

Gambaran imunohistokimia CD40 aorta jantung tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi minyak jelantah

Fani Nuryana Manihuruk, Gusbakti Rusip, Esther R. D. Sitorus, M. Ichwan

Fakultas Kedokteran - Universitas Sumatera Utara, Medan
Email: faninuryanamanihuruk@yahoo.com

Abstrak: Aterosklerosis adalah penyakit kronis yang dapat menyebabkan kematian diawali inflamasi pembuluh darah oleh hiperlipidemia. Pemakaian minyak jelantah menyebabkan peningkatan asam lemak trans, asam lemak bebas dan radikal bebas sehingga memicu terjadinya aterosklerosis. Salah satu biomarker aterosklerosis adalah CD40. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran imunohistokimia CD40 pada aorta jantung tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi minyak jelantah. Penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan *randomize post-test only control group design*. Jumlah sampel adalah 12 ekor tikus Wistar jantan sehat, umur 3-4 bulan dan berat 150-200 gram, dibagi menjadi 4 kelompok. K0(diet normal), K1(5 kali penggorengan), K2(10 kali penggorengan), K3(15 kali penggorengan) selama 60 hari dan menghitung score CD40. Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh adanya perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok perlakuan ($p<0,05$). Gambaran imunohistokimia CD40 pada K3(15 kali penggorengan) lebih tinggi dibandingkan K1 (5 kali penggorengan) dan K2 (10 kali penggorengan). Minyak jelantah dapat meningkatkan CD40 yang memicu aterosklerosis.

Kata kunci: Aterosklerosis, minyak jelantah, CD40

Abstract: Atherosclerosis is a chronic disease that cause death and begins inflammation of blood vessel by hiperlipidemia. It is associated with increased trans fatty acids, free fatty acids, and free radical compounds due consumption of deep frying oil that can trigger atherosclerosis. One of the biomarkers of atherosclerosis is CD40. The purpose of this study was to determine immunohistochemical images of CD40 in aorta of male Wistar rat (*Rattus norvegicus*) induced by deep frying oil. This research is true experimental with randomize post-test only control group design. The experimental animals were 12 healthy male Wistar rats age 3-4 month and weight between 150-200g. Male wistar rat were randomly divided into 4 group. Group K0 (control) was given standart diet, group K1 was given orally deep fried oil 5 times, group K2 was given orally deep fried oil 10 times, group K3 was given orally deep fried oil 15 times for 60 day. The Immunohistochemical examination assessed score of CD40. The *Kruskal-Wallis* test showed that immunohistochemical of CD40 were significantly different among the four groups ($p<0,05$). Immunohistochemical of CD40 in group K3(deep fried 15 times) is higher than group K1(deep fried 5 times) and K2(deep fried 10 times). Deep frying oil inceased that mount of CD40 and induced risk of atherosclerosis.

Keywords: Atherosclerosis, deep frying oil, CD40

Pendahuluan

Penyakit kardiovaskular sampai saat ini merupakan penyakit yang banyak menyebabkan kematian. Salah satunya adalah penyakit jantung koroner yang disebabkan oleh aterosklerosis. Di Indonesia, terjadinya perubahan gaya hidup yang meniru masyarakat barat serta pola makan yang tidak sehat dan tinggi kolesterol.^{1,2} Saat ini angka kematian akibat penyakit jantung koroner menduduki peringkat ke-3 dari penyebab kematian. Dalam satu tahun terdapat 500.000 kasus baru dan 125.000 orang meninggal karena aterosklerosis.³ Prevalensi hiperlipidemia meningkat dari tahun ke tahun. Pada tahun 2008 tercatat sebesar 35,1% kemudian pada tahun 2013 meningkat menjadi 35,9%.⁴ Semakin tinggi prevalensi hiperlipidemia, maka akan semakin meningkat insiden aterosklerosis yang

berdampak terhadap kematian.⁵ Aterosklerosis adalah salah satu penyebab utama kematian yang melibatkan proses inflamasi dinding pembuluh darah oleh hiperlipidemia. Komplikasi serius dari aterosklerosis dapat menyebabkan kejadian kardiovaskular seperti infark miokard dan stroke disebabkan oleh rusaknya lapisan sel endotel atau ruptur plak.^{6,7,8,9} Proses aterosklerosis diawali adanya kerusakan atau *injury* lapisan endotel yang diikuti peningkatan permeabilitas sel endotel, peningkatan pengeluaran molekul adhesi pada permukaan sel endotel dan produksi sitokin inflamasi. Sel monosit dan sel limfosit T akan migrasi melalui lapisan endotel yang rusak ke dalam intima yang kemudian akan berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Sel makrofag tersebut memfagositosis LDL yang teroksidasi atau ox-LDL sehingga berubah menjadi sel busa atau *foam cell*, yang

selanjutnya menumpuk bersama sel limfosit T dan sel otot polos membentuk lapisan lemak (*fatty streak*).¹⁰ Interaksi CD40/CD40L merupakan jalur penting dalam respon inflamasi dengan produksi sitokin inflamasi dan ditemukan dalam plak arteri dari sel makrofag, sel otot polos dan sel T yang secara signifikan mempengaruhi fungsi sel endotel yang berkaitan dengan perkembangan aterosklerosis.^{11,12,13} Konsumsi minyak goreng per kapita penduduk Indonesia tahun 2011 sebesar 8,24 liter/kapita/tahun. Penggunaan minyak goreng berulang kali diasumsi untuk mengurangi biaya produksi dan kurangnya pengetahuan membuat masyarakat sering kali menggunakan minyak goreng yang telah dipakai hingga berulang kali.¹⁴ Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa 90% masyarakat Indonesia menggunakan minyak goreng berulang masih tinggi yaitu 4-8 kali per hari. Penelitian yang dilakukan pada pedagang kuliner yang menggunakan minyak jelantah di Taman Kuliner Karang Malang diketahui rata-rata jumlah pengunjung adalah 80-100 orang, namun penggunaan minyak goreng untuk mengolah makanan tidak sebanding dengan jumlah pengunjung. Berdasarkan hasil wawancara yang dilakukan peneliti diketahui bahwa pedagang hanya mengganti minyak goreng sebanyak 2 kali dimana mengolah minyak goreng bisa sampai 80 kali dalam seharinya, hal ini berarti minyak goreng digunakan 40 kali ulangan untuk mengolah makanan yang digoreng dan disajikan untuk konsumen.¹⁵

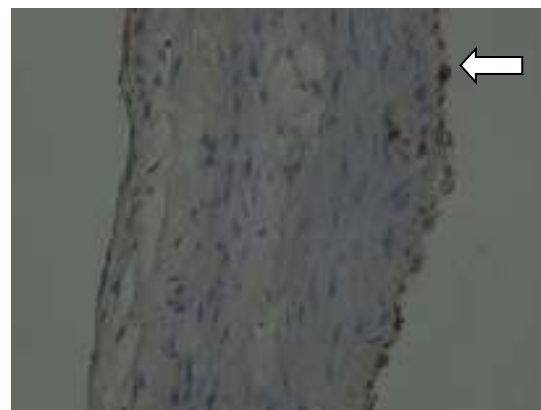
Metode penelitian

Penelitian ini adalah true experimental dengan rancangan *randomize post-test only control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan April - Oktober 2017. Tikus Wistar diberikan minyak jelantah 5 kali, 10 kali, 15 kali penggorengan dengan sonde. Dosis minyak jelantah yang digunakan adalah 1 mL/150 gram BB per hari selama 60 hari. Pemeliharaan hewan coba, pemberian perlakuan, pembedahan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) USU. Pembuatan dan pembacaan sediaan HE dan imunohistokimia CD40 aorta jantung tikus Wistar jantan (*Rattus novvergicus*) dilakukan di

Hasil penelitian



Gambar 1. Imunohistokimia aorta jantung tikus Wistar jantan kelompok kontrol (K0). Pembesaran 400x
Keterangan: = tidak adanya CD40



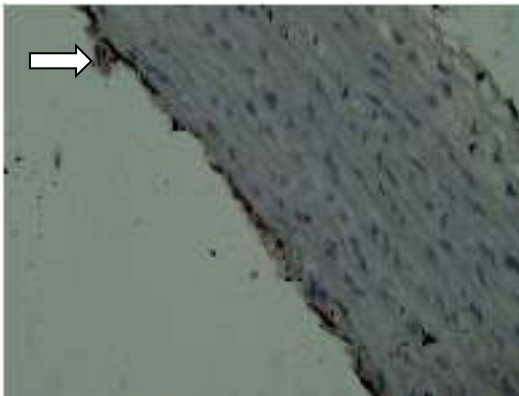
Gambar 2. Imunohistokimia CD40 aorta jantung tikus Wistar jantan kelompok (K1) yang diinduksi minyak jelantah 5 kali penggorengan. Pembesaran 400x. **Keterangan:** = ada CD40.



Gambar 3. Imunohistokimia CD40 aorta jantung tikus Wistar jantan kelompok (K2) yang diinduksi minyak jelantah 10 kali



penggorengan. Pembesaran 400x. **Keterangan:**
= adanya CD40.



Gambar 4. Imunohistokimia CD40 aorta jantung tikus Wistar jantan kelompok (K3) yang diinduksi minyak jelantah 15 kali penggorengan. Pembesaran 400x

Keterangan : = adanya CD40.

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah CD40 pada kelompok K3 lebih tinggi dibandingkan K1 dan K2 dilihat dari semakin banyak CD40/plak yang terbentuk pada aorta jantung tikus Wistar jantan yang diinduksi minyak jelantah selama 60 hari tersebut karena semakin tinggi intensitas pemakaian minyak goreng berulang dan waktu lama maka semakin banyak CD40 yang terbentuk. Pada minyak goreng 5 kali penggorengan sudah terbentuk CD40 pada endotel aorta jantung tikus Wistar jantan tersebut. Penggunaan minyak goreng dengan suhu 200°C akan memicu terbentuknya asam lemak trans yang tinggi melalui reaksi polimerisasi termal dan oksidasi setelah penggorengan kedua selama 30 menit.^{16,17} Asam lemak trans dapat menghambat kerja enzim metabolisme lipid (*fatty acid desaturase elongase* dan *licithin cholesterol acyl transferase*/ LCAT) yang berperan dalam metabolisme HDL untuk membuang kolesterol ke hati dan pembentukan lipoprotein.¹⁸ Jenis makanan dan frekuensi penggorengan juga memicu terjadinya oksidasi lemak pada minyak goreng dimana asam lemak bebas dalam minyak goreng lebih tinggi saat penggorengan ayam.^{19,20} Pemanasan yang lama dan berulang juga akan mempercepat terjadinya destruksi minyak akibat meningkatnya kadar peroksida dan proses oksidasi termal pada minyak goreng tersebut sebagai sumber utama pembentukan radikal bebas sehingga berbahaya bagi tubuh.^{21,22} Selain

menyerap minyak, makanan yang digoreng menggunakan minyak jelantah juga menyerap produk degradasi seperti radikal bebas, keton, aldehid yang menyebabkan perubahan pada organ tubuh dan menimbulkan penyakit seperti disfungsi endotel.^{23,24} Berdasarkan penelitian ini diperoleh bahwa pemanasan minyak goreng dengan suhu tinggi dan berulang untuk menggoreng ayam dapat menurunkan kualitas minyak goreng yang dapat membentuk dan meningkatkan CD40. CD40 sebagai salah satu biomarker terjadinya aterosklerosis.

Kesimpulan

Pemanasan minyak goreng dengan suhu tinggi dan berulang (minyak jelantah) untuk menggoreng ayam dapat menurunkan kualitas minyak goreng yang dapat membentuk dan meningkatkan CD40. CD40 sebagai salah satu biomarker terjadinya aterosklerosis.

Daftar Pustaka

1. Robbins, C. 2015. *Inflammation and repair*. Pathologic basis of disease. Edisi ke-9.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Pedoman epidemiologi penyakit jantung dan pembuluh darah*. Jakarta: Direktorat Pengendalian Penyakit Tidak Menular Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
3. Wijaya. 2011. *Pengaruh ekstrak kulit buah manggis (Garcinia mangostana L) terhadap penurunan jumlah foam cell pada aorta tikus (Rattus novergicus) model aterogenik*. J. Universitas Brawijaya ;2(1):1-10.
4. World Health Organization. *Deaths from coronary heart disease*. 2013.
5. Nindrea. 2015. *Meta analisis faktor risiko penyakit jantung koroner di Asia Tenggara*. Padang: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Andalas.
6. Rudijanto, A. 2007. *The Role of Vascular Smooth Muscle Cellson The Pathogenesis of Atherosclerosis*. Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine Brawijaya University, Malang.
7. Fujii S, Sugiura T, Dohi Y, Ohte N. 2016. *MicroRNA in atherothromobosis: is it useful as a disease marker*. Trombosis Journal. 14 (Suppl 1): 21.
8. Libby P, Pasterkamp G. 2015. *Requiem for the 'vulnerable plaque'*. Eur Heart J 36:2984–2987.
9. Narula J, Nakano M, Virmani R, Kolodgie FD, Petersen R, Newcomb R, Malik S, Fuster V, Finn

- AV.2013. *Histopathologic characteristics of atherosclerotic coronary disease and implications of the findings for the invasive and noninvasive detection of vulnerable plaques*. J Am Coll Cardiol 61:104–1051.
10. Tsimikas, S., Brilakis, E.S., Miller, E.R., McConnell, J.P., Lennon, R.J., Kornman, K.S. 2005. *Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and Coronary Artery Disease*. N Engl J Med, 353(1):46-57.
11. Hueso M, Ramon LD, Navarro E, Ripoll E, Josep M. Grinyo, Joan Torras. 2016. *Silencing of CD40 in vivo reduces progression of experimental atherogenesis through an NF- κ B/miR-125b axis and reveals new potential mediators in the pathogenesis of atherosclerosis*. Department of Nephrology. Hospital Universitari Bellvitge, and Bellvitge Research Institute (IDIBELL). L'Hospitalet de Llobregat. Spain.
12. Lievens D, Eijgelaar WJ, Biessen EA, Daemen MJ, Lutgens E. 2009. *The multifunctionality of CD40L and its receptor CD40 in atherosclerosis*. Thromb Haemost. 102:206-214.
13. Wang Jh, Zhang Yw, Zhang P, Deng Bq, Ding S, Wang Zk, Wu T, Wang J. 2013. *CD40 ligand as a potential biomarker for atherosclerotic instability*. Neurol Res;35:693-700.
14. Amelia, F, Retna N. 2010. *Perilaku penggunaan minyak goreng serta pengaruhnya terhadap keikutsertaan program pengumpulan minyak jelantah dikota bogor*. Jurnal Ilm dan kons Vol 3, No 2.
15. Aini NN.2012. *Penggunaan Minyak Jelantah Pada Pedagang Makanan Lesehan di Taman Kuliner Karang Malang*. Laporan Penelitian Kesehatan Lingkungan.
16. Sartika, R.A.D.2009. *Pengaruh Suhu dan Lama Proses Menggoreng (deep frying) terhadap pembentukan asam lemak trans*. Makara Sains. Vol 13 (1):23-28.
17. Brühl, L. 2014. *Fatty acid alterations in oils and fats during heating and frying*. Max Rubner Institut, Reserach Institute of Nutrition and Food, Institute of Safety and Quality of Cereals, Detmold, Germany.
18. Sartika, R.A.D.2008. *Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans Terhadap Kesehatan*. Kesehatan Masyarakat Nasional, 2(4):154-160.
19. Koh, E., Surh, J. 2015. *Food types and frying frequency affect the lipid oxidation of deep frying oil for the preparation of school meals in Korea*. Food Chemistry 174(2015)467–472
20. Chan, Y., Yang, Y., Nie, S., Yang, X., Wang, Y., Yang, M., Li, C.2014. *The analysis of trans fatty acid profiles in deep frying palm oil and chicken fillets with an improved gas chromatography method*. State Key Laboratory of FoodScience and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, PR China. 44 (2014):191-197
21. Oktaviani, N.D.2009. *Hubungan lamanya pemanasan dengan kerusakan minyak goreng curah ditinjau dari bilangan peroksida*. Jurnal Biomedika.1:31-4.
22. Zhang, Q., Saleh, A., Chen, J., Shen, Q. 2012. *Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review*. National Engineering and Technology Research Center for Fruits and Vegetables, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083,China.165 (6): 662-681
23. Rukmini,A.2007.*Regenerasi Minyak Goreng Bekas dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh*. Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007). ISSN:1978–9777.