

PENGARUH ASPARTAM TERHADAP STRUKTUR HISTOLOGI HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR WISTAR MODEL DIABETES MELITUS

*The Effect of Aspartame on the Histological Structure of Liver of Male Rats (*Rattus Norvegicus*) Wistar Strain Model of Diabetes Mellitus*

Andi Muh. Maulana, Ade Guvinda Perdana, Retno Soesilowati, Muhammad Fadhol Romdhoni, Rizka Adi Nugraha Putra
Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Abstrak

Latar Belakang. Aspartam merupakan pemanis buatan yang diizinkan penggunaannya oleh BPOM RI dan banyak digunakan penderita diabetes melitus sebagai gula pengganti. Komplikasi diabetes melitus terjadi karena adanya peningkatan radikal bebas dalam tubuh yang disebabkan oleh keadaan hiperglikemi terus menerus. Sementara itu 75,3% dari populasi orang Asia menderita diabetes melitus menggunakan gula pengganti. Pola pikir masyarakat untuk mengganti gula pada makanan dan minuman menyebabkan tingginya penggunaan gula pengganti. **Tujuan.** Mengetahui pengaruh pemberian aspartam terhadap struktur histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar model diabetes melitus. **Metode.** Dua puluh delapan ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dibagi menjadi 4 kelompok; kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3). Hewan coba diterminasi selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi hepar dengan pewarnaan HE. Preparat histologi hepar diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400X dan hepatosit dihitung menggunakan aplikasi *image-J*. **Hasil.** Rerata \pm SD hepatosit normal = $37,375 \pm 18,392$, piknosis = $10,575 \pm 9,420$, karioreksis = $48,875 \pm 5,551$, dan kariolisis = $64,550 \pm 4,800$. Uji *One-way ANOVA* didapatkan *p-value* = $< 0,0001$. **Kesimpulan.** Aspartam berpengaruh terhadap struktur histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar model diabetes melitus yang ditandai oleh kerusakan hepatosit.

Kata Kunci: *hepatosit, diabetes melitus, aspartam*

Abstract

Background. Aspartame is an artificial sweetener that is widely used in patient with diabetes mellitus as a sugar substitute. It has been reported that oxidative stress is an enhanced in response to hyperglycemia in patients with diabetes mellitus. Meanwhile 75.3% of the diabetic patients in Asia were using using low calorie sweeteners. **Objective.** To determine the effect of aspartame on the histological structure of liver of male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strain model of diabetes mellitus. **Methods.** Twenty-eight male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strain were divided into 4 groups; control (K), treatment 1 (P1), treatment 2 (P2), and treatment 3 (P3). The experimental animals were determined further by making liver histology preparations with HE staining. Liver histology

*preparations were observed using a 400X magnification light microscope and hepatocytes calculated using the image-J application. Results. Mean \pm SD normal hepatocytes = 37,375 \pm 18,392, piknosis = 10,575 \pm 9,420, karioreksis = 48,875 \pm 5,551, and kariolysis = 64,550 \pm 4,800. One-way ANOVA test obtained p-value = <0.0001. Conclusio.: Aspartame affects the liver histological structure of male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strain diabetes mellitus model characterized by hepatocytes damage.*

Keywords: hepatocytes, diabetes mellitus, aspartame

PENDAHULUAN

Aspartam merupakan pemanis buatan yang penggunaannya telah diizinkan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di Indonesia. Ketika aspartam dikonsumsi oleh manusia, senyawa aspartam dipecah menjadi tiga macam senyawa, yaitu metanol, asam aspartat, dan fenilalanin. Kandungan fenilalanin dapat menyebabkan kerusakan otak yang berat, sehingga penggunaan aspartam tidak diperbolehkan bagi orang yang mengalami kerusakan otak. Selain itu aspartam juga digunakan orang yang mengidap diabetes melitus (DM) sebagai gula pengganti.¹

Populasi orang Asia yang terkena DM tipe 2 sebanyak 75.3% menggunakan pemanis buatan. Hal ini dikarenakan mereka memiliki pola pikir “tanpa menambahkan gula pada minuman”. Selain itu mereka juga ingin mengadaptasi kebiasaan menggunakan pemanis buatan daripada gula.²

Komplikasi dari DM biasanya terjadi karena adanya keadaan hiperglikemi yang terus menerus. Keadaan tersebut dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas didalam tubuh. Radikal bebas utama yang akan meningkat adalah

Reactive Oxygen Species (ROS). ROS yang dapat ditoleransi oleh tubuh biasanya terjadi pada kadar rendah hingga sedang, tetapi jika kadar ROS tersebut tinggi maka akan menyebabkan penyakit.^{3,4}

Selain gula murni, aspartam sebagai gula pengganti juga dapat juga menyebabkan ROS meningkat yang mengaktifasi jalur selanjutnya, yaitu peroksidasi lipid. Masih minimnya studi mengenai efek gula pengganti terhadap kesehatan hepar, mendorong penulis tertarik melakukan penelitian yang bertujuan mengetahui pengaruh pemberian aspartam terhadap struktur histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar model diabetes melitus.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode *post-test only control group design*. Sebanyak 28 ekortikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar digunakan sebagai sampel.

Kriteria inklusi yang ditetapkan adalah tikus putih jantan galur wistar sehat berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-250 mg, sementara kriteria ekslusinya adalah tikus yang memiliki defek anatomi, aktivitas menurun, dan bulu rontok.

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari, kemudian dibagi menjadi 4 kelompok. Setiap kelompok terdapat 6 ekor tikus ditambah 1 ekor sebagai cadangan. Kelompok kontrol (K) diinduksi aloksan 150 mg/KgBB, kelompok perlakuan 1 (P1) diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam 115 mg/KgBB, kelompok perlakuan 2 diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberi aspartam 215 mg/KgBB, kelompok perlakuan 3 (P3) diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberi aspartam 315 mg/KgBB. Induksi aloksan dilakukan secara intraperitoneal untuk mendapatkan model tikus DM dan pemberian aspartam dilakukan menggunakan teknik *gavage oral*.

Penghitungan kadar glukosa menggunakan glukometer strip, darah diperoleh dari pembuluh kapiler pada ekor tikus.

Tikus diterminasi menggunakan metode *cervical dislocation* pada hari ke-22. Kemudian dilakukan pembuatan preparat histologi. Jaringan hepar tikus dipotong setebal \pm 2-3 mm, kemudian dimasukkan ke dalam kaset histologi dan direndam menggunakan larutan formalin 10%. Setelah itu dilakukan *blocking* menggunakan paraffin selanjutnya objek diletakkan pada kaca objek, kemudian preparat dimasukkan ke dalam oven selama 1-2 jam pada suhu 60-70°C. Selanjutnya preparat dimasukkan ke dalam xylol sebanyak dua kali,

Alkohol 96% empat kali dengan waktu masing-masing 3 menit, setelah itu dicuci

menggunakan air selama 10 menit. Kemudian dilakukan pengecatan menggunakan hematoksin (HE) selama 15 menit, setelah dilakukan pengecatan preparat dicuci menggunakan air mengalir selama 15 menit, alkohol asam 1% dan dicuci dengan alkohol 80%, alkohol 96% dua kali, dan dijernihkan menggunakan xylol. Selanjutnya preparat ditutup menggunakan *coverslip* dengan entelan.

Menilai kerusakan struktur histologi hepar dengan membandingkan hasil pengamatan dan penghitungan hepatosit setiap kelompok. Kerusakan dinilai dengan menghitung berapa banyak hepatosit yang mengalami piknosis, karioreksis dan kariolisis.

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan *software* pengolah data (SPSS versi 24.0). Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk kemudian dilanjutkan dengan uji beda *One-way ANOVA* ($p < 0,05$).

Hasil

Penelitian ini mendapat persetujuan etik penelitian kesehatan dari Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Nomor: KEPK/FK/III/086/2018. Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar sebanyak 28 ekor dengan usia 2 – 3 bulan dan berat badan 150 – 250 mg, kemudian total yang dianalisis hanya 24 ekor.

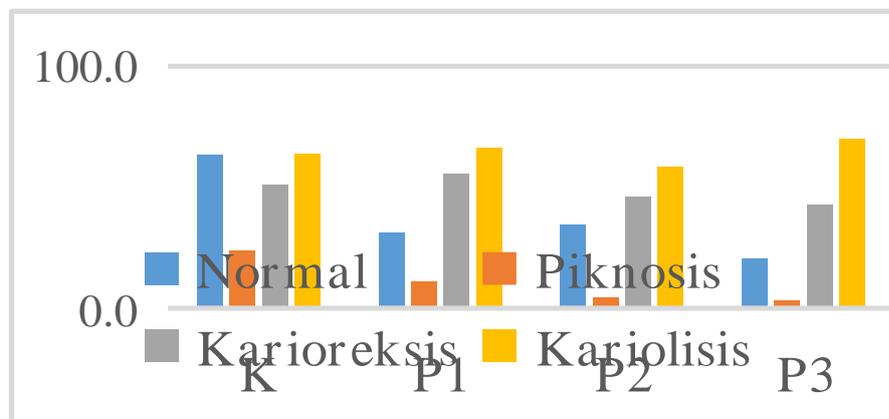
Struktur histologi hepar tikus dinilai dengan mengamati dan

menghitung sel hepatositnya, sebagai berikut:

Tabel 1. Rerata Hepatosit Hepar Tikus Model DM

| Hepatosit | Rerata ± SD | Sig. (p-value) |
|-------------|---------------|----------------|
| Normal | 37,375±18,392 | <0,0001* |
| Piknosis | 10,575±9,420 | |
| Karioreksis | 48,875±5,551 | |
| Kariolisis | 64,550±4,800 | |

Keterangan: *) Uji One-way ANOVA (Signifikansi $p < 0,05$)



Gambar 1. Diagram Batang Rerata Hepatosit Hepar Tikus Model DM

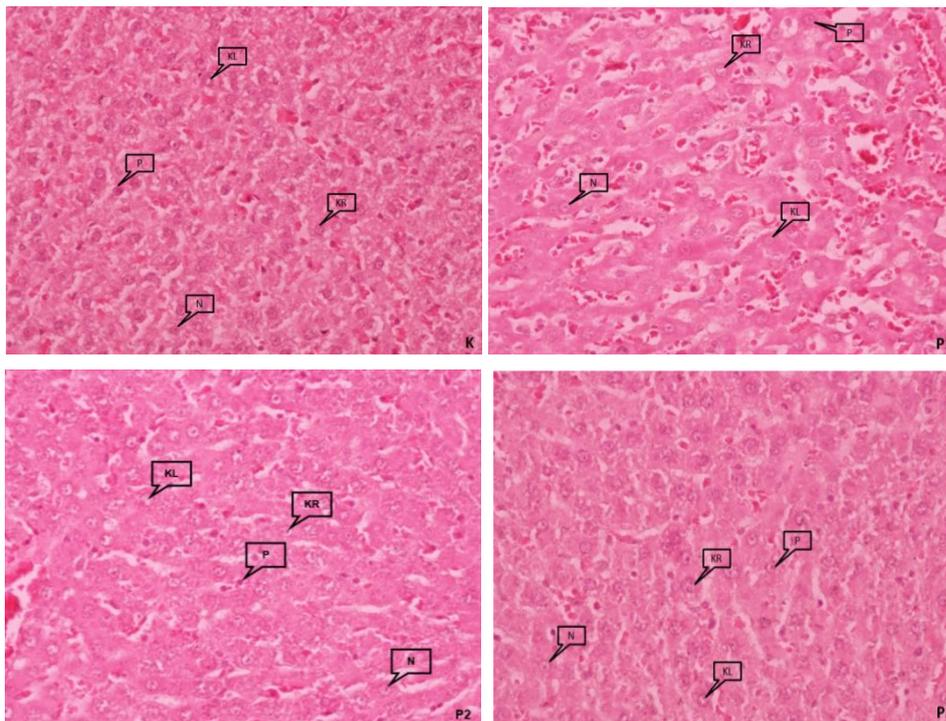
Keterangan:

K: kontrol hanya diinduksi aloksan 150 mg/KgBB

P1: kelompok perlakuan diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam dengan dosis 115 mg/KgBB

P2: kelompok perlakuan diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam dengan dosis 215 mg/KgBB

P3: kelompok perlakuan diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam dengan dosis 315 mg/KgBB



Gambar 2. Gambaran Histologi Hepar Tikus Model DM Perbesaran 400X
Keterangan: N: hepatosit normal, P: hepatosit piknosis, KR: hepatosit karioreksis, KL: hepatosit kariolisis
K: kontrol hanya diinduksi aloksan 150 mg/KgBB

- P1:** kelompok perlakuan diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam dengan dosis 115 mg/KgBB
P2: kelompok perlakuan diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam dengan dosis 215 mg/KgBB
P3: kelompok perlakuan diinduksi aloksan 150 mg/KgBB dan diberikan aspartam dengan dosis 315 mg/KgBB

Rerata \pm standar deviasi hepatosit normal pada kelompok kontrol adalah $63,5 \pm 14,923$, piknosis $23,8 \pm 18,004$, karioreksis $51 \pm 20,218$ dan kariolisis $63,7 \pm 19,325$. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) hepatosit normal $31,2 \pm 27,257$, piknosis $10,8 \pm 5,980$, karioreksis $55,5 \pm 19,336$, kariolisis $66 \pm 35,025$. Sementara pada kelompok perlakuan 2 (P2) hepatosit normal $34,3 \pm 17,420$, piknosis $4,5 \pm 2,167$, karioreksis $46,2 \pm 26$, dan kariolisis $58,5 \pm 17,952$. Pada kelompok perlakuan 3 (P3) sel

hepatosit normal $20,5 \pm 12,723$, piknosis $3,2 \pm 2,316$, karioreksis $42,8 \pm 26,902$, dan $70 \pm 25,698$ hepatosit yang mengalami kariolisis. Dari data tersebut didapatkan $p\text{-value} = < 0,0001$ ($p < 0,05$).

DISKUSI

Uji *One-way* ANOVA data hasil pengamatan dan perhitungan hepatosit ($p\text{-value} = < 0,0001$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada struktur histologi hepar tikus disetiap kelompok. Hal ini dapat dinyatakan

bahwa aspartam berpengaruh terhadap struktur histologi hepar tikus putihjantan galur wistar model DM.

Struktur histologi hepar tikus pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 memiliki perbedaan dengan kelompok kontrol (K). Hal ini menunjukkan bahwa aspartam mempengaruhi struktur histologi hepar. Sel binukleat ditemukan pada beberapa preparat hepar tikus yang diamati, fenomena ini dapat dilihat pada sel yang memiliki dua inti yang saling berhimpitan.

Proses regenerasi bisa terjadi pada hepatosit dan sel parenkim hepar yang mampu menggandakan diri. Hepatosit bekerja mirip sel induk (sel punca). Setelah hepatosit menggandakan diri, sel lainnya juga akan mengikuti dan memecah jadi beragam sel. Sel-sel baru tersebut lantas membentuk sebuah struktur baru, menyerupai lobulus hepar baru. Penggandaan hepatosit ini menunjukkan adanya kerusakan ringan pada organ hepar.⁵

Terkait dengan fungsi mayor organ hepar yaitu detoksifikasi bahan makanan yang telah dicerna dan terserap oleh tubuh, maka peran hepar menjadi lebih berat jika dalam bahan makanan tersebut terkandung zat-zat yang dapat memicu kerja hepar menjadi ekstra. Misalnya pada aspartam yang digunakan dalam penelitian ini, dapat memberatkan kerja hepar bahkan merusak beberapa hepatosit. Kerusakan vena sentralis dan sinusoid juga berkontribusi terhadap kerusakan sel-sel hepar yang dapat ditandai dengan

adanya degenerasi sel, nekrosis, karioreksis, peradangan, kariolisis dan perlemakan.⁶

Adanya regenerasi sel dan nekrosis menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel, karena sel yang tidak mampu kembali pada keadaan semula menyebabkan terbentuknya ruang kosong sehingga sinunoid melebar. Pengaruh toksisitas pada hepar juga menyebabkan letak sel menjadi tidak teratur, sehingga hepatosit tidak lagi tersusun radier seperti biasanya. Perubahan morfologis pada sel yang mati dikenal sebagai nekrosis. Inti sel yang mati biasanya menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap. Proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik. Kemungkinan lain, inti dapat hancur meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini disebut karioreksis. Akhirnya pada beberapa keadaan, inti sel kehilangan kemampuan dalam pewarnaan sehingga tidak terlihat, proses ini disebut kariolisis.⁷

Semua fenomena di atas dapat ditemukan dalam penelitian ini, beberapa hepatosit sudah tidak beraturan, sementara vena sentralis masih utuh. Kerusakan hepatosit yang meliputi piknosis, karioreksis, dan kariolisis pada penelitian ini diduga kuat karena pengaruh pemberian aspartam pada hewan coba tikus.

KESIMPULAN

Pemberian aspartam pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar berpengaruh terhadap

struktur histologi heparnya, ditandai dengan keberadaan hepatosit yang mengalami piknosis, karioreksis, dan KARIOLISIS.

DAFTAR PUSTAKA

1. BPOM RI. (2012). Aspartam dalam minuman berenergi. Tersedia dari: <http://ik.pom.go.id/v2015/qa/aspartam-dalam-minuman-berenergi>.
2. Tan, N.C. & Gu, K. (2006) Use of low calorie sweeteners among type 2 diabetic patients in an asian population. *Asia Pacific Family Medicine*, 5(3).
3. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem. Cell Biol*, 39(1), 44–84.
4. Wu, P., Nielsen, T. E., Clausen, M. H. (2015) FDA-approved small-molecule kinase inhibitors, *Trends Pharmacol. Sci.* 36(7), 422–439.
5. Suarsana, Wresditati T. & Suprayogi (2013). Respon stres oksidatif dan pemberian isoflavon terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase dan peroksidasi lipid pada hati tikus. *Jurnal Universitas Udayana*. 18(2): 416-152.
6. Tortora, G. J. & Derrickson, B. (2013) *Principles of anatomy & physiology*. 14th edition. Hoboken, John Wiley & Sons, Inc.
7. Oktavianti, R., Marti Harini, Noer Soesanti Handajani (2009). Struktur histologis hepar mencit (*Mus Musculus L.*) setelah pemberian aspartam secara oral. *Jurnal Enviro*.