

## **PENGARUH RHODAMINE B PERORAL DOSIS BERTINGKAT SELAMA 12 MINGGU TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS JANTUNG TIKUS WISTAR**

Bayu Arif Wibowo<sup>1</sup>, Saebani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Staf Pengajar Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Rhodamin B adalah zat pewarna yang tersedia di pasar untuk industri tekstil. Zat ini sering disalahgunakan sebagai zat pewarna makanan dan kosmetik di berbagai negara. Zat ini paling berbahaya bila dikonsumsi bisa menyebabkan gangguan pada fungsi organ tubuh, dalam jangka waktu lama bisa bersifat karsinogenik. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan dosis rhodamin dengan kerusakan sel otot jantung.

**Tujuan :** Mengetahui perbedaan gambaran histopatologi jantung tikus wistar pada pemberian Rhodamine B peroral dosis bertingkat selama 12 minggu.

**Metode :** Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test only Control Group Design*. Sampel penelitian adalah 30 tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, kemudian dibagi secara acak dengan *sample random sampling*. Konsumsi Rhodamine B 1 x Dosis letal (887mg/kg BB) kelompok 1, 1/2 x dosis letal (443,5mg/kg BB) kelompok 2, 1/4 x dosis letal (221,75mg/kg BB) kelompok 3, 1/8 x dosis letal (110,875mg/kg BB) kelompok 4, 1/16 x dosis letal (55,4375mg/kg BB) kelompok 5, 0 ml/hari kelompok kontrol. kelompok dilakukan dengan pengamatan langsung gambar limpa histopatologi. Pengujian hipotesis dengan menggunakan satu arah uji Anova dilanjutkan dengan uji Post Hoc

**Hasil :** Terdapat peningkatan area fibrosis pada kelompok Perlakuan 1, Perlakuan 2, Perlakuan 3, Perlakuan 4. Peningkatan area fibrosis paling baik ditemukan pada kelompok P4.

**Kesimpulan :** Perkembangan fibrosis dari waktu ke waktu mengalami peningkatan, terutama secara signifikan pada kelompok P4

**Kata kunci:** Rhodamine B, gambaran fibrosis Jantung, Tikus Wistar, fibrosis

### **ABSTRACT**

#### **THE EFFECT OF 12 WEEKS ADMINISTRATION OF PERORAL GRADUAL DOSES RHODAMINE B ON HEART HISTOPATOLOGICAL PICTURE OF WISTAR RATS**

**Background :** Rhodamine B dye is available in the market for the textile industry. This substance is often misused as a food coloring and cosmetics in many countries. This substance is most dangerous when consumed can cause disturbances in the function of organs, in the long term could be carcinogenic. This study aims to prove the existence of a relationship with a rhodamine-dose cardiac muscle cell damage Objective.

**Objective :** To ascertain the differences of the images of cardiac histopathology caused by administration of Rhodamine B peroral with graded doses in 12 weeks.

**Methods :** This research is True experimental laboratoric using post test only control group as it's design. Sample of this research are 30 male wistar rat that fulfill the criteria for inclusion and exclusion, then divided randomly using simple random sampling. Rhodamine B

consumption is 0 mg/kg BW in control group; 1/16 lethal dose (55,44 mg/kg BW) in treatment group I; 1/8 lethal dose (110,88 mg/kg BW) in treatment group II; 1/4 lethal dose (221,75 mg/kg BW) in treatment group III; 1/2 lethal dose (443,5 mg/kg BW) in treatment group IV; lethal dose (887 mg/kg BW) in treatment group V. Data collection is done with direct observation of images of spleen histopathology. Hypothesis testing using one-way Anova test continued with Post Hoc test.

**Result :** There is an increase area of fibrosis in treatment 1, treatment 2, treatment 3, treatment 4. Highest increasement on fibrosis area is found in treatment 4

**Conclusion :** The myocardial has increased by time to time development, especially significant at group 4

**Keyword :** Rhodamine B, images of kardiak fibrosis, wistar rat, fibrosis

## PENDAHULUAN

Rhodamine B adalah zat pewarna yang tersedia di pasar untuk industri tekstil. Zat ini sering disalah gunakan sebagai zat pewarna makanan dan kosmetik di berbagai negara. Pangan yang ditemukan mengandung Rhodamine B diantaranya kerupuk (58%), terasi (51%), dan makanan ringan (42%). Zat ini juga banyak ditemukan pada kembang gula, sirup, manisan, dawet, bubur, ikan asap dan cendol. Rhodamine B sering digunakan sebagai zat pewarna pada kertas dan tekstil, zat ini paling berbahaya bila dikonsumsi bisa menyebabkan gangguan pada fungsi hati, bahkan kanker hati. Bila mengonsumsi makanan yang mengandung Rhodamine B, dalam tubuh akan terjadi penumpukan lemak, sehingga lama-kelamaan jumlahnya akan terus bertambah. Dampaknya baru akan kelihatan setelah puluhan tahun kemudian. Zat ini tidak layak untuk dikonsumsi, jika sudah masuk dalam tubuh, maka akan mengendap pada jaringan hati dan lemak, tidak dapat dikeluarkan, dalam jangka waktu lama bisa bersifat karsinogenik. Oleh karena itu dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/MenKes/Per/IX/88, Rhodamine B merupakan salah satu bahan yang dilarang sebagai bahan tambahan pangan.

Database Toksikologi Rhodamine B dirangkum di berbagai organisasi, seperti EFSA 2005, U.S FDA (Lipman 1995), IARC (IARC 1978), dan American Federal Color Additive Scientific Review Panel (Hart et al. 1986). Menurut data dari U.S FDA ( Rhodamine B sebagai D&C Red no.19), Rhodamine B mempunyai efek karsinogenik pada hewan dengan rute pemberian zat lewat oral. Sebagai pewarna tekstil, Rhodamine B masih diperbolehkan karena U.S FDA tidak mendapatkan efek karsinogenik pada hewan dengan rute pemberian zat lewat dermal (dilakukan pengecatan Rhodamine B pada kulit tikus).

Endomyocardial fibrosis (EMF) adalah penyakit progresif yang tidak diketahui asalnya (idiopathic) yang dapat mempengaruhi jantung secara serius. Ciri yang paling yang paling jelas adalah perubahan total dalam susunan lapisan rongga jantung (endocardium) dari salah satu ataupun kedua bagian dari ruang bawah jantung (ventrikel) yang mengarah ke penggantian sel-sel normal dengan jaringan berserat (fibrosis). Proses ini bersifat progresif dan menyebabkan penyempitan (konstriksi) dari rongga ventrikel kanan atau kiri. Ini mungkin melibatkan katup antara bilik jantung serta kabel tendon-seperti itu memperbaiki katup ke ventrikel (korda tendinea).

Penyakit Loeffler adalah penyakit jantung seperti fibrosis endomyocardial. Beberapa dokter menganggapnya sebagai tahap awal EMF, meskipun ide ini masih kontroversial. Penyakit Loeffler adalah gangguan langka yang tidak diketahui asalnya, ditandai dengan peningkatan abnormal dalam jumlah tertentu sel darah putih (eosinofilia), dan seperti EMF, kotor fibrosis endokardium, dan radang pembuluh darah kecil (arteritis).

## **METODE**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba berupa tikus wistar sebagai objek penelitian. Penelitian dilaksanakan selama 12 minggu, yaitu dimulai pada bulan Maret 2013 – Juni 2013. Tikus wistar diadaptasi 1 minggu, kemudian diberikan Rhodamine B mg/kgBB/hari dicampur dalam aquades, terminasi dan pembuatan blok paraffin dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang. Sedangkan interpretasi hasil Patologi Anatomi sampel jaringan jantung dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

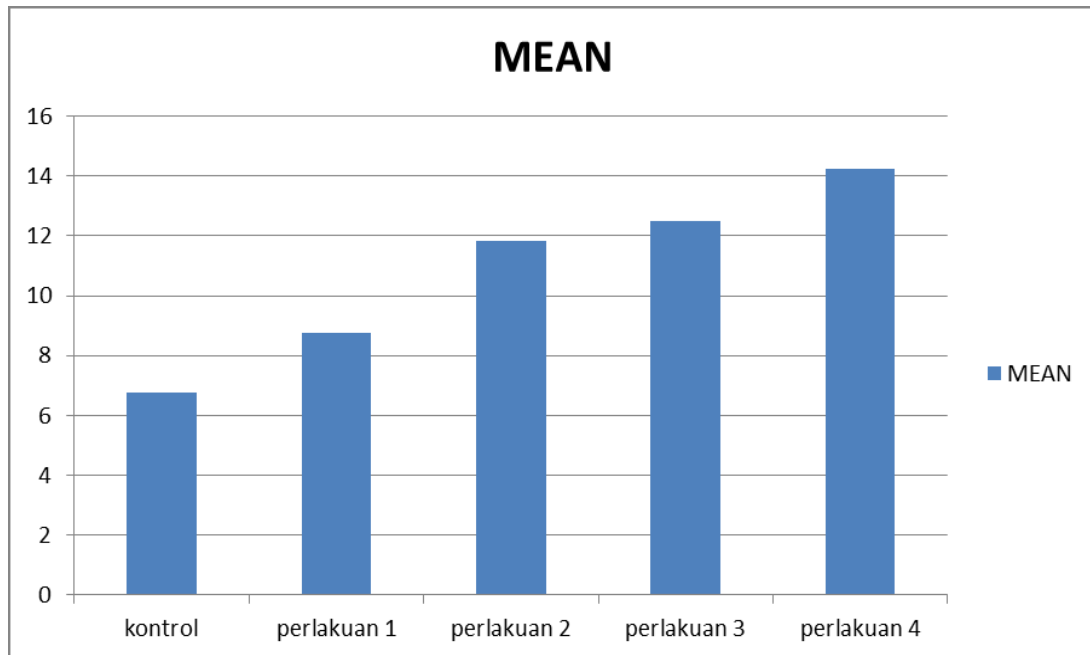
Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan, dengan kriteria inklusi Tikus galur murni jenis wistar kelamin jantan, berat badan disesuaikan dengan usia tikus, usia 3-4 bulan, dan dalam keadaan sehat dan aktif, sedangkan kriteria eksklusi dengan tikus sakit dan terlihat tidak aktif sewaktu penelitian, dan tikus mati sewaktu penelitian. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis bertingkat Rhodamine B peroral selama 12 minggu, dengan variabel tergantung adalah gambaran histopatologis jantung tikus wistar jantan.

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat distribusi datanya norma Database Toksikologi Rhodamine B dirangkum di berbagai organisasi, seperti EFSA

2005, U.S FDA (Lipman 1995), IARC (IARC 1978), dan American Federal Color Additive Scientific Review Panel (Hart et al. 1986). Menurut data dari U.S FDA ( Rhodamine B sebagai D&C Red no.19), Rhodamine B mempunyai efek karsinogenik pada hewan dengan rute pemberian zat lewat oral. Sebagai pewarna tekstil, Rhodamine B masih diperbolehkan karena U.S FDA tidak mendapatkan efek karsinogenik pada hewan dengan rute pemberian zat lewat dermal (dilakukan pengecatan Rhodamine B pada kulit tikus).l atau tidak dengan uji *Shapiro-Wilk*. Bila distribusi datanya normal, varians datanya sama, diuji beda dengan menggunakan statitik *parametric One Way Anova*, jika  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Bila ditribuikan datanya tidak normal, atau varians data tidak sama maka ditransformasi. Jika setelah ditransformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan srarisrik *non-parametric Kruskal-Wallis*, jika didapat  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Mann Whitney test)*.

## **HASIL**

Sampel diperoleh dengan cara simple random sampling diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu. Jumlah sampel yang digunakan mengacu pada pedoman WHO yaitu jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tiap kelompok perlakuan. Prosedur adaptasi dilakukan sejak tanggal 12 April 2013 hingga tanggal 19 April 2013. Kemudian dilanjutkan dengan perlakuan pada masing-masing kelompok, pengamatan dilakukan selama 12 minggu (84 hari). Kelompok VI (perlakuan 5) dieksklusi, dikarenakan 3 ekor tikus mati pada minggu ke 4, 5 dan 6, perlakuan 5 diberi dosis letal 887 mg/kgBB/hari. Peneliti memperkirakan sisa 2 ekor tikus pada kelompok VI (perlakuan 5) akan mati sebelum 12 minggu maka peneliti memutuskan untuk melakukan terminasi awal pada 2 ekor tikus tersebut agar bias dilihat efek Rhodamine dosis letal pada histopatologi jantung kedua tikus tersebut. Pada 12 Juli 2013 semua sampel didekapitasi, diambil organ jantungnya untuk dibuat sediaan preparat histopatologis dan dilakukan pengamatan serta perhitungan jumlah fibrosis dengan menggunakan mikroskop cahaya .



## **PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan fibrosis miosit dari waktu ke waktu pada tikus wistar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dengan jumlah sampel 35 ekor tikus wistar dalam 7 kelompok perlakuan dan rancangan yang dipakai adalah *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan percobaan sebagai subjek penelitian, yaitu dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol sebagai *baseline* dan kelompok perlakuan.

Berdasarkan uji statistik yang telah digunakan, hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan fibrosis jantung yang bermakna pada semua kelompok uji dan antar kelompok sampel. Kelompok Perlakuan 4 memiliki persentase kerusakan sel otot jantung yang paling tinggi (14,24 %) dibandingkan dengan Perlakuan 1 (8,74), Perlakuan 2 (11,84), perlakuan 3 (12,49) dan kontrol (6,75). Hasil tersebut sebanding dengan bertambahnya dosis Rhodamine B.

Penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan dalam skala yang lebih besar, dosis yg lebih bervariasi dan masa perlakuan yang lebih panjang untuk melihat efek akut, subakut dan efek kronis dari pemberian Rhodamine B terhadap gambaran histopatologis jantung.

**SIMPULAN DAN SARAN****Simpulan**

Pemberian Rhodamine B mampu meningkatkan fibrosis pada jantung tikus wistar antara kontrol dengan P1,P2,P3,P4. Terdapat perbedaan todak bermakna antara kelompok perlakuan II dengan kelompok perlakuan I.

**Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian Rhodamine B peroral terhadap gambaran mikroskopis jantung yaitu jumlah sel limfosit, sel plasma, dan makrofag. Perlu dilakukan penelitian pengaruh pemberian Rhodamine B pada jantung dengan dosis yang lebih bervariasi dan waktu pengamatan yang berjenjang. Rhodamine B harus diawasi peredarannya.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Saebani, S.KM, M.Kes, dr. Yosef Purwoko, M.Kes, Sp.PD, dr Hardian yang telah memberikan bimbingan dan saran bagi penulis sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Food Watch Sistem Keamanan Terpadu. Bahan Tambahan Ilegal Boraks, Formalin dan Rhodamin B. Food Watch. Jakarta; 2004
2. Peraturan Menteri Kesehatan No.722/MENKES/PER/IX/88 dalam Wisnu Cahyadi, Analisis dan aspek kesehatan bahan tambahan pangan, Bumi Aksara; 2008
3. Ariani. Studi Toksisitas dan Bioakumulasi Senyawa Rhodamine B. UNNES FMIPA Departemen Kimia. Depok.2004
4. Andy JJ. Aetiology of endomyocardial fibrosis (EMF). West Afr J Med. 2001;20:199-207.
5. Dahlan M. Sopiudin. Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan. Salemba Medika: Jakarta.
6. Laraswati,Y. Keamanan Terasi ditinjau dari Penggunaan Bahan Tambahan Pewarna dan Pengawet Sintetis: <http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=gdlhub-gdl.s1-2008> ; 2006 (accessed 10 februari 2013)