

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini, sebagian besar produk makanan dan minuman mengandung pemanis. Salah satu pemanis yang sering digunakan berasal dari fruktosa dalam bentuk HFCS. HFCS banyak digunakan dalam berbagai produk makanan maupun minuman seperti *soft drink*, *pastries*, *cookies*, *gums*, *jelly*, *dessert* yang banyak digemari masyarakat khususnya dikalangan anak-anak. Berdasarkan observasi yang dilakukan oleh *U.S. Food and Drug Administration*, data USDA menunjukkan bahwa terjadi peningkatan konsumsi pemanis HFCS per kapita yang signifikan dari tahun 1970-1999, yang memiliki hubungan yang signifikan dengan peningkatan obesitas dan diabetes. Hal tersebut diduga akibat tingginya konsumsi fruktosa (Prahastuti, 2011, Bantle, 2009, U.S. Department of Agriculture and Economic Research Service, 2007).

Fruktosa merupakan suatu gula sederhana yang banyak digunakan sebagai pemanis dan sering dijumpai dalam komposisi berbagai produk makanan maupun minuman. Secara alami, fruktosa juga banyak terkandung dalam buah-buahan, sayur-sayuran, biji-bijian dan madu. Fruktosa berikatan dengan glukosa membentuk sukrosa yaitu pemanis yang terdapat dalam bahan alami seperti tebu atau bit dan sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Fruktosa memiliki rasa yang lebih manis daripada glukosa dengan harga yang relatif murah. Sekitar sepertiga dari fruktosa berasal dari buah-buahan, sayuran, dan sumber alam lainnya, dan dua pertiga ditambahkan ke minuman dan makanan dalam bentuk HFCS (Bantle, 2009, Prahastuti, 2011).

HFCS merupakan pemanis dengan kandungan fruktosa lebih besar daripada glukosa yang digunakan oleh industri makanan dan minuman sebagai pemanis. Pada umumnya perbandingan antara fruktosa dan glukosa yang digunakan dalam HFCS adalah 55% : 45%. Pemanis ini banyak dipakai dalam berbagai produk-produk makanan maupun minuman, namun industri minumanlah yang paling sering menggunakan pemanis HFCS seperti *soft drinks* karena minuman ringan telah menjadi kebutuhan umum bagi setiap orang yang memiliki aktivitas yang cukup tinggi. Sejak tahun 1977 hingga dengan tahun 1997, konsumsi *soft drink* oleh orang dewasa di Amerika meningkat sebesar 61% dan 25% dari total kebutuhan energi per hari pada satu dari empat anak berasal dari pemanis makanan. Dengan kata lain, kebanyakan pemanis yang kita konsumsi sehari-hari berasal dari campuran fruktosa dan glukosa dalam bentuk gula pasir atau berupa fruktosa asli dalam bentuk kue-kue, biskuit, coklat, dan *soft drinks*. Oleh sebab itu, tingginya penggunaan fruktosa sehari-hari ditengarai dapat berdampak buruk bagi kesehatan (Prahastuti, 2011, Bantle, 2009).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan, sejak tahun 1986 oleh *Food and Drug Administration*, pada awal observasi HFCS dianggap aman untuk digunakan sebagai gula pemanis bagi penderita diabetes, namun hasil penelitian berikutnya menunjukkan bahwa konsumsi fruktosa 15-20% diet (60-70 g fruktosa setiap hari) pada pria selama lebih dari 2 minggu menunjukkan peningkatan kadar trigliserida puasa, sedangkan penelitian lain menunjukkan bahwa konsumsi fruktosa yang berlebihan (melebihi 25% kebutuhan energi perhari atau setara dengan 85 g fruktosa) akan menyebabkan peningkatan prevalensi sindrom metabolik seperti dislipidemia, obesitas, hipertensi, hiperurikemia, dan diabetes melitus tipe II akibat terjadinya resistensi insulin, sehingga akan

berpengaruh terhadap berbagai organ tubuh seperti otak, pembuluh darah, ginjal, sel adiposit dan hepar (Prahastuti, 2011, Kimber *et al.*, 2008).

Adanya kontroversi mengenai konsumsi “tinggi” fruktosa mendorong dilakukannya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan komposisi fruktosa tinggi yaitu 60% jika dibanding dengan konsumsi gula pada manusia yang berkisar antara 10-20% (di Amerika Serikat konsumsi gula diperkirakan sekitar 16% dari konsumsi kalori rata-rata per hari). Penelitian yang dilakukan pada hewan coba dengan pemberian fruktosa 60% dalam diet pada tikus selama 8 minggu menunjukkan terjadi peningkatan pembentukan trigliserida hampir 50% (79,1 mg/dl menjadi 280,1 mg/dl) yang dibandingkan dengan kontrol, sehingga menimbulkan hipertensi, hiperurikemia, hipertrigliseridemia dan peningkatan apo B yang mengandung VLDL (Sanchez-Lozada *et al.*, 2007). Penelitian lain menunjukkan efek fruktosa terhadap leptin dengan membandingkan dua kelompok tikus yang diberi diet 60% fruktosa dan tanpa fruktosa selama 6 bulan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan pemberian fruktosa jangka panjang menyebabkan resistensi leptin, dan bila kelompok tersebut diberi makanan bergaya ‘*western*’ (tinggi lemak dan tinggi karbohidrat), berat badannya lebih cepat meningkat dibandingkan kelompok tanpa fruktosa (Shapiro *et al.*, 2008).

Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa pada manusia sehat yang mengkonsumsi tinggi fruktosa (1,5 g/kgBB) dalam diet selama 4 minggu menyebabkan peningkatan yang signifikan dalam konsentrasi plasma puasa dari triasilgliserol (36%), VLDL-triasilgliserol (72%), laktat (49%), glukosa (5,5%), dan leptin (48%) (Le *et al.*, 2006). Penelitian lain, mengatakan bahwa konsumsi fruktosa oleh manusia sebanyak 50-150 gram dalam periode kurang dari atau sama dengan 6 jam, maka puncak konsentrasi fruktosa dalam plasma akan menjadi antara 3-11 mg/dL karena

sebagian kecil fruktosa tertelan (<1%) tampaknya secara langsung dikonversikan menjadi plasma trigliserida. Selain itu, tingkat oksidasi rata-rata fruktosa diet adalah 45,0% (berkisar 30,5-59%) dari dosis tertelan pada subjek normal dalam waktu 3-6 jam. Sedangkan dengan kondisi seperti olahraga, tingkat oksidasi rata-rata fruktosa adalah 45,8% (berkisar 37,5-62%) dalam waktu 2-3 jam. Ketika fruktosa tertelan bersama dengan glukosa, tingkat oksidasi rata-rata gula campuran meningkat menjadi 66,0% (berkisar 52,2-73,6%) dalam kondisi latihan yang sama (Sun&Empie, 2012).

Berdasarkan survei, fruktosa mewakili 25% dari total kebutuhan energi per hari. Walaupun fruktosa tidak bisa secara langsung digunakan sebagai sumber energi, namun fruktosa berperan dalam tahapan pelepasan energi melalui proses glikolisis dalam tubuh. Dimana, dalam tubuh fruktosa akan mengalami proses absorpsi, kemudian beberapa fruktosa yang diserap akan diubah menjadi glukosa. Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa pada manusia sehat yang mengkonsumsi fruktosa antara 50-150 gram dalam kurun waktu 3-6 jam, maka tingkat konversi rata-rata dari fruktosa menjadi glukosa adalah 41% (berkisar 29-54%) dalam kondisi normal non-latihan dan kira-kira seperempat dari fruktosa dapat dikonversi menjadi laktat dalam beberapa jam (Sun&Empie, 2012).

Setelah mengalami proses absorpsi di usus, fruktosa akan mengalami proses metabolisme di hepar yang melibatkan magnesium. Magnesium berperan sebagai kofaktor dalam pemasukan gugus fosfat dari ATP, yang dikatalisis oleh fosfofruktokinase sehingga mengubah fruktosa-6-fosfat menjadi fruktosa-1,6-bisfosfat. Selanjutnya magnesium juga berperan sebagai kofaktor yang mengubah 1,3-bisfosfogliserat menjadi 3-fosfogliserat melalui pembentukan ATP dari ADP dan Pi dengan katalisis fosfogliserat kinase, kemudian 3-fosfogliserat akan menjadi 2-fosfogliserat

oleh katalisis fosfoglisarat mutase dengan ion magnesium selanjutnya 2-fosfoglisarat akan diubah menjadi fosfoenolpiruvat oleh enolase dan ion magnesium dengan melepaskan H₂O untuk menstabilkan ion enolat, kemudian tahap terakhir dari glikolisis adalah pembentukan piruvat dari fosfoenolpiruvat oleh piruvat kinase dan ion magnesium sebagai kofaktor dalam pelepasan gugus fosfat dalam mensintesis ATP dari ADP, kemudian piruvat akan direduksi membentuk asam laktat oleh laktat dehidrogenase yang dibawa oleh darah ke hati. Di sini asam laktat akan diubah menjadi glukosa kembali melalui serangkaian reaksi dalam suatu proses yaitu glukoneogenesis (pembentukan gula baru). Selain itu, sebagian kecil fruktosa dalam tubuh akan diubah menjadi glukosa, maka glukosa juga akan mengalami metabolisme di hepar, dimana magnesium juga akan mengaktivasi heksokinase untuk mensintesis ATP sehingga glukosa akan diubah menjadi glukosa-6-fosfat yang kemudian akan masuk dalam proses glikolisis sehingga menghasilkan energi. Oleh sebab itu, magnesium sangat penting dalam proses metabolisme fruktosa untuk mensintesis ATP dari ADP. Kehilangan magnesium yang berlebihan dalam urin karena penyakit atau efek samping obat dapat memperburuk defisiensi magnesium (Sun&Empie, 2012, McKee *et al.*, 2003).

Menurut survei yang dilakukan oleh Nasional Kesehatan dan Gizi pada tahun 1999-2000 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan resiko kekurangan magnesium pada orang dewasa yang lebih tua yang memiliki asupan makanan rendah magnesium daripada orang dewasa muda. Selain itu, penyerapan magnesium menurun dan ekskresi magnesium di ginjal meningkat pada orang dewasa yang lebih tua (*National Institutes of Health*, 2009). Selain itu, di Asia kandungan mineral dalam air minum tergolong rendah jika dibandingkan dengan Amerika, Eropa, dan Afrika, sehingga sering terjadi defisiensi magnesium (Ong, 2004).

Menurut Rayssiguier (2006), defisiensi magnesium menyebabkan inflamasi yang ditandai oleh leukosit dan aktivasi makrofag, pelepasan sitokin inflamasi, ekspresi protein fase akut dan produksi radikal bebas yang berlebihan. Hal ini disebabkan karena magnesium bertindak sebagai antagonis kalsium yang akan menurunkan konsentrasi kalium dalam sel dan meningkatkan konsentrasi Na dan Ca dalam sel yang pada akhirnya mengurangi ATP intraseluler karena konsentrasi Mg yang rendah intraseluler membuat kalium keluar sel sehingga mengganggu konduksi dan metabolisme sel, dan apabila diet tinggi fruktosa dikombinasikan dengan defisiensi magnesium akan memperkuat efek terjadinya inflamasi dan sindrom metabolik pada tikus, karena kekurangan magnesium memiliki efek pro-inflamasi, sehingga akan meningkatkan resiko terjadinya resistensi insulin dan memberikan kontribusi untuk aspek-aspek lain dari sindrom metabolik seperti hipertensi, dislipidemia, disfungsi endotel sehingga memicu pengumpulan platelet dan peningkatan thrombosis (Rayssiguier *et al.*, 2006).

Tingginya penggunaan fruktosa ditengarai menyebabkan gangguan pada fungsi hati, hal ini dinyatakan oleh Jurgens (2005) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa tikus yang diberi 15% fruktosa selama 3 bulan tidak menunjukkan perubahan bobot hati secara signifikan, namun evaluasi histologi menunjukkan terjadi peningkatan penyimpanan lemak dalam hati (Jurgens *et al.*, 2005). Adanya akumulasi lemak dalam hati lebih dari 10% dari berat hati itu sendiri, maka sel tidak akan mampu memetabolisme lemak dengan baik sehingga dapat terjadi penimbunan lemak yang menyebabkan degenerasi lemak, dan apabila berlangsung cukup lama akan menyebabkan sel tidak dapat menjalankan fungsinya sehingga terjadi kematian sel (nekrosis dan apoptosis) (Macfarlane *et al.*, 2000). Hal ini dibuktikan dengan penelitian Ackerman *et al.*, pada tikus jantan *Sprague-*

Dawley yang diberi tinggi fruktosa 60% dalam diet menunjukkan perubahan patologi hepar pada kondisi kronis akibat terjadi peningkatan sintesis trigliserida yang merupakan hasil metabolisme fruktosa di hati yang menyebabkan NAFLD (*Nonalcoholic Fatty Liver Disease*) berupa makrovesikular dan mikrovesikular steatosis (Kawasaki *et al.*, 2009).

Gangguan pada fungsi hati dapat berupa perubahan patologi hepar yang meliputi pemeriksaan histologi sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis, umumnya menggunakan metode pewarnaan hematoksilin-eosin yang ditandai dengan perubahan bentuk hepatosit dari simetris menjadi lebih besar dan tidak simetris dan terjadi perubahan keberadaan inti sel (Nugraha *et al.*, 2008). Sedangkan peristiwa apoptosis sering dikaitkan dengan protein p53 karena jika terjadi kerusakan DNA maka ATM/ATR kinase akan diaktifkan, sehingga akan mengaktifkan Chk2/Chk1 kinase yang akan memfosforilasi p53. Protein p53 merupakan salah satu protein yang mempengaruhi apoptosis sel karena berperan dalam mengatur tekanan respon sel pada mamalia melalui aktivasi signal apoptosis, transkripsi gen yang meliputi kontrol siklus sel melalui dengan memicu sel untuk melakukan “*arrest*” pada perbatasan G1/S dengan menginduksi penghambat CDK (*cyclin dependent kinase*) sehingga fase G1 berhenti, sebagai mediator Bcl-2 untuk mencegah kerusakan DNA dan apoptosis untuk mencegah terjadinya proliferasi sel yang menyimpang. Oleh sebab itu, p53 dipilih sebagai penanda yang memacu terjadinya apoptosis sel dengan melihat peningkatan ekspresi protein p53 pada sel hepar (Amudson *et al.*, 1998, Syaifudin, 2007, Sukamdi *et al.*, 2010, Bartek and Lukas, 2001).

Penelitian dan berbagai kasus yang berhubungan dengan diet tinggi fruktosa rendah magnesium terhadap organ khususnya hepar tikus jantan *wistar*, maka dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui sejauh mana perubahan gambaran histologi hepar tikus dalam kondisi subkronis hingga

menimbulkan kematian sel karena efek pemberian tinggi fruktosa 60% dalam diet yang dikombinasikan dengan rendah magnesium selama 2 bulan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dari penelitian ini, maka rumusan masalahnya adalah:

1. Apakah diet tinggi fruktosa rendah magnesium dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada hepar tikus wistar jantan?
2. Apakah diet tinggi fruktosa rendah magnesium dapat menyebabkan terjadinya peningkatan apoptosis yang ditandai dengan ekspresi p53 pada sel hepar tikus wistar jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek diet tinggi fruktosa rendah magnesium terhadap nekrosis dan apoptosis yang ditandai dengan peningkatan ekspresi p53 pada sel hepar tikus wistar jantan.

1.4 Hipotesis

1. Diet tinggi fruktosa rendah magnesium dapat menyebabkan terjadinya nekrosis, jika dibandingkan dengan kondisi normal pada sel hepar tikus wistar jantan.
2. Diet tinggi fruktosa rendah magnesium dapat menyebabkan terjadinya peningkatan apoptosis dengan melihat peningkatan ekspresi p53 pada sel hepar tikus wistar jantan.

1.5 Manfaat Penelitian

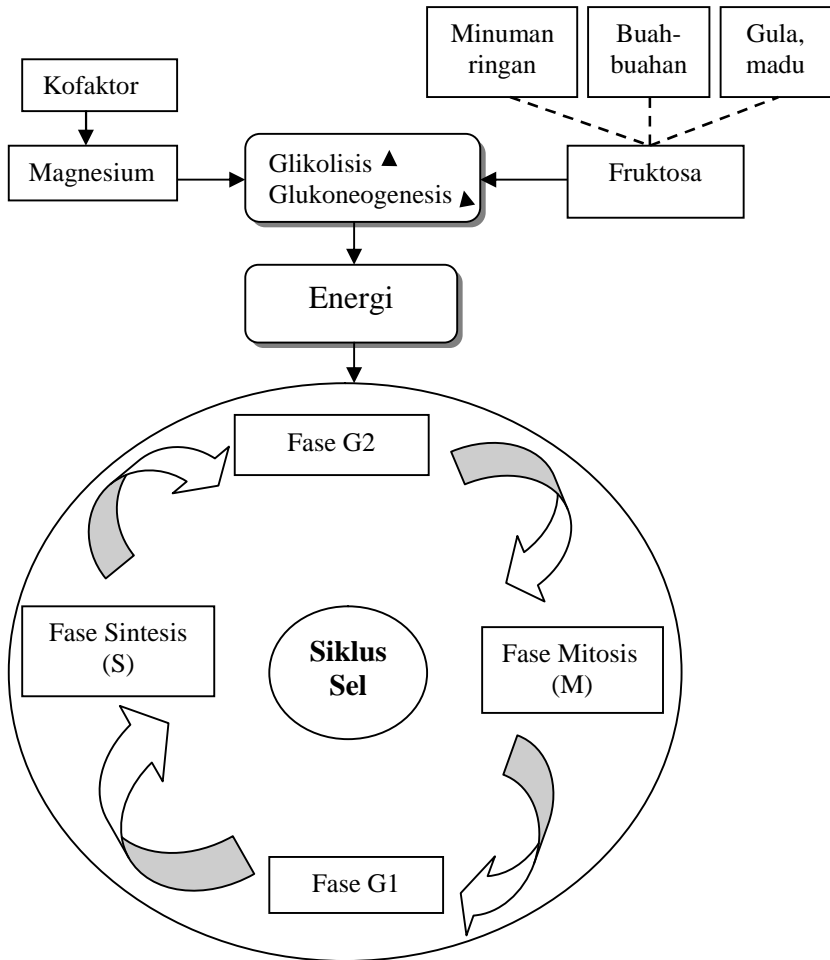
1. Manfaat keilmuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang sejauh mana perubahan histopatologi pada hepar tikus baik secara makroskopis maupun mikroskopis setelah pemberian fruktosa 60% dalam diet yang dikombinasikan dengan rendah magnesium selama 2 bulan (kondisi subkronis).

2. Manfaat untuk masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat tentang dampak konsumsi fruktosa secara berlebihan terhadap kesehatan manusia yang dilihat dari perubahan histopatologi hepar tikus.

1.6 Kerangka Teoritis



Keterangan:
→ Pengaruh
- - - Asosiasi
↻ Tahapan siklus sel
▲ Meningkatkan