

Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus L.*)

Effects of rhodamin B on the kidney histological structure of white mice (*Mus musculus L.*)

Riska Mayori¹⁾, Netty Marusin¹⁾ dan Djong Hon Tjong²⁾

¹⁾Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang – 25163

²⁾Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang – 25163

^{*}Koresponden: riska.mayori@yahoo.com

Abstract

Rhodamine B is synthetic textile dye that currently still used for food coloring. Thus, it is important to analyse the effect of the substance on health. It was aimed to identify the histological structure changes of the mice kidney caused by Rhodamin B. This research was used experimental method with Completely Randomized Design in factorial pattern consisting of two factors such as dose of (0; 3.5; 7.0 and 14 mg/g body weight) and duration of treatment (0; 7; 14 and 21 days). The result showed that of dose and duration of treatment Rhodamin B have significant effect on the percentages of glomerular damage, and so did the interactions of both factors. Histological analysis showed the presence of narrowing of bowman space in glomerular, hipertrophy, necrosis and serosis of the tubules. The higher dose and the longer duration of treatment of Rhodamin B, the more serious of structural damages of kidney.

Keywords : Rhodamin B, kidney, *Mus musculus*

Pendahuluan

Penambahan zat warna dalam makanan, minuman, serta bumbu masak mempunyai pengaruh yang sangat besar terhadap selera dan daya tarik konsumen. Penyalahgunaan pewarna buatan yang tidak diizinkan untuk digunakan sebagai zat pewarna makanan sudah lama dilakukan. Salah satu contohnya adalah penggunaan bahan pewarna Rhodamin B, yaitu zat pewarna yang lazim digunakan dalam industri tekstil dan berbahaya bila digunakan sebagai pewarna makanan (Depkes RI, 2006).

Konsumsi Rhodamin B secara terus menerus dapat menyebabkan kanker hati dan kerusakan ginjal (Sugiyatmi, 2006). Rhodamin B bersifat karsinogenik yang ditandai dengan gejala adanya pembesaran hati, ginjal, dan limfa diikuti perubahan

anatomi berupa pembesaran organnya (Anggraini, 2008).

Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh akibatnya ginjal menjadi salah satu organ sasaran utama dari efek toksik. Urin sebagai jalur utama ekskresi, dapat mengakibatkan ginjal memiliki volume darah yang tinggi, mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu (Guyton, 1995). Oleh sebab itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui efek pemberian Rhodamin B terhadap perubahan struktur histologis ginjal mencit.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2012 di Laboratorium Struktur Perkembangan Hewan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah 48 ekor mencit putih jantan umur 3-4 bulan dan berat badan rata-rata 20-40 g, pellet sebagai pakan, Rhodamin B (serbuk), larutan fisiologis, larutan Bouin's, alkohol seri 70-100%, parafin keras, aquades, xilol, hematoxilin-eosin, Meyer's albumin, dan entelan. Alat yang digunakan adalah kandang untuk pemeliharaan mencit, spuit ukuran 3 ml, tempat air minum, timbangan analitik, gelas ukur dan pengaduk, alat bedah (skapel, pinset, gunting, jarum), bak pewarna, kertas label, mikrotom, mikroskop histologis, kaca objek, kaca penutup dan inkubator 35 C.

Cara Kerja

Perlakuan : Mencit dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, dosis I, dosis II dan dosis III. Kelompok dosis diberikan Rhodamin B masing-masing 3,5 mg/gBB, 7 mg/gBB, dan 14 mg/gBB. Mencit diberikan nutrisi yang sama secara *ad libitum*. Rhodamin B diberikan secara oral dengan frekwensi pemberian 1x sehari selama 7, 14 dan 21 hari. Penentuan dosis sesuai dengan penelitian Rhodamin B sebelumnya terhadap organ hati (Rahardi, 2009).

Pembuatan Larutan Rhodamin B : Rhodamin B ditimbang dan dilarutkan dalam 125 ml aquadest dengan masing-masing konsentrasi sesuai dengan dosis dalam perlakuan.

Pengambilan jaringan dan penimbangan berat ginjal : Mencit dikorbankan pada hari ke-8, 15, dan 22 dengan cara dislokasi leher, lalu diambil organ ginjalnya dan ditimbang beratnya.

Pembuatan preparat : Pembuatan preparat menggunakan metode parafin dengan

pewarnaan HE (Hematoksilin Eosin) (Suntoro, 1983).

Pengamatan: Data kuantitatif berupa persentase kerusakan glomerulus sedangkan data kualitatif dilihat perubahan yang terjadi pada glomerulus, tubulus proksimal dan tubulus distal dan dideskripsikan.

Analisis Data

Persentase glomerulus yang rusak dianalisa secara statistik dengan Uji ANOVA. Jika hasil analisis bermakna maka dilanjutkan dengan uji Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) 5 %. Hasil dari foto-foto mikroskopis organ ginjal dianalisa secara deskripsif (data kualitatif).

Hasil dan Pembahasan

Persentase Kerusakan Glomerulus Ginjal Mencit (%)

Hasil analisis persentase kerusakan glomerulus ginjal mencit menunjukkan bahwa faktor dosis, lama pemberian dan interaksi antara kedua faktor memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase kerusakan glomerulus (Tabel 1).

Pemberian Rhodamin B dengan dosis yang bertingkat dapat meningkatkan persentase kerusakan glomerulus ginjal mencit. Hal ini dikarenakan Rhodamin B yang bersifat toksik dan dapat memberikan efek yang semakin tinggi seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan. Hanifah (2008) menyatakan bahwa bahan-bahan yang bersifat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi ginjal. Suheni (2007) menyatakan bahwa seperti halnya hati, ginjal juga rawan terhadap zat-zat kimia sehingga zat kimia yang terlalu banyak berada di dalam ginjal akan mengakibatkan kerusakan sel.

Pada Tabel 1 persentase kerusakan glomerulus pada lama pemberian 0 hari sebesar 36,354 % dan semakin meningkat pada lama pemberian 21 hari sebesar 60,876 % (efek tertinggi). Apabila paparan zat toksik pada sel cukup lama atau berlangsung lama, maka sel akan mencapai suatu titik hingga sel tidak dapat lagi mengkompensasi dan tidak dapat melanjutkan metabolisme (Susanti, 2009).

Tabel 1. Hasil analisis rata-rata persentase kerusakan glomerulus ginjal mencit yang diberi Rhodamin B dengan dosis dan lama pemberian tertentu

Perlakuan	Lama pemberian				Rata-rata
	B0 (0 hari)	B1 (7 hari)	B2 (14 hari)	B3 (21 hari)	
Dosis Rhodamin B					
A0 (0 mg/gBB)	5.629 f	6.313 f	11.820 f	35.797 e	14.890 d
A1 (3.5 mg/gBB)	35.383 e	52.831 c	53.106 c	37.262 e	44.645 c
A2 (7 mg/gBB)	48.000 d	59.124 c	63.111 c	77.293 c	61.882 b
A3 (14 mg/gBB)	56.403 c	81.953 c	78.360 b	93.152 a	77.467 a
Rata-rata	36.354 c	50.055 bc	51.599 b	60.876 a	

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan baris menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata pada uji taraf 5 %

Dosis dan lama pemberian Rhodamin B juga menunjukkan rata-rata persentase kerusakan ginjal mencit sebanding dengan semakin tingginya perlakuan dosis dan lama perlakuan yang diberikan. Paparan dosis Rhodamin B yang bersifat toksik dalam jangka waktu yang cukup lama dapat mempengaruhi fungsi glomerulus. Filtrasi glomerulus adalah inti yang paling penting dari fungsi ginjal (Guyton, 1994). Bahan toksik dalam hal ini Rhodamin B akan mempengaruhi daya filtrasi glomerulus, sehingga daya saring menjadi berkurang (Ressang, 1963).

Pengamatan Mikroskopis Organ Ginjal

Pemeriksaan preparat histologis terhadap ginjal ditemukan peningkatan kerusakan pada ginjal seiring dengan meningkatnya dosis dan lama yang diberikan (Gambar 1-4). Pada dosis 0 mg/g BB dengan lama 0, 7 dan 14 hari belum terlihat kerusakan pada organ, sedangkan pada lama pemberian 21 hari sudah terlihat kerusakan yaitu pengecilan beberapa ruang bowman (Gambar 1). Ditemukannya kerusakan glomerulus pada kelompok kontrol hari ke-21 kemungkinan disebabkan oleh keadaan stres pada mencit. Hal ini sesuai dengan pendapat Seely (1999) yang menyatakan salah satu faktor pemicu timbulnya kerusakan glomerulus adalah stres.

Salah satu bentuk kerusakan pada ginjal terlihat adanya penyempitan pada ruang bowman. Penyempitan ruang bowman disebabkan terjadinya peradangan glomerulus ataupun proliferasi dari epitel kapsul bowman (Price, 1992).

Menurut Bevelander dan Ramaley (1998) perubahan yang terjadi pada glomerulus dan kapsula akan mengakibatkan terganggunya fungsi produksi filtrat dan kontrol komposisi filtrat sendiri, sementara perubahan pada tubula mengakibatkan terganggunya proses reabsorpsi daripada filtrat.

Pada dosis 3,5 ; 7 dan 14 mg/g BB dengan lama pemberian bervariasi ditemukan adanya tubulus yang mengalami hipertropi (Gambar 2-4). Nefron ginjal akan mengalami hipertropi apabila mendapat beban kerja yang besar. Hipertropi pada nefron ini dapat terjadi karena menggantikan fungsi nefron lain yang telah hancur dan rusak, sehingga hemostatis tubuh tidak terganggu meskipun sejumlah nefron yang lain telah rusak (Arifin *et al.*, 2004).

Jenis kerusakan lainnya pada sayatan ginjal mencit adalah nekrosis dan serosis. Nekrosis adalah hilangnya membran sel dan sitoplasma pecah membentuk partikel. Nekrosis sel dicirikan oleh sitoplasma yang terlihat lebih eosinofilik disertai penggumpalan kromatin inti dengan inti mengecil dan lebih basofilik (Cheville, 2006). Nekrosis adalah tingkat kerusakan tubulus yang lebih tinggi setelah terganggunya permeabilitas membran dengan adanya bengkak keruh kemudian diikuti oleh lisis (Marusin *et al.*, 2001). Nekrosis ditandai dengan penyerapan warna oleh inti yang berkurang, serta terlepasnya sel-sel tubulus kedalam lumen. Sedangkan serosis merupakan kematian sel yang bersifat parah dan dapat meluas yang

ditandai dengan hilangnya inti sel atau kekosongan pada jaringan dimana jaringan tersebut digantikan oleh jaringan parut (jaringan ikat) yang sebelumnya mengalami lisis dan nekrosis.

Kesimpulan

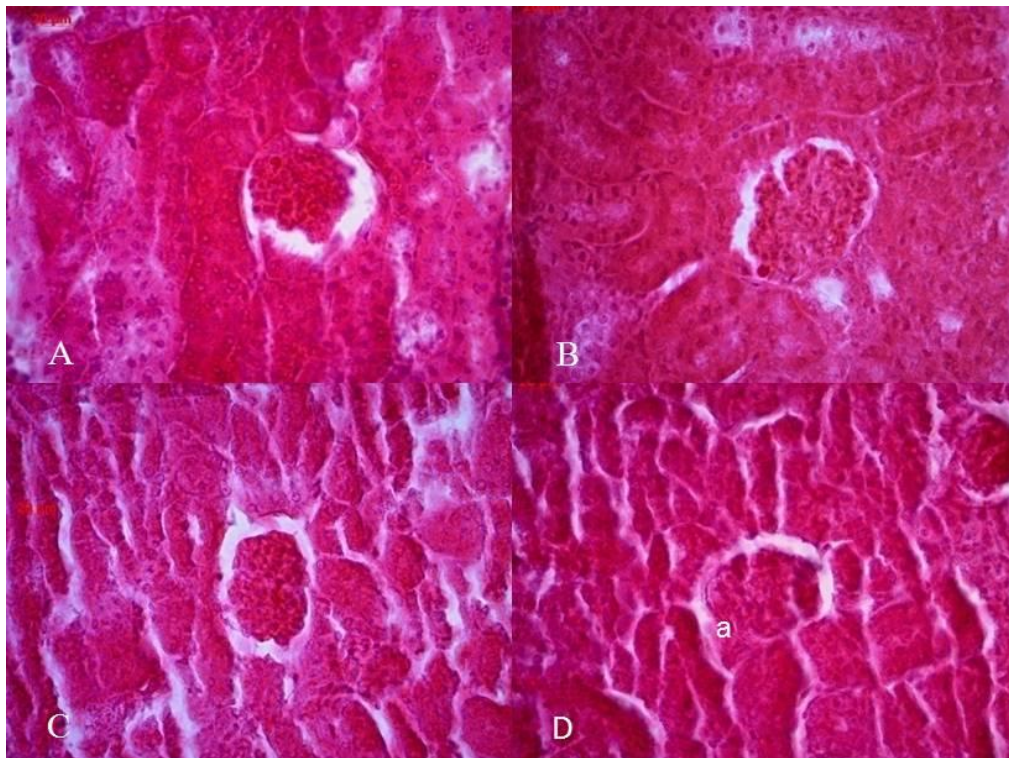
Dosis dan lama pemberian Rhodamin B pada mencit memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase kerusakan glomerulus. Hasil analisis histologis ginjal mencit memperlihatkan adanya tingkat kerusakan pada komponen penyusun ginjal yang meningkat seiring tingginya dosis dan lama pemberian. Kerusakan yang ditemukan berupa penyempitan ruang bowman pada glomerulus, hipertropi, nekrosis dan serosis tubulus.

Ucapan Terima Kasih

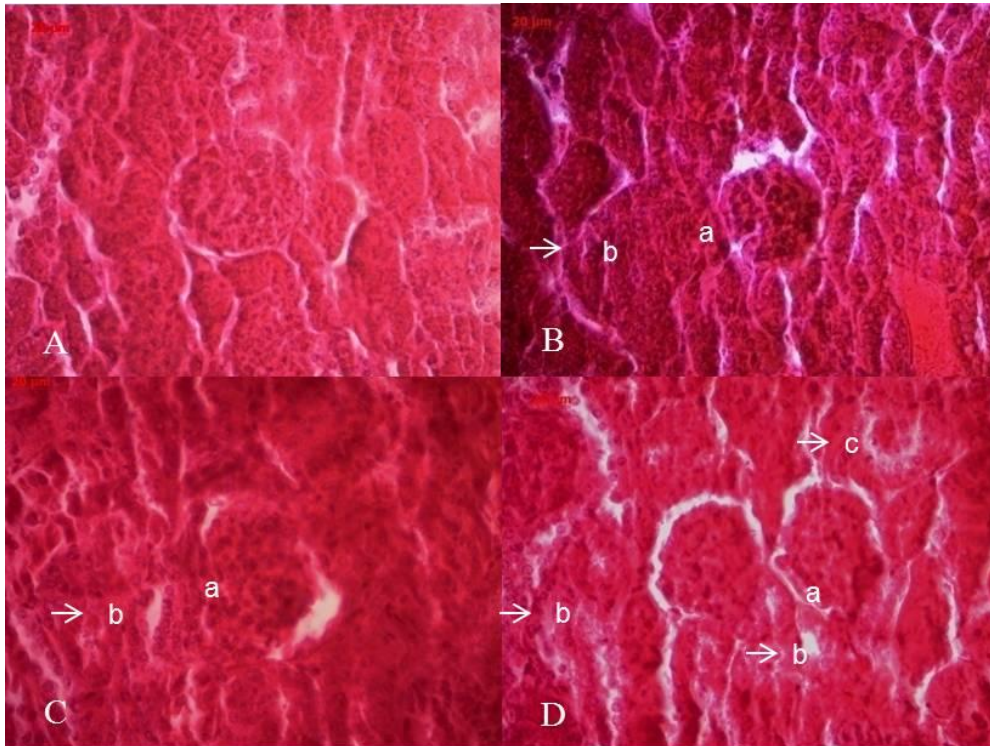
Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Indra Junaidi Zakaria M.Si, Dr. Syaifullah dan Dr. Dewi Imelda Roesma atas kritik dan saran dalam penelitian dan penulisan artikel ini didanai oleh DIKTI melalui program PKMP Tahun 2012.

Daftar Pustaka

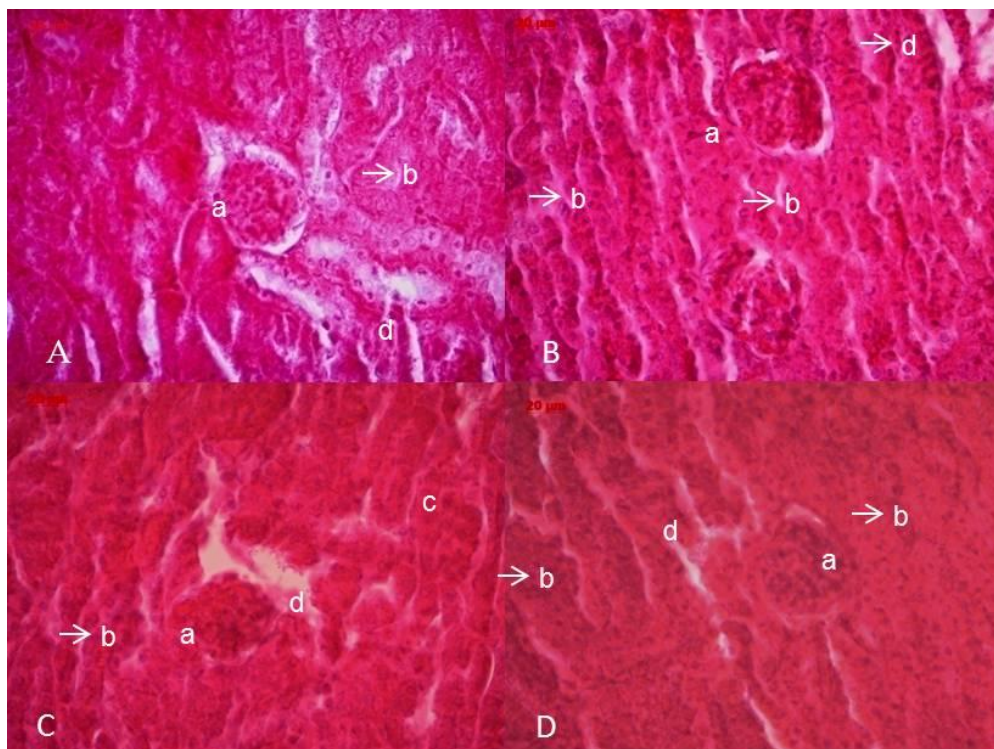
Anggraini, S. 2008. *Keamanan Pangan Kaitannya dengan Penggunaan Bahan Tambah dan Kontaminan*. Fakultas Teknik Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.



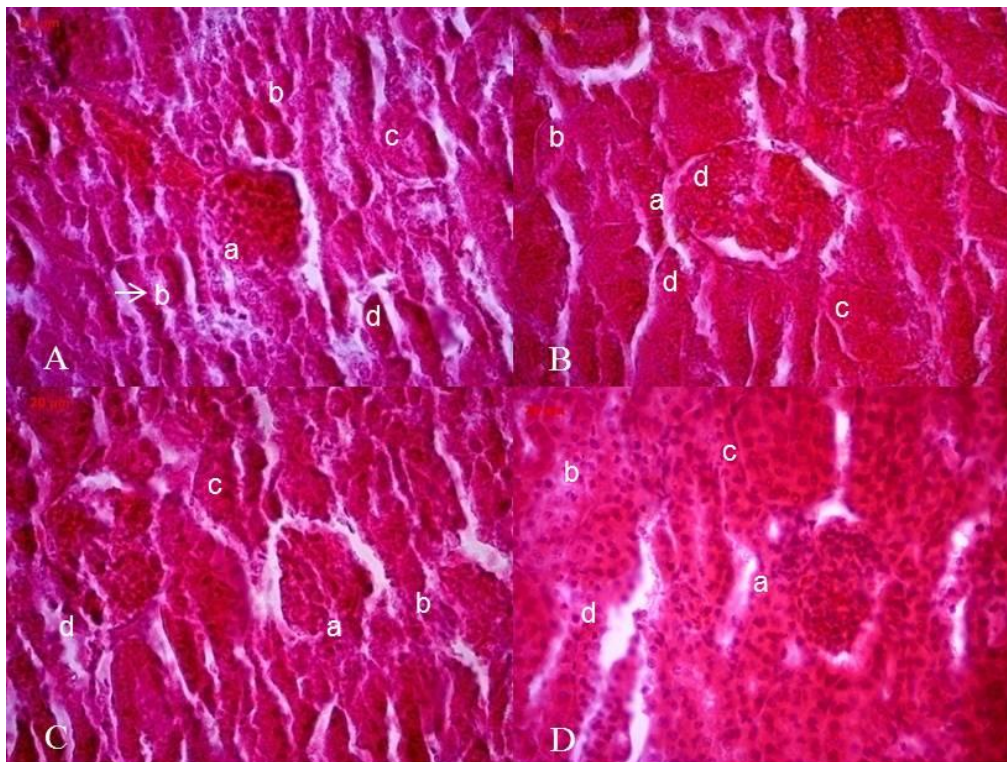
Gambar 1. Foto mikroskopis ginjal mencit perlakuan kontrol; A. 0 hari, B. 7 hari, C. 14 hari dan D. 21 hari (a. Penyempitan ruang bowman; perbesaran 400X).



Gambar 2. Foto mikroskopis ginjal mencit perlakuan dosis 3.5 mg/g BB; A. 0 hari, B. 7 hari, C. 14 hari dan D. 21 hari (a. Penyempitan ruang bowman, b. Nekrosis dan c. Hipertropi, perbesaran 400X)



Gambar 3. Foto mikroskopis ginjal mencit perlakuan dosis 7 mg/g BB; A. 0 hari, B. 7 hari, C. 14 hari dan D. 21 hari (a. Penyempitan ruang bowman, b. Nekrosis, c. Hipertropi dan d. Serosis, perbesaran 400X)



Gambar 4. Foto mikroskopis ginjal mencit perlakuan kontrol dosis 14 mg/g BB; A. 0 hari, B. 7 hari, C. 14 hari dan D. 21 hari (a. Penyempitan ruang bowman, b. Nekrosis c. Hipertropi dan d. Serosis, perbesaran 400X)

- Arifin, H., Y. S. Rahmi, dan N. Marusin. 2004. Kajian Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kompri (*Symphytum officinale L.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 9 (1) : 28-35.
- Bevelander, G dan J. A. Ramaley. 1998. *Dasar-Dasar Histologi* (Edisi 8). Terjemahan Wisnu Gunarso. Erlangga. Bandung.
- Cheville, N. F. 2006. *Introduction to Veterinary Pathology*. 3rd Ed. Blackwell Publishing. USA.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Bahaya Penggunaan Rhodamine B sebagai Pewarna Makanan*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Guyton, A. C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 7. Kedokteran EGC. Jakarta
- Guyton, A.C. 1995. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit* (Edisi 3). Terjemahan P. Andrianto. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Hanifah, L. 2008. *Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica papaya. L*) Terhadap Tingkat Nekrosis Epitel Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang diInduksi CCL4 (Karbon Tetraklorida)*. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Malang. Malang.
- Marusin, N., W. Munir dan Febrina. 2001. Pengaruh Lama Pemaparan Pb Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus L.*). *Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam*, 10 (1). 4-5.
- Price, S.A. dan L. M. Wilson. 1992. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Buku 2. (Edisi 4). Terjemahan P. Anugerah. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Rahardi, A. S. 2009. *Pengaruh Pemberian Rhodamin B terhadap Struktur Histologis Sel Hati Mencit*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

- Ressang, A. A. 1963. *Patologi Khusus Veteriner*. Departemen Urusan Research National Republik Indonesia. Jakarta.
- Seely, J. C. 1999. Kidney. Di dalam: Maronpot RR, Gary AB, Beth WG, editor. *Pathology of The Mouse*. USA: Cache River Press. hlm. 207-226.
- Sugiyatmi, S. 2006. *Analisis Faktor-faktor Resiko Pencemaran Bahan Toksik Borak dan Pewarna pada Makanan Jajanan Tradisional yang dijual di pasar-pasar kota Semarang*. [Tesis]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suhenti, R. 2007. *Pengaruh Tepung Tempe Terhadap Jaringan Kanker Mamma Dan Gambaran Mikroanatomi Ginjal Mencit (Mus musculus) Galur C3H Yang Ditransplantasi Sel Adenocarcinoma mammae*. [Skripsi]. UNNES. Semarang.
- Suntoro. 1983. *Metode Pewarnaan Histologi dan Histokimia*. Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Susanti, D. R. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak (Curcuma xanthorrhiza roxb.) pada Gambaran Histopatologi Ginjal Ayam Petelur*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.