

Pengaruh Bisphenol-A (BPA) terhadap Kadar Insulin Pada Hepar Tikus Wistar Jantan

(Effect of Bisphenol-A (BPA) on Hepar Insulin Level in Adult Male Wistar Rats)

Rizky Purboningtyas^{1*}, Zahreni Hamzah², Swasthi Prasetyarini³

^{1*} Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

² Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

³ Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Dasar, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Abstrak

Bisphenol-A (BPA) adalah bahan kimia sintetik berupa monomer yang banyak digunakan sebagai bahan penyusun plastik. BPA banyak dijumpai pada produk peralatan rumah tangga, wadah makanan dan minuman, dan pada bidang kedokteran gigi sendiri terdapat pada *dental sealant* dan basis akrilik gigi tiruan. BPA dapat mencemari atau masuk ke dalam tubuh manusia paling banyak melewati oral atau ditelan bersama dengan makanan yang dikonsumsi. Diketahui paparan BPA melewati oral dapat menimbulkan beberapa penyakit, salah satunya masalah endokrin dan metabolik yaitu Diabetes Mellitus. Tujuan penelitian untuk menganalisis pengaruh BPA terhadap penurunan kadar insulin pada hepar tikus wistar jantan. 18 ekor tikus wistar jantan dibagi kedalam 3 kelompok. Kelompok I (kontrol 1) tidak diberi perlakuan apapun, hanya diaklimatisasi selama 7 hari. Kelompok II (kontrol 2) diberi perlakuan aquadest steril secara peroral selama 28 hari. Kelompok III (kelompok perlakuan) diberi perlakuan BPA secara peroral dengan dosis 20 mg/kgBB selama 28 hari. Setelah dikorbankan, dibuat homogenat hepar dan kadar insulin diukur dengan pemeriksaan ELISA. Data dianalisis dengan uji One Way Anova dan uji LSD. Bisphenol-A (BPA) dengan dosis 20 mg/kgBB yang dipapar selama 28 hari dapat menurunkan kadar insulin pada hepar tikus wistar jantan.

Kata kunci: Bisphenol-A (BPA), kadar insulin, hepar

Abstract

Bisphenol-A (BPA) is a synthetic chemical substance in the form of monomers which is commonly used as plastic constituents. BPA is often found in household appliances, food and beverage containers, and in dental sealants and acrylic base dentures. BPA can contaminate or enter the human body mostly through oral route or swallowed along with food consumed. It is known that BPA exposure through the oral route can cause several diseases, and one of them is endocrine and metabolic problems, which is Diabetes Mellitus. This study was to analyze the decrease of insulin levels in the liver of male Wistar rats after being exposed by BPA. 18 adult male Wistar rats were divided into 3 groups. Group I (control 1) was not given any treatment, only acclimatized for 7 days. Group II (control 2) was treated with sterile aquadest orally for 28 days. Group III (treatment group) was given oral BPA treatment with a dose of 20 mg / kg body weight for 28 days. After sacrificed, the hepar was homogenated and the insulin level was determined by ELISA. Data were analyzed with One Way Anova test and LSD test. Bisphenol-A (BPA) with a dose of 20 mg/kgBB exposed for 28 days can reduce on hepar insulin levels in adult male Wistar rats.

Keywords: Bisphenol-A (BPA), insulin level, hepar

Korespondensi (Correspondence) : Rizky Purboningtyas¹. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jalan Kalimantan 37, Jember. Email. rizky.purboningtyas@gmail.com

Konsumsi plastik di Indonesia menurut data LIPI dan Kementerian Perindustrian Republik Indonesia tahun 2016 merupakan tertinggi kedua di dunia. Mayoritas kemasan yang digunakan industri di Indonesia adalah kemasan plastik sebanyak 42% dari total bahan baku yang digunakan oleh industri kemasan. Terdapat banyak komponen penyusun plastik tersebut, salah satunya yaitu monomer berupa Bisphenol-A (BPA). BPA adalah suatu bahan kimia sintetik berupa monomer yang banyak digunakan dalam produksi plastik polikarbonat (PC) dan epoksi resin. BPA merupakan salah satu substansi Endocrine Disrupting Compounds (EDC) yang terdapat di lingkungan, makanan, dan produk-produk industri lain termasuk dalam bidang kedokteran gigi, yaitu dental sealant.¹

BPA dapat masuk ke dalam tubuh melalui berbagai rute paparan, yang utama adalah melalui makanan yang dikonsumsi masyarakat. Perpindahan BPA dapat

dipengaruhi oleh waktu kontak yang lama, temperatur mulai dari 20°C dan dalam microwave dengan temperature 180°C selama 5 menit, dan tipe makanan atau pH makanan sekitar >7 (basa).²

Penggunaan BPA yang besar terutama di bidang industri plastik dapat memicu berbagai masalah kesehatan, terutama fungsi endokrin dan metabolik. Masalah endokrin dan metabolik yang sering muncul akibat paparan kronis dari BPA adalah Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2).³

DMT2 adalah bentuk Diabetes Mellitus yang paling umum dan telah meningkat seiring dengan budaya dan perubahan gaya hidup masyarakat. Negara yang berpenghasilan tinggi sebanyak 91% orang dewasa memiliki penyakit DMT2.⁴ Data WHO memperkirakan jumlah penderita DMT2 di Indonesia akan meningkat signifikan hingga 21,3 juta jiwa pada 2030 mendatang. Banyak faktor pencetus DMT2 diantaranya faktor

makanan, genetik, gaya hidup, lingkungan, dan lain-lain. DMT2 merupakan kasus yang mempunyai latar belakang resistensi insulin. Resistensi insulin yaitu ketidakmampuan insulin memberi efek biologik yang normal pada kadar gula darah tertentu, sehingga dibutuhkan kadar insulin yang lebih banyak untuk mencapai kadar glukosa darah yang normal. Pada DMT2, produksi insulin pada pankreas tidak mengalami gangguan. Gangguan terjadi pada reseptor insulin di organ tubuh salah satunya yaitu hepar, dimana hepar adalah organ yang sangat penting untuk mengatur metabolisme tubuh.⁵

Konsumsi BPA akan meningkatkan perkembangan penyakit hormonal. Penyakit hormonal ini cukup banyak berkaitan dengan gangguan fungsi kelenjar endokrin.⁶ Beberapa tahun terakhir, diketahui bahwa terdapat hubungan antara beberapa penyakit endokrin dengan paparan BPA pada manusia. Lebih jauh lagi diketahui bahwa BPA juga berasosiasi dengan penyakit metabolime seperti DMT2.⁷

Walaupun sudah banyak dilakukan penelitian mengenai faktor penyebab DMT2, tetapi penelitian mengenai pengaruh BPA sebagai salah satu faktor resiko terhadap kadar insulin dalam hepar belum begitu jelas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh BPA terhadap kadar insulin dalam hepar.

METODE PENELITIAN

Seluruh prosedur dalam penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik FKG Universitas Jember dengan nomor 268/UN25/8/KEPK/DL/2019. Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vivo* pada tikus putih wistar dengan rancangan penelitian *randomized separate pretest-posttest control group design*.⁸ Sampel penelitian adalah 18 ekor tikus wistar jantan yang dibagi dalam 3 kelompok.

Kelompok kontrol 1, tikus diadaptasi selama 7 hari dan didekapitasi pada hari ke-0 perlakuan. Tikus diambil organ heparnya, hepar sesegera mungkin dibuat homogenat lalu diambil supernatannya, dan disimpan dalam suhu -20°C. Kelompok kontrol 2, tikus diberi perlakuan aquadest steril secara peroral selama 28 hari. Kelompok perlakuan, tikus diberi larutan BPA dengan dosis 20 mg/kgBB secara oral selama 28 hari. Tikus kelompok kontrol 2 dan perlakuan didekapitasi pada hari ke-29, diambil organ heparnya dan sesegera mungkin dibuat homogenat hepar. Homogenat hepar dibuat dengan cara menimbang hepar ± 1 gram, dan ditumbuk sampai lumat menggunakan mortal dan pastel diatas *dry ice* dan mencampurkan larutan PBS sebanyak 10% dari berat hepar. Kemudian di *sentrifuge* selama 10 menit dengan kecepatan 3000rpm, dan diambil supernatannya. Pengukuran kadar insulin pada tikus dilakukan dengan Uji ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik. Uji normalitas menggunakan Uji *Shaphiro-wilk*, selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Untuk mengetahui perbedaan kadar insulin antar kelompok dilakukan uji *One Way Anova*, kemudian dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Differences)*

HASIL

Rata – rata kadar insulin pada hepar tikus wistar jantan masing – masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Kadar Insulin pada Hepar Tikus Wistar Jantan (mIU/L) (n=6)

Kelompok	Kadar Insulin
Kontrol 1	3,04 \pm 0,37
Kontrol 2	1,45 \pm 0,62
Perlakuan BPA	0,80 \pm 0,45

Tabel 2. Berat Hepar Tikus Wistar Jantan (Gram)

Kelompok	Berat Hepar
Kontrol 1 dan 2	8,29 \pm 0,68
Perlakuan BPA	9,27 \pm 1,61

Tabel 1 menunjukkan kadar insulin pada hepar kelompok K1 lebih tinggi daripada kelompok K2 (Tabel 1). Hal ini menunjukkan ada pengaruh stress fisiologis dengan kadar insulin pada hepar S Selain itu, kadar insulin pada hepar kelompok K2 lebih tinggi daripada kelompok Perlakuan (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa BPA dapat mempengaruhi kadar insulin pada hepar tikus Wistar jantan. Berat hepar kelompok perlakuan didapatkan lebih berat dibandingkan kelompok kontrol (Tabel 2).



(A)

(B)

Gambar 2. Gambaran makroskopis hepar (A) kelompok kontrol 2, (B) kelompok perlakuan

Berdasarkan hasil penelitian secara makroanatomi, hepar tikus perlakuan didapatkan lebih berat (Tabel 2) serta terdapat bintik-bintik di seluruh permukaan hepar (Gambar 2) dimana hal tersebut merupakan ciri-ciri dari perlemakan hati.⁹

Hasil uji *Shaphiro-wilk* diperoleh nilai signifikansi (p) $>0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas dengan *Levene's test* menunjukkan nilai signifikansi (p) $> 0,05$, yaitu 0,207, sehingga dapat disimpulkan bahwa data homogen. Berdasarkan hasil uji

Shapiro-wilk dan uji *Levene's test*, diketahui bahwa data berdistribusi normal dan homogen, sehingga dapat dilanjutkan uji beda parametrik *One Way Anova*. Hasil uji beda kadar insulin *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,000, yang berarti terdapat perbedaan yang sangat bermakna, sehingga selanjutnya dilakukan uji *LSD (Least Significant Difference)*. Hasil Uji *LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol 1 dengan kelompok kontrol 2, selanjutnya antara kelompok kontrol 2 dengan kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh BPA terhadap kadar insulin pada hepar tikus wistar jantan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar insulin pada hepar tikus secara signifikan pada kelompok perlakuan. Penurunan ini terjadi kemungkinan disebabkan oleh stress fisiologis karena proses sondase oral yang dilakukan selama 28 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa stress fisiologis yang terjadi secara kronis berkaitan dengan IR (*Insulin Receptors*). Stress yang ditimbulkan mengakibatkan penurunan sensitivitas IR dan terjadi *Insulin Resistance* sehingga insulin yang telah diproduksi tidak dapat digunakan dengan baik oleh sel hepar sehingga didapatkan kadar insulin didalam hepar yang rendah.¹⁰

Hasil penelitian juga mendapatkan adanya penurunan secara signifikan kadar insulin pada hepar tikus kelompok kontrol dibandingkan kelompok perlakuan. Penurunan ini terjadi karena BPA memiliki aktivitas menyerupai hormon estrogen Estradiol (E_2) banyak diketahui berfungsi sebagai hormon seks, namun beberapa penelitian menyatakan E_2 memiliki peran lain termasuk keseimbangan energi dan homeostasis glukosa dan E_2 memiliki peranan penting untuk mempertahankan normalitas sensitivitas insulin. Selain itu E_2 juga memiliki peran dalam proses *uptake* glukosa untuk masuk ke dalam sel.¹¹ E_2 membantu kerja insulin melalui pengaturan fosforilasi protein reseptor insulin (IR). E_2 mempunyai isoform yaitu E_{α} dan E_{β} , keduanya berfungsi dalam pengaturan transport glukosa dan insulin melalui GLUT4. Aktivasi E_{α} membantu ikatan IR dan menstimulasi ekspresi GLUT4. Aktivasi E_{β} akan menekan ekspresi GLUT4 dan GLUT4 akan mengalami penurunan sehingga insulin akan sulit masuk ke dalam sel, salah satunya sel hepar.¹² Hal tersebut menyebabkan hipoinsulinemia pada sel hepar karena sensitivitas insulin menurun, dan lama kelamaan akan menyebabkan DMT2.

Penurunan kadar insulin pada penelitian ini mungkin juga disebabkan karena BPA juga dapat menyebabkan penuaan melalui

peningkatan senyawa radikal di dalam tubuh dan menginduksi terjadinya stress oksidatif. Disebutkan bahwa BPA meningkatkan produksi *reactive oxygen species (ROS)*, yang menyebabkan kerusakan hepar dan disfungsi mitokondria.^{13,14} Hati adalah organ utama untuk metabolisme dan detoksifikasi xenobiotik, termasuk BPA. Karena itu, hepar sebagian besar yang terkena efek dari BPA, dan sangat rentan sekalipun dalam dosis yang sangat rendah, dibandingkan dengan organ lain.¹⁴

BPA dapat meningkatkan radikal bebas dan menyebabkan stress oksidatif dengan mengganggu status redoks dalam sel.¹⁵ BPA dalam jumlah besar akan membuat tubuh tidak dapat melakukan kompensasi. Kondisi tersebut menyebabkan peningkatan radikal bebas dalam sel serta menyebabkan kerusakan sel dan jaringan di dalam tubuh. Kerusakan pada sel termasuk di dalamnya kerusakan membran sel melalui peroksidasi lipid membran sel. Proses ini akan melepaskan adipositokin, seperti *TNF α* dan *IL-6*. Sitokin tersebut menstimulasi hati untuk mengeluarkan *C-reactive protein (CRP)*. *TNF α* dan *CRP* akan menyebabkan disglukemia (gangguan pengangkutan glukosa darah) yaitu dengan cara mengaktifkan serine dan threonine kinase (*Jun-N terminal protein kinase dan Inhibitor of Nuclear κ B Kinase*). Kinase tersebut yang akan mengaktifkan inhibitor enzim, sehingga menyebabkan penekanan reseptor insulin terutama IRS-1 dan mengakibatkan penurunan sensitivitas insulin dalam hepar. Sehingga insulin tidak dapat memainkan perannya sebagai transporter dalam *uptake* glukosa. Insulin dan glukosa akan menumpuk di pembuluh darah sehingga menyebabkan hiperinsulinemia dan hiperglikemik. Sedangkan dalam sel hepar kadar insulin rendah karena sensitivitas insulin menurun. Kondisi seperti ini jika dibiarkan dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan DMT2.

Terjadinya resistensi insulin, maka menyebabkan penurunan glukosa yang masuk ke sel hepar. Hal tersebut menyebabkan jaringan adiposa menangkap sinyal hipoglikemik. Sehingga pada jaringan adiposa terjadi peningkatan lipolisis dan selanjutnya akan meningkatkan produksi asam lemak bebas yang akan di transport ke hepar. Di dalam hepar, asam lemak bebas nantinya akan berikatan dengan gliserol membentuk Triglicerida (TG). Berhubungan dengan meningkatnya kadar asam lemak bebas yang diakibatkan mobilisasi lipid dari jaringan adipose, produksi lipoprotein plasma yang tidak mengimbangi masuknya asam lemak bebas, membuat TG menumpuk di sel hepar dan mengakibatkan Hepatosteatososis atau Perlemakan Hati.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian *Bisphenol-A (BPA)* dengan dosis 20 mg/kgBB dapat menurunkan kadar insulin dalam hepar tikus wistar jantan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap dosis optimal pemberian BPA yang lain. dan waktu pemberian BPA yang lebih lama. perubahan yang terjadi secara histopatologi pada hepar dan organ lain akibat induksi oleh BPA juga perlu diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Geoyens L, Lecomte P, et al. 2012. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and Chemical Toxicology*; 50: 3275-40
2. Hoekstra EJ, Simoneau C. 2013. Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 53(4):386-402
3. Beynen A. 2017. BPA in canned petfood. *Creature Companion*. 33-34
4. IDF Diabetes Atlas: www.idf.org/diabetesatlas edisi keenam
5. Sherwood, L. 2014. Fisiologi manusia. *Dari Sel ke Sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC
6. Root-Bernstein R., Podufaly A dan Dillon PF. Estradiol Binds to Insulin and Insulin Receptor Decreasing Insulin Binding in vitro. *Int Neurorol J*. 2018; 22(3): 161-168.
7. Cunha S, Alves RN, Fernandes JO, Casal S, Marques A. 2017. 2017. First approach to assess the bioaccessibility of bisphenol A in canned seafood. *Food Chemistry*. 232: 501-507
8. Zahreni H. Peningkatan Jumlah Sel Punca Mesenkimal Ligamen Periodontal Penghasil HSP-60 dan TGF-beta Berperan pada Mobilitas Gigi Tikus SD yang Mengalami Distres Kerja Kronis. Universitas Airlangga. 2015
9. Max C. Petersen, Daniel F. Vatner, and Gerald I. Shulman. 2017. Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 13(10): 572-587.
10. Christopher J. Nolan, Neil B. Ruderman, Steven E. Kahn, Oluf Pedersen, and Marc Prentki. 2015. Insulin Resistance as a Physiological Defense Against Metabolic Stress. *Implications for the Management of Subsets of Type 2 Diabetes*. 64:673-686
11. Shanle, E.K., Xu, W. 2011. Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling. *Identification and mechanisms of action*. *Chem. Res. Toxicol*. 24: 6-19.
12. Pradana, Waldy Yudha dan Danny Jaya Jacobus. 2016. Bisphenol A(BPA) adalah Endocrine Disrupture Chemicals (EDC) yang Berperan sebagai Agen Diabetogenik. *CDK-244/ vol. 43 no. 9*.
13. Asahi J, Kamo H, Baba R, Doi Y, Yamashita A. 2010. Bisphenol A induces endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis in mouse non-parenchymal hepatocytes. *Life Sci*. 87: 431-8
14. Moon MK, Kim MJ, Jung IK, Koo YD, Ann HY, Lee KJ. 2012. Bisphenol A impairs mitochondrial function in the liver at doses below the no observed adverse effect level. *J Korean Med Sci*. 27:644-52.
15. Mikołajewska K, Stragierowicz J, Gromadzińska J. 2015. Bisphenol A – Application, Sources Of Exposure And Potential Risks In Infants, Children And Pregnant Women. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 28(2):209-241.