

PENGARUH DIET MINYAK TEROKSIDASI TERMAL TERHADAP MALONDIALDEHID (MDA) DAN VITAMIN E SERUM PADA TIKUS *Sprague Dawley*

(EFFECTS OF THERMALLY OXIDIZED OIL DIET ON SERUM MDA AND VITAMIN E OF *Sprague Dawley RATS*)

Panca Budi Yanuakhiriyah¹⁾, Y. Marsono²⁾ dan Hastari Wuryastuti³⁾

ABSTRACT

The effect of thermally oxidized cooking oil on serum MDA/TBARS and vitamin E concentrations of oxidized oil diet were studied in *Sprague Dawley rats*.

Five groups of five male rats each were fed ad libitum on isocaloric diets (AIN-93M formula) containing 4% soybean oil (control), 4% cooking oil (NOF), 20% cooking oil (HOF), 4% thermally oxidized cooking oil (NOX) and 20% thermally oxidized cooking oil (HOX), for 14 weeks. Thermally oxidized cooking oil were prepared by heating commercial cooking oil at 190°C for 150 hrs. Peroxide values, MDA/TBARS and vitamin E of the oils used in diets were analyzed. Before the feeding experiment, MDA/TBARS and vitamin E concentration of the rats blood were determined and repeated after 7 and 14 weeks of feeding.

It was found that peroxide value and MDA/TBARS of heated cooking oil were higher and the vitamin E content were lower than that of unheated cooking oil. MDA/TBARS of rats fed HOF, NOX and HOX diets were higher than that of rats fed control and NOF diets, but the vitamin E content of the blood were not significantly different. Thus, the study indicated that long term feeding of thermally oxidized oil had adverse effect : increasing MDA/TBARS in blood, but vitamin E content were not affected by the diet until 7 weeks of consumption.

Key words : thermally oxidized oil, MDA/TBARS, vitamin E

PENDAHULUAN

Penyakit jantung koroner (PJK) telah menjadi sebab kematian nomor satu di Indonesia (Anonim, 1992), berubah dari urutan nomor dua pada tahun 1986. Peningkatan prevalensi penyakit jantung koroner antara lain disebabkan oleh peningkatan kesejahteraan dan ketersediaan pangan (Marsono, 1993) sehingga telah terjadi perubahan pola

konsumsi yang mengarah ke menu lemak tinggi (Sitepoe 1996). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa diet lemak tinggi akan mengakibatkan tingginya kolesterol darah yang bersama-sama faktor sekunder lainnya yaitu tingginya konsumsi gula, rokok dan garam mengakibatkan tingginya resiko terkena PJK (Prawirokusumo, 1987, Cox dan Cohen, 1996). Salah satu terapi yang dianjurkan adalah mengurangi konsumsi lemak untuk mengurangi atau memperlambat perkembangan penyakit ini. Akan tetapi perkembangan terakhir menunjukkan bahwa pada kenyataannya modifikasi LDL terutama oksidasi dari lipoprotein ini atau LDL teroksidasi (*ox-LDL*) mempunyai peran penting dalam inisiasi dan progresi aterosklerosis.

MDA-LDL (malondialdehid-LDL) yang merupakan salah satu bentuk modifikasi dari LDL, mampu mengubah muatan LDL yang mengakibatkan reseptor penangkap tidak mampu mengenalinya, sehingga reseptor penangkap bukan reseptor LDL normal lagi tetapi makrofag. *Uptake* LDL teroksidasi ini menyebabkan reduksi migrasi makrofag dari dinding arteri yang apabila berlangsung terus-menerus akan menyebabkan terbentuknya sel-sel busa (Jialal dan Devaraj, 1996). Produk oksidasi minyak atau lemak pangan dapat menjadi kontaminan dalam makanan, yang apabila dikonsumsi akan masuk ke dalam tubuh dan akhirnya diduga dapat berada dalam lipoprotein darah. Pengaruh negatif dari produk oksidasi ini, yaitu menginduksi terbentuknya sel-sel busa, dapat terjadi bila jumlah yang dikonsumsi berlebihan atau konsumsi yang terus-menerus, sehingga sistem antioksidatif tidak mampu memberi proteksi. Dengan demikian, pengaruh konsumsi minyak atau lemak yang teroksidasi menjadi suatu hal yang menarik untuk dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah konsumsi minyak yang teroksidasi dapat mempengaruhi level MDA dan vitamin E darah.

METODE PENELITIAN

Bahan

Minyak kedelai dan minyak goreng komersial yang bahan bakunya minyak sawit diperoleh dari pasar swalayan di

1) *Alumnus Program Pasca Sarjana UGM*

2) *Staf Pengajar FTP-UGM, korespondensi berkaitan dengan paper ini*

3) *Staf Pengajar FKH-UGM.*

Yogyakarta. Tikus *Sprague Dawley* jantan berumur 4 bulan diperoleh dari UHP UGM.

Tabel 1. Komposisi diet kontrol, minyak goreng segar 4% (NOF), minyak goreng segar 20% (HOF), minyak goreng teroksidasi 4% (NOX) dan minyak gorengteroksidasi 20% (HOX)

Bahan	Diet, g/kg				
	Kontrol	NOF	HOF	NOX	HOX
Tepung jagung	621,0	621,0	461,0	621,0	461,0
Kasein	140,0	140,0	140,0	140,0	140,0
Sukrosa	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Minyak : Kedelai	40,0	-	-	-	-
Goreng komersial	-	40,0	200,0	-	-
Goreng teroksidasi	-	-	-	40,0	200,0
CMC	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Campuran mineral *	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0
Campuran vitamin **	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
L-sistin	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Kolin bitartrat	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Tert-butilhidroquinon	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Total	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0
Kandungan kalori	3804,0	3804,0	3840,0	3804,0	3840,0

* Komposisi seperti pada AIN-93M-MX (Reeves *et al*, 1993)

** Komposisi seperti pada AIN-93-VX (Reeves *et al*, 1993)

Penyiapan sampel minyak

Minyak goreng komersial dipanaskan dengan proses *deep frying* pada suhu 190°C selama 150 jam (15x10 jam) (Blumenthal, 1996). Minyak kedelai, minyak goreng komersial yang segar dan minyak goreng komersial yang dipanaskan diperiksa kadar MDA/TBARS, angka peroksida dan kadar vitamin E di dalamnya.

Pemeliharaan hewan coba

Pembuatan pakan. Pembuatan pakan hewan percobaan mengacu pada formula diet AIN-93M (Reeves *et al*, 1993). Dibuat 5 macam diet (isokalori) dengan sumber/jumlah minyak yang berbeda seperti tertera pada tabel 1.

Perlakuan hewan coba.

25 ekor tikus *Spague Dawley* jantan dewasa (4 bulan) dibagi dalam 5 kelompok dan dimasukkan dalam kandang individual, dengan ventilasi ruangan normal, suhu kamar dan penerangan dilakukan sepanjang hari. Masing-masing kelompok tikus diberi diet kontrol, diet dengan sumber lemak minyak goreng segar dan jumlah 4% (NOF), diet dengan sumber lemak minyak goreng segar, jumlah 20% (HOF), diet dengan sumber lemak minyak goreng teroksidasi, jumlah 4% (NOX) dan diet dengan sumber lemak minyak goreng teroksidasi, jumlah 20% (HOX) selama 14 minggu, *ad libitum*. Pada minggu ke-0, ke-7 dan ke-14, darah semua tikus diambil untuk diperiksa kandungan MDA/TBARS dalam plasmanya dan vitamin E pada serumnya.

Analisis bahan dan spesimen

Angka peroksida ditentukan dengan metode titrasi (Anonim, 1979). Penentuan vitamin E minyak dengan metode *Colorimetric Determination* (Wong *et al*, 1988). Analisis MDA/TBARS minyak dan plasma darah tikus dilakukan dengan metode ekstraksi asam tiobarbiturat (*TBA test*) (Schmedes dan Holmer, 1989). Dan vitamin E serum darah tikus ditentukan dengan metode *HPLC* (Dennison dan Kirk, 1979).

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisa menggunakan *Anova* dengan rancangan percobaan *Factorial Experiment* (Gomez dan Gomez, 1984), dilanjutkan *least significant differences* untuk membandingkan data antar kelompok pada tiap periode dan *Scheffe's test* untuk membandingkan antar periode pada tiap kelompok. Hasil pemeriksaan dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan sampel minyak

Hasil pemeriksaan angka peroksida, kadar MDA/TBARS dan kadar vitamin E minyak disajikan pada Tabel 2. Angka peroksida dan kadar TBARS minyak goreng komersial yang dipanasi 190°C selama 150 jam dan minyak kedelai lebih tinggi dibanding minyak goreng yang tidak dipanasi, dan vitamin E minyak yang dipanasi dan minyak kedelai lebih rendah daripada minyak yang tidak dipanasi.

Tabel 2. Angka peroksida, kadar MDA/TBARS dan kadar vitamin E minyak *

Sumber Minyak	Angka Peroksida		
	(meq/kg)	TBARS (µmol/l)	Vitamin E (ppm)
Minyak kedelai	3,06 ± 0,25	544,25 ± 1,42	92,87 ± 1,80
Minyak goreng	2,85 ± 0,13	497,67 ± 0,16	543,25 ± 1,80
Minyak goreng dipanasi	3,53 ± 0,51	947,98 ± 0,41	160,30 ± 1,79

* rata-rata dari dua kali ulangan

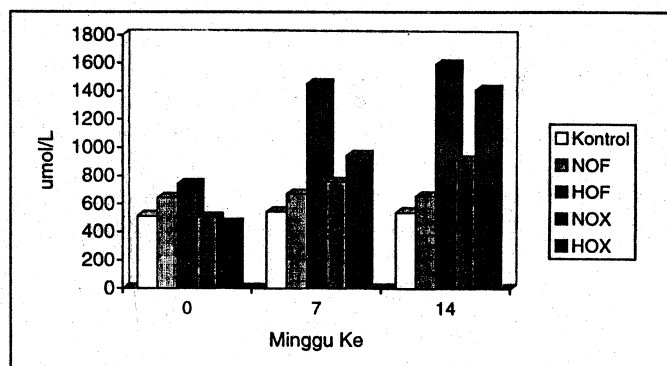
Menurut Brisson (1981), pemanasan minyak dapat menyebabkan oksidasi minyak, yang menghasilkan radikal lemak bebas dan peroksida. Terbentuknya senyawa peroksida ini menyebabkan tingginya angka peroksida minyak yang dipanasi. Tingginya kandungan asam lemak tidak jenuh pada minyak kedelai yaitu 80,7% (Sipos and Szuhaj, 1996) menyebabkan minyak ini lebih mudah teroksidasi dibanding minyak goreng komersial yang dipakai dalam penelitian, sehingga angka peroksidanya lebih tinggi. Hidroperoksida selanjutnya dapat terdekomposisi menghasilkan aldehid-aldehid, antara lain malondialdehid (Duthie, 1991), sehingga kandungan MDA/TBARS minyak yang mengalami pemanasan paling tinggi diantara minyak lain dalam penelitian ini. Bahan baku minyak goreng komersial yang dipakai dalam penelitian ini adalah minyak sawit yang menurut Wong *et al*

(1988) kandungan tokotrienolnya paling tinggi diantara minyak nabati lain, sehingga kandungan vitamin E (total tokoferol) minyak goreng ini lebih tinggi dibanding minyak kedelai. Namun pemanasan minyak dapat mengakibatkan kerusakan vitamin E, sehingga kandungan vitamin E pada minyak yang dipanasi mengalami penurunan.

Kenaikan angka peroksida dan MDA/TBARS serta penurunan vitamin E pada minyak yang dipanasi 190°C selama 150 jam mengindikasikan bahwa minyak tersebut telah mengalami oksidasi termal. Selanjutnya minyak tersebut dipakai sebagai sumber lemak pada diet untuk tikus percobaan yang disebut sebagai diet minyak oksidasi termal (NOX dan HOX).

Kadar MDA/TBARS plasma darah tikus

Pada pemeriksaan kadar MDA/TBARS rata-rata plasma darah tikus terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$). Perbedaan terlihat pada pemeriksaan minggu ke-7 dan minggu ke-14, seperti yang disajikan gambar 1, yaitu tikus diet HOF dan tikus diet HOX lebih tinggi secara nyata dibanding kelompok kontrol dan tikus diet NOF, tetapi tikus diet NOX tidak berbeda secara nyata dengan tikus diet HOX, sedangkan tikus diet HOF tidak berbeda secara nyata dengan tikus diet HOX.



Gambar 1. Grafik kadar MDA/TBARS rata-rata plasma darah tikus

Malondialdehid merupakan produk oksidasi sekunder lemak tidak jenuh, mengandung tiga karbon dan bersifat reaktif, jumlahnya meningkat sesuai dengan tingkat ketidakjenuhan lemak, dan biasa digunakan sebagai indikator proses peroksidasi lemak (Ho *et al.*, 1996). Kadar lemak pada diet HOF relatif tinggi sehingga dengan asumsi asupan yang sama maka jumlah minyak yang dikonsumsi lebih tinggi pada kelompok ini. Hal ini menyebabkan sistem antioksidatif tubuh tidak cukup memberi perlindungan, sehingga lemak tubuh mudah mengalami oksidasi dan peroksidasi, akibatnya dalam darah tikus kelompok ini malondialdehid dijumpai dalam jumlah yang lebih banyak. Pada tikus diet NOX dan HOX kadar MDA lebih tinggi dibandingkan terhadap kontrol maupun terhadap diet NOF, adalah karena asupan aldehid ini dari dietnya, karena minyak dalam pakan ini (minyak teroksidasi) kandungan MDA/TBARS-nya tinggi (Tabel 1). Menurut Ho *et al.* (1996) produk sekunder dari LOPs (*lipid*

oxidation products) dapat terabsorpsi dari usus dan terdeposit dalam hati. Dengan dasar ini dimungkinkan MDA yang merupakan produk oksidasi sekunder mengalami hal yang sama dan kemudian masuk dalam metabolisme endogenus lemak. Bahkan dimungkinkan produk ini dapat lebih mudah terserap karena berat molekulnya lebih rendah dibanding minyak.

Kadar vitamin E serum darah tikus

Analisa statistik hasil pemeriksaan kadar vitamin E dalam serum darah tikus menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar kelompok pada tiap periode pemeriksaan dan antar periode pada tiap kelompok ($p > 0,05$), seperti yang ditunjukkan Tabel 3.

Tabel 3. Kadar vitamin E serum tikus dengan diet minyak teroksidasi termal ($\mu\text{g/l}$) *

Kelompok	Pemeriksaan Minggu Ke		
	0	7	14
Kontrol	1,61 ± 1,02 ^a	1,08 ± 0,75 ^a	0,48 ± 0,16 ^a
NOF	1,17 ± 0,32 ^a	0,73 ± 0,14 ^a	0,32 ± 0,07 ^a
HOF	1,96 ± 1,06 ^a	0,29 ± 0,14 ^a	0,09 ± 0,05 ^b
NOX	1,64 ± 1,12 ^a	0,26 ± 0,08 ^a	0,14 ± 0,03 ^b
HOX	1,89 ± 1,67 ^a	0,29 ± 0,10 ^a	0,12 ± 0,06 ^b

* Rata-rata dari 5 ekor tikus

Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata ($p > 0,05$).

Terdapat kecenderungan bahwa semakin lama tikus mengkonsumsi minyak teroksidasi, kandungan vitamin E mengalami penurunan. Hal ini karena hewan percobaan ini dalam perkembangannya semakin banyak memanfaatkan vitamin E yaitu sebagai antioksidan untuk memadamkan reaksi oksidatif dalam tubuh. Dziezak (1986) menjelaskan bahwa vitamin E dikenal sebagai *scavenger radical* karena mempunyai kemampuan menangkap radikal lemak dengan donasi atom-H. Kecenderungan menurun tampak lebih besar pada kelompok tikus diet HOF, NOX dan HOX, hal ini diduga karena radikal-radikal dalam tikus kelompok tersebut relatif lebih banyak dibanding pada kelompok kontrol. Pada tikus diet HOF radikal lemak bebas dapat terbentuk karena asupan lemak yang berlebihan menyebabkan oksidasi lemak dalam tubuh (*secara in vivo*) karena sistem antioksidatif tubuh tidak cukup mengimbangi. Pada tikus diet NOX dan HOX, kemungkinan besar dalam darahnya terdapat sejumlah radikal lemak bebas yang berasal dari asupan pakannya, karena pakan kelompok ini sumber lemaknya adalah minyak yang mengalami pemanasan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemanasan minyak pada suhu 190°C selama 150 jam dapat menyebabkan terjadinya oksidasi termal minyak, meningkatkan kandungan peroksida dan malondialdehid minyak dan dapat menurunkan kandungan vitamin E minyak. Pemberian diet minyak teroksidasi termal dapat menyebabkan

kenaikan kadar malondialdehid (MDA) darah, namun tidak mempengaruhi kandungan vitamin E sampai pada minggu ke tujuh.

Saran yang bisa disampaikan adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian yang menetapkan kadar vitamin E yang normal dalam darah tikus sehingga dapat digunakan sebagai referensi.
2. Perlu dilakukan penelitian yang dapat menjelaskan metabolisme produk-produk oksidasi lemak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada *Japan-Indonesia Forum (JIF) for Science and Technology* yang telah memberikan dana studi di Program Pasca Sarjana UGM.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979, *Standar Methods for The Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, Pergamon Press, Thiasis.
- Anonim, 1992. *Survei Kesehatan Rumah Tangga*, 1992, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Blumenthal, M.M., 1996. *Frying Technology*. In : Hui, Y. H., (Ed.) *Baley's Industrial Oil and Fat Product*, Vol. 3, 5 ed., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Brisson, G. J., 1981, *Lipid in Human Nutrition*, Jack K. Burgess, Inc., Englewood, New Jersey.
- Cox, D. A. dan Cohen, M. L., 1996, *Effects of Oxidized Low-Density Lipoprotein on Vascular Contraction and Relaxation : Clinical and Pharmacological Implication in Atherosclerosis*, *Pharmac. Reviews* 48 (1) : 3-19.
- Dennison, D. B. dan Kirk, K. R., 1979, *Quantitative Analysis of Vitamin A in Cereal Products by High Speed Liquid Chromatography*, *J. Food Sci.* 42 : 1376.
- Duthie, G. G., 1991, *Antioxidant Hypothesis of Cardiovascular Disease*, *Trends in Food Sci. and Tech.* 2 (8) : 205-207.
- Dziedzic, J. D., 1982, *Antioxidant, The Ultimate Answer Oxidation*, *Food Tech.* 11 : 94-102.
- Gomez, K. A. dan Gomez, A. A., 1984, *Statistical Procedures for Agricultural Research*, 2 ed., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Ho, C.T., Chen, Q. and Zhou, R., 1996. *Flavor Compounds in Fats and Oils*. In: Hui, Y. H., (Ed.) : *Baley's Industrial Oil and Fat Product*, Vol. 1, 5 ed., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Jialal, I. dan Devaraj, S., 1996, *The Role of Oxidized Low-Density Lipoprotein in Atherogenesis*, *J. Nutr.* 126 (4) : 1053s-1057s.
- Marsono, Y. (1993). *Complex Carbohydrates and Lipids in Rice Products: effects on large bowel volatile fatty acids and plasma cholesterol in animals*. Ph.D. thesis. The Flinders University of South Australia, Australia.
- Packer, L., 1995, *Antioxidant Defense in Biological System : An Overview*, in *Proceeding of International Symposium on Natural Antioxidant Molecular Mechanism and Health Effect*, pp. 9-23, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Prawirokusumo, S., 1987, *Produk Hewani Sebagai Menu Sehat*, Ceramah dan Diskusi Kolesterol dan Kesehatan, Dies Natalis Fak. Peternakan UGM, 14 November.
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H. dan Fahey Jr, G. C., 1993, *AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents : Final report of The American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on The Reformation of The AIN-76A Rodent Diet*, *J. Nutr.* 123 : 1939-1951.
- Schmedes, A. dan Holmer, G., 1989, *A New Thiobarbituric Acid (TBA) Method for Determining Free Malonaldehyde (MDA) and Hydroperoxides Selectively as A Measure of Lipid Peroxidation*, *JAOCS* 66 : 813-817.
- Sipos, E.F. and Szuhaj, B.F., 1996. *Soybean Oil*. In: Hui, Y. H. (Ed.) : *Baley's Industrial Oil and Fat Product*, Vol. 2, 5 ed., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Sitepoe, M., 1996, *Telur dan Resiko Penyakit Jantung*, Seminar Nasional Perunggasan, Dies Natalis ke-50 FKH UGM, 17-18 September.
- Wong, M. L., Timms, R. E. dan Goh, E. M., 1988, *Colorimetric Determination of Total Tocopherol in Palm Oil, Olein and Stearin*, *JAOCS* 65 (2) : 258-261.