

Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dawley

By Rasmi Zakiah Oktarlina

Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley*

Pendahuluan

Minuman ringan berkarbonasi (*carbonated soft drink*) adalah minuman yang dibuat dengan menyerap karbon dioksida dalam air minum dengan atau tanpa berbagai zat tambahan.¹ Kafein, sakarin, fruktosa, asam benzoat, asam sorbat, aspartam dan asam

fosfat adalah zat-zat yang sering ditambahkan ke dalam minuman ringan berkarbonasi.² Dewasa ini, konsumsi minuman ringan berkarbonasi menunjukkan peningkatan yang signifikan di dunia termasuk di Indonesia khususnya dikalangan dewasa muda.³ Menurut Beverage Marketing Corporation,

konsumsi minuman ringan ringan berkarbonasi di Amerika Serikat tahun 2012 mencapai 29,8 miliar galon sedangkan di Inggris mencapai angka 14,5 miliar liter pada tahun 2013. Hasil survey yang dilakukan oleh Nusa Research (2014) di Indonesia, sejumlah 30% dari total responden meminum minuman ringan berkarbonasi sebanyak 2-3 kali per minggu selama 3 bulan terakhir.⁴

Konsumsi minuman ringan berkarbonasi yang tinggi dikaitkan dengan timbulnya berbagai masalah kesehatan. Beberapa studi epidemiologi menunjukkan konsumsi minuman ringan berkarbonasi secara kronis berhubungan dengan obesitas, penyakit ginjal, hati, dan osteoporosis.⁵ Konsumsi minuman ringan berkarbonasi dapat meningkatkan intake energi dan berat badan, diabetes, hipokalsemia, penurunan densitas tulang, risiko patah tulang, defisiensi kalsium, karies dental, dan tekanan darah sistolik dan diastolic dan akumulasi lemak.⁶ Masalah kesehatan yang timbul akibat minuman ringan berkarbonasi dapat melibatkan berbagai organ termasuk hepar, ginjal, gaster, esofagus, otak, pankreas, dan lain-lain.^{1,5}

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia yang terbagi menjadi 2 lobus yaitu lobus dekstra dan sinistra.⁷ Hepar memiliki beberapa fungsi termasuk metabolisme, penyimpanan, sekresi, sintesis, dan detoksifikasi. Hepar berperan penting dalam metabolisme karbohidrat dan lipid.⁸ Hepar juga berperan dalam detoksifikasi obat dan racun yang masuk ke tubuh. Senyawa yang potensial beracun akan dibawa menuju hepar melalui vena porta. Hepar akan memodifikasi senyawa ini melalui *first pass metabolism*.⁹ Fungsi hepar yang berkaitan dengan metabolisme dan detoksifikasi ini yang memungkinkan terjadinya kerusakan apabila terpapar dengan xenobiotik secara kronik.¹⁰

Cedera yang terjadi pada hepar dapat terjadi melalui toksisitas langsung atau tidak langsung yaitu konversi suatu xenobiotik menjadi toksin aktif oleh hepar. Cedera juga dapat terjadi karena proses imunologik.¹¹ Konsumsi minuman ringan berkarbonasi dapat menyebabkan penurunan kadar antioksidan endogen sehingga respon protektif terganggu dan menyebabkan kerusakan pada hepar.¹² Minuman ringan berkarbonasi merupakan

minuman yang tinggi karbohidrat dan tinggi glukosa yang apabila dikonsumsi secara kronik dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan menginduksi stress oksidatif dengan mengganggu metabolisme redoks pada mitokondria.¹⁰

Minuman ringan berkarbonasi mengandung air, pemanis, karbon dioksida, asam, perasa, pewarna, bahan pengawet kimia, antioksidan, dan/atau bahan pembusa.¹³ Pemanis yang banyak digunakan pada minuman ringan berkarbonasi adalah sukrosa, sakarin, aspartame, dan *High Fructose Corn Syrup* (HFCS). Fruktosa dalam minuman ringan berkarbonasi dapat meningkatkan sintesis asam lemak hepar dan lipogenesis *de novo*. Hal ini menyebabkan meningkatnya *triacylglycerol* (TAG) serum dan *very low density lipoprotein* (VLDL) yang berkaitan dengan deposisi lemak ektopik pada jaringan adiposa dan hepar. Jaringan adiposa pada tubuh secara normal mensekresikan adipositokin yaitu leptin dan adiponektin. Adiponektin memiliki efek anti-inflamasi, sedangkan leptin memiliki efek pro-inflamasi. PPAR- γ adalah faktor transkripsi yang berperan dalam regulasi adipositokin. Kandungan fruktosa pada minuman ringan berkarbonasi dapat menyebabkan kerusakan ekspresi PPAR- γ yang menginduksi terjadinya inflamasi hepar dan bahkan fibrosis. Kerusakan hepar yang terjadi ditandai dengan ditemukannya infiltrasi sel radang dan degenerasi yang terlihat secara histopatologi.¹ Keseluruhan mekanisme di atas pada akhirnya akan menyebabkan *hepatic injury* yang secara histopatologi akan memberikan perbedaan gambaran jika dibandingkan dengan jaringan hepar yang normal.^{10,14}

Penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya sebagian besar dilakukan untuk membandingkan kerusakan yang timbul antara beberapa merk dagang minuman ringan berkarbonasi terhadap berbagai organ salah satunya hepar. Pada penelitian ini, peneliti ingin membandingkan perbedaan gambaran kerusakan yang timbul terhadap hepar dengan memberikan dosis bertingkat membandingkan perbedaan tingkat kerusakannya.

1

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan pada September 2018 - Desember 2018 bertempat di *Animal House* dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penelitian ini menggunakan sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang dipilih dengan metode *simple random sampling*. Berdasarkan perhitungan sampel menggunakan rumus Frederer dan ditambah dengan proporsi drop out 10%, jumlah sampel minimal yang dibutuhkan sebanyak 28 tikus. Tikus yang digunakan menjadi sampel harus memenuhi kriteria inklusi yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* jantan berumur 8-10 minggu dengan berat badan 200-250 gram. Tikus tidak bisa dijadikan sampel apabila memenuhi kriteria eksklusi yaitu terdapat kelainan anatomis, tikus tidak sehat, terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium, dan tikus mati selama masa penelitian.

Tikus ini dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol (K) dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3). Sebelum diberi perlakuan, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu pada lingkungan tempat dilakukan perlakuan. Kelompok kontrol hanya diberi pakan dan minum berupa aquades. Kelompok P1) diberikan pakan dan perlakuan berupa minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 3 ml/hari. Kelompok P2 diberikan pakan dan perlakuan berupa minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 6 ml/hari. Kelompok P3 diberikan pakan dan perlakuan berupa minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 12 ml/hari. Semua dosis pada ketiga kelompok perlakuan dibagi menjadi 3 dosis per hari.

Setelah perlakuan selama 30 hari, tikus kemudian diterminasi dengan anestesi lalu dilakukan laparotomi untuk mengambil organ hepar. Setelah hepar diambil, tikus dikuburkan. Hepar difiksasi dengan menggunakan formalin 10 % sebelum dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan HE. Setelah preparat dibuat,

dilakukan pembacaan histopatologi perbesaran 400x pada 5 pandang untuk setiap preparat.

Penilaian kerusakan hepar dilakukan dengan menggunakan skoring Manja Roenigk modifikasi dengan skala 1-4. Skor 1 apabila tidak terjadi perubahan struktur histologi hepar, skor 2 apabila terdapat perubahan berupa degenerasi parenkimatosa ataupun perdarahan, skor 3 apabila terdapat perubahan berupa degenerasi hidrofik atau perlemakan dan skor 4 diberikan apabila tampak adanya nekrosis pada sel-sel hepar. Setelah data diperoleh, dilakukan uji normalitas data dengan *Saphiro Wilk*. Apabila terdistribusi normal maka lakukan uji hipotesis *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*.

Hasil

Berikut merupakan hasil skoring Manja Roenigk dari masing-masing kelompok pada 5 lapang pandang preparat.

Tabel 1. Kelompok Kontrol (K)

Sampel	LP 1	LP 2	LP3	LP4	LP5	Total
1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1
3	1	1	2	1	1	1.2
4	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1

1

Dari tabel diatas didapatkan rerata skor pada kelompok kontrol adalah 1,03 dengan gambaran histopatologi yang tampak normal. Sel hepatosit tampak normal, tersusun radier dengan vena sentralis sebagai pusatnya. Tidak tampak adanya pembengkakan sel hepatosit. Sinusoid hati juga tampak normal, tidak tampak pembesaran dan berpola radier yang terpusat pada vena sentralis.

1

Tabel 2. Kelompok Perlakuan 1 (P1)

Sampel	LP 1	LP 2	LP3	LP4	LP5	Total
1	1	1	2	2	1	1.4
2	1	2	1	1	2	1.4
3	2	1	1	2	2	1.6
4	2	2	1	1	1	1.4
5	1	2	1	2	1	1.4
6	1	1	2	2	1	1.4

1 Pada P1 didapatkan rerata skor 1,43. Pada gambaran histopatologi didapatkan sel hepatosit yang menunjukkan adanya degenerasi bengkak keruh pada beberapa bagian. Tidak ditemukan adanya degenerasi hidrofik maupun nekrosis.

1 **Tabel 3. Kelompok Perlakuan 2 (P2)**

Sampel	LP 1	LP 2	LP3	LP4	LP5	Total
1	1	2	2	1	2	2
2	1	2	2	2	1	1
3	1	1	2	3	1	1
4	1	2	1	3	2	2
5	2	2	2	1	2	3
6	2	2	1	2	3	3

Rerata skor pada kelompok P2 yaitu 1,73. Pada pengamatan mikroskopis tampak adanya degenerasi bengkak keruh yang lebih masif bila dibandingkan dengan kelompok P1. Tampak adanya degenerasi hidrofik dan perlemakan pada beberapa bagian namun tidak adanya nekrosis.

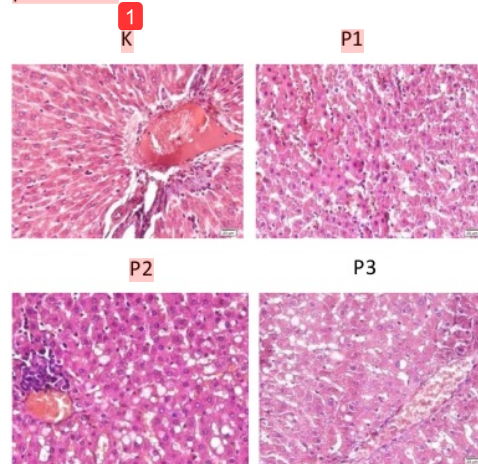
Tabel 4. Kelompok Perlakuan 3 (P3)

Sampel	LP 1	LP 2	LP3	LP4	LP5	Total
1	2	3	3	3	3	3
2	2	2	2	3	1	1
3	3	2	3	2	3	3
4	2	3	2	2	1	1
5	2	3	2	3	2	2
6	2	2	2	3	3	3

Pada kelompok P3 didapatkan rerata skor 2,37 dengan gambaran histopatologis tampak banyak sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidrofik dan perlemakan namun belum ditemu¹¹ adanya nekrosis pada sel hati. Berikut gambaran histopatologi hepar dari masing-masing kelompok perlakuan.

Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus, maka dilakukan uji hipotesis One Way ANOVA. Sebelum uji hipotesis, dilakukan uji normalitas Saphiro Wilk terlebih dahulu. Hasil uji normalitas menunj¹⁰kan nilai $p=0,061$ ($p>0,005$) yang artinya data terdistribusi normal. Setelah uji normalitas, selanjutnya dilanjutkan dengan uji

9 homogenitas dengan nilai $p=0,117$ ($p>0,005$) yang artinya data homogen. Karena syarat uji parametrik sudah terpenuhi, maka uji hipotesis One Way ANOVA dapat dilakukan dan dilanjutkan dengan Post hoc LSD. Nilai p pada uji One Way Anova yaitu $p=0,00$ ($p<0,005$) sehingga dapat disimpulkan terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan maka dilakukan analisis Post Hoc LSD dapat dilihat pada tabel 5.



Gambar 1. Gambaran Histopatologi Kelompok Kontrol (K), Kelompok Perlakuan 1 (P1), Kelompok Perlakuan 2 (P2), dan Kelompok Perlakuan 3 (P3).

1 **Tabel 5. Hasil Analisis Post Hoc LSD**

Kelompok	Kelompok Pembeding	Nilai Signifikansi (p)
Kelompok Kontrol (K)	P1	0,001
	P2	0,001
	P3	0,001
Kelompok Perlakuan 1 (P1)	P2	0,003
	P3	0,001
Kelompok Perlakuan 2 (P2)	K	0,001
	P1	0,003
Kelompok Perlakuan 3 (P3)	P1	0,001
	P2	0,001

1 Hasil analisis Post Hoc yang dilakukan menunjukkan nilai signifikansi $p<0,005$ pada

semua kelompok sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi pada setiap kelompok perlakuan yaitu K-P1, K-P2, K-P3, P1-P2, P1-P3, dan P2-P3.

Pembahasan

Hasil penelitian dan uji statistik yang dilakukan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata kerusakan gambaran histologi hepar tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Sprague dawley terhadap pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan dosis bertingkat. Kerusakan histopatologi yang tampak berupa degenerasi parenkimatos (bengkak keruh), degenerasi hidrofik, dan perlemakan.

Rerata skor yang didapat pada kelompok kontrol yaitu 1,03, kelompok perlakuan 1 dengan skor 1,43, kelompok perlakuan 2 dengan skor 1,73, dan kelompok perlakuan 3 didapatkan skor 2,37. Rerata skor yang didapat ini mengalami peningkatan dari kelompok K, P1, P2, kemudian P3. Hal ini menunjukkan kerusakan histopatologi yang timbul meningkat seiring dengan meningkatnya dosis minuman ringan berkarbonasi yang diberikan.

Kelompok kontrol menunjukkan gambaran histopatologi normal. Hepatosit, vena sentralis, dan sinusoid tampak masih dalam batas normal. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lebda *et al* (2017) bahwa pada kelompok kontrol yang hanya diberi air secara ad libitum menunjukkan gambaran histopatologi normal berupa vena sentralis dan ruang sinusoid yang normal serta hepatosit yang tersusun radier mengelilingi vena sentralis¹.

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok P1 menunjukkan adanya degenerasi bengkak keruh pada hepatosit di beberapa bagian. Degenerasi adalah perubahan morfologi sel nonlethal yang bersifat reversible.¹⁵ Degenerasi bengkak keruh memiliki banyak nama lain diantaranya degenerasi parenkimatos, degenerasi albumin, dan *cloudy swelling*.¹¹ Degenerasi bengkak keruh merupakan bentuk paling ringan dari jejas sel. Secara mikroskopis perubahan yang terjadi berupa ukuran sel yang membengkak dan sitoplasma yang terlihat

lebih keruh jika dibandingkan sel normal. Pada sitoplasma timbul granul-granul yang terlihat seperti titik-titik karena sel mengandung air yang lebih banyak. Hal ini terjadi karena ketidakmampuan sel untuk memelihara hemostasis cairan dan ion. Degenerasi dapat terjadi karena adanya zat toksik yang mengganggu organel sel, mitokondria, dan retikulum endoplasma sehingga proses oksidasi sel tidak dapat berlangsung dengan baik. Hal ini menyebabkan sel tidak dapat mengeliminasi hasil metabolit dan menyebabkan terjadinya akumulasi air.¹⁵

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok P2 yaitu adanya degenerasi bengkak keruh yang lebih masif bila dibandingkan dengan kelompok P1. Selain degenerasi bengkak keruh, juga tampak adanya degenerasi hidrofik dan perlemakan namun belum ditemukan nekrosis. Sedangkan pada kelompok P3 degenerasi hidrofik dan perlemakan yang tampak lebih luas lagi namun belum ditemukan adanya nekrosis pada hepatosit.

Kerusakan yang timbul pada hepar berkaitan dengan fungsi utamanya yaitu metabolisme dan detoksifikasi obat serta toksin yang masuk ke dalam tubuh. Cedera yang terjadi pada hepar dapat terjadi melalui toksisitas langsung atau tidak langsung yaitu konversi suatu xenobiotik menjadi toksin aktif oleh hepar. Xenobiotik merupakan senyawa kimia yang asing bagi tubuh misalnya obat, zat aditif makanan, dan polutan. Xenobiotik akan dimetabolisme dengan bantuan enzim sitokrom P450 menjadi bentuk metabolit reaktif atau akan dikatalis oleh GSH S-transferase menjadi bentuk metabolit nontoksik. Selanjutnya setelah menjadi metabolit reaktif, akan terjadi pengikatan kovalen dengan makromolekul yang mengakibatkan terjadinya cedera sel. Makromolekul yang menjadi sasaran pengikatan adalah DNA, RNA, dan protein. Jika makromolekul tempat xenobiotik esensial terikat ini esensial untuk kelangsungan hidup jangka pendek misalnya enzim atau protein yang berperan penting pada suatu fungsi sel, seperti fosforilasi oksidatif atau regulasi permeabilitas membran plasma, efek kuat terhadap fungsi sel dapat langsung terlihat. Enzim sitokrom P450 terdapat paling

banyak di hati terutama pada bagian retikulum endoplasma halus.¹¹ Bahan toksik yang berlebihan menyebabkan keracunan sehingga terjadi kerusakan hepatosit. Kerusakan ini diawali dengan degenerasi bengkak keruh (parenkimatosia), degenerasi hidrofik, lalu selanjutnya kerusakan yang bersifat irreversibel yaitu nekrosis.¹⁰ Pada penelitian ini, minuman ringan berkarbonasi kemungkinan berperan sebagai toksin yang menyebabkan kerusakan yang telah dibuktikan pada beberapa penelitian sebelumnya.¹⁷ Konsumsi minuman ringan berkarbonasi dapat menyebabkan penurunan kadar antioksidan endogen yaitu CoQ10 yang terakumulasi pada hepar dan membran sel. Penurunan ini menunjukkan mekanisme respon protektif terhadap stress oksidatif telah mengalami "kelelahan" karena intake karbohidrat secara kronik yang berasal dari minuman ringan berkarbonasi. Terganggunya respon protektif terhadap antioksidan ini menyebabkan kerusakan pada hepar yang dapat dilihat secara mikroskopis.¹³ Minuman ringan berkarbonasi merupakan minuman yang tinggi karbohidrat dan tinggi glukosa yang apabila dikonsumsi secara kronik dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan menginduksi stress oksidatif dengan mengganggu metabolisme redoks pada mitokondria.¹⁰

Perlemakan yang tampak pada P2 dan P3 berkaitan dengan kandungan fruktosa pada minuman ringan berkarbonasi. Minuman ringan yang menggunakan fruktosa sebagai bahan pemanis meningkatkan sintesis asam lemak hepatic dan lipogenesis *de novo* yang kemudian mengakibatkan meningkatnya TAG dan VLDL dan menyebabkan terjadinya akumulasi lemak pada hepatosit.¹

Simpulan

Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dawley

ORIGINALITY REPORT

25%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	jurnal.stikes-sitihajar.ac.id Internet	445 words — 19%
2	queen-tri.blogspot.com Internet	34 words — 1%
3	text-id.123dok.com Internet	24 words — 1%
4	eprints.uns.ac.id Internet	17 words — 1%
5	doku.pub Internet	15 words — 1%
6	www.idntimes.com Internet	11 words — < 1%
7	docobook.com Internet	9 words — < 1%
8	jurnal.fk.unand.ac.id Internet	8 words — < 1%
9	jurnal.unissula.ac.id Internet	8 words — < 1%
10	Ekky Berliana R.P, Istien Wardani, Eriza Juniar. "Efektivitas Topikal Aplikasi Fluoride Menggunakan	8 words — < 1%

Ekstrak Teh Hijau Dibandingkan Dengan Sodium Fluoride Pada Gigi Sapi", DENTA, 2015

Crossref

11

repository.ub.ac.id

Internet

8 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES OFF

EXCLUDE
BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE MATCHES OFF