



ARTIKEL PENELITIAN

MINUMAN BERENERGI MENGANDUNG ASPARTAM MERUSAK HEPAR TIKUS JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS L.*)

Zakiya Rafwiani¹, Des Suryani²

¹ Program Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

² Departemen Anatomi-Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Email : dessuryani@umsu.ac.id

Abstrak: Minuman berenergi yang mengandung aspartam biasa dikonsumsi oleh masyarakat. Penggunaan aspartam dalam minuman menimbulkan kontroversi mengenai keamanannya terhadap hati. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh minuman berenergi mengandung aspartam sesuai dosis *Acceptable Daily Intake* (ADI) dan dosis melebihi ADI terhadap gambaran histopatologi hepar tikus jantan (*Rattus norvegicus L.*). Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in vivo* pada tikus dengan *posttest only with control group design*. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (KN) yang hanya diberi aquades, kontrol positif 1 (KP1) yang diberi aspartam dosis ADI (50mg/kgbb/hari), kontrol positif 2 (KP2) yang diberi aspartam dosis melebihi ADI (75mg/kgbb/hari), perlakuan 1 (P1) yang diberi minuman berenergi dosis ADI aspartam (50mg/kgbb/hari), dan perlakuan 2 (P2) yang diberi minuman berenergi dosis aspartam (75mg/kgbb/hari). dan diberi perlakuan selama 28 hari. Histopatologi hepar dianalisis secara kualitatif. Data derajat degenerasi hepar dianalisis menggunakan uji *Kruskal-walis* dan uji *post Hoc Mann-Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan pemberian minuman berenergi mengandung aspartam menimbulkan degenerasi hidrofik sel hepatosit. Ada perbedaan tingkat kerusakan hepar antara tikus yang diberi aspartam dosis ADI dengan tikus yang diberi aspartam melebihi dosis ADI ($p < 0,05$). Tidak ada perbedaan tingkat kerusakan hepar antara tikus yang diberi aspartam dosis melebihi ADI dengan tikus yang diberikan minuman berenergi yang mengandung aspartam baik pada dosis ADI maupun dosis melebihi disis ADI ($p > 0,05$). Simpulan, minuman berenergi mengandung aspartam menimbulkan degenerasi hidrofik hepar tikus jantan. Kandungan lain dalam minuman berenergi mungkin memperberat kondisi degenerasi hidrofik pada hepar tikus yang diberi minuman berenergi sesuai dosis ADI, apalagi bila diberikan dalam dosis yang melebihi dosis ADI

Kata kunci: Minuman berenergi, aspartam, histopatologi hepar

Abstract: Energy drink containing aspartame is commonly consumed by the public. The use of aspartame in beverages raises controversy about its safety against the liver. The Objective is to determine the effect of energy drinks containing aspartame according to the *Acceptable Daily Intake* (ADI) dose and ADI overdose to histopathologic images of liver male rats



(*Rattus norvegicus L.*) This is an experimental study *invivo* in rats with posttest only with control group design. Rats were divided into 5 groups: (KN) was a negative control with aquades, (KP1) was a positive control 1 with aspartame dose of ADI (50mg / kgbb / day), (KP2) was a positive control 2 with aspartame ADI overdose (75mg / kgbb / day), treatment 1 (P1) with ADI aspartame dose (50mg / kgbb / day), and 2 (P2) with ADI aspartame overdose (75mg / kgbb / day) and treated for 28 days. Histopathology of the liver was analyzed qualitatively. Degrees of liver degeneration were analyzed using Kruskal-walis test and posthoc Mann-Whitney test. The administration of energy drinks containing aspartame led to hepatocyte cell hydrophobic degeneration. There was a difference in the level of hepatic damage between rats given aspartame dose of ADI and rats with overdose ADI aspartame ($p < 0.05$). There was no difference in liver damage among rats with ADI aspartame overdose and rats with energy drinks containing aspartame both ADI dose and ADI overdose ($p > 0.05$). Conclusion, energy drink containing aspartame is raising to hepatic hydrophobic degeneration of male rats.

Keywords: Energy drink, aspartame, histopathology, liver

PENDAHULUAN

Konsumsi minuman berenergi sangat meningkat akhir-akhir ini. Di Eropa pada tahun 2011 komisi *European Food Safety Authority* (EFSA) melakukan studi bersama untuk mengetahui pola konsumsi minuman berenergi di 16 negara menyatakan minuman berenergi terutama dikonsumsi oleh remaja.¹ Di Indonesia, konsumsi minuman berenergi di masyarakat juga cukup tinggi terutama pada kelompok atlet dan pekerja keras, minuman berenergi di Indonesia dijual dalam beragam merk.² Penggunaan aspartam telah disetujui berbagai negara. *Food and Drugs Administration* (FDA) sejak tahun 1981 menetapkan *Acceptable Daily Intake* (ADI) sebesar 50 mg/kgBB/hari.³ Di Indonesia, Badan

Pengawas Obat dan Makanan mengatur ADI aspartam sebesar 0-40 mg/kgBB.⁴

Kandungan aspartam dalam minuman berenergi masih memiliki kontroversi. Aspartam dianggap bermanfaat bagi pasien Diabetes melitus karena aspartam tidak meningkatkan kadar glukosa darah maupun level insulin,⁵ namun beberapa penelitian pada hewan coba menyatakan aspartam berpengaruh terhadap metabolisme tubuh termasuk organ hepar karena meningkatkan kadar *lipid peroxidase* (LPO) darah, menurunkan kadar *superoxide dismutase* (SOD), dan *alanine aminotransferase* (ALT) dan juga memengaruhi kadar *nitric okside sintase* (NOS).^{6,7,8} Selain itu, aspartam dapat merusak ginjal dan saraf.^{7,9}

Pada tikus albino jantan yang diinduksi aspartam dengan dosis 250 mg/kgbb/hari selama 2 bulan menunjukkan jaringan hepar dengannukleus hepatosit yang tidak teratur, sitoplasma terisi vakuol multipel, sedikitnya jumlah mitokondria, dan nekrosis.⁹Peneliti lain menemukan adanya degenerasi hidrofik pada hepar dengan dosis aspartam 10-35 mg/kgbb/hari,¹⁰ satu nilai yang lebih rendah dari rekomendasi FDA tentang dosis aman aspartam untuk dikonsumsi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh minuman berenergi yang mengandung aspartam pada dosis ADI dan dosis melebihi ADI terhadap jaringan hati tikus, dan membandingkan tingkat kerusakannya.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental pada tikus (*Rattus norvegicus L.*) dengan *Posttest Only With Control Group Design*. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik penelitian kesehatan dari Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara No.632/TGL/KEPK FK USU-RSUP HAM/2016 untuk penggunaan hewan sebagai subjek penelitian.

Sebanyak 25 ekor tikus jantan dibagi dalam 5 kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol negatif (KN) yang hanya diberi aquades, kontrol positif 1 (KP1) yang diberi aspartam dosis ADI (50mg/kgbb/hari), kontrol positif 2 (KP2) yang diberi aspartam dosis toksik (75mg/kgbb/hari), perlakuan 1 (P1) yang diberi minuman berenergi dosis ADI aspartam (50mg/kgbb/hari), dan perlakuan 2 (P2) yang diberi minuman berenergi dosis aspartam (75mg/kgbb/hari). Tikus diberi perlakuan selama 28 hari. Selama periode aklimatisasi dan percobaan, semua tikus diberi makanan standar. Konversi dosis aspartam dari dosis manusia kepada dosis tikus dilakukan dengan rumus konversi sebagai berikut: Berat manusia dewasa umumnya 70 kg jika dosis toksik 50 mg/Kg BB/hari maka dosis sesuai ADI adalah 3500 mg. Angka konversi dosis dari manusia 70 kg ke tikus 200 gr adalah 0,018.¹¹ Sehingga dosis ADI aspartam untuk tikus 200 gr adalah $0,018 \times 3500 \text{ mg} = 63 \text{ mg}$. Begitu juga untuk dosis toksik dihitung berdasarkan rumus konversi ini.

Pada hari ke 29, tikus dieutanasia dengan cara dekapitasi tulang servikal. Hepar tikus diambil, dicuci dengan NaCl 0,9 %, dan difiksasi dalam larutan formalin 10%. Setelah itu jaringan

hepar menjalani langkah-langkah pemerosesan jaringan dan pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Sediaan diamati dengan mikroskop cahaya dan dinilai perubahan struktur hepar secara deskriptif. Derajat degenerasi atau nekrosis hepatosit dinilai dengan skor merujuk pada skoring pada penelitian sebelumnya sebagai berikut: ¹⁰

- 0= tidak ada perubahan degenerasi hepar.
- 1=perubahan histologi hepar sebesar 0,1%-5%,
- 2=perubahan histologi hepar sebesar 6-25%,
- 3=perubahan histologi hepar sebesar 26-50%, dan
- 4=perubahan histologi hepar lebih besar dari 50%.

Penilaian derajat degenerasi dilakukan oleh dua orang pengamat. Kesesuaian hasil pengamatan kedua pengamat dinilai dengan Uji Kappa. Derajat degenerasi pada masing-masing kelompok dibandingkan dengan uji Kruskal walis, yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* Mann-Whitney.

Sebagian kecil kanker paru berkembang pada yang bukan perokok. Kanker paru ini secara genetik berbeda dari NSCLC yang berkaitan dengan rokok dan mungkin mempunyai implikasi

terapeutik. Observasi perbedaan genetik yang diamati meliputi frekuensi *K-ras* yang lebih rendah dan mutasi pada reseptor faktor pertumbuhan epidermal yang lebih tinggi.¹¹

HASIL PENELITIAN

Dari pengamatan yang dilakukan, terdapat perbedaan gambaran struktur mikroskopis hepar pada tikus di setiap kelompok. Pada kelompok KN tampak normal, Kelompok KP1, KP2, P1, dan P2 menunjukkan perubahan gambaran histologi hepar dengan tingkatan yang berbeda. Perubahan gambaran histopatologi yang dijumpai berupa degenerasi hidrofik. Nekrosis tidak dijumpai pada semua kelompok. Pada kelompok KN, tampak sel hati berbentuk polihedral, sitoplasma asidofilik dengan nukleus bulat ditengah tersusun radier mengelilingi vena sentralis, yang berhubungan dengan ruang *perisinusoid*. (Gambar 1.)



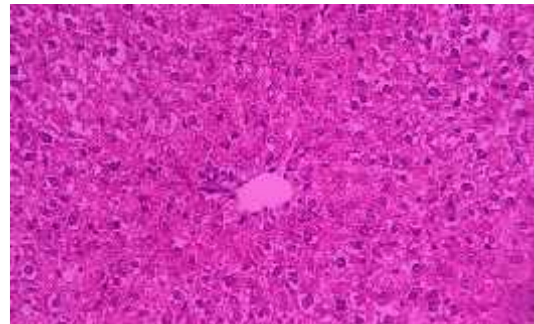
Gambar 1. Ruang sinusoid dibatasi oleh sel endotel dan sel kupffer (VS: vena sentralis; RS: ruang sinusoid)

Kelompok KP1 menunjukkan perubahan struktur histologi hepar berupa degenerasi hidrofik derajat 1 (Gambar 2), beberapa sel hepatosit terlihat terdesak dan terlihat vakuola dalam sitoplasma, dan sel Kupfer yang terlihat meningkat disekitar vena sentralis.



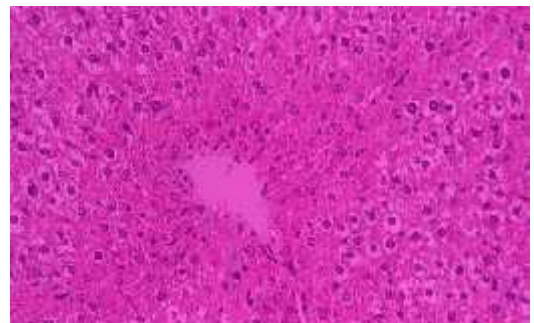
Gambar 2. Degenerasi hidrofik derajat 1

Pengamatan pada asinus portal terlihat mulai terjadi kerusakan struktur parenkim yaitu sel hepatosit terlihat memiliki nukleus yang irreguler dan sitoplasma memiliki vakuola yang memperlihatkan sel yang sakit. Kelompok KP2 menunjukkan kerusakan sel hepar yaitu derajat degenerasi skor, dengan sel-sel hepatosit yang tersusun tidak radier lagi, dan meningkatnya jumlah sel kupffer disekitar vena sentralis serta ditemukan nekrosis (Gambar 3).



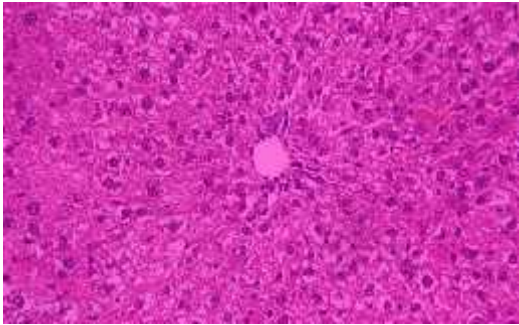
Gambar 3. Peningkatan jumlah sel kupffer dan ditemukan nekrosis

Pada kelompok P1 tampak peningkatan jumlah sel-sel yang mengalami degenerasi yaitu (skor 3), dengan sel-sel hepatosit yang tersusun tidak radier lagi, dan sel kupffer yang meningkat sekitar vena sentralis (Gambar 4).



Gambar 4. Peningkatan sel kupffer yang di sekitar vena sentralis

Pada kelompok P2 tampak degenerasi hidrofik sel hepatosit dengan derajat 3, dengan sel-sel hepatosit yang tersusun tidak radier lagi, sinusoid menyempit disekitar vena sentralis, sel kupffer meningkat disekitar vena sentralis. Serta tampak fibrosis dan nekrosis (Gambar 5).



Gambar 5. Fibrosis dan nekrosis pada sel hati

Uji Kappa atas pengamatan dan perhitungan derajat degenerasi hidrofik sel hepatosit menunjukkan hasil 0,848 ($r > 0,6$). Data derajat degenerasi adalah nilai rata-rata dari 2 pengamat. Uji normalitas data derajat degenerasi menghasilkan nilai $p < 0,05$. Hasil uji *Kruskal-Wallis* data derajat degenerasi menunjukkan $p < 0,05$ sehingga uji dilanjutkan dengan analisis *post hoc Mann-Whitney* (Tabel 1).

Dari tabel 1 didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KN dengan kelompok KP1, KP2, P1, dan P2. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian aspartam dan minuman berenergi dengan dosis ADI maupun dosis toksik terhadap gambaran histopatologi hepar tikus.

Tabel. 1. Analisis post hoc Mann-Whitney atas data derajat degenerasi jaringan hepar tikus yang diberi aspartam.

Kelompok	Sig.	P
KN vs KP1	0,004	<0,05
KN vs KP2	0,005	<0,05
KN vs P1	0,005	<0,05
KN vs P2	0,005	<0,05
KP1 vs KP2	0,009	<0,05
KP1 vs P1	0,009	<0,05
KP1 vs P2	0,009	<0,05
KP2 vs P1	0,650	>0,05
KP2 vs P2	1,000	>0,05
P1 vs P2	0,650	>0,05
KN vs KP1	0,004	<0,05
KN vs KP2	0,005	<0,05
KN vs P1	0,005	<0,05

KN adalah kelompok yang diberi aquabides, KP1 adalah kelompok yang diberi aspartam dosis ADI (50mg/kgbb/hari), KP2 adalah kelompok yang diberi aspartam dosis toksik (75mg/kgbb/hari), P1 adalah yang diberi minuman berenergi dosis ADI aspartam (50mg/kgbb/hari), dan P2 adalah yang diberi minuman berenergi dosis aspartam (75mg/kgbb/hari).

Selain itu, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KP1 dan KP2. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh perbedaan dosis aspartam yang diberikan terhadap derajat degenerasi hepar tikus. Perbedaan yang signifikan ini juga terlihat antara kelompok kontrol positif 1 dengan kelompok P1 dan P2. Perbedaan derajat degenerasi pada tikus yang diinduksi aspartam dosis ADI dengan tikus yang

diinduksi minuman berenergi dosis ADI ini dipengaruhi oleh komponen lain yang terdapat dalam minuman berenergi. Namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh perbedaan dosis minuman berenergi yang mengandung aspartam terhadap derajat degenerasi hepar tikus.

PEMBAHASAN

Minuman berenergi menimbulkan reaksi degenerasi hidrofik terutama di daerah asinus portal, perubahan sinusoid yaitu terjadinya penyempitan asinus dan tidak beraturan, dan meningkatnya jumlah sel kupffer disekitar vena sentralis. Hal ini sesuai dengan teori unit fungsional hepar terkecil adalah asinus hepar yang terdiri atas sel-sel parenkim sekitar *arteriolar*, *venul*, arteri hepatica, vena porta, dan *duktus biliaris* terminal serta terletak di antara dua vena sentralis. Konsep asiner ini dapat menjelaskan gangguan patofisiologis kerusakan sel hepar yang disebabkan oleh zat yang bersifat toksik terhadap hepar.^{12,13}

Penelitian sebelumnya juga membuktikan adanya peningkatan sel kupffer akibat masuknya zat-zat asing

pada tubuh yang mengakibatkan meningkatnya sel imun. Sel kupffer adalah sel yang berperan sebagai sel pertahanan pada organ hati.⁹ Pada penelitian ini ditunjukkan pada gambar 2-4.

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh, terdapat perubahan yang signifikan antar kelompok KN dengan kelompok KP. Ini menunjukkan bahwa aspartam memiliki peran pada kerusakan sel hepatosit. Aspartam akan dimetabolisme menjadi metanol dan aspartil fenilalanin. Metabolit aspartam berupa metanol ini akan dimetabolisme lagi menjadi formaldehid yang berperan dalam mencetuskan stres oksidatif dengan menurunkan kadar glutathion dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ada penurunan kadar glutathion pada tikus yang diberi aspartam sebanyak 40 mg/kg selama 6 minggu, walaupun diberikan sesuai dengan dosis ADI^{6,7}, peneliti lain malah menemukan kerusakan pada sel hepatosit pada dosis yang lebih rendah yaitu 10 dan 15 mg/kg/hr.¹⁰

Peneliti lain menyatakan bahwa hewan non primata biasanya lebih resisten terhadap asidosis metabolik yang diinduksi metanol, karena tingginya kadar folat dalam heparnya, untuk membuat kondisi



ini sama dengan manusia maka biasanya dibuat tikus model yang rendah folat, bisa diinduksi dengan methotrexate.¹⁴ Pada penelitian ini tidak menggunakan diet rendah folat namun sudah terlihat perubahan histologi pada hepar tikus, dengan demikian aspartam sangat mungkin menimbulkan kerusakan pada hepar, dengan demikian evaluasi terhadap regulasi penggunaan aspartam secara bebas sangat diperlukan.

Pada penelitian ini ditemukan adanya nekrosis, yaitu pada pemberian aspartam dosis 75 mg/kgbb/hr dan minuman berenergi dengan aspartam dosis melebihi ADI. Penelitian lain menyebutkan pemberian aspartam dosis 250 mg/kg/hari selama 2 bulan juga terlihat gambaran nekrosis pada sel hati.⁹

Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya perbedaan kerusakan histopatologi antara kelompok KP1 dengan kelompok P1. Hal ini terjadi karena minuman berenergi memiliki komponen selain aspartam yang mungkin berperan dalam kerusakan hepar tikus. Penelitian lainnya menyatakan bahwa konsumsi minuman berenergi menyebabkan peningkatan kadar SGOT dan SGPT.¹⁵

Tidak dijumpai perbedaan derajat degenerasi hepar tikus yang signifikan antara kelompok KP2 dengan kelompok P1 dan P2. Ini mencerminkan bahwa kerusakan sel hati yang timbul akibat aspartam dengan dosis melebihi ADI sama dengan kerusakan yang timbul oleh minuman berenergi dengan aspartam baik pada dosis ADI maupun melebihi dosis rekomendasi ADI. Minuman berenergi yang diteliti mengandung Taurin 1000 mg, Caffeine 50 mg, Niacinamide (Vitamin B3) 20 mg, Pyridoxin HCL (Vitamin B6) 5 mg, Cyanocobalamine (Vitamin B12) 5 mcg, Aspartam 45 mg, madu 100 mg, Royal Jelly, Ginseng 30 mg. Beberapa penelitian menyatakan bahwa kafein dan taurin merupakan bahan yang dapat merusak hepar.^{3,15,16}

Pada penelitian ini, tidak ada perbedaan derajat degenerasi hepar yang signifikan antara kelompok KP2, P1, dan P2. Hal ini menandakan bahwa tingkat kerusakan hepar pada tikus yang diberi aspartam dengan dosis melebihi dosis ADI hampir sama dengan tikus yang diberi minuman berenergi yang mengandung aspartam pada dosis ADI dan melebihi dosis ADI. Hal ini mungkin disebabkan karena ada komponen lain dalam minuman berenergi yang berperan dalam kerusakan



hepar. Oleh karena itu, aspartam dan komponen lain dari minuman berenergi memiliki peranan dalam menimbulkan kerusakan hepar tikus.

KESIMPULAN

Aspartam memiliki pengaruh terhadap perubahan struktur histologi tikus baik pada dosis sesuai ADI maupun melebihi dosis ADI. Minuman berenergi menimbulkan kerusakan sel hati lebih banyak meskipun dengan dosis aspartam yang sesuai dengan ADI. Dengan demikian kandungan lain dalam minuman berenergi selain aspartam mungkin juga berperan dalam menimbulkan kerusakan hepar.

SARAN

1. Perlu dilakukan peninjauan ulang dosis aspartam ADI (*Acceptable Daily Intake*) oleh pemerintah.
2. Perlu diteliti antioksidan yang tepat untuk mengatasi kerusakan reversibel yang ditimbulkan oleh minuman berenergi yang mengandung aspartam karena aspartam mempunyai nilai ekonomis yang tinggi sebagai pemanis buatan.

3. Perlu dikaji ulang kadar aspartam pada minuman berenergi yang tertera pada kemasan.

REFERENSI

1. Breda JJ, Whiting SH, Encarnação R, et al. Energy drink consumption in Europe : a review of the risks , adverse health effects , and policy options to respond. 2014 ; 2 (June) : 1-5. doi:10.3389/fpubh.2014.00134.
2. Dan K, Minuman P. Persepsi, konsumsi dan preferensi minuman berenergi 2007;2(November):13-25.
3. Gimba CE, Abechi SE, Abbas NS, Gerald IU. Research Article Evaluation of caffeine , aspartame and sugar contents in energy drinks. 2014;6(8):39-43.
4. Kepala P, Pengawas B, Dan O, et al. Badan pengawas obat dan makanan republik indonesia. 2012:1-28.
5. Asif M. Low Caloric Sweeteners for Diabetes and Obesity Care and Their Clinical Inferences for Tackle the Prevalence. 2013;(5).
6. Proki MD, Paunovi MG, Mati MM, et al. Effect of aspartame on biochemical and oxidative stress parameters in rat blood. 2015;67(2):535-545.



- doi:10.2298/ABS141009016P.
7. Mourad M. Effect of aspartame on some oxidative stress parameters in liver and kidney of rats. 2011;5(June):678-682.
 8. Ashok I, Sheeladevi R. Oxidant stress evoked damage in rat hepatocyte leading to triggered nitric oxide synthase (NOS) levels on long term consumption of aspartame. *J Food Drug Anal.* 2015;23(4):679-691. doi:10.1016/j.jfda.2014.07.011.
 9. Haliem NGA El, Mohamed DS. The effect of aspartame on the histological structure of the liver and renal cortex of adult male albino rat and the possible protective effect of Pimpinella anisum oil.2011:10-20. doi:10.1097/01.EHX.0000406589.05585.8.
 10. Histopatologi S, Mencit H, Buatan DP, et al. Jurnal MIPA. 2012;35(215):122-129.
 11. Nair A, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm.* 2016;7(2):27. doi:10.4103/0976-0105.177703.
 12. Histologi Dasar.Teks dan Atlas.Queira JU. p. 276-291. EGC.
 13. Pawlina W. Histology a Text and Atlas with corralated cell and molecular biology. Ed 7. 2016. p 626-651
 14. Iyaswamy A, Wankhar D, Loganathan S, Shanmugam S, Rajan R, Rathinasamy S. Disruption of redox homeostasis in liver function and activation of apoptosis on consumption of aspartame in folate deficient rat model. *J Nutr Intermed Metab.* 2017;8:41-50. doi:10.1016/j.jnim.2017.06.002.
 15. Ugwuja EI. Biochemical Effects of Energy Drinks Alone or in Combination with Alcohol in Normal Albino Rats. 2014;4(1):69-74.
 16. Pa ao lu H, Ebru F, Dem r O, Dem rta CY, Hussein A. Th e eff ect of caff eine on oxidative stress in liver and heart tissues of rats. 2011;41(4):665-671. doi:10.3906/sag-0911-4.