

Efek Paparan Rhodamin B Terhadap Perubahan Makroskopis Dan Histopatologi Mukosa Kolon Mencit Jantan (*Mus musculus L.*)

Novita Aryani^{1*}

¹Jurusan Keperawatan, Akademi Kesehatan Pemkab Langkat
*Korespondensi: novita_aryani15@yahoo.com

Abstract. Rhodamine B is a synthetic dye that can not be used as food additives and harmful if it enters the body, causing oxidative stress if continued resulting in cell membrane damage and cell death, but until now its use is still found in industrial-scale food production and household. The aim of research to determine the effect of rhodamine B exposure and after cessation of exposure rhodamine B (recovery period) to the macroscopic and histopathological changes in the colonic mucosa of mice (*Mus musculus L.*) males. This study tested an experimental laboratory to design the post-test only control group. The research subject of male mice (*Mus musculus L.*) strains DD Webster, 6-7 weeks, 25-40 grams, 28 were divided 2 treatment groups: (1) P₀ (control) were given distilled water 0,3ml, (2) rhodamine B dose 0.2% / day, 0,3ml. Treatment for 21 days, then continued for 7 days without any treatment to see his cell recovery. The results showed a significant increase ($p < 0.5$) macroscopic colonic damage and histopathology colonic mucosa in the treatment group compared with the control group when treated well after treatment is stopped. Expected to society, especially with children under five and school age do not consume snacks bright.

Keywords: rhodamine B, macroscopic, histopathology, colon mucosa

PENDAHULUAN

Rhodamin B termasuk golongan pewarna *xanthene* basa, mengandung unsur-unsur yang toksik karena memiliki gugus klorin, *poli aromatic hidrokarbon* (PAH), dan senyawa alkilating, mengandung residu logam berat serta terbuat dari *metadietilaminofenol* dan *ftalik anhidrid* merupakan unsur yang bersifat karsinogenik dan tidak boleh ada dalam produksi pangan (MSDS, 2009).

Seringkali terjadi penyalahgunaan pemakaian zat pewarna rhodamin B untuk sembarang bahan pangan. Timbulnya penyalahgunaan tersebut antara lain disebabkan oleh ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk pangan, dan disamping harga zat pewarna untuk industri jauh lebih murah dibandingkan dengan harga zat pewarna untuk pangan. Hal ini disebabkan bea masuk zat pewarna untuk bahan pangan jauh lebih tinggi dari pada zat pewarna bahan nonpangan. Lagi pula warna dari zat pewarna tekstil atau kulit biasanya lebih menarik (Dalimunte, 2010).

Pemerintah dalam hal ini Departemen Kesehatan telah memberikan informasi tentang larangan penggunaan rhodamin B sebagai pewarna tambahan makanan yang tertuang dalam Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) RI No.239/Menkes/Per/V/85

dan No.1168/Menkes/PER/X/1999 serta dalam peraturan Menteri Perdagangan RI Nomor 4/M-DAG/PER/2/2006. Tetapi sayangnya peraturan ini belum terlaksana dengan baik. Pada tahun 2007, hasil analisis terhadap pewarna yang dilarang dalam makanan menunjukkan bahwa dari 2256 sampel jajanan anak sekolah hampir di seluruh ibukota propinsi di Indonesia terdiri dari sampel es (misalnya es mambo, lolipop, dan sebagainya), minuman berwarna merah, sirup, jelly, agar-agar, permen, saos dan kudapan (misalnya gorengan, kerupuk, keripik, kue dan sebagainya) menunjukkan bahwa 98 sampel (4%) diantaranya mengandung rhodamin B (Infopom, 2008). Pada jajanan anak SD di Kabupaten Labuhan Batu rhodamin B ditemukan sebesar 0,59245 µg/g dalam es doger, 59,0527 µg/g dalam kerupuk, dan 50,5181 µg/g dalam saos (Dalimunte, 2010), jajanan anak SD di Kecamatan Margaasih Kabupaten Bandung dalam kadar yang cukup besar antara 7,841-3226,55 ppm (Trestianti, 2003). *Food and Drug Administration* (FDA) menentukan bahwa kadar rhodamin B yang boleh di makan maksimal sebesar 0,75 mg/hari (IARC, 1978).

Rhodamin B yang bercampur bersama makanan memberikan gejala mual, muntah, gangguan fungsi dan iritasi kolon yang menyebabkan diare, konstipasi, kolon

cathartic, dan melalui pemeriksaan radiologi dan patologi tampak terjadi penipisan dinding dan hilangnya mukosa normal saluran cerna serta pendarahan pada gastrointestinal (MSDS, 2009).

Sel-sel mukosa kolon dalam saluran cerna cenderung lebih mudah mengalami kerusakan akibat induksi oksidasi radikal (D'Odorico, 2001) dan melalui kontak langsung zat toksik (Devroede, 1971). Juga menurut Eaden, *et al.* (2002) menyatakan antioksidan endogen di jaringan mukosa kolon relatif rendah dari bagian lain di saluran cerna.

Saat ini prevalensi penyakit peradangan pada kolon dapat terjadi pada semua tingkatan umur karena perubahan pola hidup manusia dengan penyebab pastinya sampai saat ini belum diketahui dengan jelas, dipastikan terjadi atas dasar kombinasi beberapa faktor genetik, sistem imun dan faktor lingkungan (Hendrickson *et al.*, 2004). Insiden penyakit ini meningkat pada dekade terakhir, seperti di Amerika Serikat, Inggris, dan Skandinavia sekitar 4 sampai 12 kasus per 100.000 penduduk, dan diperkirakan prevalensinya sekitar 70 sampai 150 per 100.000 penduduk. Puncak timbulnya penyakit ini terjadi pada umur 20 sampai 25 tahun (Cotran *et al.*, 2007), tetapi insiden juga meningkat pada anak-anak dan orang tua (Sawczenko *et al.*, 2001). Penderita peradangan kolon berisiko terjadinya kanker korektal (Medhi *et al.*, 2008). Berdasarkan latar belakang dan fenomena tersebut, maka penulis pun tertarik untuk meneliti mengenai efek pemaparan rhodamin B terhadap perubahan makroskopis kolon dan histopatologi epitel mukosa kolon mencit (*Mus musculus L.*) jantan.

METODE

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan makroskopik mukosa kolon mencit

Tabel 1. Hasil rata rata penilaian makroskopik mukosa kolon

Kelompok	Jlh Mencit	Rata-rata ± SD
Po	5	0.00 ± 0.00 ^a
P1	5	2.80 ± 1.10 ^b
Po (R)	5	0.00 ± 0.00 ^a
P1 (R)	5	2.60 ± 0.55 ^b

(R): Perlakuan dihentikan

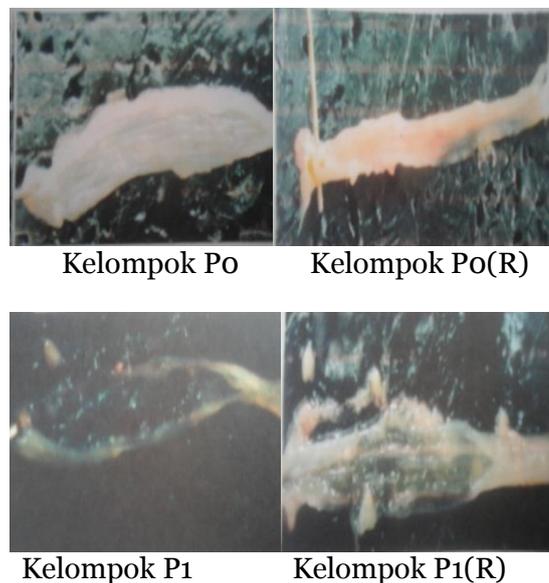
Huruf yang sama berbeda tidak bermakna, $p < 0.05$

Jenis penelitian ini adalah studi eksperimental laboratorik dengan rancangan *the post test only control group*, Populasi penelitian adalah mencit jantan (*Mus musculus L.*) strain DDW (*Double Ditsch Webster*) berumur 6-7 minggu dengan berat badan 25-40 gram sebanyak 28 ekor. Alur penelitian dalam penelitian ini yaitu pertama mencit diadaptasikan pada lingkungan dan pakan selama 7 hari, kemudian dibagi kedalam 2 kelompok perlakuan: kelompok kontrol (Po) yang hanya diberi aquadest 0,3ml dan kelompok pemberian rhodamin B konsentrasi 0,2% sebanyak 0,3ml (P1) selama 21 hari. Selanjutnya sampai hari ke-28 perlakuan diberhentikan untuk melihat recovery sel. Pada hari ke-21 dan ke-28, tiga jam setelah pemberian pakan sebanyak 5 ekor mencit dari masing-masing kelompok dipilih secara random kemudian didekapitasi dengan cara dislokasi leher untuk melihat peradangan kolon secara makroskopik yang dinilai berdasarkan kriteria morfologi dari Wallace *et al.*, 1989, dan menilai histopatologi epitel mukosa kolon mencit berdasarkan kriteria Levine *et al.* (2002).

Bahan jaringan kolon yang diambil setelah mencit didekapitasi adalah ± sepanjang 10 cm dari rectum kearah kolon desendens kemudian jaringan adipose yang melekat dibuang dan dibersihkan dengan larutan NaCL 0,9% . Lalu jaringan dibelah dengan pisau dan difiksasi untuk dilihat lapisan mukosanya secara makroskopik. Selanjutnya jaringan dimasukkan dalam larutan formalin buffer 10% pH 7, kemudian ditanam dalam paraffin blok dan dipotong dua sayatan serial setebal 4µm, lalu diwarnai dengan pewarnaan Haematoxyline dan kemudian diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 x.

Berdasarkan Tabel 1, rata-rata derajat kerusakan mukosa kolon secara makroskopik yang tertinggi adalah pada kelompok perlakuan pemberian rhodamin B (P1) yaitu sebesar 2.80 ± 1.10 , secara statistik

menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) terhadap kelompok Po, dan Po(R), namun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$) terhadap kelompok P1(R).



Gambar 1. Makroskopik mukosa kolon

Berdasarkan Gambar 1. Pada kelompok P1 dan P1(R) ditemukan adanya perdarahan pada permukaan mukosa kolon, pembengkakan kelenjar (nodul) pada beberapa tempat, terjadinya penipisan kolon sehingga konsistensi lembek, rapuh dan

mudah hancur. Peradangan pada mukosa kolon ini masih terbatas pada permukaan epitel mukosa saja belum sampai kelapisan yang lebih dalam lagi sehingga tidak dijumpai adanya pelengketan antara kolon dengan jaringan sekitar kolon.

Hasil pengamatan histopatologi mukosa kolon mencit

Tabel 2. Hasil Rata-rata penilaian histopatologi mukosa kolon

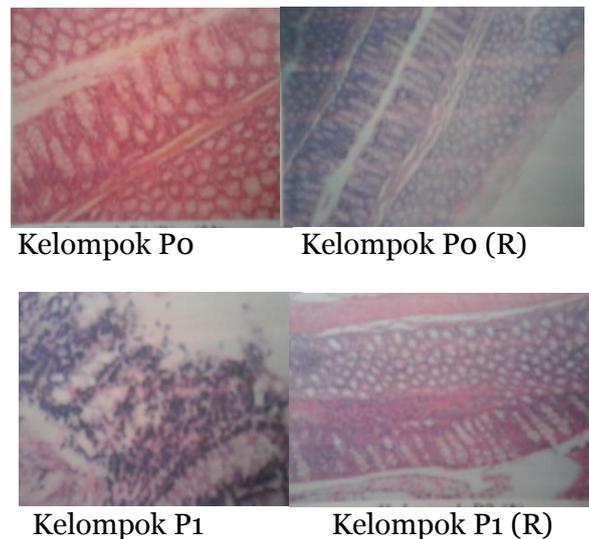
Kelompok	Jlh Mencit	Rata-rata \pm SD
Po	5	0.20 ± 0.45^a
P1	5	3.20 ± 0.84^b
Po (R)	5	0.40 ± 0.55^a
P1 (R)	5	2.20 ± 0.84^b

(R): Perlakuan dihentikan

Huruf yang sama berbeda tidak bermakna, $p < 0.05$

Berdasarkan Tabel 2 Derajat kerusakan mukosa kolon secara hispatologi yang tertinggi adalah pada kelompok P1 yaitu sebesar 3.20 ± 0.84 , secara statistik

menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) terhadap kelompok Po dan Po(R), namun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$) terhadap kelompok P1(R).



Gambar 2. Histopatologi sel mukosa kolon

Berdasarkan Gambar 2 ditemukan pada kelompok P1 dan P1(R) adanya sebaran sedang sel-sel radang (jarak sebaran sel radang tersebut masih bisa disisipi oleh satu sel radang) pada lapisan superfisial yang tersebar difus bahkan ada yang sampai ke lapisan muskularis mukosa, juga sebaran sedang sel-sel radang pada daerah kriptal atau terjadi abses pada daerah kriptal yang tersebar difus.

Analisa data derajat kerusakan mukosa kolon secara makroskopik dan histopatologi tidak perlu dilakukan analisis distribusi dan homogenitas variansi karena data berupa data ordinal (derajat). Data dianalisis langsung dengan uji non parametrik Kruskal-Wallis. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) untuk menentukan perbedaan masing-masing perlakuan diuji lanjut dengan uji Mann-Whitney.

Makroskopik kolon

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan Kruskal Wallis terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok P1 dan P1(R) dengan kelompok Po dan Po (R). Nilai kerusakan tertinggi terdapat pada kelompok P1 yaitu sebesar 2.80 ± 1.10 dan nilai tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0.05$) dengan kelompok P1(R), yang mempunyai nilai-nilai sebesar $2,60 \pm 0,55$. Pada semua kelompok ini ditemukan derajat kerusakan dengan rata-rata kriteria 3 (berdasarkan kriteria Wallace et al.,

1989), yaitu terjadi peradangan pada satu tempat.

Hal ini diduga karena rhodamin B memiliki gugus klorin (C_1), juga sebagai senyawa alkil (CH₃), dengan struktur kimia yang poli aromatik hidrokarbon (PAH) dimana bentuk senyawa tersebut bersifat sangat radikal ketika mengalami aktivasi dengan enzim sitokrom P-50 akan membentuk radikal bebas yang sangat reaktif yang cenderung akan berkaitan dengan protein, lemak dan DNA (Hansen, et al, 1959) juga kolon merupakan tempat yang paling lama terpapar dengan zat toksik yang ada pada feses di dalam saluran pencernaan (Devroede, 1971), dan paling gampang rusak akibat induksi oksidator yang kuat, bersifat mutagenik, tumorigenik (OSHA, 2006).

Asam lemak tak jenuh merupakan komponen membran sel yang paling peka terhadap radikal bebas dan akan membentuk reaksi rantai peroksida lipid (Patrick, 2006).. Hilangnya asam lemak tak jenuh akan menyebabkan kerusakan struktur sel membran yang akan mempengaruhi permeabilitas dan fungsi membran sel. Reaksi rantai peroksidasi lipid yang berlangsung terus akan menyebabkan membran sel kehilangan integritas sehingga akhirnya pecah. Apabila kerusakan terus berlanjut mengenai membran lisosom, maka enzim hidrolitik akan dilepas sehingga merusak organel lain dan memperberat kerusakan sel (Kehrer, 2000).

Histopatologi sel kolon

Dari hasil pengamatan secara histopatologi ditemukan adanya sebaran sedang sel-sel radang (jarak sebaran sel radang tersebut masih bisa disisipi oleh satu sel radang) pada lapisan superficial yang tersebar difus bahkan ada yang sampai ke lapisan muskularis mukosa, juga sebaran sedang sel-sel radang pada daerah kriptal atau terjadi abses pada daerah kriptal yang tersebar difus. Berdasarkan analisa statistik menunjukkan bahwa pada kelompok P1 memberikan nilai tertinggi yaitu sebesar 3.20 ± 0.84 berbeda tidak bermakna ($p > 0.05$) dengan kelompok P1(R).

Sesuai dengan penelitian Pravda (2005) yaitu stressor oksidan dari rhodamin B berinteraksi dengan metabolisme sel (fase induksi radikal) menghasilkan hydrogen peroksida (H_2O_2) yang akan berdifusi dari intraseluler ke ekstraseluler sel epitel kolon melalui membran sel. Kemudian hydrogen peroksida (H_2O_2) yang bebas pada ekstraseluler tersebut bereaksi dengan superoksida ($O_2^{\cdot -}$) pada reaksi katalis metal Haber-Weiss berubah menjadi radikal hidroksil (HO^{\cdot}) dan gugus hidroksil (HO^-). Radikal hidroksil mengawali kerusakan oksidatif pada struktur barrier seperti *epithelial tight junction*, membran barrier dan epithelial lipid peroksidase menimbulkan aktifitas sistem imunitas yang cenderung akan memperbaiki kerusakan sel. Selain itu aktivasi imunitas secara intermitten oleh antigen bacterial kolon juga dapat memicu terbentuknya antibodi dan manifestasi ekstra intestinal. Jika kerusakan tidak dapat segera diperbaiki maka neutrofil akan menginfiltrasi ke dalam epithelium kolon yang rusak untuk mencegah bakteremia sistemik (Pravda, 2005).

Kerusakan mikroskopis juga diduga karena sel epitel saluran pencernaan termasuk kelompok sel yang labil artinya sel-sel jaringan mempunyai kemampuan untuk berproliferasi sepanjang hidup untuk menggantikan sel-sel yang terjejas peradangan dengan waktu paruh yang relatif singkat (3-5 hari). Namun sel-sel ini mudah berisiko terjadinya malignansi oleh karena tidak sempat diperbaiki dalam siklus sel (Medhi *et al.*, 2008)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian rhodamin B dan setelah

penghentian pemberian rhodamin B dapat mempengaruhi kerusakan mukosa kolon menciit secara makroskopik dan histopatologi secara bermakna dibandingkan dengan kelompok control.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM RI, 2004. Food Watch, Sistem Keamanan Pangan Terpadu, Bahan Tambahan Ilegal-Boraks, Formalin dan Rhodamin b.
- Cotran. R. S., Rennke, H., and Kumar, V. 2007. Kolitis ulseratif. Dalam: Kumar, V., Cotran, R. S., Robbins, S.L. (eds). Buku Ajar Patologi Penyakit, Volume 2. Edisi VII. Jakarta EGC. 572:7-594.
- Dalimunte, I. 2010. Penelitian Analisa Rhodamin B Pada Jajanan Anak-Anak Sekolah Dasar di Kabupaten Labuhan Batu Selatan, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Devereode, G.J., Taylor, W.F., and sauer, W.G. 1971. Cancer risk and life expectancy of children with ulcerative colitis. *N Engl J Med*, **285**:17-21. Category:III.
- D'odorico A., Bortolan, S., Cardin, R., Martines, D.A., and sturniolo, G.C. 2001. Reduced plasma antioksidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, **36**:1289.
- Eaden, J.A., and Meyberry, J.F. 2002. Guidelines for screening and surveillance of asymptomatic colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, 51:v10-v12
- Hansen, W.H., Fitzhugh, O.G., Williams, M.W. 1959. Subacute Oral Toxicity of Nine D&C Coal Tar Colors, *J Pharmacol Exp Ther*, 122: 29A di dalam Kelner, M.J. 1985, Rhodamine B Ingestion as a cause of fluorescent red urine. *West J Med*, **143**:523-524
- Hendrickson, B.A., Gokhale, R., & Cho, J.H. 2004. Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Microbiol Rev* 2002, **15**:79-94
- IARC. 1978. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Man: International Agency for Research on Cancer.1 (16)

- Kehrer, J.P. 2000. The Haber-Weiss Reaction and Mechanisms of Toxicity. *Toxicology*, **149**:43-50
- Levine, A., Kenet, G. Bruck ., R., Avni, Y., Avinoach., I., Aceed H., Matas, Z., David, M., Yayon, A. 2002. Effect of heparin on tissue binding activity of fibroblast growth factor and heparin binding epidermal growth factor in experimental colitis in rats. *Pediatric Res*, **51**:635.
- Medhi, B., Praskash., A., Avti, K.P., Saikia, N.U., Prandhi, P., and Khanduja, L.K. 2008. Effect of Manuka Honey and Sulfasalazine in Combination to Promote Antioxidant Defense System in Experimentally Induced Ulcerative Colitis Model in Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **46**:583-590.
- MSDS. 2009. Rhodamin B. Material Safety Data Sheet. Santa Cruz. Canada.
- Patrick, S.T. 2006. Free-radical Mechanisms in Tissue injury. *Biochem J*, **222**:1-15.
- Pravda, J. 2005. Review Radical Induction Theory of Ulcerative Colitis. *World J. Gastroenterol*, **11(16)**:2371-2384.
- Trestianti, M. 2003. Analisis Rhodamin B pada Makanan dan Minuman Jajanan Anak SD (Studi Kasus: Sekolah Dasar di Kecamatan Margaasih Kabupaten Bandung), ITB Library, Bandung
- Sawczenko., A. Samdhu., B.K., Logan., A. Jenkins., H. Taylor., C.J. Mian., S. and lynn., R. 2001. Prospective survey of childhood inflammatory disease in Birtish Isles. *Lancet*, **357**:1093-1094.
- Wallace, J.L., MacNaughton, W.K., Morris, G.P., Beck, P.L. 1989. Inhibition of Leukotriene Synthesis Markedly Accelerates Healing in a Rat Model of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*, **96**:29-36.