

**PENGARUH RHODAMIN B DAN SAKARIN TERHADAP AKTIVITAS
SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*)**

**EFFECT OF RHODAMIN AND SACCHARIN TOWARDS KIDNEY SUPEROXIDE
DISMUTASE (SOD) ACTIVITES OF WHITE RAT'S (*Rattus norvegicus*)**

Anna Roosdiana¹, Dyah Ayu Oktavianie², Yurista Pramudi Lestari²

¹Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam , Universitas Brawijaya

²Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

E-mail: aroos@ub.ac.id

Abstrak

Rhodamin B merupakan zat warna tekstil yang dilarang digunakan sebagai zat tambahan pangan. Sedangkan sakarin merupakan pemanis sintesis untuk penderita diabetes mellitus. Konsumsi rhodamin B dan sakarin secara terus menerus dapat menyebabkan kanker, gangguan fungsi hati dan ginjal. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh rhodamin B dan sakarin terhadap aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) dalam ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif (P1), kelompok perlakuan (P2) diberikan rhodamin B dosis 22,5 mg/kgBB , perlakuan (P3) diberi sakarin dosis 157,77mg/kgBB dan perlakuan (P4) diberi kombinasi rhodamin B dosis 22,5 mg/kg BB dan sakarin 157,77 mg/kgBB. Pemberian rhodamin B dan sakarin dilakukan selama 30 hari secara oral menggunakan sonde lambung. Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) ginjal diukur secara spektrofometri. Data aktivitas SOD dianalisa secara kuantitatif menggunakan analisa ragam ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey $\alpha = 0,05$. Hasil penelitian menunjukkan pemberian kombinasi rhodamin B dan sakarin secara signifikan ($p < 0,05$) mampu menurunkan aktivitas SOD sebesar 47,11% dibandingkan kelompok kontrol negatif. Kerusakan ginjal berupa hipertropi glomerulus dan tubulus, penyempitan *Bowman space* serta adanya hemoragi. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa rhodamin B dan sakarin yang dikombinasikan sebagai zat tambahan pangan bersifat lebih toksik.

Kata kunci: aktivitas SOD ginjal, rhodamin B, sakarin 1

Abstract

Rhodamin is a dye substance for textiles which banned as food additive, while saccharin is substance that used for diabetic mellitus patient. Daily consumption of rhodamine B and saccharin can cause cancer, liver and kidney disfunction. This research was aimed to determine the influence of rhodamin B and saccharin to Superoxide Dismutase (SOD) activity in the renal of white rats (Rattus norvegicus). The rats used in this research were divided in 4 groups; negative control group (P1), and three groups with administration of rhodamin B at a dose 22.5 mg/kgBW (P2), saccharin at a dose 157.77 mg/kg BW (P3), and combination of rhodamin B at a dose 22.5 mg/kg BW and saccharin at a dose 157.77 mg/kg BW (P4). The rats were treated with rhodamin B and saccharine for 30 days orally. Superoxide Dismutase (SOD) activity of rat renal was measured using spectrophotometry. Data of SOD were quantitative analyzed using ANOVA and Tukey's test with $\alpha = 0.05$. The result showed that combination of rhodamin B and saccharin decreased the SOD activity significantly ($p < 0,05$) up to 47.11% compared to negative control. The damage of rat kidney were shown by glomerular and tubular hypertrophy, Bowman space constriction and also hemorrhagic. It can be concluded that the consumption of rhodamin B and saccharin combination as food additive were more toxic than each given separately.

PENDAHULUAN

Rhodamin B adalah zat pewarna tekstil yang banyak disalahgunakan sebagai zat pewarna makanan seperti kembang gula, sirup, manisan serta minuman. Jajanan anak Sekolah dasar di kota Batu sebanyak 18,5% dari 27 sampel mengandung rhodamin B (Kristianto dkk., 2013). Di Kota Bandar Lampung terdapat jajanan yang mengandung Rhodamin B sebanyak (50%) atau 15 dari 30 sampel (Permatasari dkk, 2014). Di Kabupaten Labuhan Batu Selatan terdapat 10% jajanan anak sekolah dasar mengandung *Rhodamin B* yaitu es doger, saus dan kerupuk (Silalahi dan Rahman ,2011). Anak anak sekolah dasar di Jakarta sebanyak 146 orang (36%) menyukai jajanan dengan saus merah yang mungkin mengandung rhodamin. Zat rhodamin B ini dilarang karena bersifat karsinogenik (Astuti, dkk., 2010)

Sakarín merupakan pemanis yang sering digunakan pada Industri makanan dan minuman. Sakarín seharusnya hanya digunakan untuk penderita diabetes mellitus, tetapi pada kenyataannya sakarín sering dicampur dalam makanan dan minuman dengan kadar yang melebihi batas (Fatimah dkk.,2015). Konsumsi sakarín pada dosis 500mg/kgBB dapat menyebabkan penurunan SOD, GSH dan katalase serta peningkatan kadar MDA (Amin dan Almuzafar, 20015)

Rhodamin B dan sakarín merupakan xenobiotik karena senyawa ini asing bagi tubuh. Menurut Sobinoff et al., 2012, senyawa xenobiotik akan dimetabolisme dalam tubuh dan akan menghasilkan produk samping berupa radikal bebas. Keberadaan radikal bebas akan menginduksi pembentukan ROS dan keadaan stress oksidatif.

Rhodamin B dan sakarín ada di dalam makanan atau minuman sebagai zat pewarna dan pemanis. Kedua senyawa tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan, kemudian melalui sirkulasi darah mengalami proses absorbs, distribusi dan terakhir diekresikan oleh ginjal melalui urin. Oleh karena itu pada penelitian ini diamati efek toksis dari sakarín dan rhodamin B terhadap aktivitas SOD ginjal tikus

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), media yang dipergunakan dalam penelitian sama atau dianggap seragam (Kusriningrum, 2008). Pengukuran aktivitas SOD dilakukan *post test only*. Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2017 di Laboraturium Biosains Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran aktivitas SOD dilaksanakan di Laboraturium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brwajaya Malang

Target/Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu. Berat badan tikus antara 150-200 gram. Hewan coba diadaptasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium.

Prosedur

Tikus dibagi secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan. kontrol negatif (P1), kelompok perlakuan (P2) diberikan rhodamin B dosis 22,5 mg/kgBB, perlakuan

(P3) diberi sakarin dosis 157,77 mg/kgBB dan perlakuan (P4) diberi kombinasi rhodamin B dosis 22,5 mg/kg BB dan sakarin 157,77 mg/kgBB. Pemberian rhodamin B dan sakarin dilakukan selama 30 hari secara oral menggunakan sonde lambung. Semua tikus diberi pakan BR-1 dan minum *ad libitum*

Isolasi organ ginjal

Pengambilan organ ginjal hewan coba tikus kelompok P1, P2, P3 dan P4 dilakukan pada hari ke 38. Semua tikus dieuthanasi dengan cara dislokasi leher kemudian dilakukan pembedahan. Tikus diletakkan pada papan bedah dengan posisi rebah dorsal. Sebelum pembedahan, kaki dan mulut tikus difiksasi menggunakan jarum. Pembedahan dimulai melalui abdominal hingga terlihat semua organ dalam. Jantung terletak di atas rongga dada sebelah kiri, di atas diafragma. Ginjal yang terletak pada retroperitoneal dikeluarkan.

Pengukuran aktivitas SOD

Organ ginjal digerus, dilarutkan dalam larutan phosphate buffer saline (PBS) dan dihomogenkan dengan vortex. Supernatan yang dihasilkan diambil sebanyak 100 μ L dan dimasukkan ke dalam tabung. Kemudian ditambah 100 μ L xantin oksidase, 100 μ L xantin, 100 μ L Nitroblue tetrazolium (NBT) dan 1000 μ L larutan PBS. Selanjutnya campuran dihomogenkan dengan vortex, diinkubasi pada suhu 30^oC selama 30 menit. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 3000rpm selama 10 menit. Supernatan diukur serapannya pada panjang gelombang 580nm menggunakan Shimadzu UV-Vis Spectrophotometer UV-10601. Aktivitas enzim SOD dihitung dari serapan yang didapat di plotkan pada Kurva baku SOD.

Teknik Analisis Data

Data aktivitas SOD dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode One Way Analysis of Variance (ANOVA) dilanjutkan dengan uji Tukey dengan $\alpha=0,05$.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Rhodamin dan Sakarin termasuk dalam zat xenobiotik yang akan dimetabolisme oleh sitokrom P450 di dalam tubuh menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas yang dihasilkan akan mempengaruhi aktivitas *Superoxidase Dismutase* (SOD). Enzim SOD merupakan antioksidan endogen yang paling kritis dan mampu memperbaiki pengaruh stress oksidatif. Enzim SOD berperan dalam mengkatalisis reaksi superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen (Nurhayati dkk, 2011). Enzim SOD memiliki peranan penting melindungi sel sel tubuh dan mencegah terjadinya peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Hasil penelitian pengaruh pemberian Rhodamin B dan Sakarin terhadap aktivitas SOD ginjal *Rattus norvegicus* disajikan dalam Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa kelompok P2, tikus yang diinduksi dengan rhodamin B mempunyai aktivitas SOD yang menurun secara signifikan sebesar 27,83% apabila dibandingkan dengan kontrol negatif (P1). Rhodamin B di dalam tubuh akan dimetabolisme menghasilkan senyawa klorin yang reaktif, senyawa klorin ini akan berusaha mencapai kestabilan dengan cara mengikat senyawa lain. Senyawa klorin dalam tubuh dapat menginduksi sistem sitokrom P450 (CYP450) dan menurunkan aktivitas enzim antioksidan endogen (Lemaire, et al 2011).

Tabel 1. Rata-Rata Aktivitas SOD Ginjal Tikus Putih yang Dipapar Rhodamin B dan Sakarin

Perlakuan	Rata-Rata Aktivitas SOD (unit/mL)
Perlakuan 1 Kontrol Negatif	5,99±0,37 ^a
Perlakuan 2 (Rhodamin B dosis 22,5mg/KgBB)	4,32±0,37 ^b
Perlakuan 3 (Sakarín dosis 157.77mg/KgBB)	5,41±0,24 ^a
Perlakuan 3 (Rhodamin B 22,5mg/KgBB dan Sakarin 157.77mg/KgBB)	3,17±0,49 ^c

Pada kelompok P3 yaitu tikus yang diberi sakarin menunjukkan penurunan aktivitas SOD yang tidak signifikan sebesar 9,65% dibandingkan P1. Hal ini disebabkan sakarin lebih banyak diekresikan langsung dalam bentuk utuh melalui urin dan hanya sedikit yang dimetabolisme di hati, selanjutnya dibawa ke ginjal dan hanya sedikit radikal bebas yang dihasilkan. Menurut Amin dan Amulzafar (2015), sakarin dapat mempengaruhi fungsi hati dan ginjal karena pembentukan radikal bebas. Sakarin pada dosis tinggi yaitu 500mg/KgBB dapat menghasilkan Reactive Oxygen Species(ROS) dan peroksidasi lipid yang menyebabkan penurunan signifikan pada komponen seluler salah satunya adalah aktivitas SOD, sedangkan sakarin dalam dosis rendah memberikan pengaruh yang lebih rendah.

Kelompok perlakuan (P4) menunjukkan penurunan aktivitas SOD yang paling signifikan sebanyak 47,11% dibandingkan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa rhodamin B dan sakarin bersinergi untuk menghasilkan radikal bebas. Kedua zat xenobiotik tersebut mengakibatkan aktivitas SOD lebih rendah dibandingkan P2 dan P3.

Metabolisme senyawa xenobiotik seperti sakarin dan rhodamin B dimetabolisme di dalam hati melalui dua tahapan yaitu tahap oksidasi yang dikatalisis sekelompok enzim

monooksidase sitokromP450 (CYP) dan tahap berikutnya adalah Hidrolisis senyawa produk tahap pertama menjadi senyawa polar yang spesifik (Sobinoff et al., 2012).

Rhodamin B (tetraethyl-3',6'-diaminofluran) masuk ke dalam tubuh melalui proses ingesti, yang kemudian diserap oleh vena mesentrika dan vena porta hepatica akan dimetabolisme di hepar. Proses metabolisme rhodamin B pada tahap 1 dengan katalis enzim CYP. Pada proses tahap 1 terjadi dietilasi yaitu rhodamin B ((9-(*o*-carboxyphenyl)-6-(diethylamino)-3*H*-xanthen-3-ylidene) diethylamonium chloride) diuraikan menjadi 3',6'-diaminofluran dan N',N' - dietil -3',6' diaminofluran (Webb et al., 2014). Menurut Lu dan Caderbaun, (2008), kedua senyawa produk tahap pertama merupakan senyawa radikal yang dapat beredar melalui pembuluh darah hingga merusak jaringan tubuh termasuk ginjal. Pada tahap 1, CYP mengaktifasi senyawa klorin dan menghasilkan radikal bebas yang sangat berbahaya karena memiliki reaktivitas yang tinggi untuk mencapai kestabilan tubuh.

Sakarín selain sebagai pemanis non kalori dapat bersifat karsinogenik pada pemakaian yang terus menerus selama 5-10 tahun. Pada metabolisme sakarin tahap satu memerlukan oksigen yang lebih banyak untuk proses oksidasi dan dihasilkan produk samping radikal superoksida(O₂⁻) yang dapat memicu

terjadinya stress oksidatif. Superoksida akan dikatalisis oleh SOD menghasilkan H_2O_2 , tetapi bila bereaksi dengan Fe akan menghasilkan radikal hidroksil. Ketidaksetimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen dapat menimbulkan stress oksidatif (Sobinoff, et al., 2012). Keadaan stress oksidatif yang terjadi secara terus menerus akan menyebabkan terjadinya penekanan aktivitas antioksidan endogen salah satunya aktivitas SOD (Werdhasari, 2014). Kondisi stress oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid membrane sel, yaitu electron bebas senyawa radikal akan berikatan dengan elektron makromolekul yang berada di sekitar lipid membrane sel. Peroksidasi lipid yang terjadi secara terus menerus akan menyebabkan rusaknya struktur membrane sel dan hilangnya fungsi seluler secara total. Kerusakan sel akibat senyawa xenobiotik dapat terjadi pada organ ginjal, karena ginjal berperan dalam mengekresikan senyawa xenobiotik melalui urin.

Kerusakan ginjal yang terjadi akibat oleh sakarin dan rhodamin B diperkuat oleh gambaran histopatologi ginjal. Kerusakan terjadi pada semua glomerulus maupun pada sel tubulusnya. Glomerulus pada kelompok perlakuan 4 (P4) mengalami hipertropi, sehingga tampak membesar. Hal ini menyebabkan glomerulus dan kapsula Bowman menyatu sehingga ruang antar Bowman atau *Bowman space* tampak menghilang. Epitel kuboid pada tubulus tampak saling berhimpit tanpa adanya batas yang jelas. Tubulusnya secara keseluruhan tampak mengalami hipertropi sehingga lumen tubulusnya tampak menyatu. Selain itu juga tampak adanya hemoragi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian kombinasi rhodamin B dan sakarin menghasilkan efek toksis yang lebih besar terhadap tikus putih dibandingkan pemberian secara terpisah. Efek toksis diketahui dari penurunan aktivitas SOD sebesar 47,11% dibandingkan kontrol negatif.

Saran

Kerusakan organ ginjal akibat senyawa xenobiotik dapat diamati dari *tumor necrosis factor - α* (TNF- α) dan kadar *Blood urea nitrogen* (BUN) sebagai indikator adanya inflamasi dan kerusakan pada glomerulus ginjal.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A. K dan H. M. Almuzafar. 2015. Alterations in Lipid Profile, Oxidative Stress and Hepatic Function in Rat Fed with Saccharin and Methyl- salicylates. *Journal*. 8(4); 6133-6144.
- Astuti, Rahayu., Meikawati, Wulandari., Sumarginingsih, Siti., 2010. Penggunaan Zat Warna Rhodamin B pada Terasi Berdasarkan Pengetahuan dan Sikap Produsen Terasi di Desa Bonag Kecamatan Lasem Kabupaten Rembang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 6(2): 21-29.
- Fatimah, Siti., Arisandi, Desto., Yunanto., Dendi. 2015. Penetapan Kadar Sakarin Minuman Ringan Gelas Plastik yang Dijual di Pasar Beringharjo, Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Kimia industry dan Informasi*, hal 46-56.
- Kristianto, Y., Riyadi, D.B. dan Mustafa, A. 2013. *Faktor Determinan Pemilihan Makanan Jajanan pada Siswa Sekolah Dasar*. *Jurnal*

- Kesehatan Masyarakat Nasional vol 7(11):489-494.
- Lu, Y., dan Caderbaum, A. 2008. *CYP2E1 and Oxidative Liver Injury by Alcohol*. National Institutes Of Health Public Access. Free Radic Biol Med. 2008 March 1; 44(5): 723-738.
- Nurhayati, Siti., Kisananto, Teja., Syaifudin, Mukh., 2011. *Superoxide Dismutase (SOD) Apa dan Bagaimana Peranannya Dalam Radioterapi*. *Jurnal IPTEK Ilmiah Populer* 13(2): 67-74.
- Permatasari,A., Susantiningih, T., Kurniawaty, E. 2014. *Identifikasi Zat Pewarna Rhodamin B Dalam Jajanan Yang Dipasarkan Di Pasar Tradisional Kota Bandar Lampung*. *Jurnal Penelitian*. Lampung:Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Silalahi, J., dan Rahman, F. 2010. *Analisis Rhodamin B pada Jajanan Anak Sekolah Dasar di Kabupaten Labuhan Batu Selatan Sumatra Utara*. *Jurnal Indon Med Assod* vol 61(7):293-298.
- Sobinoff, A. P., Bernstein, I. R. & Mclaughlin, E. A. 2012. All Your Eggs in One Basket: Mechanism of Xenobiotic Induced Female Reproductive Senescence. *Priority Research Centre in Chemical Biology*.
- Suci, Euinike Sri Tyas. 2009, *Gambaran Perilaku Jajan Murid Sekolah Dasar di Jakarta*. Jakarta: Psikobuana. Vol. 1.No. 1.29-38.
- Webb J. M., W. H Hansen. 2014. *Studies of The Metabolism of Rhodamine B*. *Toxicology and Applied Pharmacology Volume 3, Issue 1, Pages 86-95*
- Werdhasari,A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol 3 (2) : 59-68.