

Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah 1,5 mL/hari selama 14 Hari terhadap Histopatologi Hepar *Rattus norvegicus* Jantan

Rakhmigasti Citra Ers¹, Susianti², Evi Kurniawaty³, Syazili Mustofa³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Biokimia Biologi Molekular dan Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Penggunaan minyak goreng berulang kali dapat menimbulkan dampak buruk pada kesehatan salah satunya adalah kerusakan pada hepar. Radikal bebas dalam minyak jelantah memicu stres oksidatif pada sel sehingga mengganggu respon selular hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak jelantah selama 14 hari terhadap histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) jantan. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan 10 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal (KN) dan kelompok perlakuan (KP) yang diberikan minyak jelantah bekas sebanyak 1,5 mL/hari. Setelah dilakukan perlakuan selama 14 hari tikus diterminasi dan diambil organ heparnya. Hepar yang diambil kemudian diamati histopatologinya dengan menggunakan skoring degenerasi bengkak keruh dan nekrosis pada 5 lapang pandang. Skoring 0: tidak ditemukan bengkak keruh dan nekrosis, skoring 1: ditemukan 1-20% bengkak keruh dan nekrosis, skoring 2: ditemukan 21-50% bengkak keruh dan nekrosis, skoring 3: ditemukan 51-75% bengkak keruh dan nekrosis, dan skoring 4: ditemukan >75% bengkak keruh dan nekrosis. Hasil pengamatan histopatologi hepar tikus ditemukan pada KN kerusakan bengkak keruh yang minimal dengan rata-rata sebesar 0,04. Pada kelompok KP ditemukan kerusakan bengkak keruh pada seluruh lapang pandang dengan rata-rata kerusakan adalah 4. Uji *Mann-Whitney* didapatkan nilai $p=0,038$ ($p<0,05$), menunjukkan ada perbedaan bermakna antar kelompok. Pemberian minyak jelantah 1,5 ml/hari selama 14 hari menimbulkan kerusakan pada histopatologi hepar tikus jantan.

Kata Kunci: Histopatologi hepar, minyak jelantah, tikus, toksisitas

The Effects of Giving Reused Cooking Oil 1,5 mL/day for 14 Days on Male *Rattus norvegicus* Liver Histopathology

Abstract

Using cooking oil multiple times can caused bad effect on health one of them is liver damage. Free radical content in reused cooking oil trigger oxidative stress then disturb the cellular respons in liver. This study aimed to determine the effect of giving reused cooking oil for 14 days on rats (*Rattus norvegicus*) liver histopathology. This study was a true experimental using 10 rats (*Rattus norvegicus*) and were devided by 2 groups, which are normal group (KN) and treatment group (KP) that was given 1,5 mL reused cooking oil per day. After 14 days of treatment, rats were terminated and the liver were taken. To observe rats liver histopathology, cloudy swelling scoring were used on 5 field of view. Score 0: there was no cloudy swelling and necrosis found, score 1: there was 1-20% cloudy swelling and necrosis found, score 2: there was 21-50% cloudy swelling and necrosis found, score 3: there was 51-75% cloudy swelling and necrosis found, and score 4: there was more than 75% cloudy swelling and necrosis found. It was found a minimal cloudy swelling on KN with average liver damage score was 0,04. In group KP it were found cloudy swelling degeneration on all over the liver with average liver damage score was 4. Mann-Whitney test showed a significant difference between groups. Giving reused cooking oil 1,5 ml/day for 14 days caused damage on male rats liver histopathology.

Key Words: Liver histopathology, reused cooking oil, rats, toxicity

Korespondensi: Syazili Mustofa, Departemen Biokimia Biologi Molekular dan Fisiologi, Gedung C Lantai 1 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung 35141, Indonesia, HP 081929345909, e-mail: syazili.mustofa@fk.unila.ac.id

Pendahuluan

Lemak merupakan salah satu makronutrisi yang diperlukan untuk sintesis energi, insulator panas tubuh, prekursor hormonal, dan pelindung fisik organ internal.

Umumnya tubuh mendapatkan asupan lemak dari berbagai macam produk hewan dan tumbuhan seperti daging, susu, minyak, dan minyak ikan.¹ Salah satu pangan yang umumnya dipakai untuk memenuhi

kebutuhan lemak adalah minyak goreng.² Hal tersebut didukung oleh data konsumsi minyak goreng sawit di Indonesia pada tahun 2020 yaitu sebanyak 19,7 kg/kapita.³

Minyak goreng sebagai pangan sangat sering digunakan dan dikonsumsi oleh rumah tangga di Indonesia. Satu keluarga rata-rata dapat menghabiskan 2-6 liter minyak goreng dan menggunakan minyak goreng lebih dari 3 kali dalam satu minggu.⁴ Minyak goreng adalah pangan krusial dalam rumah tangga karena kegunaannya untuk memasak makanan. Salah satu metode memasak yang melibatkan minyak goreng adalah metode menggoreng. Metode ini menghasilkan makanan dengan tekstur yang renyah dan warna yang menarik.⁵

Walaupun menggoreng adalah salah satu metode memasak yang paling sering dilakukan oleh rumah tangga di Indonesia, ketersediaan minyak goreng tidak selalu terpenuhi. Permintaan minyak goreng yang tinggi oleh masyarakat tidak disertai dengan ketersediaan minyak goreng dipasaran menimbulkan fenomena kelangkaan minyak goreng.⁶ Fenomena kelangkaan minyak pada tahun 2022 disebabkan oleh beberapa faktor yaitu distribusi minyak goreng yang terhambat, *panic buying* minyak goreng oleh masyarakat, dan penimbunan minyak goreng.⁷

Kelangkaan minyak goreng menyebabkan perubahan perilaku konsumsi minyak goreng pada masyarakat. Perilaku membuang minyak goreng sekali pakai menurun karena menggunakan minyak berulang kali lebih hemat dibandingkan menggunakan minyak goreng sekali pakai.⁸ Penggunaan maksimal minyak goreng yang masih aman berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) adalah 5 kali penggorengan.⁹ Ketika dipanaskan berulang kali minyak goreng akan mengalami perubahan fisiokimia menjadi minyak yang berwarna gelap, berbau tengik, dan berkonsistensi kental. Perubahan fisiokimia minyak goreng menjadi tanda bahwa minyak tersebut telah menjadi minyak jelantah.¹⁰

Penggunaan minyak jelantah dapat menimbulkan dampak buruk pada kesehatan. Beberapa dampak kesehatan dari minyak jelantah adalah meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular, memicu inflamasi di hepar, dan mengurangi kepadatan tulang.¹¹ Hal tersebut

didukung oleh penelitian Sari dan Rohmawati di tahun 2021 yang menunjukkan adanya hubungan antara kejadian hipertensi dengan konsumsi minyak jelantah.¹²

Dampak kesehatan tersebut dapat terjadi karena radikal bebas yang dihasilkan oleh reaksi hidrolisis asam lemak bebas dan radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi oksidasi saat pemanasan minyak goreng.¹³ Radikal bebas dapat memicu stres oksidatif pada sel. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan sehingga lebih banyak prooksidan pada jaringan.¹⁴ Bila tidak didapatkan suplai tambahan antioksidan, seperti komponen bioaktif tanaman, stres oksidatif dapat berlangsung memperburuk kerusakan sel.¹⁵ Stres oksidatif yang terjadi secara terus menerus berpengaruh terhadap respon selular hepar sehingga menimbulkan kondisi patologis.¹⁶

Ketika paparan radikal bebas terjadi secara kronik kerusakan *irreversible* pada sel dapat terjadi. Sesuai dengan penelitian Aisyah dkk menunjukkan adanya jejas *irreversible* pada hepar tikus yang diberi minyak jelantah secara kronik yaitu 28 hari. Kerusakan *irreversible* yang terjadi adalah nekrosis atau kematian sel. Kerusakan *reversible* juga terlihat terutama pembengkakan hepatosit.¹⁷ Berdasarkan latar belakang tersebut, artikel ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak jelantah 1,5 ml/hari selama 14 hari terhadap histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

Metode

Penelitian ini telah lolos kaji etik oleh komisi etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 3770/UN26.18/PP.05.02.00/2023. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan November - Desember 2023, di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

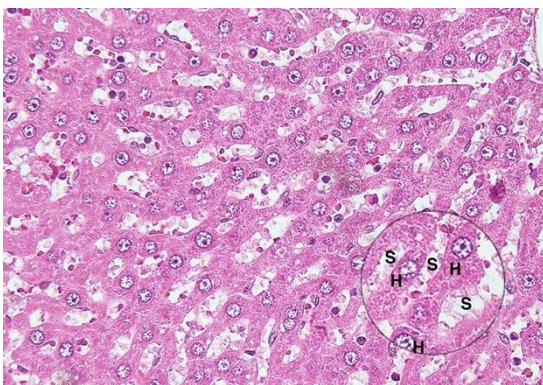
Sampel dalam penelitian ini berjumlah 10 ekor tikus putih jantan galur Sprague dawley dewasa berumur 8-10 minggu, dengan berat 200-250 gram sebanyak 10 ekor yang diperoleh dari Palembang Tikus Center (PTC). Tikus diadaptasi selama 8 hari kemudian dibagi

menjadi 2 kelompok yaitu Kelompok Normal (KN) dan Kelompok Perlakuan (KP). Kelompok Normal adalah kelompok yang diberikan makan dan minum ad libitum. Kelompok Perlakuan adalah kelompok yang diberi minyak jelantah sebanyak 1,5 ml/hari selama 14 hari menggunakan sonde lambung. Setelah 14 hari diberi perlakuan tikus diterminasi dan diambil organ heparnya. Hepar yang diambil kemudian dibuat menjadi sediaan preparat dan diwarnai menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin (H.E).

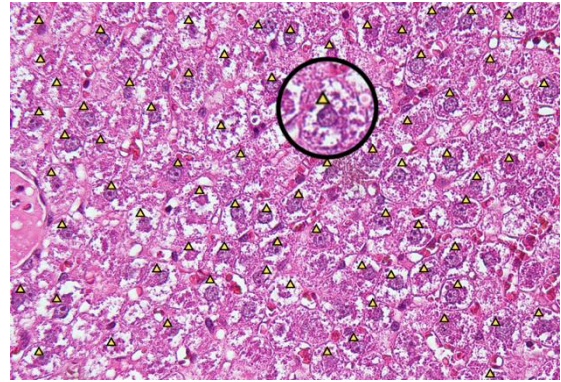
Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop di lima lapang pandang. Penilaian kerusakan hepatosit diukur menggunakan skoring degenerasi bengkak keruh dan nekrosis yaitu skor 0: tidak ditemukan adanya nekrosis dan degenerasi bengkak keruh, skor 1: <10% mengalami nekrosis dan degenerasi bengkak keruh, skor 2: 10-33% mengalami nekrosis dan degenerasi bengkak keruh, skor 3: 34-66% mengalami nekrosis dan degenerasi bengkak keruh, skor 4: 67-100% mengalami nekrosis dan bengkak keruh.¹⁸ Data kemudian dianalisis menggunakan Uji *Mann-Whitney* dengan *p-value* <0,05 bermakna signifikan.

Hasil

Hasil penelitian berupa gambaran histopatologi hepar tikus yang dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Gambaran histopatologi Kelompok Normal (KN) pewarnaan H.E (pembesaran 400x). H: Hepatosit, S: Sinusoid.



Gambar 2. Gambaran histopatologi Kelompok Perlakuan (KP) pewarnaan H.E (pembesaran 400x). : degenerasi bengkak keruh.

Setelah preparat diamati menggunakan mikroskop selanjutnya preparat dianalisis menggunakan skoring dan didapatkan hasil analisis pada tabel 1.

Tabel 1. Skor kerusakan hepar tikus²

Kelompok	Lapang Pandang	Lapang Pandang					Rerata
		1	2	3	4	5	
KN	1	0	0	0	0	0	0,00
	2	0	0	0	0	0	0,00
	3	0	0	0	0	0	0,00
	4	0	0	0	0	0	0,00
	5	1	0	0	0	0	0,20
KP	1	4	4	4	4	4	4,00
	2	4	4	4	4	4	4,00
	3	4	4	4	4	4	4,00
	4	4	4	4	4	4	4,00
	5	4	4	4	4	4	4,00

Hasil pengamatan kerusakan hepatosit setiap tikus per kelompok kemudian dihitung rata-ratanya dan dianalisis menggunakan uji statistik. Rata-rata kerusakan hepatosit tikus putih jantan yang diinduksi minyak jelantah selama 14 hari tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata kerusakan hepar tikus

Kelompok	Rata-rata gambaran histopatologi hepar tikus putih (X±SD)
KN	0,04 ±0,089
KP	4,00±0,000

Untuk menilai apakah pengaruh pemberian minyak jelantah selama 14 hari signifikan atau tidak, dilakukan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* didapat *p* = 0,038 atau lebih kecil dari 0,05. Dapat diinterpretasikan bahwa pemberian minyak

jelantah 1,5 ml/hari selama 14 hari memiliki pengaruh yang signifikan terhadap histopatologi hepar tikus.

Pembahasan

Kelompok KN merupakan kelompok kontrol normal yang tidak diberikan perlakuan dan pemberian pakan secara ad libitum. Gambaran histopatologi kelompok ini menunjukkan gambaran hepatosit normal dengan kerusakan minimal. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa hasil gambaran histopatologi dengan kerusakan paling minimal terjadi pada kelompok normal dibandingkan dengan kelompok yang diberi minyak jelantah.¹⁹

Hepar dapat mempertahankan homeostasis redoks karena adanya kerja antioksidan yang meregulasi jumlah oksidan. Hepar memproduksi dua jenis antioksidan untuk meregulasi oksidan yaitu non-enzimatik dan enzimatik. Fungsi antioksidan non-enzimatik adalah sebagai reduktan terhadap enzim dan antioksidan yang teroksidasi. Antioksidan enzimatik bekerja spesifik berikatan dengan oksidan yang ada di hepar.²⁰

Kelompok KP merupakan kelompok kontrol yang diberikan perlakuan berupa induksi minyak jelantah saja. Minyak jelantah bekas penggorengan tahu 12x diberikan sebanyak 1,5 mL secara peroral menggunakan sonde lambung dan diberikan pakan secara ad libitum. Rata-rata kerusakan hepatosit mencapai 4,0 hal ini ditunjukkan dari pembengkakan sel yang dialami terjadi diseluruh lapang pandang. Hasil kerusakan pada hepatosit tikus putih ini sesuai dengan penelitian Muhartono dkk di tahun 2018 yang menyebutkan bahwa pemberian minyak jelantah dapat menyebabkan degenerasi bengkak keruh.²¹

Hepar sebagai organ dengan peran detoksifikasi memiliki fungsi untuk menyeleksi komponen xenobiotik dalam tubuh. Komponen xenobiotik yang didapat secara endogen atau eksogen memiliki kemampuan memicu kerusakan hepar melalui produksi radikal bebas secara tidak langsung sehingga terjadi stres oksidatif. Kerusakan hepar akibat komponen xenobiotik dapat dikenali melalui perubahan histopatologinya yaitu

pembengkakan sel, inflamasi, dan nekrosis.²² Contoh xenobiotik eksogen seperti asap rokok dan paracetamol diketahui menyebabkan inflamasi dan nekrosis.^{23, 24} Hal ini sejalan dengan penelitian Aisyah dkk pada tahun 2015 yang menemukan adanya peningkatan bengkak keruh dan nekrosis pada hepar tikus yang diinduksi minyak jelantah selama 60 hari.¹⁷

Proses penggorengan mengakibatkan pecahnya molekul lemak minyak menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Suhu yang tinggi, paparan udara, dan air akan menyebabkan oksidasi asam lemak. Proses oksidasi lemak mengubah strukturnya menjadi molekul yang tidak stabil. Molekul yang terbentuk saat penggorengan dapat berikatan dan menjadi molekul toksik atau karsinogenik yang berbahaya bagi kesehatan.²⁵ Hal ini sejalan dengan penelitian oleh El-bialy menunjukkan adanya perubahan histopatologi hepar dan juga perubahan parameter hematologi pada tikus yang didiberi minyak bekas penggorengan sekali dan berulang kali.²⁶

Peroksidasi lemak adalah salah satu mekanisme penting yang menyebabkan perubahan fisiologi membran sel. Kerusakan oksidatif di struktur lemak dapat menyebabkan disorganisasi dan disfungsi juga merusak membran, protein, dan enzim. Proses peroksidasi lemak yang terjadi secara terus menerus dapat merusak fungsi membran, meninaktivasi ikatan membran atau enzim, dan merusak permeabilitas ion yang akhirnya menyebabkan ruptur membran. Terlebih produk peroksidasi lemak seperti aldehid ikut merusak kelangsungan hidup sel. secara berkepanjangan kerusakan oksidatif dapat terakumulasi dan berkontribusi ke kerusakan sel, patogenesis penyakit, dan gangguan inflamasi.²⁷ Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian Rajendran yang menunjukkan adanya hubungan antara peningkatan aktivitas mutasi sel kanker payudara dengan konsumsi minyak jelantah.²⁸

Pembengkakan volume hepatosit dapat dipicu oleh perubahan osmolaritas, stres oksidatif, dan akumulasi substrat. Ketika ada depleksi *adenosin tri-phosphate* (ATP) dan peningkatan kalsium intraselular membran plasma akan kehilangan kontrol atas volume dan terjadi kerusakan jaringan filamen

hepatosit. Ketika peningkatan volume tidak terkontrol hepatosit akan mengalami degenerasi yang ditandai oleh pembengkakan hepatosit, vakuolisasi hepatosit, jaringan filamen yang menggumpal, pembengkakan mitokondria, dan *blebbing* membran sel.²⁹

Degenerasi bengkak keruh ini adalah salah satu bentuk kerusakan *reversible* pada sel. Namun degenerasi bengkak keruh ini adalah salah satu perubahan histopatologi hepatosit pada *Nonalcoholic steatohepatitis* (NASH). Pada kondisi NASH hepatosit mengalami pembengkakan, steatosis, disertai adanya infamasi. Risiko terjadinya sirosis dan karsinoma hepar akan meningkat seiring dengan perburukan penyakit NASH.³⁰

Simpulan

Pemberian minyak jelantah 1,5 ml/hari selama 14 hari merusak hepar tikus jantan. Kerusakan tersebut diamati menggunakan mikroskop lalu dinilai menggunakan skoring degenerasi bengkak keruh dan nekrosis di lima lapang pandang preparat hepar. Didapatkan rerata skoring kerusakan hepar 4,00 pada seluruh tikus dikelompok perlakuan yang artinya kerusakan yang terjadi dihepar telah mencapai >75%.

Saran

Bagi peneliti selanjutnya, penelitian ini dapat dilanjutkan dengan memeriksa preparat hepar tikus menggunakan pewarnaan sudan untuk melihat kerusakan steatosis pada hepatosit.

Bagi masyarakat luas perlu diberitahukan bahwa konsumsi rutin minyak jelantah berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan.

Daftar Pustaka

1. Skeaff MC, Mann J. Lipids. Dalam: Mann J. Truswell S. penyunting. Essentials of human nutrition. Edisi ke-5. Oxford; 2017.
2. Hafizah D. Hakim DB, Nurmalina R. Analysing Food Consumption in Indonesia. IJPSAT. 2021; 5(2): 340-347.
3. PAPS. Minyak Goreng Sawit Dalam Perubahan Konsumsi Minyak Goreng di Indonesia. Palm oil Journal. 2021; 1(25): 434-483.
4. Tanaem MG. Ernah. Perilaku Konsumsi Minyak Goreng Sawit Selama Masa Pandemi COVID-19 di Kota Bandung Jawa Barat. Agritech. 2021;23(1): 10-16.
5. Gibson M. Newsham P. Lipids, Oils, Fats, and Extracts. Elsevier Inc. 2018.
6. Affrizal A. Hierdawati T. Dani R. 2022. Cooking Oil Scarcity Phenomenon In Indonesia In 2022. International Journal Of Artificial Intelligence Research. 2022;6(1): 2579–2798.
7. Rahayu RN. Kenaikan Harga Minyak Goreng Kelapa Sawit di Indonesia Sebuah Analisis Berita Kompas Online. Intelektiva. 2022;3(8): 26-37.
8. Muntazah A. Emeilia RI. Novalia. Perubahan Perilaku Konsumen pada Fenomena Kelangkaan Minyak Goreng di Pasaran. Jurnal Pariwara. 2022;2(2): 74–80.
9. Warsiki E. Iskandar A. Hidayati M. Degradation quality of reused palm cooking oil during storage: case study in fried shallot industry. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020;60(1): 1-10.
10. Taufik M. Seftiono H. Karakteristik Fisik dan Kimia Minyak Goreng Sawit Hasil Penggorengan Dengan Metode Deep-Fat Frying. Jurnal Teknologi. 2018;10(2): 123-130.
11. Jaarin K. Masbah N. Kamisah Y. Heated Oil and Its Effect on Health. In Food Quality: Balancing Health and Disease. Elsevier Inc. 2018.
12. Sari MN. Rohmawati DL. The Relationship Between Behavior of Using Repeated Cooking Oils and Recurrence of Hypertension. Journal of Vocational Nursing. 2021;2(1): 62-61.
13. Sree SR. Suneetha WJ. Fats and Oils : Effects of Processing and Its Oxidation, 2022;11(42), 226–230.
14. Mustofa S. Bahagia W. Kurniawaty E. dkk. The Effect of Mangrove (*Rhizospora apiculate*) Bark Extract Ethanol On Histopathology Pancreas Of Male White Rats Sprague Dawley Strain Exposed To Cigarette Smoke. Acta Biochimica Indonesiana. 2018;1(1): 7-13.
15. Kurniawaty E. dkk. Ethanol extract of *Bruguiera gymnorhiza* mangrove leaves

- and propolis activity on macroscopic healing of cuts in vivo. *Acta Biochimica Indonesiana*. 2022;5(1): 1-5.
16. Allameh A. Niayesh R. Aliarab A. Sebastiani G. Pantopoulos, K. Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. *Antioxidants*. 2023;12(9): 1-23.
 17. Aisyah S. Budiman H. Aliza D. Salim MN. Balqis U. Armansyah T. Efek Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) The effect of Administrating Waste Cooking Oil to Histopathology of Rat (*Rattus norvegicus*) liver. *Jurnal Medika Veterinaria*. 2015;9(1), 26–9.
 18. Mustofa S. Anisya V. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol *Rhizophora Apiculata* Pada Tikus Yang Dipaparkan Asap Rokok. *JK Unila*. 2020;4(1): 12- 17.
 19. Mustikasari I. Saktini F. Gumay A. R. Pengaruh Frekuensi Penggorengan Minyak Jelantah Terhadap Hepar Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*). *Diponegoro Medical Journal*. 2019; 8(3), 1000–1010.
 20. Bellanti F. Villani R. Facciorusso A. Vendemiale G. Serviddio G. Lipid oxidation products in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017. 173–185.
 21. Muhartono P. Putri NT. Sari TN. Oktafany. Minyak Jelantah Menyebabkan Kerusakan pada Arteri Koronaria, Miokardium, dan Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dawley. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 2018;2(2): 129–135.
 22. Mustofa S. Ciptaningrum I. Zuya CS. Subacute Toxicity Test Of *Rhizophora apiculata* Bark Extract On Liver And Pancreas Histopathology Of Rats. *Acta Biochimica Indonesiana*, 2020;3(2): 89-97.
 23. Mustofa, S. Fahmi, ZY. Efek Protektive Kardivaskular Ekstrak *Rhizophora Apiculata* Berbagai Pelarut pada Tikus Yang Dipaparkan Asap Rokok. *JK Unila*. 2021;5(1): 7-15
 24. Mustofa S. Ananta GAPYV. Oral Administration of Moringa Leaf Ethanol Extract (*Moringa Oleifera*) for 14 Days Protects The Liver of Male White Rats (*Rattus norvegicus*) from Acute Damage Caused by High Doses of Paracetamol. *Sriwijaya Journal of Medicine*. 2022;5(3): 142-149.
 25. Habarakada A. Perumpuli PABN. Thathsaranee WTV. Wanninaika IP. Physical, chemical, and nutritional quality parameters of three different types of oil: Determination of their reusability in deep frying. *Food Research*. 2021;5(5): 226–235.
 26. Elbially BES. Saleh NT. Elkhair RMA. Potential Hazard of Feeding Albino Rats On Diet Containing Repeatedly Boiled Cooking Oil: Clinicopathological and Toxicology Studies. *International Journal of Advance Research*. 2015;3(3): 134-147.
 27. Leong XF. Ng CY. Jaarin K., Mustafa M. Effects of repeated heating of cooking oils on antioxidant content and endothelial function. *Austin Journal of Pharmacology and Therapeutics*. 2015;3(2): 1-7
 28. Rajendran P. Alzahrani AM. Rengarajan T. Veeraraghavan VP. Krishna S. Consumption of reused vegetable oil intensifies BRCA1 mutations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;62(5):1222–1229.
 29. Brunt EM. Gouw ASH. Hubscher SG. Tiniakos DG. Bedossa P. Burt AD. Pathology of the liver sinusoids. *Histopathology*. 2014;64(7): 907–920.
 30. Sheka AC. Adeyi O. Thompson J. Hameed B. Crawford PA. Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2020;323(12): 1175–1183.