

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

Oleh
Nikom Sonia Purohita



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR *Sprague dawley***

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**

Oleh

Nikom Sonia Purohita



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Penelitian : **PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

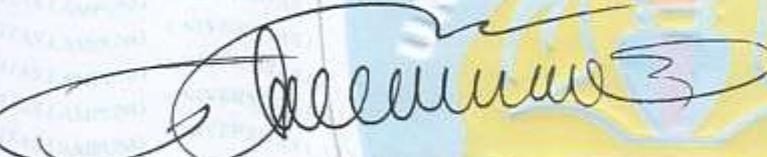
Nama Mahasiswa : Nikom Sonia Purohita

Nomor Pokok Mahasiswa : 1518011107

Program Studi : Pendidikan dokter

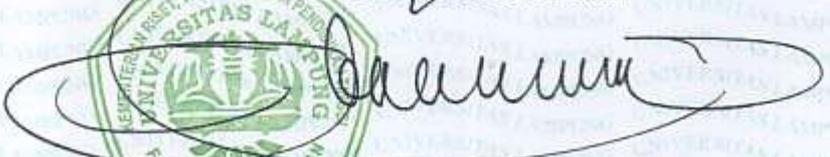
Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI
Komisi Pembimbing


Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP. 197012082001121001


dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm
NIP. 198410202009122005

Dekan Fakultas Kedokteran

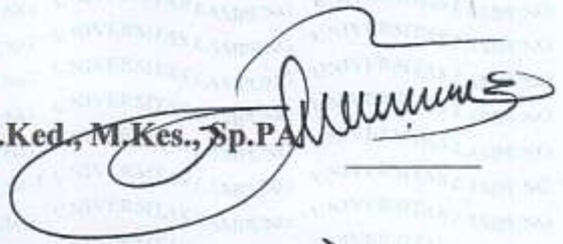


Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP. 197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua

: **Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA**



Sekretaris

: **dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm**



Penguji
Bukan Pembimbing

: **Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes**

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 19701208 2001121001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 14 Januari 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*RattusNorvegicus*) Jantan Galur *Sprague Dawley*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya orang lain yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.



Bandar Lampung, 21 Januari 2019

Nikom Sonia Purohita
NPM. 1518011107

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Nikom Sonia Purohita. Penulis dilahirkan di Tulang Bawang pada 15 September 1997 sebagai anak ketiga dari lima bersaudara dari pasangan I Nyoman Alit dan Nyoman Sukeni. Saat ini penulis bertempat tinggal di desa Jaya Makmur kecamatan Banjar Baru, Kabupaten Tulang Bawang.

Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak-kanak di TK Swasembada Unit 5 Kahuripan Jaya pada tahun 2001-2003 lalu melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Kahuripan Jaya. Pada tahun 2009, penulis menempuh pendidikan menengah di SMPN 1 Banjar Agung hingga tahun 2012. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di Kota Metro yaitu di SMAN 1 Metro dan lulus pada tahun 2015.

Pada Agustus 2015, Penulis diterima sebagai mahasiswa di jurusan pendidikan dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan pada organisasi PMPATD Pakis Rescue Team. Penulis diamanahkan menjadi ketua divisi satuan tugas dan logistik PMPATD Pakis Rescue Team periode 2017/2018. Penulis juga aktif dalam organisasi Perhimpunan Tim Bantuan Mahasiswa Medis Kedokteran Indonesia (PTBMMKI) selama 2 tahun kepengurusan tepatnya pada divisi administrasi organisasi.

*Kepersembahkan karya sederhana
ini kepada kedua orang tuaku,
kakak, dan adikku tercinta*

SANWACANA

Segala puji dan syukur penulis haturkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa, Tuhan Yang Maha Esa yang selalu melimpahkan kasih dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan menyusun skripsi ini.

Skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattuss norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*”** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akim, M.P selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan sekaligus pembimbing utama skripsi atas kesediannya dalam memberikan waktu, bimbingan, motivasi, serta kritik dan saran dalam proses penyusunan skripsi ini.
3. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm selaku pembimbing kedua skripsi atas kesediannya memberikan waktu, bimbingan, motivasi, serta saran dan kritik dalam proses penyusunan skripsi ini.

4. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes selaku pembahas skripsi atas kesediaannya memberikan waktu, ilmu, motivasi, kritik, dan saran selama proses penyelesaian skripsi ini.
5. dr. Anggraini Janar Wulan, S.Ked., M.Sc sebagai pembimbing akademik atas bimbingan, nasehat, dan arahan yang diberikan selama perkuliahan termasuk dalam proses penyusunan skripsi ini.
6. Ayah dan Ibu tercinta, I Nyoman Alit dan Nyoman Sukeni atas segala pengorbanan, motivasi, kasih sayang, doa, dan dukungan yang senantiasa dicurahkan kepada penulis. Terima kasih selalu menguatkan dan memberikan motivasi terbesar kepada penulis hingga saat ini.
7. Saudara kandung penulis, Luh Putu Ayu Widiari, Made Laksmi Meiliana, Gede Ananta, dan Made Nitya Sidhanta atas segala motivasi dan kasih sayang yang dicurahkan kepada penulis.
8. Seluruh keluarga besar dan kerabat penulis yang senantiasa memberikan dukungan dan doa untuk menyelesaikan pendidikan kedokteran.
9. Seluruh dosen pengajar dan civitas akademik atas segala ilmu, bimbingan, dan bantuan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran.
10. Angkatan 2015 Endomisiun atas segala perjuangan bersama, kebaikan, dan bantuan yang senantiasa dicurahkan selama 3,5 tahun menempuh pendidikan ini.
11. PMPATD Pakis Rescue Team sebagai keluarga kedua yang memberikan kesempatan kepada penulis untuk menemukan teman-teman sejati dan

mendapatkan ilmu yang berharga. Terima kasih juga disampaikan kepada divisi satgaslog periode 2017/2018 atas kerjasama yang diberikan.

12. Tim bimbingan skripsi yaitu Wulan Alawiyah, Reihansyah Deswindra, Fadila Rahayu, Joko Widodo, M.Muizzulatif, Lia Qelina, M. Rizki F, dan Nabil Abdurrahman atas segala bantuan dan kebaikan yang diberikan selama penyusunan skripsi ini.
13. dr. Hanriko, S.Ked., Sp.PA dan Mas Bayu yang telah bersedia memberikan bantuannya pada penelitian ini.
14. Keluarga Besar *Animal House* Fakultas Kedokteran Unila atas segala bantuan dan canda tawa yang dibagikan selama penelitian sehingga penulis dapat melakukan penelitian dengan suka cita.
15. Sahabat karib penulis, Helen Kusuma Wardani dan Made Ayu Purnama Sari yang telah bersedia menghabiskan hampir seluruh waktunya selama di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung bersama penulis dan senantiasa memberikan bantuan dan dukungan yang tak terhingga.
16. Sahabat mendaki gunung, Bahesty Cut, Aldi Setia, Retno Julianingrum, Rachmatia, Reandy Ilham, dan Ghalib yang senantiasa memberikan dukungan dan bantuan selama perkuliahan maupun penyusunan skripsi.
17. Keluarga Pakis SC10 Andhika Yuda, Sukma, Balqis, Luthfi, Efry, Josi, Brandon, Thare, Sany, Melati, Eva, Lidya, Angel, Christi, Alfia, Dhea, Melati, Nyoman, dan Refi yang selalu memberikan dukungan kepada penulis saat dibutuhkan.

18. Tim IMSPQ Dr. dr. Khairunnisa Berawi, M.Kes, Adela, Semadela, dan Alvin atas perjuangan yang pernah dilakukan bersama dan motivasi yang selalu diberikan.
19. Sahabat-sahabat penulis Citra, Angie, Dila, Yati, Sari, dan Fiana terima kasih atas segala bentuk kebaikan yang diberikan. Terima kasih juga disampaikan kepada Hendro, Edmundo, Veny, Adillah, Astrid, Citara, dan Maya yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
20. Tutorial 9 semester 7 yang sungguh berkesan Zihan, Arinda, Rachma, Azzibaginda, Nadhia Khairunisa, Nadia Gustria, Kak Agung, Danang, Oti, dan Iges. Terima kasih atas canda tawa dan dukungan yang diberikan selama semester 7 ini.
21. Semua pihak yang telah turut serta memberikan bantuan dan doa selama peneliti menempuh pendidikan dan menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Untuk itu, penulis mengharapkan segala kritik dan saran yang membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap penelitian yang dilakukan dan skripsi yang disusun ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca. Semoga segala bimbingan, dukungan, dan saran yang diberikan mendapat balasan dari Tuhan.

Bandar Lampung, 9 Januari 2019

Penulis

Nikom Sonia Purohita

ABSTRACT

THE EFFECTS OF CARBONATED SOFT DRINK ADMINISTRATION ON LIVER HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN MALE RATS (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* STRAIN

By

Nikom Sonia Purohita

ABSTRACT

Background: Carbonated soft drinks are beverages made by absorbing carbon dioxide in potable water with or without various added substances. Carbonated soft drinks consumption shows a significant increase in the world including in Indonesia and have been associated with various health problems involving multiple organs including the liver. The aim of this research is to determine the effects of carbonated soft drink administration on liver histopathological changes in rats.

Methods: This research is a post-test only control group experimental study using 28 male rats (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* strain which divided into 4 groups. The control group (K) allowed to drink aquades ad libitum, P1 is given carbonated soft drinks 3 ml/day, P2 6 ml/day, and P3 12 ml/day for 30 days. Histopathological changes are assessed using Manja Roenigk's scoring.

Results: The average of histopathological damage in group K:1.03, P1:1.43, P2:1.73, and P3:2.37. Test of normality Saphiro-Wilk results in p value= 0.061 ($p>0.05$) followed by Lavene homogeneity with $p=0.117$ ($p>0.05$). The data was analysed by using One Way ANOVA test result in $p=0.001$ ($p<0.05$). The results of Post Hoc LSD analysis are $p<0.05$ in all groups.

Conclusion: There is an effect of carbonated soft drinks administration on liver histopathological changes of male rats (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* strain.

Keywords: carbonated soft drink, histopathological changes, liver

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*

Oleh

Nikom Sonia Purohita

Latar Belakang: Minuman ringan berkarbonasi adalah minuman yang dibuat dengan menyerap karbon dioksida dalam air minum dengan atau tanpa berbagai zat tambahan. Konsumsi minuman ringan berkarbonasi menunjukkan peningkatan yang signifikan di dunia termasuk di Indonesia dan dikaitkan dengan timbulnya berbagai masalah kesehatan yang melibatkan berbagai organ termasuk hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh minuman ringan berkarbonasi terhadap histopatologi hepar tikus.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group* menggunakan sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* sebanyak 28 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok. K diberi aquades secara *ad libitum*, P1 diberi minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 3 ml/hari, P2 6 ml/hari, dan P3 dengan dosis 12 ml/hari selama 30 hari. Gambaran kerusakan dinilai dengan skoring Manja Roenigk.

Hasil: Rerata skor kerusakan histopatologi pada K: 1,03, P1:1,43, P2: 1,73, dan P3: 2,37. Uji statistik yang dilakukan yaitu uji normalitas Saphiro-Wilk $p=0,061$ ($p>0,05$), uji homogenitas Lavene $p=0,117$ ($p>0,05$), dan uji One Way ANOVA $p=0,001$ ($p< 0,05$). Hasil analisis Post Hoc LSD dengan hasil $p<0,05$ pada semua kelompok.

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

Kata Kunci: hepar, minuman ringan berkarbonasi, perubahan histopatologi

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR	II
DAFTAR TABEL.....	III
DAFTAR LAMPIRAN.....	IV
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Minuman Ringan Berkarbonasi	6
2.2 Hepar.....	11
2.3 Tikus Putih.....	17
2.4 Jejas Sel.....	19
2.5 Kerangka Teori	21
2.6 Kerangka Konsep.....	25
2.7 Hipotesis Penelitian	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Desain Penelitian	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
3.3 Populasi dan Sampel	27
3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	29
3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional.....	30
3.6 Prosedur Penelitian	37
3.7 Analisis Data.....	39
3.8 <i>Ethical Clearance</i>	40
BAB IV PEMBAHASAN.....	41
4.1 Hasil Penelitian	41
4.2 Pembahasan.....	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Anatomi Hepar Dari Sisi Posterior.	11
Gambar 2. Gambaran Histologi Hepar Manusia.....	16
Gambar 3. <i>Rattus norvegicus</i> Galur <i>Sprague dawley</i>	18
Gambar 4. Kerangka Teori.....	24
Gambar 5. Kerangka Konsep	25
Gambar 6. Diagram Alur Penelitian.....	36
Gambar 7. Gambaran Histopatologi K1 Perbesaran 400x.....	42
Gambar 8. Gambaran Histopatologi P1 Perbesaran 400x.....	43
Gambar 9. Gambaran Histopatologi P2 Perbesaran 400x.....	44
Gambar 10. Gambaran Histopatologi P3 Perbesaran 400x.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	17
Tabel 2. Definisi Operasional	32
Tabel 3. Skoring Manja Roenigk Modifikasi.....	35
Tabel 4. Hasil Skoring Manja Roenigk.....	46
Tabel 5. Hasil Analisis <i>Post Hoc</i> LSD.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto-Foto Penelitian.....	63
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i>	66
Lampiran 3. Hasil Pembacaan Preparat Histopatologi.....	67
Lampiran 4. Hasil Analisis Data.....	69
Lampiran 5. Sertifikat Sampel Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	73

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minuman ringan berkarbonasi (*carbonated soft drink*) adalah minuman yang dibuat dengan menyerap karbon dioksida dalam air minum dengan atau tanpa berbagai zat tambahan (FAO, 2010). Kafein, sakarin, fruktosa, asam benzoat, asam sorbat, aspartam dan asam fosfat adalah zat-zat yang sering ditambahkan ke dalam minuman ringan berkarbonasi (Berawi dan Dzulfiqar, 2017).

Dewasa ini, konsumsi minuman ringan berkarbonasi menunjukkan peningkatan yang signifikan di dunia termasuk di Indonesia khususnya dikalangan dewasa muda (O'Leary *et al.*, 2012). Menurut Zenith International, konsumsi minuman ringan berkarbonasi di dunia mencapai 498 miliar liter yang setara dengan 77 liter setiap orang per tahun pada 2005. Jumlah ini meningkat pada tahun 2007 hingga 552 miliar yang setara dengan 82,5 liter setiap orang per tahun dan terus meningkat dari tahun ke tahun. Menurut Beverage Marketing Corporation, konsumsi minuman ringan berkarbonasi di Amerika Serikat tahun 2012 mencapai 29,8 miliar galon sedangkan di Inggris mencapai angka 14,5 miliar liter pada tahun 2013. Di Indonesia sendiri, sebuah riset dilakukan pada 5 kota besar yaitu Jakarta, Surabaya, Semarang, Medan, dan Makassar dengan jumlah responden 1000

remaja usia 13-18 tahun dengan hasil bahwa konsumsi minuman ringan berkarbonasi pada remaja rata-rata 2 kaleng dalam satu minggu (Murti *et al.*, 2016). Sedangkan hasil survey yang dilakukan oleh Nusa Research (2014) menunjukkan dari total responden yang disurvei, sejumlah 30% responden meminum minuman ringan berkarbonasi sebanyak 2-3 kali per minggu selama 3 bulan terakhir.

Konsumsi minuman ringan berkarbonasi yang tinggi dikaitkan dengan berbagai masalah kesehatan. Beberapa studi epidemiologi menunjukkan konsumsi minuman ringan berkarbonasi secara kronis berhubungan dengan obesitas, penyakit ginjal, hati, dan osteoporosis (Basu *et al.*, 2013). Sebanyak 88 studi meta-analisis yang dilakukan, didapatkan beberapa hubungan antara konsumsi minuman ringan berkarbonasi dengan output gizi dan kesehatan. 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 diastolik (Vartanian *et al.*, 2007).

Berbagai masalah kesehatan yang timbul akibat konsumsi minuman ringan berkarbonasi melibatkan beberapa organ termasuk ginjal, hepar, gaster, esofagus, otak, pankreas, dan lain-lain. Hepar merupakan salah satu organ yang mendapat pengaruh cukup besar. Hepar memiliki fungsi yang sangat kompleks termasuk berperan dalam metabolisme tubuh sehingga organ ini banyak terpapar oleh xenobiotik (Murti *et al.*, 2016). Fungsi hepar yang berkaitan dengan metabolisme sangat kompleks sehingga pengaruh yang

ditimbulkan secara histopatologi akibat konsumsi minuman ringan berkarbonasi juga cukup banyak beberapa diantaranya yaitu timbulnya edema, perlemakan hati, inflamasi dan fibrosis (Alkhedaide *et al.*, 2016). Asupan minuman ringan berkarbonasi yang berlebihan merupakan salah satu faktor yang bisa meningkatkan transfer asam lemak bebas ke hati dan akumulasi trigliserida hepatic yang menyebabkan *fatty liver* (Lebda *et al.*, 2017). Salah satu kandungan minuman ringan berkarbonasi yaitu fruktosa memiliki efek lipogenesis de novo dan deplesi ATP sehingga akan menyebabkan akumulasi lemak di hati, hal ini berhubungan dengan terjadinya *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)* (Ouyang *et al.*, 2008). Peningkatan konsumsi *high fructose corn syrup* terutama dalam bentuk minuman ringan berkarbonasi berkaitan dengan komplikasi dari sindrom resistensi insulin. Kandungan lainnya yaitu aspartam dan karamel yang kaya akan produk glikasi, berpotensi meningkatkan resistensi insulin dan inflamasi (Nseir *et al.*, 2010).

Dengan melihat banyaknya masalah kesehatan yang dapat timbul akibat konsumsi minuman ringan berkarbonasi terutama terhadap organ hepar, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian langsung mengenai pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

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

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan peneliti dan sebagai bentuk aplikasi ilmu terutama pada bidang patologi anatomi.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Memberikan wawasan kepada masyarakat mengenai pengaruh yang dapat ditimbulkan oleh minuman ringan berkarbonasi terhadap kesehatan.

1.4.3 Bagi Peneliti Lain

Memberikan gambaran dan referensi untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan minuman ringan berkarbonasi dan efeknya bagi kesehatan serta kerusakan yang ditimbulkan khususnya pada organ hepar.

1.4.4 Bagi Pemerintah

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran kepada pemerintah mengenai bahaya dan efek negatif yang dapat ditimbulkan akibat minuman ringan berkarbonasi sehingga pemerintah bisa melakukan kontrol terhadap konsumsi minuman ringan berkarbonasi untuk menghindari efek negatif yang mungkin timbul.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Ringan Berkarbonasi

2.1.1 Pengertian Minuman Ringan Berkarbonasi

Minuman ringan adalah minuman yang tidak mengandung alkohol, merupakan minuman olahan dalam bentuk bubuk atau cair yang mengandung bahan makanan dan atau bahan tambahan lainnya baik alami maupun sintetik yang dikemas dalam kemasan siap untuk dikonsumsi. Minuman ringan diperoleh tanpa melalui proses fermentasi dengan atau tanpa pengenceran sebelum diminum, tetapi tidak termasuk air, sari buah, susu, teh, kopi, coklat, produk telur, produk daging, ekstrak sayur, sup, sari sayur dan minuman beralkohol (Cahyadi, 2013).

Minuman ringan dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan dasar yang digunakan. Minuman ringan dapat dikelompokkan berdasarkan kandungan gula, kandungan jus buah, perasa, tingkat karbonasi, dan lainnya (Kregiel *et al.*, 2014). Secara umum, minuman ringan dibedakan menjadi minuman ringan berkarbonasi (*carbonated soft drink*) dan minuman ringan tak berkarbonasi (*non carbonated soft drink*). Minuman ringan berkarbonasi (*carbonated soft drink*) adalah minuman yang dibuat

dengan menyerap karbon dioksida dalam air minum dengan atau tanpa berbagai zat tambahan (FAO, 2010).

2.1.2 Kandungan Minuman Ringan Berkarbonasi

Minuman ringan berkarbonasi beberapa komponen penyusun yaitu air, pemanis, karbon dioksida, asam, perasa, pewarna, bahan pengawet kimia, antioksidan, dan/atau bahan pembusa (Kregiel *et al.*, 2015).

a. Air

Kandungan air dalam minuman ringan berkarbonasi mencapai 90%. Air yang digunakan harus mempunyai kualitas tinggi yaitu jernih, tidak berbau, tidak berwarna, bebas dari organisme yang hidup dalam air, alkalinitasnya kurang dari 50 ppm, total padatan terlarut kurang dari 500 ppm dan kandungan logam besi dan mangan kurang dari 0,1 ppm (Garrow *et al.*, 2005). Air yang digunakan biasanya merupakan *softened water* untuk mencegah hilangnya rasa akibat residu klorin (Kragiel *et al.*, 2015). *Softened water* adalah air yang sudah mengalami pelunakan dan tingkat kesadahan sudah diturunkan (Sari, 2009). Kesadahan air perlu diturunkan karena kesadahan karbonat yang tinggi dapat menyebabkan minuman asam menjadi tidak lezat dan rasanya menjadi tawar. Air yang digunakan dalam industri minuman ringan juga tidak boleh mengandung mikroba pembusuk yang dapat tumbuh selama penyimpanan serta menyebabkan pengendapan (Kragiel *et al.*, 2015).

b. Bahan Pemanis

Bahan pemanis yang digunakan dalam minuman ringan berkarbonasi terbagi menjadi dua kategori yaitu:

1. Bahan pemanis natural (*nutritive*) terdiri dari gula pasir, gula cair, gula *invert* cair, sirup jagung dengan kadar fruktosa tinggi dan dekstrosa.
2. Bahan pemanis sintetik (*non nutritive*) contohnya sakarin (Garrow *et al.*, 2005). Sakarin memiliki tingkat kemanisan 300 kali lebih jika dibandingkan sukrosa tetapi meninggalkan rasa sedikit pahit setelah dikonsumsi (Eun-Ah *et al.*, 2017).

Sukrosa, glukosa, dan fruktosa adalah jenis pemanis karbohidrat alami yang sering digunakan. Sukrosa adalah bentuk disakarida yang terdiri dari glukosa dan fruktosa. Selain sakarin, pemanis yang digunakan secara luas pada minuman ringan berkarbonasi adalah HFCS (*high-fructose corn syrup*) (Eun-Ah *et al.*, 2017). HFCS adalah pemanis yang terbuat dari sari jagung yang telah diproses dengan glukosa isomerasi untuk mengubah glukosa menjadi fruktosa (Ma *et al.*, 2017).

c. Zat Asam dan Karbon Dioksida

Zat asam biasanya ditambahkan dalam minuman ringan berkarbonasi dengan tujuan untuk memberikan rasa asam, memodifikasi manisnya gula dalam sirup atau minuman (Garrow *et al.*, 2005). Pengatur keasaman juga berfungsi meningkatkan cita rasa dengan menyeimbangkan rasa manisnya serta sebagai pengawet alami

(Kragiel, 2015). Zat asam yang digunakan termasuk asam sitrat, asam fosfat, asam malat, asam tartarat, asam fumarat, dan lain-lain. (Garrow *et al.*, 2005). Asam sitrat biasanya merupakan pilihan pertama yang digunakan sebagai pengatur keasaman karena memiliki keuntungan yaitu meningkatkan aktivitas antioksidan dan menambahkan aroma. Asam fosfat memiliki efek yang kuat pada pH dan biasa digunakan pada beberapa minuman berkarbonasi karena memberikan cita rasa yang khas (Kragiel *et al.*, 2015). Penggunaan asam fosfat banyak diperdebatkan karena dinilai memiliki beberapa efek buruk terhadap kesehatan. Peningkatan asam fosfat pada darah “hiperfosfatemia“ akan menyebabkan kerusakan organ terutama ginjal. Hiperfosfatemia juga dapat menyebabkan kalsifikasi vaskular dan penyakit kardiovaskular (Calvo dan Urribari, 2013).

d. Pewarna

Zat pewarna untuk meningkatkan daya tarik minuman terdiri dari:

1. Zat pewarna natural misalnya dari strawberry, cherry, anggur dan lain-lain.
2. Zat pewarna semi sintetis misalnya karamel, pewarna ini digunakan secara luas sebagai pewarna minuman ringan berkarbonasi.
3. Zat pewarna sintetis (Kragiel *et al.*, 2015).

e. Bahan Pengawet

Zat pengawet kimia digunakan untuk memelihara keseimbangan mikrobiologi pada minuman. Penggunaannya berdasarkan karakteristik kimia dan fisika dari produk minuman maupun pengawetnya. Sorbitol sangat efektif dalam mengatasi bakteri, *yeast*, dan *molds*. Sorbitol biasanya digunakan kombinasi dengan benzoat. Asam benzoat digunakan secara luas pada minuman-minuman non alkohol, minuman ringan berkarbonasi, dan jus. Pengawet lain yang dapat digunakan yaitu asam sitrat yang juga berperan sebagai pengatur keasaman (Kragiel *et al.*, 2015).

f. Pemberi Aroma

Pemberi aroma ditentukan sendiri oleh industri dengan formula khusus, kadang telah ditambah dengan asam dan pewarna dalam bentuk ekstrak alkoholik, larutan alkoholik, emulsi, fruit juice, kafein, dan lain-lain (Kragiel *et al.*, 2015).

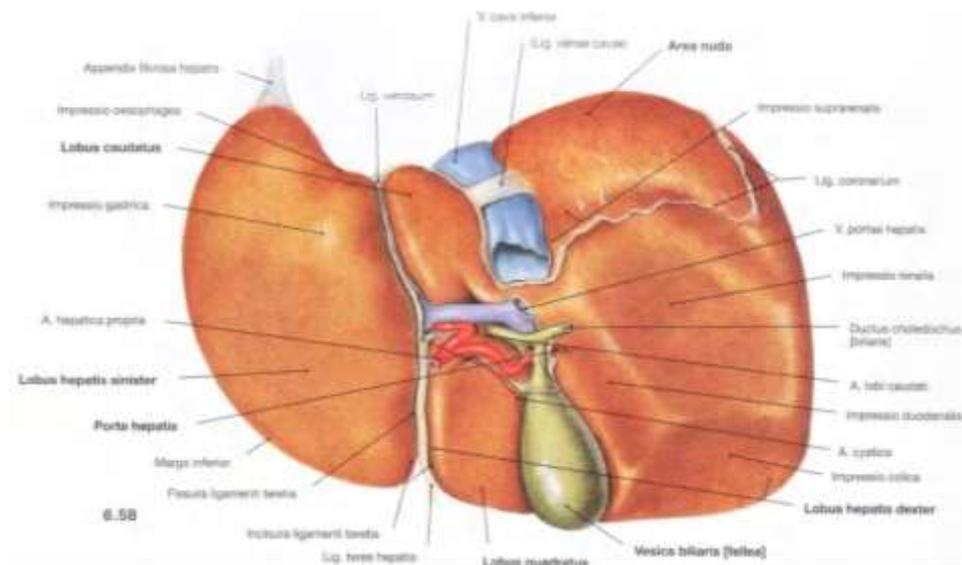
g. Kafein

Kafein dalam soft drink meningkatkan rasa yang terkandung dalam soft drink. Kafein yang terkandung dalam soft drink berjumlah $\frac{1}{4}$ sampai $\frac{1}{3}$ dari jumlah kafein yang terkandung dalam kopi. Meskipun tidak sebanyak seperti pada kopi, namun kandungan kafein pada soft drink juga bisa menimbulkan masalah kesehatan bila konsumsinya berlebihan (Hector *et al.*, 2009).

2.2 Hepar

2.2.1 Anatomi Hepar

Hepar adalah kelenjar terbesar dalam tubuh manusia. Hepar menempati hampir seluruh regio hipokondria dekstra, sebagian besar epigastrium dan seringkali meluas sampai ke regio hipokondria sinistra sejauh linea mammilaria (Moore *et al.*, 2013). Permukaan hepar bagian superior, anterior, dan posterior berbatasan dengan permukaan bawah diafragma (Basmajian & Snolecker, 2010). Hepar bersifat lunak dan lentur (Snell, 2006). Hepar tertutup oleh peritoneum, kecuali di sebelah dorsal di daerah nuda, tempat hepar bersentuhan langsung dengan diafragma (Moore *et al.*, 2013).



Gambar 1. Anatomi Hepar dari Sisi Posterior.
(Sumber: Netter, 2014).

Hepar secara umum dibagi menjadi 2 lobus yaitu lobus dekstra dan lobus sinistra yang masing-masing berfungsi mandiri. Terdapat dua segmen pada lobus dekstra yaitu segmen anterior dan posterior dan

dipisahkan oleh fisura segmentalis dekstra. Lobus sinistra juga mempunyai 2 segmen yaitu menjadi segmen medial dan segmen lateral yang dipisahkan oleh ligamentum falsiformis (Sylvia dan Lorraine, 2015). Masing-masing lobus memiliki perdarahan sendiri dari a. hepatica dan v. porta hepatis dan juga penyaluran darah venosa dan empedu bersifat serupa (Moore *et al.*, 2013).

Hepar dikelilingi oleh kapsula fibrosa membentuk lobulus hepar. Vena centralis pada masing-masing lobulus merupakan cabang dari vena hepatica. Pembuluh darah yang mengalirkan darah ke hepar adalah a. hepatica (30%) dan vena porta (70%). Arteri hepatica membawa darah teroksigenasi ke hepar, sedangkan v. porta membawa darah venosa yang kaya akan hasil pencernaan yang telah diabsorpsi dari saluran pencernaan. Darah arterial dan darah venosa dimasukkan ke vena sentral dari setiap lobulus hepar melalui sinusoid hepar. Vena centralis mengalirkan darah ke vena hepatica kanan dan kiri, dan vena ini meninggalkan permukaan posterior hepar dan bermuara langsung ke dalam vena cava inferior (Snell, 2013).

2.2.2 Fisiologi Hepar

Hepar sebagai kelenjar terbesar pada tubuh manusia memiliki fungsi yang sangat kompleks (Barret *et al.*, 2015). Tiga fungsi dasar hepar dalam proses pencernaan yaitu metabolisme, penyimpanan, dan sekresi (Despopoulos & Silbernagl, 2003).

Fungsi hepar dalam metabolisme karbohidrat adalah menyimpan glikogen, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan membentuk senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat (Hall, 2015). Hepar mengatur kadar gula darah dalam batas yang normal dengan mengubah glukosa menjadi glikogen dalam berespon terhadap insulin dan mengubah kembali glikogen menjadi glukosa sebagai respon terhadap glukagon (Despopoulos & Silbernagl, 2003).

Hepar berperan dalam metabolisme lipid. Hepar menghasilkan empedu yang mempunyai efek emulsifikasi sehingga mempermudah penyerapan lemak dan ikut serta dalam pembentukan misel (Sherwood, 2013). Dua asam empedu utama yang dibentuk oleh hepar yaitu asam kolat dan asam kenodeoksikolat yang terkonjugasi di hepar. Hepar juga mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein serta membentuk lemak dari protein dan karbohidrat (Hall, 2015). Fungsi lain hepar yaitu memobilisasi cadangan lemak untuk digunakan oleh sel tubuh (Despopoulos & Silbernagl, 2000). Hepar mentransport lipid dari saluran cerna ke hepar dan jaringan atau sebaliknya. Lipoprotein yang berperan dalam transport lemak yaitu kilomikron, *very low-density lipoprotein* (VLDL), *low-density lipoprotein* serta *high-density lipoprotein* (HDL) (Murray *et al.*, 2014).

Hepar memiliki peran dalam sintesis asam amino esensial dan sintesis protein plasma (Coztanzo, 2014). Fungsi hepar dalam metabolisme protein adalah deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, dan konversi beragam asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino (Hall, 2015). Hepar berperan penting dalam detoksifikasi obat dan racun, dan juga deaktivasi hormon yang tidak dibutuhkan oleh tubuh (Despopoulos & Silbernagl, 2003). Senyawa yang potensial beracun akan dibawa menuju hepar melalui vena porta. Hepar akan memodifikasi senyawa ini melalui *first pass metabolism* (Coztanzo, 2014).

Selain fungsi metabolisme, hepar juga memiliki fungsi penyimpanan dan sekresi. Hepar menyimpan vitamin A, B12, D, E, dan K. Hepar juga menyimpan unsur Fe dan Cu, glukosa dalam bentuk glikogen. Sekresi empedu juga terjadi di hepar yang penting dalam proses metabolisme lemak (Despopoulos & Silbernagl, 2003; Hall, 2015).

2.2.3 Histologi Hepar

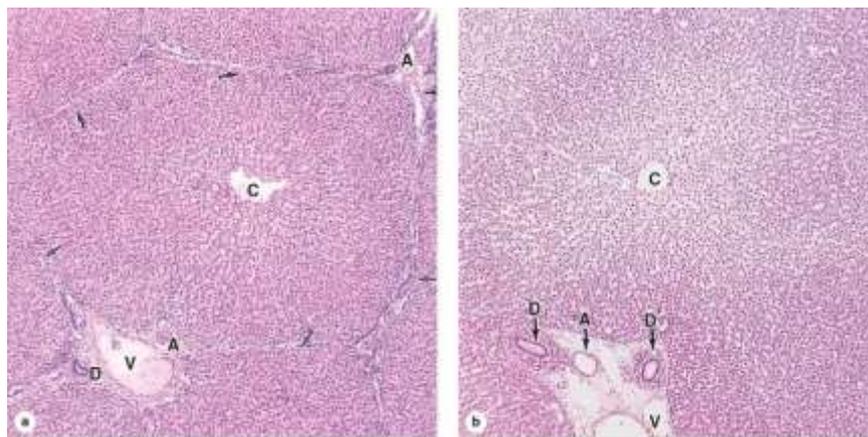
Hepar terbungkus oleh sebuah lapisan mesotel serosa yang membentuk sebuah kapsul yang disebut kapsul glisson. Secara histologis, hepar tersusun atas beberapa tipe sel (Damjanov, 2012). Sel yang terdapat di hepar antara lain hepatosit, sel endotel, dan sel makrofag atau yang disebut sebagai sel kuppfer, dan sel ito (sel penimbun lemak). Sel-sel hepar atau hepatosit berkelompok membentuk lempeng yang terdiri dari ribuan lobulus berbentuk polihedral (Mescher *et al.*, 2013).

Hepatosit meliputi 70 % dari semua sel di hepar dan 90% dari berat hepar total. Hepatosit tersusun menjadi unit-unit fungsional yang disebut asinus atau lobulus dimana setiap lobulus memiliki vena sentral dan traktus portal di perifer (Damjanov, 2012). Hepatosit mengandung lipid dalam jumlah sedikit, namun sangat mungkin bertambah ketika terjadi kelainan. Diantara hepatosit terdapat kanalikuli empedu, kanalikuli ini dibentuk oleh membran plasma dari hepatosit yang saling berhadapan. Setiap dinding hepatosit bersinggungan langsung dengan sinusoid. Sinusoid adalah celah antara hepatosit yang berisi kapiler darah (Bloom & Fawcett, 2002).

Sel duktus biliaris membentuk duktulus dalam traktus portalis lobulus hepar. Duktulus yang saling berdekatan akan menyatu dan berjalan menuju hilus hepar. Duktus-duktus empedu intrahepatik besar membentuk duktus empedu ekstrahepatik yang keluar dari hepar ke porta hepatis (Damjanov, 2012).

Traktus portal terletak di sudut-sudut heksagonal. Terdapat 3 struktur utama pada traktus portal yang disebut trias portal. Struktur yang paling besar adalah vena portal terminal dengan sel endotel pipih yang membatasi. Kemudian terdapat arteriola dengan dinding yang tebal yang merupakan cabang terminal dari arteri hepatic. Dan yang ketiga adalah duktus biliaris yang mengalirkan empedu. Selain ketiga struktur itu, ditemukan juga limfatik (Mescher *et al.*, 2013).

Hepar memiliki perdarahan ganda yaitu darah arteri melalui arteri hepatica dan darah vena melalui vena porta. Arteri dan vena ini masuk ke hepar lalu bercabang menjadi pembuluh-pembuluh yang lebih kecil sampai mencapai traktus portal lobulus. Cabang kecil arteri hepatica, vena porta, dan duktus empedu terbungkus dalam suatu jaringan ikat traktus porta yang disebut dengan triad porta. Dari traktus ini darah akan masuk ke sinusoid dan mengalir menuju vena terminal untuk keluar dari lobulus. Sinusoid dilapisi oleh makrofag hepar yang disebut sel kupffer membentuk suatu pori non-kontinu yang memisahkan ruang darah dari sel-sel hepar. Ruang sempit yang memisahkan sel Kupffer dengan sel-sel hepar disebut dengan ruang sempit disse (Damjanov, 2012). Fungsi utama sel kupffer adalah metabolisme eritrosit tua, mencerna hemoglobin, dan menyekresikan protein yang berhubungan dengan imunitas (Mescher *et al.*, 2013).



Gambar 2. Gambaran Histologi Hepar Manusia.
(Sumber: Mescher *et al.*, 2013)

2.3 Tikus Putih

Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai dalam penelitian. Hewan ini termasuk hewan nokturnal dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban. Tikus putih bisa hidup dengan baik pada temperatur 19° C – 23° C dan kelembaban 40-70% (Wolfenshon dan Lloyd, 2013). Tikus banyak digunakan dalam penelitian karena relatif mudah ditemukan dan mudah berkembang biak (Akbar, 2010). Tikus putih bisa menghasilkan hingga 15 ekor anak dalam sekali berkembang biak dan beberapa diantaranya memiliki karakteristik genetik unik yang cocok untuk dijadikan bahan penelitian (Adiyati, 2011).

Tabel 1. Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Klasifikasi	
Kingdom	Animalia
Filum	Chordata
Kelas	Mamalia
Ordo	Rodentia
Subordo	Odontoceti
Famili	Muridae
Genus	Rattus
Spesies	<i>Rattus norvegicus</i>

Sumber : (Akbar, 2010).

Terdapat tiga galur tikus putih yang sering digunakan dalam penelitian yaitu galur *Sprague Dawley*, *Long Evans* dan *Wistar*. Dalam penelitian ini, galur yang digunakan yaitu galur *Sprague dawley* jenis kelamin jantan (Akbar, 2010). *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* umumnya digunakan

sebagai hewan uji dalam penelitian karena memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan manusia. *Rattus norvegicus* dan manusia sama-sama tergolong mamalia. Karena fisiologi tubuhnya yang mirip, maka tikus ini sering digunakan pada model penelitian aplikasi kesehatan manusia (Permana, 2010).

Setelah dewasa, berat tikus ini rata-rata 200-250 gram. Tikus putih galur Sprague dawley sering digunakan pada penelitian karena beberapa sifat yang dimiliki yang menguntungkan antara lain perkembangbiakan yang cepat, siklus reproduksinya cepat, relatif mudah dipelihara, pertumbuhan yang cepat, cukup mudah untuk diberi perlakuan, ukuran lebih besar dari mencit, dan temperamennya yang relatif cukup stabil (Akbar, 2010).



Gambar 3. *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley*.
(Sumber : Akbar, 2010).

Secara umum berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Tikus putih sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Meskipun tergolong hewan nokturnal, tikus jenis ini tidak begitu fotofobik jika dibandingkan dengan tikus lainnya (Sirois, 2005). Tikus tetaplah bukan miniatur dari manusia meskipun memiliki banyak persamaa sehingga dalam penelitian harus tetap

dipertimbangkan secara tepat hubungan antara tikus dengan manusia yang salah satunya adalah melalui penyesuaian umur tikus dengan manusia dan tahap-tahap kehidupan tikus dibandingkan manusia (Sengupta, 2013).

2.4 Jejas Sel

2.4.1 Jejas Reversibel

Jejas reversibel adalah jejas yang dapat kembali ke keadaan semula ketika faktor pencetusnya sudah dapat diatasi. Beberapa yang termasuk jejas reversibel yaitu:

1. Pembengkakan

Pembengkakan terjadi akibat adanya pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pembengkakan terdapat di hampir semua bentuk jejas sel.

2. Perlemakan hati

Perlemakan hati (*fatty liver*) merupakan pengumpulan lemak (lipid) yang berlebihan di dalam sel-sel hati. Perlemakan hati terjadi ketika akumulasi trigliserida pada sel-sel hepar sudah terlalu banyak, akumulasi ini timbul karena beberapa faktor. Faktor yang pertama adalah konsumsi lemak yang berlebihan dan faktor yang kedua adalah terjadinya kerusakan pada tempat penyimpanan lemak. Lemak pada hepar disimpan pada sel-sel hepar, ketika terjadinya kerusakan sel hepar maka fungsi penyimpanan tidak akan bisa maksimal (Chandrasoma & Taylor, 2005).

2.4.2 Jejas Irreversibel

Jejas yang bersifat permanen tidak dapat kembali ke keadaan yang normal disebut jejas irreversibel.

1. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel yang berkaitan dengan hilangnya kemampuan membran sel dan kebocoran isi sel yang akhirnya menyebabkan sel lisis. Lisisnya sel akan menghasilkan suatu rangsangan yang akan diterima oleh mediator inflamasi yang kemudian akan memperbaiki sel-sel yang rusak.

2. Fibrosis

Fibrosis merupakan respon dari cedera sel berupa akumulasi matriks ekstraseluler. Fibrosis merupakan reaksi penyembuhan terhadap cedera yang dialami oleh sel hepatosit. Cedera ini akan mengakibatkan pelepasan sitokin dan faktor inflamasi lain oleh sel kupffer dan sel tipe lainnya pada hepar. Faktor-faktor ini akan mengaktifasi sel stelat yang akan mensintesis sejumlah besar komponen matriks ekstraseluler.

3. Sirosis

Hepatosit yang telah diperbaiki dan dikelilingi jaringan parut yang disebut dengan sirosis. Fibrosis yang berlangsung kronik akan menyebabkan hepar dipenuhi oleh jaringan parut dimana jaringan parut inilah yang menjadi masalah pada hepar (Kumar *al.*, 2011).

2.5 Kerangka Teori

Kandungan utama minuman ringan berkarbonasi adalah air, pemanis, kafein, pengawet, dan perasa (Krageil *et al.*, 2016). Pemanis yang banyak digunakan pada minuman ringan berkarbonasi yaitu *high fructose corn syrup* (HFCS), sukrosa, dan aspartam (Lebda *et al.*, 2017).

Pada penelitian Alwaleedi (2016), konsumsi aspartam selama 60 hari pada tikus secara signifikan menyebabkan peroksidasi lipid dan menurunkan status antioksidan pada liver dan ginjal tikus. Hal ini berkaitan dengan kandungan methanol aspartam yang menyebabkan toksisitas dan radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme yang mengakibatkan peroksidasi lipid dan deplesi enzim antioksidan. Salah satu bahan pewarna yang banyak digunakan pada produk minuman ringan berkarbonasi adalah karamel. Karamel terbentuk dari proses yang disebut *caramellization* yang kaya akan *glycation end products* yang bisa menginduksi resistensi insulin dan proses inflamasi pada hepar (Assy *et al.*, 2008).

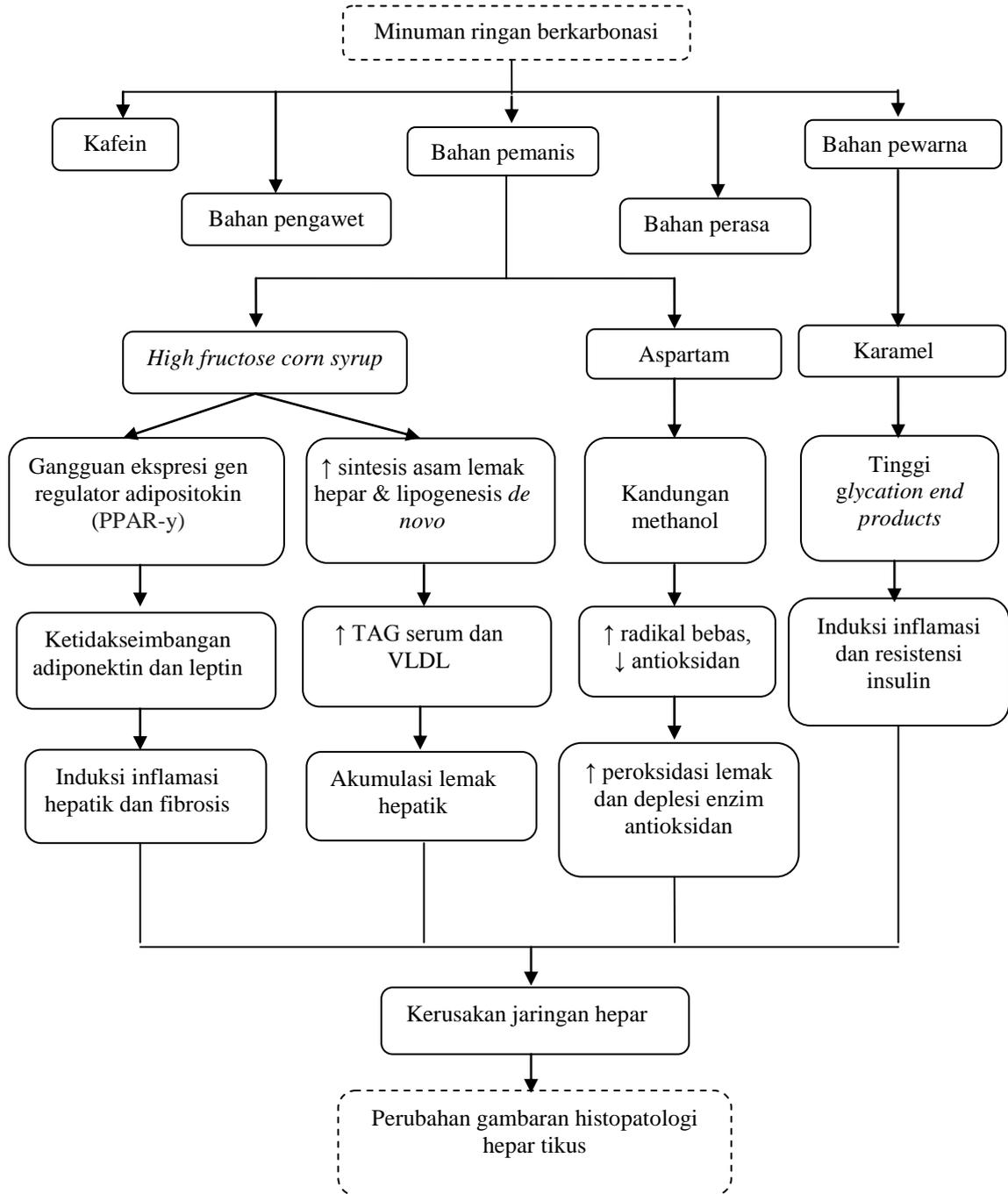
High fructose corn syrup (HFCS) terbentuk dari proses isomerisasi enzimatik glukosa menjadi fruktosa. Pemanis ini lebih bersifat lipogenik dibandingkan pemanis lain sehingga dapat menyebabkan dislipidemia dan *non alcoholic fatty liver disease* atau NAFLD (Mock *et al.*, 2016). Konsumsi HFCS yang tinggi juga dapat menyebabkan resistensi insulin dan peningkatan kadar trigliserida (Lebda *et al.*, 2017).

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. Proses ini dapat menyebabkan terjadinya akumulasi lemak hepatic yang dapat dilihat secara histopatologis (Lebda *et al.*, 2017). Lipogenesis *de novo* adalah proses biokimia sintesis asam lemak dari asetil *Co-A* yang diproduksi dari berbagai mekanisme di dalam sel. Salah satu jenis substrat yang paling mendorong terjadinya lipogenesis *de novo* adalah fruktosa (Mock *et al.*, 2016). *Very low density lipoprotein* (VLDL) digunakan sebagai kendaraan pada transpor lemak dari hepatosit ke jaringan. Jumlah VLDL akan menunjukkan jumlah lipid yang dihasilkan oleh lipogenesis *de novo* (Sanders dan Griffin, 2016).

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. Konsumsi minuman ringan berkarbonasi dapat menyebabkan kerusakan ekspresi PPAR- γ akibat kandungan fruktosa didalamnya. Kerusakan yang terjadi yaitu ekspresi berlebihan leptin dan *down regulation* adiponektin sehingga menginduksi terjadinya inflamasi hepar dan bahkan fibrosis dengan melibatkan aktivasi sel satelit hepar. Kerusakan hepar yang terjadi ditandai dengan ditemukannya infiltrasi sel radang dan degenerasi ektopik yang terlihat secara histopatologi (Lebda *et al.*, 2017). Keseluruhan mekanisme diatas pada akhirnya akan menyebabkan *hepatic injury* berupa akumulasi lemak, infiltrasi sel radang, kongesti, edema, nekrosis, bahkan fibrosis yang secara histopatologi akan

memberikan perbedaan gambaran jika dibandingkan dengan jaringan hepar yang normal (Assy *et al.*, 2008; Lebda *et al.*, 2017).



Keterangan

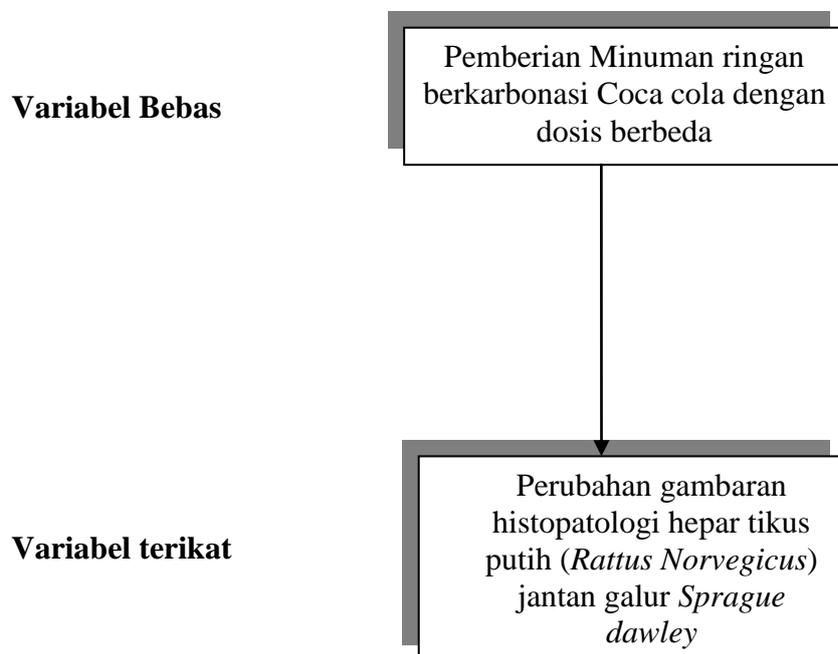
 : Variabel yang diteliti

 : Variabel yang tidak diteliti

Gambar 4. Kerangka Teori Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Gambaran Histopatologi Hepar.

2.6 Kerangka Konsep

Berikut ini adalah kerangka konsep dari penelitian ini :



Gambar 5. Kerangka Konsep Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar.

2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Pengambilan data dilakukan pada akhir penelitian dengan membandingkan hasil pada tiga kelompok ekperimental dengan satu kelompok kontrol setelah dilakukan intervensi. Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* dewasa berumur 8-10 minggu sebanyak 28 ekor yang dipilih secara acak kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok menggunakan 7 ekor tikus.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan (September 2018-November 2018) yang bertempat di *animal house* Fakultas kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemberian Intervensi kepada hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas kedokteran Universitas lampung sedangkan untuk pembuatan preparat hepar hewan coba dan pemeriksaan histopatologi akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 8–10 minggu (dewasa) yang diperoleh Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.3.2 Sampel Penelitian

Jumlah sampel pada penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus frederer sesuai dengan jenis penelitian yang dilakukan, yaitu penelitian eksperimental. Rumus federer dalam penentuan besar sampel untuk uji eksperimental yakni:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, maka besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan prinsip penelitian *reduction*, maka jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah jumlah minimal perhitungan diatas, yaitu sebanyak 6 ekor untuk setiap kelompok perlakuan. Karena penelitian ini menggunakan 4 kelompok sampel maka total sampel sebanyak sebanyak 24 ekor tikus putih. Untuk mengantisipasi *drop out* maka dilakukan penambahan sampel dengan rumus :

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan :

N = Besar sampel koreksi

n = Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f = Perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Sastroasmoro dan Ismael, 2010).

Maka jumlah sampel koreksi yang ditambahkan pada penelitian ini yaitu :

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

$$N = \frac{6}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{6}{0,9}$$

$$N = 6.67$$

$$N = 7 \text{ (Pembulatan)}$$

Jadi, sampel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah 7 tikus pada setiap kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok tikus sehingga jumlah seluruh sampel adalah 28 ekor tikus.

3.3.3 Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Berumur 8-10 minggu
- d. Berat badan 200-250 gram

3.3.4 Kriteria Eksklusi

- a. Terdapat kelainan anatomis yang tampak
- b. Tikus tidak sehat, penampakan rambut rontok, keluar eksudat dari mata, hidung, anus, ruam pada kulit.
- c. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
- d. Tikus mati selama masa penelitian

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini diantaranya:

1. Neraca analitik metler toledo
2. Kandang tikus
3. Botol minum tikus

4. Tempat makan tikus
5. Sonde lambung
6. Minor set
7. Spuit 3cc
8. Kapas Alkohol
9. Mikroskop cahaya
10. Laptop

3.4.2 Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu :

- a. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur Sprague dawley
- b. Air/aquades
- c. Minuman ringan berkarbonasi merk *Coca cola*
- d. Pelet sebagai makanan tikus
- e. Kloroform

3.4.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histologi

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi adalah:

1. *Object glass*
2. *Deck glass*
3. *Tissue cassette*
4. *Rotary microtome*
5. *Oven*
6. *Waterbath*

7. *Platening table*
8. *Staining jar*
9. *Staining rack*
10. Kertas saring
11. *Histoplast*
12. *Paraffin dispenser*

3.4.4 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi yaitu

1. Larutan formalin 10%
2. Alkohol 70%,
3. Alkohol 96%,
4. Alkohol absolut
5. Etanol
6. Xylol
7. Pewarna Hematoksisilin
8. Eosin (H & E)
9. Entelan

3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.5.1 Identifikasi Variabel

Terdapat dua variabel pada penelitian ini yaitu variabel bebas (*independent variabel*) dan variabel terikat (*dependent variabel*).

Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian minuman ringan berkarbonasi per oral.

Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan gambaran histopatologi hepar.

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional.

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil ukur	Skala Ukur
Pemberian minuman ringan berkarbonasi	<p>Pemberian minuman berkarbonasi per oral dengan merk Coca cola®</p> <p>K1: Diberikan aquades secara <i>ad libitum</i>.</p> <p>P1: Diberikan minuman ringan berkarbonasi merk Coca cola® 3 ml/hari dibagi dalam 3 dosis selama 30 hari.</p> <p>P2: Diberikan minuman ringan berkarbonasi merk Coca cola® 6 ml/hari dibagi dalam 3 dosis selama 30 hari.</p> <p>P3: Diberikan minuman ringan berkarbonasi merk Coca cola® 12 ml/hari dibagi dalam 3 dosis selama 30 hari.</p>	Sputit 3 cc	<p>Pemberian minuman ringan berkarbonasi Coca cola® dengan dosis 3 ml, 6 ml, dan 12 ml per hari ke masing-masing kelompok dibagi menjadi 3 dosis selama 30 hari ke tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) jantan galur Sprague dawley.</p>	Kategori ordinal
Perubahan gambaran histopatologi hepar tikus putih erubahan gamban histopatologi hepar tikus putih	<p>Gambaran histopatologi hepar dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x kali pada 5 lapang pandang berbeda.</p>	Mikroskop cahaya	<p>Gambaran histopatologi yang mengalami jejas sesuai sistem skoring Manja Roenigk yang telah dimodifikasi.</p>	Numerik

3.5.3 Prosedur Operasional Pembuatan Slide

Metode teknik pembuatan preparat histopatologi antara lain sebagai berikut:

1. *Fixation*

Spesimen berupa potongan hepar yang telah dipotong secara representatif segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam lalu dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

2. *Trimming*

Organ hepar dikecilkan hingga berukuran kurang lebih 3mm, potongan tersebut kemudian dimasukkan ke *tissue cassette*.

3. *Dehidrasi*

Meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu untuk dikeringkan. Lalu lakukan dehidrasi alkohol.

4. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing–masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Lakukan Impregnasi dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65⁰ C.

6. *Embedding*

- a. Membersihkan sisa paraffin yang ada pada pan dengan memanaskan beberapa saat di atas api lalu diusap dengan kapas.
- b. Memasukkan paraffin cair disiapkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58⁰ C.

- c. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
- d. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Lalu pan dimasukkan ke air.
- e. Paraffin yang berisi potongan mata dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–60 C beberapa saat.
- f. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
- g. Potong dengan mikrotom

7. *Cutting*

Pemotongan dilakukan di ruangan dingin. Pertama lakukan pemotongan kasar lalu lanjutkan dengan pemotongan halus. Lembaran jaringan kemudian dipindahkan ke *water bath* dengan suhu 60° C selama beberapa saat sampai mengembang sempurna. Lalu lembaran diambil dengan slide bersih dengan gerakan menyendok. Slide ini kemudian diletakkan di inkubator suhu 37° C sampai jaringan melekat semua kira-kira selama 24 jam.

8. *Staining* (pewarnaan) dengan Harris Hematoksilin–Eosin.

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, selanjutnya dilakukan *deparaffinisasi*, hidrasi, pulasan inti, rehidrasi, dan penjernihan.

9. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*

Setelah proses pewarnaan, slide ditempatkan di atas kertas tisu lalu ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan

deck glass, perhatikan jangan sampai terbentuk gelembung udara (Windarti *et al.*, 2014).

10. Pembacaan Slide

Proses pembacaan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dengan bimbingan dosen pembimbing dan ahli patologi anatomi.

3.6 Evaluasi

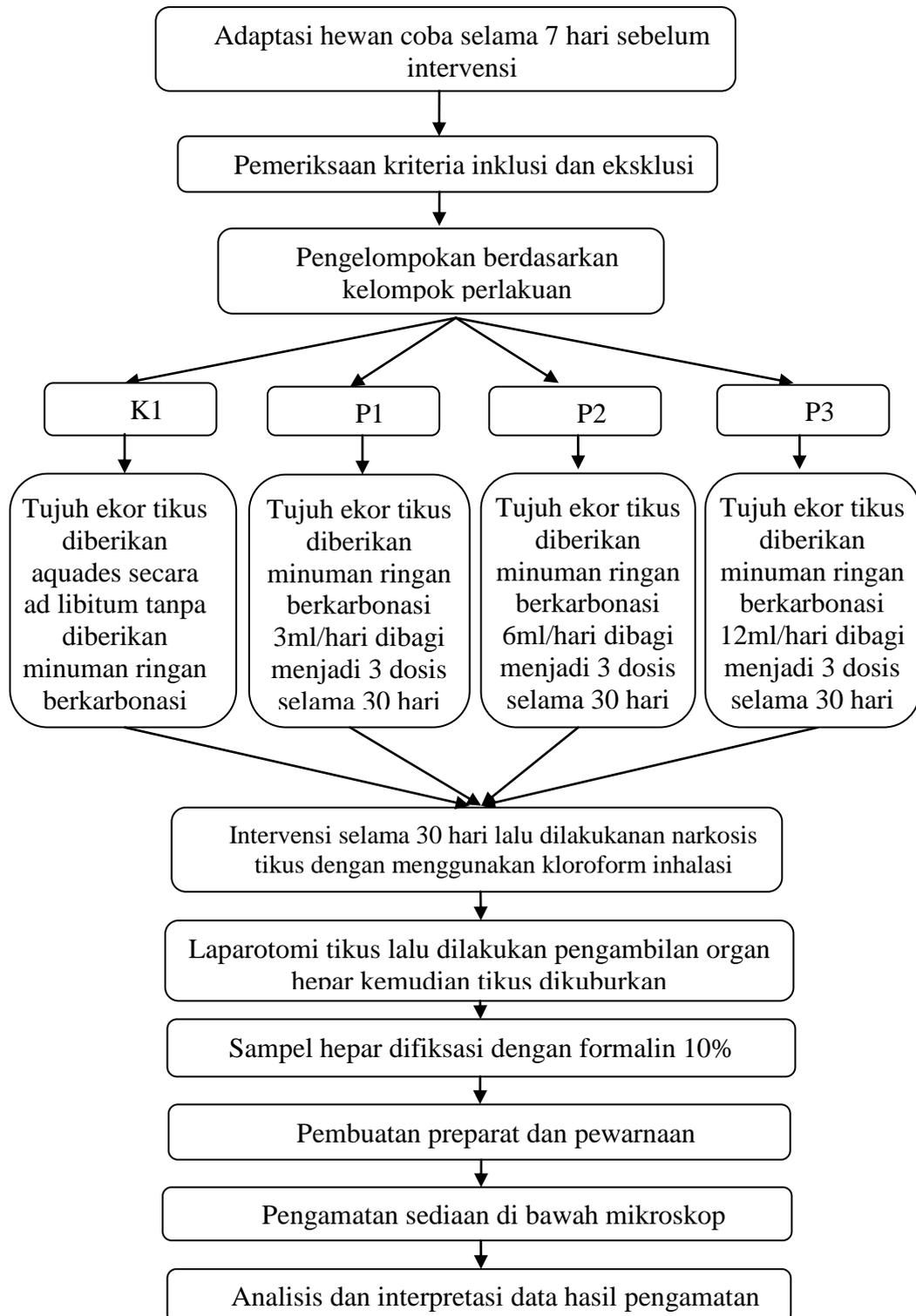
Setelah intervensi selama 30 hari, dilakukan evaluasi hepar secara histopatologi menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 40x10. Masing-masing preparat diamati dalam 5 lapang pandang. Lalu setiap lapang pandang dihitung 20 hepatosit dan dikalikan dengan bobot skor masing-masing tingkat kerusakan. Kemudian dihitung rerata bobot skor tingkat kerusakan hepatosit dari 5 lapang pandang tersebut. Skor penilaian tingkat kerusakan hepatosit kriteria Manja Roenigk modifikasi yaitu sebagai berikut:

Tabel 3. Skoring Manja Roenigk Modifikasi.

Tingkat Kerusakan	Skor Manja Roenigk
Normal	1
Degenerasi Parenkimatososa/ Perdarahan	2
Degenerasi Hidropik/ Degenerasi Lemak	3
Nekrosis	4

Sumber : Murti *et al.*, 2016; Insani *et al.*, 2015.

Adapun alur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Adaptasi Hewan Percobaan

Tikus yang telah diambil dari populasi di Institut Pertanian Bogor dimasukkan ke dalam 4 kandang berbeda sesuai dengan kelompok perlakuan yang berlokasi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tikus diadaptasikan pada lingkungan barunya selama satu minggu sebelum intervensi dilakukan. Penimbangan badan dilakukan sebelum intervensi dimulai. Tikus diberi makanan dan minuman berupa pelet dan air selama 1 minggu ini. Kandang akan dibersihkan dari kotoran setiap minggu.

3.6.2 Pemilihan Sampel Minuman Ringan Berkarbonasi

Terdapat berbagai jenis minuman ringan yang beredar di dunia dan di Indonesia. Menurut Nusa Research (2014) minuman ringan berkarbonasi yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia adalah Coca cola®. Kandungan coca cola® meliputi air berkarbonasi, *high fructose corn syrup*, pewarna karamel, parasa alami, *phosphoric acid*, dan kafein (Alkhadaide, 2016). Berdasarkan penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya, salah satu kandungan minuman ringan berkarbonasi yang memiliki pengaruh cukup signifikan terhadap hepar adalah fruktosa dalam bentuk *high fructose corn syrup*. HFCS akan meningkatkan lipogenesis de novo, menyebabkan peroksidasi lipid hepatik, dan menginduksi proses inflamasi pada hepar (Lebda *et al.*, 2017). Armutcu *et al* (2005) melaporkan bahwa pemberian minum dengan kandungan fruktosa 10% selama 10 hari kepada tikus menghasilkan

perubahan pada histopatologi tikus yaitu terjadi steatosis mikrovesikuler dan makrovesikuler tanpa inflamasi pada hati. Kandungan lain minuman ringan berkarbonasi yaitu aspartam dan karamel yang kaya akan produk glikasi, berpotensi meningkatkan resistensi insulin dan inflamasi (Nseir *et al.*, 2010). Coca cola® dipilih karena merupakan salah satu minuman ringan berkarbonasi yang mengandung zat-zat tersebut. Berdasarkan bukti-bukti dari penelitian tersebut, peneliti menggunakan sampel minuman ringan berkarbonasi dengan merk Coca cola®.

3.6.3 Penentuan Dosis

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Nehad & Rania (2015), pemberian minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 6ml/hari per oral dapat menyebabkan kerusakan pada organ tikus. Berdasarkan penelitian diatas, peneliti menggunakan dosis 3ml, 6 ml, 12 ml dibagi menjadi 3 dosis.

3.6.4 Prosedur Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi

1. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol, tikus putih hanya diberi minum aquades selama penelitian secara *ad libitum*.
2. Kelompok 2 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minuman ringan berkarbonasi 3 ml/hari dibagi dalam 3 dosis selama 30 hari.
3. Kelompok 3 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minuman ringan berkarbonasi 6 ml/hari dibagi dalam 3 dosis selama 30 hari

4. Kelompok 4 merupakan kelompok tikus putih yang diberi minuman ringan berkarbonasi berkarbonasi 12 ml/hari dibagi dalam 3 dosis selama 30 hari

3.7 Analisis Data

Setelah data diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop maka selanjutnya data tersebut diuji dan dianalisis dengan menggunakan program SPSS. Selanjutnya hasil penelitian dianalisis apakah terdistribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas. Untuk mengukur normalitas, uji yang bisa dilakukan yaitu uji Kolmogorov-Smirnov atau *Shapiro-Wilk*. Karena pada penelitian ini jumlah sampel ≤ 50 maka uji yang dilakukan adalah uji Saphiro wilk.

Setelah uji normalitas data, untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak maka dilakukan uji Levene. Apabila didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one way* ANOVA dengan uji Post-Hoc LSD. Namun bila tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik, pengujian akan menggunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*, hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$ atau menolak H_0 . Selanjutnya dilakukan analisis *Post-Hoc Mann Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.8 *Ethical Clearance*

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung No. 5201/UN26.18/PP.05.02.00/2018.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti menyarankan:

1. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian minumann ringan berkarbonasi terhadap berbagai organ lain selain hepar seperti ginjal dan tulang.
2. Melakukan penelitian lanjutan dengan berbagai jenis minuman ringan berkarbonasi dan membandingkan pengaruhnya terhadap kerusakan organ secara histopatologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati P. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*rattus norvegicus*) galur *sprague dawley* [skripsi]. Bogor: FKH Institut Pertanian Bogor.
- Akbar B. 2010. Tumbuhan dengan kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas. Jakarta: Adabia Press.
- Alam S, Mustafa G, Alam M, Ahmad N. 2016. Insulin resistance in development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology Physiology*. 7(2): 211-7.
- Alkhedaide A, Soliman MM, Eldin ES, Ismail TA, Alshehiri ZS, Attia H. 2016. Chronic effects of soft drink consumption on the health state of wistar rats: a biochemical, genetic and histopathological study. *Molecular Medicine Reports*. 13(10): 5109-17.
- Alwaleedi SA. 2016. Alterations in antioxidant defense system in hepatic and renal tissues of rats following aspartame intake. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 4 (02): 46-52.
- Assy N, Nasser G, Kamayse I, Nseir W, Beniashvili Z, Djibre A, Grosovski M. 2008. Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *World Journal of Gastroenterology*. 22(10): 811-6.
- Basmajian JV, Snolecker CE. 2010. Grant anatomi klinik berorientasi pada kasus klinik. Jakarta: Binarupa Aksara Publisher.
- Basu S, McKee M, Galea G, Stuckler D. 2013. Relationship of soft drink consumption to global overweight, obesity, and diabetes: a cross-national analysis of 75 countries. *American Journal of Public Health*. 103(11): 2071-7.
- Barret KE, Barman SM, Boitanno S, Brooks HL. 2015. Lange medical book. Edisi Ke-25. Pennsylvania: McGraw-Hill Education.
- Berawi KN, Dzulfikar D. 2017. Konsumsi soft drink dan efeknya terhadap peningkatan resiko terjadinya osteoporosis. *Juke Unila*. 6(2). 23-24.

- Bloom W, Fawcett DW. 2002. Buku ajar histologi. Edisi ke-12. Jakarta: EGC.
- Cahyadi W. 2012. Analisis dan aspek kesehatan bahan tambahan pangan. Edisi Ke-2. Jakarta Timur: Bumi Aksara.
- Chandrasoma P, Taylor CR. 2005. Ringkasan patologi anatomi. Jakarta: EGC.
- Calvo MS, Uribarri. 2013. Contributions to total phosphorus intake. *Seminars in Dialysis*. 26 (1): 54-61.
- Chandrasoma P, Taylor C. 2005. Ringkasan patologi anatomi. Jakarta: EGC.
- Costanzo LS. 2014. Board review Series Physiology. Edisi ke-6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Damjanov I. 2012. Atlas of histopathology. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Davail S, Rideau N, Bernadet MD, Andre JM, Guy G, Hoo-Paris R. Effects of dietary fructose on liver steatosis in overfed mule ducks. *Horm Metab Res*. 2005(37): 32–35.
- Despopoulos A, Silbernagl S. 2003. Color atlas of physiology. Edisi Ke-5. New York: Thieme Medical Publisher.
- Dowman JK, Tomlinson J, Newsome P. 2010. Pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *QJM*. 103(2):71-83.
- Eun-Ah K, Hye-Ri K, Yong-Bin K, Hee-Su K, Sung-Ho L. 2017. effect of high fructose corn syrup (hfcs) intake on the female reproductive organs and lipid accumulation in adult rats. *Journal Of The Korean Society Of Developmental Biology*. 21(2): 151-6.
- Fairuz, Darmawan A, Irga M. 2013. Efek protektif madu hutan terhadap kerusakan hepar tikus putih (*rattus norvegicus*) yang diinduksi alcohol. *JMJ*. 1(1) : 1-14.
- FAO. 2010. Soft drinks regulations [diunduh 28 Juli 2018]. Tersedia dari: <Http://Extwprlegs1.Fao.Org/>.
- Hall JE. 2015. Guyton Physiology. Edisi Ke-13. Philadelphia: Saunders Publisher.
- Hector D, Rangan A, Louie J, Flood V, Gill T. 2009. Soft drinks, weight status and health. Sydney: NSW Cluster Of Public Health Nutrition.
- Garrow JS, James W, Ralph A. 2005. Human nutrition and dietetics. Edisi ke-10. London: Churchill Livingstone.

- Kregiel D. 2015. Health safety of soft drinks: contents, containers, and microorganisms. *BioMed Research International* [Online Jurnal] [diunduh 25 Desember 2017]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4324883>.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins SL, Cotran RS. 2015. *Robbins basic pathology*. Edisi Ke-9. Philadelphia: Saunders.
- Lebda MA, Tohamy HG, El-Sayed YS. 2017. Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. *Nutrition Research*. 5317(17): 3096-9.
- Ma *et al.* 2017. Suppression of ghrelin exacerbates hfcS-induced adiposity and insulin resistance. *Journal Of Molecular Sciences* . 18(6): 1302-20.
- Mescher AL. 2013. *Junqueira Basic Histology*. Edisi Ke-13. Pennsylvania: McGraw-Hill Education. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Milei J, Losada MO, Llambi HG, Grana DR, Suarez D, Azzato F *et al.* 2011. Chronic cola drinking induces metabolic and cardiac alterations in rats. *World Journal of Cardiology*. 3(4): 111-16.
- Mock K, Lateef S, Benedito VA, Tou JC. 2016. High fructose corn syrup-55 consumption alters hepatic lipid metabolism and promotes triglyceride accumulation. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*. 2863(16): 30103-6.
- Moore KL, Dalley AF, Agur AM. 2013. *Clinically Oriented Anatomy*. Canada: Lippincott Williams & Wilkins.
- Murti KF, Amarwati S, Wijayahadi N. 2016. Pengaruh ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura*) terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi etanol dan soft drink. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 5(4):871-83.
- Murray RK, Granner DK, Rodwell V. 2014. *Biokimia harper*. Edisi ke-27. Jakarta: EGC.
- Nehad RE, Rania AA. 2015. Histological and biological effects of some soft drinks on male albino rats. *Journal of Bioscience and Applied Research*. 1(6): 335-42.
- Netter FH. 2014. *Atlas of human anatomy*. Edisi Ke-25. Jakarta: EGC.
- Nseir W, Nassar F, Assy N. 2010. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 16(21):2579-88.

- Nusaresearch. 2014. Report Of Soft Drink Consumption Habits In Indonesia. [diunduh 20 Mei 2018]. Tersedia dari: <https://nusaresearch.net>
- Ouyang X *et al.* 2008. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 48(6):993-9.
- Permana Z. 2010. Konsumsi, pencernaan, dan performa tikus (*rattus norvegicus*) yang disuplementasi biomineral cairan rumen dalam ransum [Skripsi]. Bogor: Fakultas Peternakan IPB.
- Sanders FW, Griffin JL. 2016. De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biological Review*. 91 (1) 452–468.
- Sari DF. 2007. Evaluasi bahan minuman karbonasi (air, gula, konsentrat dan CO₂). PT Coca-cola bottling indonesia central java [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Sastroasmoro S, Ismael S. 2010. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta: Sagung Seto.
- Sengupta P. 2013. The Laboratory rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 4(6): 624-30
- Sherwood L. 2013. Human physiology : from cells to systems. Edisi Ke-7. Belmont, CA: Brooks/Cole.
- Sirois M. 2005. Laboratory animal medicine: principles and procedures. United States of America: Mosby Inc.
- Snell RS. 2011. Clinical Anatomy by regions. Edisi ke-9. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Sudiono J, Kurniadi B. 2014. Ilmu patologi. Jakarta: EGC.
- Sylvia A, Lorraine M. 2015. Patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi 6. EGC: Jakarta.
- Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. 2007. Effects of soft drink Consumption on nutrition and health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Public Health*. 97(4): 667–75.
- Windarti I, Muhartono, Widayana G. 2015. Pengaruh pemberian herbisida paraquat diklorida per-oral terhadap derajat kerusakan esofagus tikus putih jantan galur sprague dawley. *JuKe Unila*. 5(9): 9-12.
- Wolvensohn S, Lloyd M. 2013. Handbook of Laboratory animal management and welfare. Edisi ke-4. West Sussex: Wiley Blackwell.