



.....  
**EFEK MINUMAN BERENERGI TERHADAP HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS WISTAR**  
(*Rattus norvegicus*)

Oleh

Mohammad Farhan Aditya<sup>1</sup>, Kasiyati<sup>2</sup>, Sri Isdadiyanto<sup>3</sup>, Silvana Tana<sup>4</sup> & Sunarno<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro;

Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang 50275, telp/fax: (024) 70799494

Email: <sup>1</sup>[ferymuhammad3@gmail.com](mailto:ferymuhammad3@gmail.com), <sup>2</sup>[atikbudi77@gmail.com](mailto:atikbudi77@gmail.com), <sup>3</sup>[isdadiyanto@yahoo.com](mailto:isdadiyanto@yahoo.com),  
<sup>4</sup>[silvanatana23@gmail.com](mailto:silvanatana23@gmail.com) & <sup>5</sup>[sunzen07@gmail.com](mailto:sunzen07@gmail.com)

**Abstrak**

Minuman berenergi merupakan minuman ringan yang dapat meningkatkan energi, dan mengurangi kelelahan. Kebiasaan mengonsumsi minuman berenergi secara berlebihan dapat meningkatkan resiko kerusakan organ, terutama hepar. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengkaji efek minuman berenergi dalam level dosis berbeda terhadap histopatologi hepar tikus wistar. Kandungan kafein, niasin, dan aspartam dalam minuman berenergi merupakan pemicu terjadinya kerusakan pada hepar. Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap dengan 20 ekor tikus putih jantan dengan bobot  $\pm 200$  gram, yang dibagi dalam 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan. Perlakuan terdiri atas P0, P1, P2, P3 dan P4, yang secara berurutan adalah kontrol, tikus putih diberikan minuman berenergi 76 mg/ 200 g BB/ hari, 152 mg/ 200 g BB/ hari, 228 mg/ 200 g BB/ hari, dan 304 mg/ 200 g BB/ hari. Variabel penelitian yang diukur, meliputi bobot hepar, bobot badan, konsumsi pakan, konsumsi minum, hepatosomatik index (HI index), dan diameter hepatosit. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Analysis of Variance (ANOVA), dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minuman berenergi memberi efek nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap diameter sel hepatosit, bobot badan, dan hepatosomatic indeks, namun tidak berbeda nyata terhadap bobot hepar, konsumsi pakan, dan konsumsi minum. Kesimpulan dari penelitian ini adalah, minuman berenergi dapat merusak histologi hepar tikus wistar. Histologi hepar tikus mulai mengalami kerusakan saat diberikan perlakuan minuman berenergi dengan dosis 76 mg/200 g BB/hari yang ditandai oleh adanya kongesti dan inklusi Mallory Body pada jaringan hepar.

**Kata Kunci: Minuman Berenergi, Tikus Putih, Hepar & Histopatologi**

**PENDAHULUAN**

Kebiasaan masyarakat di berbagai negara dalam mengonsumsi minuman berenergi semakin meningkat dari tahun ke tahun. Kementerian Pertanian Republik Indonesia tahun 2018 [1], menyatakan konsumsi minuman energi per kapita per tahun sebesar 1,59 untuk kemasan 100 ml pada 2014 dan naik menjadi 2,58 (62,22%) per 100 ml per kapita pada 2017. Minuman berenergi diprediksi akan menjadi salah satu komponen produk penjualan minuman terbesar di pasar dunia dalam kurun 5 tahun ke depan. Minuman berenergi merupakan jenis minuman suplemen yang saat ini paling sering dikonsumsi oleh para pekerja berat di Indonesia. Minuman berenergi mengandung beberapa

senyawa stimulan, seperti taurin, kafein, niasin, dan beberapa vitamin tambahan. Minuman berenergi memiliki kandungan dosis bahan yang beragam, namun beberapa merek minuman berenergi dengan tingkat konsumsi tertinggi di dunia mengandung dosis tinggi pada senyawa kafein dan taurin [2]. Food and Drug Administration menyatakan bahwa dosis Acceptable Daily Intake (ADI) untuk kandungan senyawa utama dalam minuman berenergi yaitu, kafein sebesar 400 mg/hari, aspartam sebesar 50 mg/kg/hari, dan niasin (vitamin B3) sebesar 14-16 mg/kg/hari [3].

Penggunaan beberapa bahan tambahan pangan dalam kandungan minuman berenergi masih menjadi kontroversial karena beberapa



senyawa bekerja saling antagonis di dalam tubuh. Bahan tambahan pangan, seperti taurin dan kafein diduga dapat berperan sebagai hepatoprotektif di dalam tubuh, namun bahan lainnya yang terkandung dalam minuman berenergi juga dapat menaikkan tingkat toksisitas pada jaringan hepar, seperti aspartam dan niasin (vitamin B3). Secara umum, kandungan bahan tambahan pangan yang bersifat hepatoprotektif (kafein dan taurin) tidak mampu mengendalikan toksisitas yang dihasilkan oleh bahan tambahan pangan yang bersifat hepatotoksik (niasin dan aspartam). Hal ini terjadi disebabkan oleh adanya peningkatan enzim GGT (indikator kerusakan dalam hepar) [4]. Pemberian dosis minuman berenergi pada tikus wistar jantan telah diketahui setara dengan konsumsi tiga kemasan minuman berenergi pada manusia. Berdasarkan bukti penelitian lainnya menunjukkan bahwa pemberian minuman berenergi dengan kemasan kaleng yang diberikan dalam bentuk dosis moderat (1,1 mL/100g BB/hari) sampai dosis tinggi (2,2 mL/100g BB/hari) secara oral selama 12 minggu memicu peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) pada jaringan hepar [5].

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji serta mengevaluasi pengaruh minuman berenergi dalam level dosis yang berbeda terhadap histopatologi hepar tikus wistar dengan variable, meliputi meliputi bobot hepar, bobot badan, konsumsi pakan, konsumsi minum, hepatosomatik index (HI index), dan diameter hepatosit. Penentuan dosis minuman berenergi pada penelitian ini sesuai dengan takaran minuman berenergi yang dikonsumsi oleh manusia.

## LANDASAN TEORI

### Tikus Wistar (*Rattus norvegicus* L.)

Tikus wistar memiliki ciri-ciri morfologis seperti kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badan, pertumbuhan cepat, dan mudah beradaptasi pada lingkungan yang baru dalam waktu singkat. Kebutuhan pakan tikus putih setiap harinya berkisar sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika pakan yang digunakan

adalah pakan kering, dan juga kebutuhan minum seekor tikus setiap hari berkisar sekitar 15-30 ml air [6]. Tikus wistar yang berasal hasil *outbreed* di Eropa sering digunakan sebagai hewan model untuk pengujian patologis klinis dan *bioassay* dalam menilai standar keselamatan praklinis [7].

Tikus wistar sangat cocok digunakan dalam penelitian toksikologi dan onkologi karena tikus wistar termasuk golongan tikus yang tidak rentan terhadap lesi sel dan tumor [8]. Tikus wistar seringkali dijadikan sebagai hewan model dalam penelitian beberapa penyakit karena terdapat kemiripan sifat dan metabolismenya dengan manusia. Dalam penerapan penelitian toksikologi, dosis yang diberikan ke tikus dapat dikonversi ke dalam dosis yang sesuai dengan manusia, pada umumnya berdasarkan luas permukaan tubuh dan berat tubuh manusia dewasa [9].

### Minuman Berenergi

Minuman berenergi merupakan jenis minuman suplemen yang saat ini paling sering dikonsumsi oleh para pekerja berat di Indonesia. Minuman berenergi mengandung beberapa zat stimulan seperti taurin, kafein, niasin, dan beberapa vitamin tambahan. Minuman berenergi memiliki kandungan dosis bahan yang beragam, namun beberapa merek minuman berenergi dengan tingkat konsumsi tertinggi di dunia mengandung dosis tinggi pada zat kafein dan taurin [2]. Minuman berenergi memiliki beberapa kegunaan, seperti meningkatkan energi, meningkatkan konsentrasi, dan dapat dijadikan sebagai penghilang rasa kantuk [10]. Efek yang paling terasa setelah mengkonsumsi minuman berenergi adalah terjadinya peningkatan tekanan darah karena minuman berenergi dapat merangsang hormon norepinefrin [11]. Minuman berenergi bermanfaat mengurangi kelelahan dan meningkatkan kinerja fisik atau mental, namun banyak hasil penelitian yang mengaitkan frekuensi konsumsi minuman ini dengan konsekuensi gangguan kesehatan [12].

### Kafein

Kafein merupakan salah zat psikoaktif yang telah populer dan banyak tersebar luas ke seluruh bagian dunia. Hampir lebih dari 80% populasi



manusia di dunia mengkonsumsi kafein dalam kesehariannya. Kafein sering dijumpai dalam makanan dan minuman dalam keseharian orang dewasa saat ini. Konsumsi kafein sudah menjadi suatu gaya hidup terutama di golongan para pekerja yang memiliki tingkat produktifitas tinggi [13].

Secara umum, kafein mudah larut dalam air dan lemak sehingga mudah terbawa ke dalam sistem metabolisme tubuh manusia. Mekanisme kerja kafein di dalam tubuh dengan cara melakukan pengikatan pada reseptor adenosin yang terletak di jantung dan pembuluh darah [14]. Kafein diserap oleh tubuh kemudian dirombak di dalam organ hepar setelah itu diekskresikan dari tubuh membutuhkan waktu 3-7 jam. Kafein dirombak secara umum di dalam hepar oleh sistem enzim sitokrom oksidase P450 atau secara spesifik dirombak oleh enzim CYP1A2 yang juga dapat ditemukan dalam otak [15].

Regulasi pemerintah Indonesia menyatakan bahwa batas dosis maksimum konsumsi kafein sebesar 150 mg per hari [16]. Batas aman konsumsi kafein untuk orang dewasa yang sehat, yaitu sekitar 400 mg per hari [3]. Kafein juga memiliki efek samping yang dapat membahayakan bagi kesehatan beberapa golongan orang yang rentan karena dosis yang dikonsumsi melebihi dosis aman. Keracunan kafein dapat menyebabkan muntah yang berlebih, tachycardia (detak jantung yang meningkat drastis), agitasi sistem saraf pusat (overaktif), dan juga diuresis [17].

### Niasin

Niasin adalah suatu senyawa organik yang dapat disebut juga dengan asam nikotinat dan merupakan salah satu komponen yang terdapat dalam minuman berenergi [18]. Niasin termasuk ke dalam golongan vitamin B yang dapat larut dalam air. Rata-rata kandungan niasin dalam satu sachet minuman berenergi berkisar kurang lebih 16 mg.

Niasin yang diserap oleh semua jaringan di tubuh akan diubah menjadi bentuk aktif yang berperan penting dalam metabolisme tubuh, yaitu berbentuk koenzim *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD) [19]. Jalur utama

<http://ejurnal.binawakya.or.id/index.php/MBI>

Open Journal Systems

penyerapan niasin adalah melalui usus halus, namun niasin juga dapat diserap oleh lambung. Lebih dari 400 jumlah enzim membutuhkan peran NAD dalam reaksi katalis di tubuh [20].

Dosis ambang batas aman (ABA) konsumsi niasin yang berlaku di Indonesia adalah sekitar 1500 mg per hari [16]. Kandungan niasin dalam minuman berenergi tersebut diduga bersifat hepatotoksik jika dikonsumsi dalam dosis 1000-3000 mg per hari [21]. Penderita gangguan organ hepar dan penerima transplan organ hepar tidak diizinkan untuk mengkonsumsi niasin dalam dosis tinggi. Hal tersebut akan mengakibatkan kegagalan fungsi organ hepar yang akut dan bersifat fatal [22]. Mekanisme hepatotoksitas dari niasin diduga sebagai bentuk reaksi toksik intrinsik yang berkaitan dengan kadar niasin yang tinggi sehingga membuat afinitas tinggi dan terbentuknya NAD yang dapat menghambat reaksi oksidasi di dalam organ hepar [23].

### Perilaku Konsumen Minuman Berenergi di Indonesia

Konsumsi minuman berenergi masyarakat Indonesia berdasarkan data dari Business Monitor International tahun 2012 serta dalam laporan data Kementerian Pertanian Republik Indonesia tahun 2018 mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Hal tersebut diakibatkan oleh gencarnya iklan dan propaganda dari beberapa perusahaan minuman berenergi di Indonesia. Sektor yang menjadi target penjualan minuman berenergi di Indonesia adalah orang yang berprofesi sebagai atlet, pekerja dengan tingkat produktivitas tinggi, remaja, serta para sopir. Peningkatan konsumsi minuman berenergi diberbagai profesi dikarenakan adanya persepsi yang kuat tentang beberapa promosi produk minuman berenergi yang seolah-olah memiliki banyak manfaat [24]. Rata rata konsumsi minuman berenergi di Indonesia berkisar 9,72 uks/minggu. Faktor konsumsi minuman berenergi yang meningkat dipengaruhi oleh faktor pengaruh sosial, lama jam kerja, serta pendapatan per bulan [10].

Konsumen minuman berenergi di Indonesia rata-rata memiliki sedikit pengetahuan mengenai dampak yang berbahaya dari minuman



berenergi terhadap kesehatan jika dikonsumsi melebihi dosis per hari. Beberapa masyarakat masih memiliki persepsi bahwa minuman berenergi mampu mengembalikan stamina dengan cepat karena efeknya yang dapat langsung dirasakan dalam waktu singkat setelah mengkonsumsi minuman berenergi [24]. Konsumsi minuman berenergi di Indonesia biasa dilakukan dengan menambahkan campuran es batu, susu kental manis, serta alkohol. Beberapa sopir bis dan truk yang menempuh perjalanan jauh sering mengonsumsi campuran tersebut. Kebiasaan para sopir dalam mengonsumsi campuran minuman berenergi menimbulkan persepsi bahwa para sopir percaya dan merasakan kegunaannya seperti berkurangnya rasa lelah dan kantuk, dan menjaga stamina mereka saat menempuh perjalanan yang jauh [25].

#### **Histopatologi dan Detoksifikasi Hepar**

Bagian dari struktur penyusun organ hepar yang rentan terpapar senyawa toksik, yaitu hepatosit, sel sinusoid, dan sel kupffer [26]. Hepar berperan penting dalam fungsi patologi toksikologis karena pada organ hepar terdapat mekanisme biotransformasi senyawa xenobiotik yang termasuk proses awal detoksifikasi senyawa yang terserap di saluran usus. Metabolisme senyawa xenobiotik dilakukan oleh sel hepatosit yang dapat terjadi di fase 1 (dengan bantuan sitokrom oksidase) dan reaksi fase 2 (dengan perubahan formasi dari senyawa glukoronida yang larut dalam air) [27]. Reaksi fase I dapat mengaktifkan prodrug ke bentuk aktif dan mengaktifkan metabolisme xenobiotik menjadi senyawa beracun, sehingga dapat meningkatkan toksisitas metabolit. Reaksi fase II adalah reaksi konjugasi termasuk sulfasi, metilasi, dan glukuronidasi untuk lebih meningkatkan kelarutan metabolit teroksidasi, yang disekresikan melalui fase III dengan bantuan transporters yang terletak di membran sel hepatosit, sel-sel usus, ginjal, dan jaringan lain untuk ekskresi ke luar tubuh [28].

Konsumsi minuman berenergi dengan dosis yang melebihi batas juga dapat memicu terjadinya perubahan histologi di beberapa komponen penyusun organ hepar. Konsumsi

minuman berenergi yang melebihi batas normal dapat meningkatkan 50% peluang terjadinya hepatosisitas pada organ hepar manusia [29]. Perubahan morfologi dan histologi sel hepar yang terpapar tingkat toksisitas tinggi dapat terlihat jelas jika dibandingkan dengan susunan sel hepar yang masih sehat. Perubahan sel tersebut meliputi degenerasi sel, nekrosis, atrofi, dan fibrosis (penurunan berat organ hepar), hiperplasia, neoplasia, dan foci hepatik dari perubahan beberapa sel [30]. Kasus yang ditemukan di Amerika memperlihatkan seorang pasien terindikasi hepatitis akut yang dipengaruhi oleh kebiasaan konsumsi minuman berenergi melebihi di luar dosis rekomendasi. Hasil biopsi hepar menunjukkan bahwa beberapa sel hepar tersebut mengalami nekrosis dan kolestasis [31]. Nekrosis di organ hepar umumnya memiliki kaitan dengan adanya kerusakan akut pada organ tersebut yang diatur oleh mikroRNA. Nekrosis merupakan hasil respons sel terhadap tingginya tingkat toksisitas yang terjadi di dalam sel tersebut. Proses nekrosis meliputi hilangnya ion homeostatis, terjadinya pembengkakan sel hepatosit, peningkatan kandungan kalsium bebas di dalam sel hepatosit, aktivasi berbagai jenis protease dan fosfolipase, dan hilangnya fungsi mitokondria [32].

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 minggu di Peternakan Tikus Starbio Yogyakarta. Pembuatan preparat histologi dilakukan selama 10 hari di Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Penelitian didesain menggunakan rancangan penelitian acak lengkap (RAL) dan dianalisis uji ANOVA kemudian diuji secara lanjut menggunakan uji *Duncan* dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) melalui program SPSS 23 dalam mengolah data hasil penelitian. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik penelitian dari Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk penggunaan hewan tikus wistar sebagai subjek berdasarkan surat etik No.107/EC/H/FK-UNDIP/XI/2020.



### Preparasi Hewan Coba.

Tikus wistar jantan sebanyak 20 ekor dikelompokkan dalam 5 perlakuan, yang meliputi kontrol (K0), perlakuan 1 dengan pemberian minuman berenergi dosis 76 mg/200 g BB/hari (P1), perlakuan 2 dengan pemberian minuman berenergi dosis 152 mg/200 g BB/hari (P2), perlakuan 3 dengan pemberian minuman berenergi dosis 228 mg/200 g BB/hari (P3), dan perlakuan 4 dengan pemberian minuman berenergi dosis 304 mg/200 g BB/hari (P4). Tikus wistar kemudian diaklimasi selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan kandang barunya. Pemberian perlakuan pada tikus dilakukan selama satu bulan. Selama periode aklimasi dan pemberian perlakuan, tikus diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum* dengan lingkungan relative homogen.

### Penghitungan Dosis Minuman Berenergi.

Penentuan dosis diperoleh dari kebiasaan manusia dalam mengkonsumsi minuman berenergi, dimana dosis perlakuan 1 setara dengan konsumsi 1 *sachet* minuman berenergi, dosis perlakuan 2 setara dengan konsumsi 2 *sachet* minuman berenergi, dosis perlakuan 3 setara dengan konsumsi 3 *sachet* minuman berenergi, dan dosis perlakuan 4 setara dengan konsumsi 4 *sachet* minuman berenergi. Konversi dosis minuman berenergi dari dosis manusia ke dosis tikus dilakukan dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut, dengan asumsi berat manusia sebesar 70 kg maka dosis untuk 1 kali konsumsi *sachet* minuman berenergi adalah 4200 mg. Angka untuk konversi dosis manusia 70kg ke tikus 200g berdasarkan Tabel dari Laurence dan Bacharach adalah 0,018 sehingga dosis 1 kali konsumsi *sachet* minuman berenergi pada tikus adalah  $0,018 \times 4200 \text{ mg} \approx 76 \text{ mg/g BB}$  [33]. Perhitungan dosis dilakukan secara analog dengan perhitungan dosis pada perlakuan 1.

### Pemberian Minuman Berenergi.

Pemberian larutan minuman berenergi dilakukan secara oral menggunakan jarum *gavage* dengan dosis sebanyak 2 mL setiap perlakuan. Pemberian perlakuan tersebut dilakukan selama 4 minggu (1 bulan) pada sore hari pukul 17.00–18.00 WIB. Selama penelitian

<http://ejurnal.binawakya.or.id/index.php/MBI>

Open Journal Systems

berlangsung, tikus diberikan pakan komersial dan minum secara *ad libitum* selama 5 minggu.

### Pembedahan Tikus dan Pembuatan Preparat.

Pengakhiran tikus dilakukan pada hari ke 38, diawali dengan penimbangan bobot badan, kemudian dilanjutkan dengan pembiusan menggunakan *kloroform* 0,06%. Tikus penelitian selanjutnya dibedah, hepar diisolasi, dan ditimbang bobotnya dengan menggunakan timbangan analitik. Hepar dicuci menggunakan garam fisiologis (NaCl) dan kemudian dipotong  $1 \times 1 \text{ cm}^2$ , potongan sampel hepar dimasukkan ke dalam botol *flakon* yang berisi larutan fiksatif BNF 10%. Sampel hepar selanjutnya digunakan untuk membuat sediaan preparat histologis [34]. Pewarnaan histologis yang digunakan adalah pewarnaan hematoksin eosin (HE). Pengamatan preparat histologis menggunakan fotomikrograf Olympus BH-2 untuk mengukur diameter hepatosit dan diskripsi histomorfologi hepar pada masing-masing-perlakuan.

### Pengukuran Parameter.

Pengambilan data untuk parameter konsumsi pakan dan minum diambil setiap hari satu kali dengan menghitung pengurangan sisa pakan dan minum, data parameter bobot badan diperoleh setiap satu minggu sekali menggunakan timbangan, data parameter *Hepatosomatic Index* (HSI) dihitung menggunakan rumus bobot hepar (g)/bobot tubuh (g)  $\times 100\%$ , dan data parameter diameter hepatosit diperoleh dengan menghitung hasil bagi rata rata aksis panjang (y) dan rata rata aksis pendek (x) sel hepatosit dengan bantuan software yang terkoneksi dengan fotomikrograf Olympus BH-2.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data terhadap variabel histopatologi hepar tikus wistar menunjukkan bahwa minuman berenergi dengan dosis bertingkat yang diberikan tidak memberi efek nyata terhadap bobot hepar, konsumsi pakan, dan konsumsi minum. Data lainnya menunjukkan, minuman berenergi dengan dosis bertingkat pada tikus wistar memberi efek nyata terhadap ukuran diameter hepatosit, *hepatosomatic index*, dan



bobot badan. Hasil Anova dan rata-rata data hasil penghitungan parameter selama penelitian disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil analisis rerata bobot badan, bobot hepar, konsumsi pakan, konsumsi minum, diameter hepatosit, dan Hepatosomatic Index tikus wistar (*Rattus norvegicus* L) setelah pemberian minuman berenergi.**

Parameter	P0	P1	P2	P3	P4
Bobot badan (g/ekor)	270,25 <sup>a</sup> ±11,32	250 <sup>ab</sup> ± 17,34	240 <sup>b</sup> ± 23,21	224,75 <sup>b</sup> ± 13,6	246,25 <sup>ab</sup> ± 20,87
Bobot hepar (g/ekor)	43,25 <sup>a</sup> ±11,24	49,13 <sup>a</sup> ± 5,23	44,63 <sup>a</sup> ± 5,41	49,00 <sup>a</sup> ± 10,84	56,83 <sup>a</sup> ± 6,60
Konsumsi pakan (g/ekor/hari)	29,53 <sup>a</sup> ±15,97	28,82 <sup>a</sup> ± 36,05	28,85 <sup>a</sup> ± 30,48	27,87 <sup>a</sup> ± 58,82	29,11 <sup>a</sup> ± 54,24
Konsumsi minum (mL/ekor/hari)	27,05 <sup>a</sup> ±0,16	27,65 <sup>a</sup> ± 0,23	27,22 <sup>a</sup> ± 0,73	27,54 <sup>a</sup> ± 0,33	28,16 <sup>a</sup> ± 1,35
Diameter Hepatosit (µm)	15,54 <sup>c</sup> ± 0,41	17,53 <sup>b</sup> ± 0,25	18,55 <sup>b</sup> ± 0,26	21,10 <sup>a</sup> ± 1,16	22,53 <sup>a</sup> ± 2,02
Hepatosomatic Index	0,16 <sup>b</sup> ± 0,03	0,20 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,19 <sup>ab</sup> ± 0,02	0,22 <sup>a</sup> ± 0,04	0,23 <sup>a</sup> ± 0,02

Keterangan : Data disajikan berupa rata-rata ( $\bar{X}$ ) ± standar deviasi (SD). Rerata yang ditandai superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ). P0 : kontrol normal, P1 : tikus dengan perlakuan minuman berenergi 76 mg/200 g BB, P2 : tikus dengan perlakuan minuman berenergi 152 mg/200 g BB, P3 : tikus dengan perlakuan minuman berenergi 228 mg/200 g BB, P4 : tikus dengan perlakuan minuman berenergi 304 mg/200 g BB.

#### Bobot Badan.

Berdasarkan hasil analisis rerata bobot badan setelah pemberian perlakuan minuman berenergi menunjukkan adanya perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) pada kelompok P2 dan P3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (P0). Hal tersebut membuktikan bahwa pemberian minuman berenergi dapat mempengaruhi bobot badan. Konsumsi minuman berenergi dapat meningkatkan laju metabolisme sehingga dapat mempengaruhi bobot badan [35]. Kandungan bahan aspartam diduga dapat mempengaruhi bobot badan. Pemberian aspartam pada tikus wistar diduga mengakibatkan terjadinya peningkatan katabolisme protein dan glikogen menjadi energi [36]. Pemberian aspartam dalam dosis tertentu dapat memicu sekresi *glucagon-*

*like peptide* (GLP-1) oleh saluran pencernaan sehingga menurunkan asupan kalori ke dalam tubuh [37]. Efek konsumsi aspartam dalam tubuh pada beberapa penelitian lain justru menyatakan hasil yang berlawanan. Peningkatan laju metabolisme disebabkan oleh efek jumlah insulin dalam tubuh yang tinggi akibat adanya kandungan bahan pemanis dari minuman berenergi (aspartam) dapat meningkatkan laju penyimpanan lipid dalam jaringan adiposa [38].

#### Bobot Hepar.

Rerata bobot hepar yang disajikan dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh nyata antara kelompok perlakuan pemberian minuman berenergi dengan kelompok kontrol. Hasil tersebut menandakan bahwa meskipun pemberian minuman berenergi dapat berpengaruh nyata terhadap bobot badan tetapi tidak diikuti dengan peningkatan bobot hepar yang signifikan. Kerusakan yang terjadi pada hepar setelah pemberian perlakuan minuman berenergi seperti vakuolisasi sel akibat akumulasi glikogen tidak berpengaruh nyata terhadap bobot hepar. Tingginya akumulasi glikogen yang tertimbun di dalam hepar dapat mengakibatkan terjadinya penurunan massa lemak dalam hepar dan bobot badan [39]. Penurunan massa lemak dalam hepar merupakan salah satu faktor yang menyebabkan pemberian minuman berenergi tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan bobot hepar.

#### Pakan dan Minum.

Hasil analisis data konsumsi pakan dan minum yang disajikan dalam Tabel 4.1 menunjukkan tidak terdapat pengaruh signifikan antara kelompok perlakuan pemberian minuman berenergi dengan kelompok kontrol ( $P > 0,05$ ). Hasil tersebut membuktikan bahwa pemberian minuman berenergi tidak dapat mempengaruhi perilaku konsumsi pakan dan minum secara signifikan. Studi penelitian terhadap perubahan perilaku seperti konsumsi pakan dan minum memerlukan jangka waktu kurang lebih 8 minggu (*long-term studies*) untuk melihat perbedaannya secara signifikan [40].



### Diameter Hepatosit.

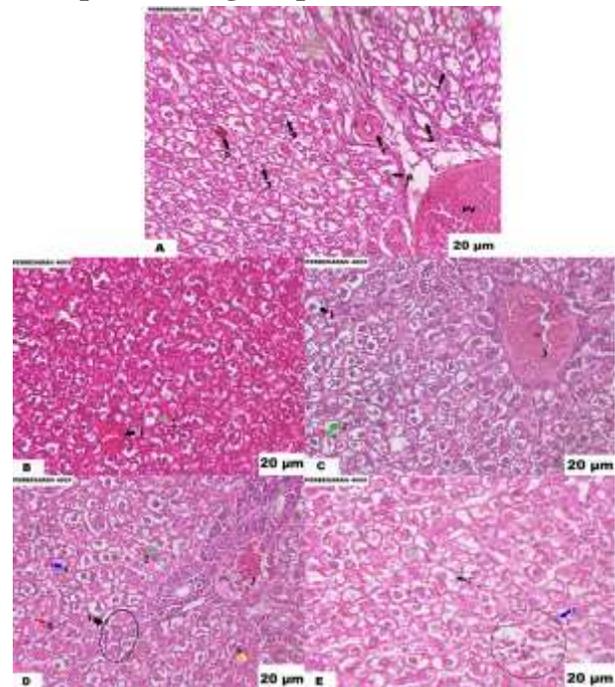
Hasil analisis pada data yang tercantum dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian dosis minuman berenergi P1, P2, P3, dan P4 selama 30 hari berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap diameter hepatosit kelompok tikus kontrol (P0). Peningkatan dosis minuman berenergi dapat mengakibatkan terjadinya perbesaran diameter hepatosit. Perubahan diameter hepatosit dapat dipengaruhi oleh beberapa efek yang dihasilkan oleh kandungan senyawa dalam minuman berenergi tersebut. Salah satu kandungan senyawa yang terdapat di dalam minuman berenergi adalah niasin. Senyawa niasin pada penelitian ini diduga dapat mengakibatkan akumulasi lemak di dalam sel hepatosit. Kandungan niasin dalam minuman berenergi berpotensi mampu meningkatkan perlemakan dan fibrosis pada sel hepatosit sehingga sel hepatosit mengalami pembengkakan [41].

### Hepatosomatic Index.

*Hepatosomatic index* merupakan salah satu nilai fundamental dalam diagnosa kerusakan organ hepar [42]. Berdasarkan Tabel 1, nilai *Hepatosomatic index* pada P4 lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan nilai *Hepatosomatic index* pada kelompok kontrol (P0). Peningkatan *hepatosomatic indeks* diduga dosis minuman berenergi pada P4 merupakan dosis tertinggi yang diberikan dalam penelitian ini. Akumulasi senyawa kandungan minuman berenergi mengakibatkan kenaikan bobot hepar sehingga *Hepatosomatic Index* mengalami peningkatan. Akumulasi kandungan senyawa niasin dan aspartam dalam minuman berenergi berpotensi sebagai penyebab peningkatan *Hepatosomatic Index* dan bobot hepar. Senyawa aspartam memiliki efek toksik karena menginduksi peradangan dan mekanisme sel apoptosis pada sel hepar, selain itu aspartam juga dapat meningkatkan kandungan lemak dalam organ hepar [43]. Konsumsi niasin dalam dosis tinggi dapat menyebabkan abnormalitas fungsi hepar [44].

### Gambar 1. Kondisi dan struktur hepatosit tikus wistar pada kelompok P0 (A), P1 (B), P2 (C), P3 (D), dan P4 (E).

#### Deskripsi Histologi Hepar.



Keterangan: A1. Saluran empedu, A2. Arteri hepatic, A3. Sel hepatosit inti normal, A4. Sel hepatosit inti bengkak keruh, A5. Hemoragi, A6. Sel hepatosit binukleat, A7. Sinusoid, B1. Kongesti darah, B2. Mallory body, C1. Vakuolisasi sel, C2. Hemoragi, C3. Kongesti vena portal, D1. Infiltrasi seluler, D2. Lipidosis, D3. Kongesti dan infiltrasi seluler vena portal, D4. Hemoragi, D5. Hipertrofi hepatosit, D6. Sel apoptosis, E1. Infiltrasi seluler, E2. Vakuolisasi sel. PV: Porta Vena. (Pewarnaan HE, Pengamatan menggunakan perbesaran 400x).

Histologi hepar (Gambar 1A) pada kelompok P0 memberikan gambaran normal namun disertai beberapa perubahan degenerasi seperti adanya inti sel hepatosit yang mengalami pembengkakan keruh, hemoragi, serta kongesti pada vena portal. Perubahan degenerasi sel yang terjadi pada kelompok P0 kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor fisiologi, genetik, serta kondisi lingkungan yang tidak dapat dikontrol selama penelitian. Perubahan degenerasi yang terjadi pada tikus wistar merupakan hasil respons tubuh tikus terhadap



kondisi lingkungan yang abnormal, umur hidup, mikroorganisme patogen, makanan yang dikonsumsi, trauma dan faktor keturunan atau genetik [45]. Kerusakan sel juga dapat disebabkan oleh tingkat radikal bebas (ROS) yang tinggi dan tidak bisa dinetralisir oleh sel tersebut. ROS dapat menyebabkan terjadinya mekanisme peradangan sel dan menimbulkan kerusakan pada jaringan tersebut [46].

Kelompok tikus P1 atau dosis terendah minuman berenergi menunjukkan adanya kongesti darah dan badan Mallory-Denk pada jaringan hepar tersebut (Gambar 1-B). Kongesti darah pada hepar dapat terjadi karena intensitas aliran darah yang diterima oleh hepar tidak mampu dikontrol dengan baik. Kongesti pada hepar terjadi karena tekanan aliran darah yang tinggi dialirkan oleh vena portal dan kemudian menimbulkan terjadinya atrofi hepatosit sehingga terjadi kerusakan sel [47]. Kongesti dalam hepar merupakan salah satu tanda awal terjadinya fibrosis dan jika kondisinya cukup parah akan menimbulkan sirosis pada hepar [48]. Badan *Mallory-Denk* merupakan kerusakan sel hepatosit yang ditandai dengan inklusi keratin ke dalam sel hepatosit. Kerusakan sel hepatosit seperti pembengkakan bentuk sel hepatosit dapat menjadi penyebab ditemukannya badan *Mallory* karena dapat merusak struktur keratin sehingga keratin bergabung dan menginklusi sel hepatosit (*cytokeratins*) [44].

Gambar 1-C menunjukkan histologi hepar kelompok P2, ditandai dengan adanya 3 macam kerusakan histologi, yaitu kongesti pada vena portal, vakuolisasi hepatosit, dan hemoragik (pendarahan). Jumlah hepatosit yang mengalami vakuolisasi meningkat jika dibandingkan dengan kelompok P1. Peningkatan jumlah hepatosit tervakuolisasi berdasarkan pada Gambar 1, sejalan dengan jumlah dosis minuman berenergi yang diberikan pada tikus wistar. Hal tersebut dikarenakan peningkatan dosis konsumsi minuman berenergi yang masuk ke dalam hepar akan diikuti dengan peningkatan jumlah hepatosit yang tervakuolisasi bertujuan untuk menjaga cadangan glikogen dalam sel sebagai upaya mekanisme pertahanan sel melawan senyawa

toksik. Pembengkakan (vakuolisasi) sel hepatosit akan mengaktifkan *glikogen synthase phosphatase* sehingga terjadi sintesis glikogen dari glukosa sehingga glikogen terakumulasi di dalam sel hepatosit [49]. Keberadaan NAD dan NADP yang merupakan hasil biosintesis niasin dapat menghambat produksi ATP serta apabila cadangan glikogen dalam sel hepatosit telah habis, maka proses degradasi sel akan terjadi. Kasus hemoragik (pendarahan) pada sel hepar merupakan akibat yang dihasilkan dari mekanisme peradangan sel hepatosit [50].

Histomorfologi hepar pada kelompok P3 (Gambar 1-D) memperlihatkan adanya 4 jenis kerusakan sel hepatosit yang berbeda dari perlakuan sebelumnya, yaitu lipidosi, infiltrasi leukosit, sitomegali hepatosit (hipertrofi), dan apoptosis sel hepatosit. Lipidosi terjadi akibat adanya droplet lipid di dalam sitoplasma sel hepatosit. Lipidosi yang ditemukan pada kelompok perlakuan P3 tergolong ke dalam *microvesicular steatosis*. Kasus infiltrasi seluler yang ditemukan pada kelompok P3 merupakan tanda bahwa kondisi patologik hepar semakin akut. Infiltrasi sel mononukleus yang terjadi dalam jaringan hepar merupakan upaya perbaikan organ hepar setelah mengalami nekrosis dan inflamasi sel kronis. Kasus kerusakan sel berikutnya yang terjadi pada kelompok P3 adalah ditemukannya sel apoptosis pada sel hepatosit. Apoptosis merupakan salah satu mekanisme kematian sel yang sering dijumpai pada sel hepatosit, namun peran mekanisme apoptosis sel ketika terjadi kerusakan organ hepar tidak selalu bersifat memperparah namun bisa juga menjadi salah satu mekanisme perbaikan dan pertahanan sel hepatosit. Kasus patologik terakhir yang ditemukan pada gambaran histologi sel hepar adalah sitomegali hepatosit. Sitomegali hepatosit merupakan kondisi dimana sitoplasma pada hepatosit mengalami pembengkakan dan berisi lebih dari satu nukleolus. Sitomegali hepatosit termasuk kedalam kondisi ketika sel hepatosit mengalami hipertrofi.

Histologi hepar pada kelompok perlakuan P4 (Gambar 1-E) menunjukkan indikasi 2 jenis



kerusakan sel, yaitu infiltrasi sel mononukleus dan vakuolisasi pada hepatosit. Perlakuan P4 merupakan pemberian dosis perlakuan minuman berenergi tertinggi dalam penelitian ini. Hampir seluruh kerusakan sel hepatosit yang terjadi pada seluruh kelompok perlakuan sebelumnya dapat ditemukan pada kelompok tikus wistar P4. Kasus kerusakan sel yang paling mudah ditemukan dalam gambaran histologi P4, yaitu adanya vakuolisasi sel hepatosit. Kerusakan sel hepatosit yang terjadi pada seluruh kelompok perlakuan merupakan akibat dari akumulasi kandungan senyawa yang terdapat pada minuman berenergi. Senyawa yang berpotensi menimbulkan terjadinya beberapa perubahan pada sel hepatosit antara lain, yaitu niasin, taurin, kafein, dan aspartam. Hal tersebut didukung oleh beberapa hasil penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya. Konsumsi kafein dosis tinggi dalam minuman berenergi mengakibatkan terjadinya peningkatan tekanan darah dalam organ jantung, hal itu menjadi salah satu faktor terjadinya kongesti pada organ hepar [51]. Minuman berenergi yang mengandung aspartam dengan dosis 50 mg/kg bb/hari dan 75 mg/kg bb/hari yang diberikan pada tikus wistar selama 28 hari menimbulkan degenerasi hidrofik sel hepatosit tikus wistar [52]. Senyawa niasin dalam minuman berenergi dapat menghasilkan metabolit berupa nikotinamid adenin. Metabolit nikotinamid adenin menginduksi terjadinya nekrosis pada sel hepatosit [53].

## PENUTUP

### Kesimpulan

Pemberian minuman berenergi dapat merusak histologi jaringan hepar tikus wistar ditandai dengan beberapa gejala kerusakan sel yang ditemui pada setiap histologi jaringan kelompok perlakuan. Histologi hepar tikus mulai mengalami kerusakan saat diberikan perlakuan minuman berenergi dengan dosis 76 mg/200 g BB/hari yang ditandai oleh adanya kongesti dan inklusi *Mallory Body* pada jaringan hepar.

### Saran

Penelitian ini terbatas pada perubahan struktur histologis hepar, bobot hepar, bobot

badan, *Hepatosomatic Index*, konsumsi pakan dan minum, akan lebih baik jika dilakukan studi lanjut mengenai analisis imunohistokimia dan analisis lebih lanjut mengenai kerusakan fungsi hepar akibat konsumsi minuman berenergi.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2018. *Statistik Konsumsi Pangan*.
- [2] Curran, C.P., and Marczinski C.A. 2017. Taurine, Caffeine, and Energy Drinks: Reviewing The Risks to The Adolescent Brain. *Birth Defects Res* 109 (20): 1640-1648.
- [3] Food and Drug Administration. 2018. *Highly Concentrated Caffeine in Dietary Supplements : Guidance for Industry*. Food and Drug Administration.
- [4] Putra, N.A.S.N, Erma S., dan Jauhar F. 2017. Pengaruh Pemberian Niasin dan Kafein dalam Model Minuman Berenergi terhadap Fisiologi Hepar Tikus Wistar Jantan. *e-Journal Pustaka Kesehatan* 5 (3): 517-524.
- [5] Mansy, W., Deema M.A., Mona H., and Anas Z. 2017. Effects of Chronic Consumption of Energy Drinks on Liver and Kidney of Experimental Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 16 (12): 2850-2856.
- [6] Smith, J.B, dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di daerah Tropis*. Jakarta: UI-Press.
- [7] McCormick, D.L. 2017. In *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*, by Ali S. Faqi, 273-292. San Diego: El Sevier.
- [8] Weber, K. 2011. Differences in Rat Models Used in Routine Toxicity Studies. *International Journal of Toxicology* 163-172.
- [9] Shin, J.W., In-Chan S., and Chang-Gue S. 2010. Interpretation of Animal Dose and Human Equivalent Dose for Drug Development. *The Journal of Korean Oriental Medicine* 31 (3): 1-7.



- [10] Putriastuti, R., Lilik K., dan Anwar F. 2007. Persepsi, Konsumsi dan Preferensi Minuman Berenergi. *Jurnal Gizi dan Pangan* 2 (3): 13-25.
- [11] Al-Shaar, L., Kelsey A. V., Lu C., Richardson S., Tamez M., and Mattei J. 2017. Health Effects and Public Health Concerns of Energy Drink Consumption in the United States: A Mini-Review. *Public Health* 5 (225): 1-6.
- [12] Vercammen, K.A., Wyatt J. K., and Bleich S. N. 2019. Trends in Energy Drink Consumption Among U.S. Adolescents and Adults, 2003-2016. *Preventive Medicine* 56 (6): 827-833.
- [13] Temple, J.L. 2019. Review: Trends, Safety, and Recommendations Caffeine Use in Children and Adolescents. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry* 36-45.
- [14] Temple, J.L, Christophe B., Lipshultz S.E., Czachor J.D., Westphal J.A., and Mestre M.A. 2017. The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Front Psychiatry* 8 (80): 1-19.
- [15] Depaz, B. IM., Toselli F., Wilce P.A., and Gillam E.M. 2015. Differential Expression of Cytochrome P450 Enzymes from The CYP2C Subfamily in The Human Brain. *Drug Metab Dispos* (43): 353-357.
- [16] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2018. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 1 Tahun 2018 tentang Pengawasan Pangan Olahan untuk Keperluan Gizi Khusus.
- [17] Wilson, C. 2018. The Clinical Toxicology of Caffeine: A Review And Case Study. *Toxicology Reports* 5: 1140-1152.
- [18] Higgins, J.P., Troy D.T., and Christopher L.H. 2010. Energy Drink Beverages : Content and Safety. *Mayo Clinic Proceedings* 85 (11): 1033-1041.
- [19] Gasperi, V., Matteo S., Isabella S., and Maria V. C. 2019. Niacin in The Central Nervous System: An Update Of Biological Aspects and Clinical Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 20 (974): 1-26.
- [20] Penberthy, T.W., and Kirkland, J.B. 2012. Niacin. *Present Knowledge in Nutrition* 293-306.
- [21] Johnson, L.E. 2019. *Niacin Toxicity*. <https://www.merckmanuals.com/professional/nutritional-disorders/vitamin-deficiency,-dependency,-and-toxicity/niacin-toxicity>.
- [22] Apestegui, C.A., Olivier J., Cicarelli O., and Lerut J. 2011. Energy Drink: Another Red Flag for the Liver Allograft. *Liver Transplantation* 17 (9): 1117-1118.
- [23] Bryant, B.S. 2015. *The Mechanism for Niacin Associated Flushing and Hepatotoxicity*. <https://www.ebmconsult.com/articles/niacin-mechanism-liver-hepatotoxicity-flushing>. diakses pada 18 April 2020
- [24] Muharni, S., Sari D.R., and Yolanda. 2019. Pengetahuan Masyarakat Tentang Suplemen Minuman Berenergi Terhadap Risiko Penyakit Ginjal Kronik di Kelurahan Simpang Baru Kecamatan Tampan Pekanbaru. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia* 8 (2): 80-84.
- [25] Widyarini. 2014. Perilaku Konsumsi Minuman Energi pada Sopir Pete Pete Trayek Sudiang Kota Makassar. [http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/12345\\_6789/11436/WIDYARINI](http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/12345_6789/11436/WIDYARINI). [Diakses pada 6 April 2020]
- [26] Lee, W.M. 2003. Drug Induced Hepatotoxicity. *New England Journal of Medicine* 349 (5): 474-485.
- [27] Graham, M.J, and Lake B.G. 2008. Induction of Drug Metabolism: Species Differences and Toxicological Relevance. *Toxicology* 254: 184-191.
- [28] Chiang, J. 2014. Liver Physiology: Metabolism and Detoxification. In *Pathobiology of Human Disease, 1770-1782*. San Diego: Elsevier.
- [29] Huang, B., Kunkel D., and El Kabany M. 2014. Acute Liver Failure Following One Year of Daily Consumption of a Sugar-Free



- Energy Drink. *ACG Case Reports Journal* Vol.1 (4): 214-216.
- [30] Hardisty, J.F., and Amy E.B. 2005. Comparative Hepatic Toxicity: Prechronic/Chronic Liver Toxicity. *Toxicologic Pathology* 33: 35-40.
- [31] Harb, J. N., Taylor A.Z., Khullar V., and Sattari M. 2016. *Rare Cause of Acute Hepatitis: A Common Energy Drink*. Florida: BMJ Case Report.
- [32] Guicciardi, M.E., Malhi, J., L. Mott H., and J. Gores G. 2013. Apoptosis and Necrosis in The Liver. *Compr Physiol* 3 (2): 1-62.
- [33] Laurence, D.R., and Bacharach A.L. 1964. *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics*. Vol. 1. Elsevier. Inc.
- [34] Rolls, G. 2019. 101 Steps To Better Histology. Leica Biosystem, Ltd.
- [35] Adjene, J., Emojevwe, V., and Idiapho, D. 2014. Effects of long-term consumption of energy drinks on the body and brain weights of adult Wistar rats. *Journal of Experimental and Clinical Anatomy*, 13(1), 17. <https://doi.org/10.4103/1596-2393.142925>
- [36] Azeez, O., and Alkass, S. Y. (2018). Effect Of Long-Term Consumption Of Aspartame On Body Weight. *International Journal of Current Advanced Research*, 7(1): 14464-14474.
- [37] Brown, R., Walter, M., and Rother, K. 2009. Ingestion of diet soda before a glucose load augments glucagonlike peptide-1 secretion. *Diabetes Care*, 32(12): 2184–2186.
- [38] Malik, V. S., Schulze, M. B., and Hu, F. B. 2006. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: A systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84(2),274–288.
- [39] López-Soldado, I., Zafra, D., Duran, J., Adrover, A., Calbó, J., and Guinovart, J. J. 2015. Liver glycogen reduces food intake and attenuates obesity in a high-fat diet-fed mouse model. *Diabetes*, 64(3), 796–807. <https://doi.org/10.2337/db14-0728>
- [40] Moser, Virginia. 2010. Behavioral Screening for Toxicology. *Comprehensive Toxicology* Vol.20: 337-350.
- [41] Leung, K., Michael Q., Zhengshan C., Gary K., and Neil K. 2018. Niacin-Induced Anicteric Microvesicular Steatotic Acute Liver Failure. *Hepatology Communications* Vol.2 (11): 1293-1298.
- [42] Tag, H.M. 2015. Hepatoprotective effect of mulberry (*Morus nigra*) leaves extract against methotrexate induced hepatotoxicity in male albino rat. *Complementary and Alternative Medicine* 15 (252): 1-9.
- [43] Othman, S. I., & Jumah, M. B.-. (2019). Histopathological Effect of Aspartame on Liver and Kidney of Mice. *International Journal of Pharmacology*, 15(3), 336–342.
- [44] Stephens, J.K., and G.H. Warren. 2010. Liver Histopathology . *GI/Liver : Secret Plus Fourth Edition*, by P.R. McNally, 239-248. Elsevier.
- [45] Eweka, A.O., Igbigbi P.S., and R.E. Ucheya. 2011. Histochemical Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Liver of Adult Wistar Rats. *Annals of Medical and Health Sciences Research* 1 (1): 21-29.
- [46] Mittal, M., R.S. Mohammad, T. Khiem, P.R. Sekhar, and B.M. Asrar. 2014. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxidants & Redox Signaling* 20 (7): 1126-1167.
- [47] Wells, M.L, R.F. Eric, T.P. Joseph, M.H. David, M.Y. Phillip, A.A. Philip, L.E. Richard, and K.V. Sudhakar. 2016. Imaging Findings of Congestive Hepatopathy. *Gastrointestinal Imaging* 36 (4): 1024-1037.
- [48] Hidaka, H., and Iwakiri Y. 2015. Hepatic Congestion Leads to Fibrosis: Findings in a Newly Developed Murine Model. *Hepatology* Vol. 61 (2): 428-430.
- [49] Lorz, C., P. Justo, A.B. Sanz, J. Egido, and A. Ort'z. 2005. Role of Bcl-xL in paracetamol-induced tubular epithelial cell death. *Kidney International* 67: 592-601.
- [50] Edwards, L., and Wanless I.R. 2013. Mechanisms of liver involvement in systemic disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 27: 471-483.



- 
- [51] Wadhawan, M., and Anand A.C. 2016. Coffee and Liver Disease. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 6 (1): 40-46.
- [52] Rafwiani, Z., and Suryani D. 2018. Minuman berenergi mengandung aspartam merusak hepar tikus jantan. *Anatomica Medical Journal* 1 (1): 34-43.
- [53] Bitterman, K.J., R.M. Anderson, H.Y. Cohen, M Latorre-Esteves, and D.A. Sinclair. 2002. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. *Journal of Biological Chemistry* 277 (47): 45099-45107.