sel hepatosit berdasarkan dengan gambar 4, kerusakan jaringan berupa nekrosis sel-sel hepatosit, sel inflamasi akibat sel radang hepatosit diperlihatkan pada **Gambar 5.6** dengan hilangnya struktur membran dan inti sel, serta hilangnya struktur sinusoid. Perubahan pada sel yang mengalami nekrosis terjadi pada sitoplasma dan organel-organel sel lainnya. Inti sel yang mati akan menyusut (piknotik), menjadi padat, batasnya tidak teratur, dan berwarna gelap. Selanjutnya inti sel hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. (Ngabekti dan Isnaeni, 2000).



Gambar 5.6 : Hepatosit Tikus yang mengalami nekrosis parah yang di tandai dengan banyak sel nekrosis. (Perwarnaa H.E pembesaran 400x). (→): Sel Radang Inflamasi, (→): Sel Nekrosis

Campuran minyak goreng dan plastik sebagai sumber ROS sehingga terjadi peroksidasi membentuk produk-produk seperti 4-hydroxynonenal (HNE) dan malondialdehyde (MDA). ROS memperoksidasi secara langsung dan merusak DNA mitokondria. Selanjutnya, produksi ROS yang berlebihan meningkatkan ekspresi beberapa sitokin-sitokin (TNF- α , TGF beta, fas ligand, IL-8) dalam sel hepar. Bahan – bahan antioksidan tidak mencukupi untuk menetralkan peningkatan kadar ROS sehingga mengakibatkan nekroinflamasi. ROS menyebabkan apoptosis sel secara langsung melalui aktivasi NF-kB. Dengan penurunan ekspresi gen yang terlibat dalam lipogenesis termasuk asetil-koenzim A (CoA), carboxylate- α dan - β , dan elemen pengikat regulasi sterol 1c (SREBP-1c) (Guyton dan Hall, 2006). Hal ini menindikasikan bahwa pemberian campuran minyak goreng kontaminasi plastik sebanyak 1,5 ml mampu memberikan efek hepatotoksik atau melebihi batas yang bisa diterima oleh tikus putih.

Hepar adalah target organ dari efek toksik. Pemeriksaan patologi anatomi organ hati pada tikus yang diindusikan campuran minyak goreng dan plastik menunjukkan adanya pembengkakan, perubahan warna, serta konsistensi. Pada inspeksi mikroskopis didapatkan sel radang, sel kariolisis dan sel nekrosis. Paparan campuran minyak goreng dan plastik yang tidak dapat di metabolisme oleh hepar menghantarkan sel radang pada hepar seperti neutrofil dan monosit sehingga terjadinya kerusakan jaringan hepar. Sel radang contohnya neutrofil akan berusaha memfagositosis debris jaringan yang telah mengalami kerusakan atau nekrosis dengan bantuan enzim lisosom, seperti pendapat Kee dan Hayes (1993).



BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik dapat menyebabkan peningkatan jumlah kadar SGPT dan SGOT pada hepar secara signifikan.
2. Pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik dapat mengakibatkan nekrosis dan peradangan pada hepar akut secara histopatologi.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui untuk mengetahui tingkat toksisitas minyak goreng bekas terkontaminasi komponen plastik terhadap lapisan jaringan yang berbeda maupun organ pencernaan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolamir, A. and Razagi, A.M. 2008. *Toxins*. Teheran: Imam Hossein University.
- Bennett, J.W., Kale, S., and Yu, J. 2007. Background, toxicology, and biocelular biology. In: Simjee, S. *Infectious Disease: Foodborne Diseases*. Humana Press Inc, Totowa N.J. pp 355-373.
- Boutrif, E. 2006. SGPT and SGOT prevention programmes. *Pistachio*, 14: 27 – 28.
- Bures, J., Pejchal, J., Kvetina, J., Tichy, A., Rejchrt, S., Kunes, M., and Kopacova, M. 2011. Morphometric analysis of the porcine gastrointestinal tract in a 10-day high-dose indomethacin administration with or without toxins Nissle 1917. *Human and Experimental Toxicology*, 30(12): 1955 – 1962.
- Calderon, A.E., Medina, L.M.C., Huerta, R.F.M., Almaraz, J.R.M., Gonzales, R.G.G., and Pacheco, I.T. 2011. Methods for detection and quantification of SGOT and SGPT. *Detection, Measurement, and Control*, 7: 109 – 128.
- Deny, I. dan Mohammad. 2013. Aktivitas Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan yang diberi Fraksi N-Heksan Daun Kesum (*Polygonum minus Huds.*) Pasca Induksi Sisplatin [Skripsi]. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Dirgahariyawan, T.C. 2015. Terapi Preventif Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica less*) terhadap Kadar SGOT/SGPT dan Gambaran Histopatologi Hepatosit Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan Plumbum (Pb) [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- Farber. P., Brost, I., Adam, R., and Holzapfel, W. 2000. HPLC based method for the measurement of the reduction of aflatoxin B1 by bacterial cultures isolated from different African foods. *Mycotoxin Res*, 16: 141.
- Fulgesang, K.C. and Edwards, C.G. 2007. *Toxicology*. Practical Applications and Procedures. Springer, pg 394.
- Gaze, D.C. 2007. The role of existing and novel heparbiomarkers for heparprotection. *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 8(9): 711 – 723.
- Giboney, P.T. 2005. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician*, 71(6).

- Grattagliano, I.L., Bonfrate, C.V., Diogo, H.H., Wang, D.Q.H., and Portincasa, P. 2009. Biochemical mechanism in drug-induced liver injury: certainties and doubts. *World Journal of Gastroenterology*, 15(39): 4865 – 4876.
- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hamidi, A., Mirnejad, R., Yahaghi, E., Behnod, V., Mirhosseini, A., Amani, S., Sattari, S., and Darian, E.K. 2013. The aflatoxin B1 isolating potential of dioxin. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomed*, 3(9): 732 – 736.
- Hartono, Nurwati, I., Ikasari, F., dan Wiryanto. 2005. Pengaruh ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) terhadap peningkatan kadar SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian asetaminofen. *Jurnal Biofarmasi*, 3(2): 57 – 60.
- Jayanti, D.P. 2011. Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Diet Kolesterol Terhadap Perlemakan Hati (Fatty Liver) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. FST Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. hlm. 38 – 39.
- Jungquiera, L.C. dan Carneiro, J. 2007. Organ – organ yang Berhubungan dengan Saluran Cerna. Dalam: *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kang, K.K., Kim, I.D., Kwon, R.H., Lee, J.Y., Kang, J.S., and Ha, B.J. 2008. The effects of extracts on CCl4 induced liver injury. *Arch Pharm Res*, 31: 622 – 627.
- Kaplowitz, N. 2002. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis*, 22: 137 – 44
- Kusriningrum. 2008. *Rancangan Percobaan*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Muntiha, A. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Penggunaan Hematoksilin dan Eosin (H7E)*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Puspawati, G.A.K. 2009. Kajian Aktivitas Proliferasi Limfosit dan Kapasitas Antioksidan Sorgum dan Jewawut pada Tikus *Sprague Dawley* [Thesis]. Institut Pertanian Bogor.

- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. 2000. *Veterinary medicine*, pp.1684 – 1688. W.B. Saunders Co. Ltd., London.
- Sirois. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. United States of America: Elsevier.
- Suckow, M.A., Weisbroth, S.H., and Franklin, C.L. 2006. *The Laboratory Rat*. San Diego: Elsevier.
- Wresdiyati, T., Astawan, M., dan Lusya, Y.H. 2006. Profil imunohistokimia super oksida dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia. *Hayati J Bio sci*.
- Wulandari, D.Y., Padaga, M.C., dan Herawati. 2013. Kadar malondialdehida (MDA) dan gambaran histopatologi organ hati pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia setelah terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra L. Miq*). Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Yanwirasti. 2006. Kontribusi peroksidasi lipid terhadap kerusakan sel hati tikus putih akibat keracunan aflatoksin B1. *Jurnal Anatomi Indonesia*, 1(2): 79 – 86.