

**STRUKTUR HISTOLOGIS HEPAR DAN REN TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) FEMININA GRAVID
SETELAH PEMBERIAN RHODAMIN B SECARA ORAL**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

UMI FATIMAH

M0408089

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

SURAKARTA

2013

commit to user

PENGESAHAN

SKRIPSI

**STRUKTUR HISTOLOGIS HEPAR DAN REN TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) FEMININA GRAVID
SETELAH PEMBERIAN RHODAMIN B SECARA ORAL**

Oleh:
Umi Fatimah
NIM. M0408089


Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 09 JAN 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, 22 JAN 2013

Penguji I

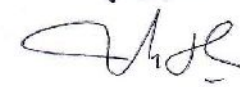
Penguji II


Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M. S.
NIP. 19630327 198601 2 002


Dra. Noor Soesanti H, M. Si.
NIP. 19540326 198103 2 001

Penguji III


Penguji IV


Dra. Marti Harini, M. Si.
NIP. 19540323 198503 2 001


Dr. Ratna Setyaningsih, M. Si.
NIP. 19660714 199903 2 001




Dekan
FMIPA UNS


Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc.(Hons), Ph.D.
NIP. 19610223 198601 1 001

Mengesahkan



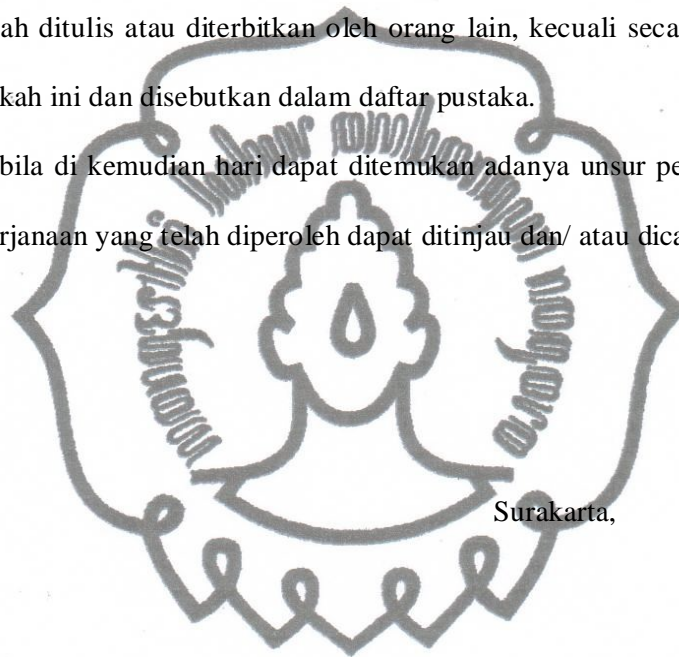
Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi


Dr. Agung Budiharjo, M.Si.
NIP. 19680823 200003 1 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/ atau dicabut.



Surakarta,

Umi Fatimah
M0408089

**STRUKTUR HISTOLOGIS HEPAR DAN REN TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) FEMININA GRAVID
SETELAH PEMBERIAN RHODAMIN B SECARA ORAL**

UMI FATIMAH

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

ABSTRAK

Rhodamin B adalah zat warna sintetik yang digunakan sebagai pewarna tekstil, kertas dan cat. Penggunaan zat warna Rhodamin B pada makanan banyak ditemui karena kurangnya pengawasan oleh pemerintah. Efek toksik dari penggunaan Rhodamin dapat menyebabkan kerusakan sel pada hepar dan ren yang rentan terhadap pengaruh zat kimia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral terhadap struktur histologis hepar dan ren tikus putih (*Rattus norvegicus*) feminina gravid.

Penelitian ini menggunakan 28 tikus betina bunting dan dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok dengan 7 tikus tiap kelompoknya. Tiap kelompok diberi dosis Rhodamin B yang berbeda, perlakuan A (kontrol) diberi 0 mg/ 200gBB, perlakuan B diberi 6,25 mg/ 200gBB, perlakuan C diberi 12,5 mg/ 200gBB dan perlakuan D diberi 25 mg/ 200gBB. Perlakuan ini diberikan pada hari ketujuh sampai ke tujuh belas masa kehamilan (organogenesis). Pengambilan organ hepar dan ren dilakukan pada hari ke-18 untuk pembuatan preparat *section* menggunakan metode parafin dengan pewarna hematoxylin eosin. Pengamatan struktur histologis meliputi pengklasifikasian jenis dan tingkat kerusakan hepatosit, glomerulus dan tubulus kontortus sebagai data kualitatif. Diameter vena sentralis dan diameter glomerulus diukur sebagai data kuantitatif yang selanjutnya dianalisis dengan anava dan diuji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* DMRT.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian Rhodamin B secara oral menimbulkan degenerasi hidrofik, perlemakan dan nekrosis (piknosis, karioreksis dan kariolisis) pada hepatosit dan epitel tubulus kontortus proksimal tikus, glomerulus mengalami pembengkakan. Pemberian Rhodamin B secara oral menyebabkan perubahan struktur histologis pada hepar dan ren tikus putih seiring kenaikan dosis yang diberikan yaitu 6,25 mg/ 200gBB sampai dengan 25 mg/ 200gBB.

Kata kunci: rhodamin B, hepar, ren, histologis, tikus putih

commit to user

**Histological Structure in Hepar and Ren of Pregnant Female Rats
(*Rattus norvegicus*) After Orally Feed of Rhodamin B.**

UMI FATIMAH

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Sebelas Maret University, Surakarta.

ABSTRACT

Rhodamin B is a synthetic dye used as textile dyes, papers and paint. The using of Rhodamin B as a dye of food in many case due to lack of supervision by the government. Toxic effect of Rhodamin B causes cell damage in hepar and ren which susceptible to chemically effect. The aim of this study was to determine the effect of Rhodamin B in hepar and ren histological structure after orally feed to the pregnant female rats (*Rattus norvegicus*).

This study used 28 pregnant female rats divided randomly into 4 groups with 7 mice per group. Each group was given by different doses of Rhodamin B, 0 mg/200gBB given as the control treatment, the treatment B was given 6.25 mg/200gBB, treatment C was given 12.5 mg/200gBB, and the treatment D was given 25 mg/200gBB. This treatment was given on 7th to 17th days pregnancy (organogenesis). The taken of hepar and ren were done at the 18th days to make section preparation use hematoxylin and eosin in parafin method. Observation of the histological structure included classification of kind and level hepatosit damage. The diameter of vena sentralis and glomerulus measured as quantitative data analyzed using anava and *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) as advance test.

The results showed that orally Rhodamin B feeding caused hidrofik degeneration, lipid degeneration, and necrosis (piknosis, kariolisis and karioreksis) into hepatosit and proximally tubule of the ren. The glomerulus is swollen. Orally feeding of Rhodamin B caused the change of histological structure in hepar and ren along with increased of dose (6.25 mg/200gBB to 25 mg/200gBB).

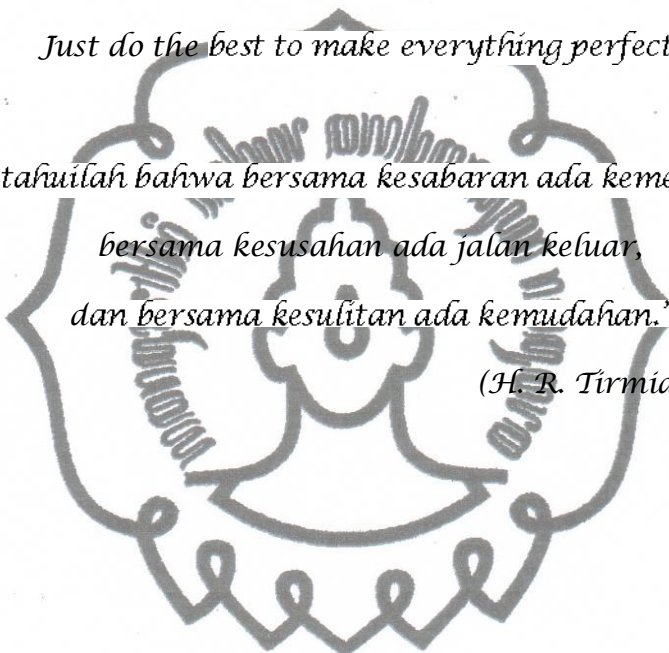
Key words: rhodamin B, hepar, ren, histological, rats.

commit to user

MOTTO

Never give up on what you really want to do...

Just do the best to make everything perfect...



*"Ketahuilah bahwa bersama kesabaran ada kemenangan,
bersama kesusahan ada jalan keluar,
dan bersama kesulitan ada kemudahan."*

(H. R. Tirmidzi)

commit to user

PERSEMBAHAN

Karya sederhana ini kupersembahkan untuk orang - orang yang kucintai...

Bapak dan Ibuku tercinta...

Berjuta kata sayang, maaf dan terimakasih tak kan mampu membalas jasa dan pengorbanan kalian kepadaku. Terimakasih Ya Allah, lindungilah mereka selalu...

Adik- adikku tersayang...

Semangatku, yang selalu membuat hari - hariku ceria...

Teman - teman biologi 08...

Terimakasih atas kebersamaan dalam suka maupun duka...

Almamaterku tercinta...

Universitas Sebelas Maret Surakarta...

commit to user

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'aalamin penulis panjatkan kehadiran Allah Subhaanahu Wa Ta'aala yang selalu memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul :” Struktur Histologis Hepar dan Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Feminina Gravid Setelah Pemberian Rhodamin B Secara Oral”. Penyusunan skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam penulisan skripsi ini tentunya banyak pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materiil. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Agung Budiharjo, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan izin dalam pelaksanaan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Okid Parama Astirin selaku Dosen Pembimbing I atas ketulusan hati dan kesabarannya dalam membimbing, mendukung dan mengarahkan penulis.
3. Ibu Dra. Noor Soesanti H., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II atas masukan dan dukungan dalam mengarahkan penulis.
4. Ibu Dra. Marti Harini, M.Si. selaku Dosen Penelaah I atas koreksi dan masukan untuk perbaikan karya skripsi penulis.
5. Ibu Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. selaku Dosen Penelaah II atas masukan dan dukungan untuk kemajuan karya skripsi penulis.
6. Bapak Prof. Dr. Sugiyarto, M.Si. selaku Pembimbing Akademik yang selalu sabar dan mendukung penulis.
7. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya.
8. Bapak Samidi dan Bapak Wasino yang memberikan pengarahan selama penelitian di LPPT unit IV UGM.
9. Teman penelitianku, Zuzun Handrianto dan Zainudin Al Wahid atas bantuannya secara moril maupun materiil.
10. Anisa Fikri dan Eva Sri Handayani yang selalu memberikan dukungan, masukan dan kebersamaan.
11. Teman-teman Biologi FMIPA UNS angkatan 2008 yang selalu memberikan dukungan. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Surakarta, Desember 2012

commit to user

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|-----------------------------------------------------|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN..... | iii |
| ABSTRAK | iv |
| ABSTRACT | v |
| MOTTO..... | vi |
| PERSEMBAHAN..... | vii |
| KATA PENGANTAR | viii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiv |
| | |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 5 |
| C. Tujuan Penelitian | 5 |
| D. Manfaat Penelitian | 5 |
| | |
| BAB II. LANDASAN TEORI | 6 |
| A. Tinjauan pustaka..... | 6 |
| 1. Zat pewarna Rhodamin B..... | 6 |
| 2. Hepar | 7 |
| a. Histologi Hepar | 7 |
| b. Fisiologi Hepar | 9 |
| c. Toksikologi Hepar..... | 12 |
| d. Histopatologi hepar | 13 |
| 3. Ren | 16 |
| a. Histologi Ren | 17 |
| b. Histofisiologi Ren | 23 |
| c. Histopatologi Ren | 24 |
| 4. Masa Kehamilan Tikus | 27 |
| 5. Jalan Masuk Zat Asing ke Dalam Membran Sel | 29 |
| B. Kerangka Pemikiran..... | 32 |
| C. Hipotesis | 33 |
| | |
| BAB III. METODE PENELITIAN | 34 |
| A. Waktu dan Tempat Penelitian | 34 |
| B. Alat dan Bahan | 34 |
| 1. Alat | 34 |
| 2. Bahan | 34 |
| C. Cara Kerja Penelitian | 35 |

commit to user

| | |
|--------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. Tahap persiapan hewan uji | 35 |
| 2. Penentuan dosis Rhodamin B | 35 |
| 3. Perlakuan hewan uji | 36 |
| 4. Pengambilan Organ..... | 37 |
| 5. Pembuatan preparat | 37 |
| 6. Pengamatan..... | 37 |
| D. Teknik Pengumpulan Data..... | 37 |
| 1. Data Kualitatif | 37 |
| 2. Data Kuantitatif | 39 |
| E. Analisis Data..... | 40 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 41 |
| A. Hepar sebagai Organ Sasaran Efek Toksik Rhodamin B | 42 |
| 1. Pengamatan Mikroskopis Struktur Histologis Hepar | 43 |
| a. Hepar Kontrol..... | 43 |
| b. Hepar kelompok perlakuan B | 44 |
| c. Hepar Kelompok Perlakuan C | 47 |
| d. Hepar Kelompok Perlakuan D | 49 |
| B. Ren Sebagai organ Sasaran Efek Toksik Rhodamin B | 57 |
| 1. Pengamatan Mikroskopis Struktur Histologis Glomerulus.... | 57 |
| a. Ren kontrol..... | 57 |
| b. Ren kelompok perlakuan B..... | 58 |
| c. Ren kelompok perlakuan C..... | 59 |
| d. Ren kelompok perlakuan D | 60 |
| 2. Pengamatan Mikroskopis Struktur Histologis Tubulus | |
| Kontortus Proksimal dan Distal | 64 |
| a. Tubulus proksimal dan distal kelompok kontrol | 64 |
| b. Tubulus proksimal dan distal kelompok perlakuan B | 64 |
| c. Tubulus proksimal dan distal kelompok perlakuan C | 65 |
| d. Tubulus proksimal dan distal kelompok perlakuan D | 66 |
| BAB V. PENUTUP | 70 |
| A. Kesimpulan | 70 |
| B. Saran | 71 |
| DAFTAR PUSTAKA | 72 |
| LAMPIRAN | 78 |
| UCAPAN TERIMAKASIH | 87 |
| RIWAYAT HIDUP PENULIS..... | 89 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Tabel 1. Tingkat Kerusakan Hepatosit (Mitchel dalam Gufron, 2001) | 38 |
| Tabel 2. Tingkat Kerusakan Glomerulus (Mitchel dalam Gufron, 2001)..... | 38 |
| Tabel 3. Tingkat Kerusakan Tubulus Ren (Mitchel dalam Gufron, 2001) ... | 39 |
| Tabel 4. Tingkat kerusakan hepatosit tikus setelah perlakuan dengan pemberian Rhodamin B Secara Oral dengan 3 dosis yang berbeda | 51 |
| Tabel 5. Rata-rata diameter vena sentralis hepar tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral..... | 55 |
| Tabel 6. Rata- rata diameter glomerulus ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 GBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral | 62 |
| Tabel 7. Rata-rata diameter glomerulus ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral..... | 62 |
| Tabel 8. Tingkat kerusakan tubulus kontortus proksimal dan distal ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral..... | 68 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Gambar 1. Struktur Kimia Rhodamin B (Windholz, 1983)..... | 6 |
| Gambar 2. Struktur Anatomi Hepar..... | 8 |
| Gambar 3. Skema Kerangka Pemikiran..... | 32 |
| Gambar 4. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan A (kontrol) | 44 |
| Gambar 5. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan B (6, 25 mg Rhodamin B /200 gBB dalam 2 ml aquades)..... | 47 |
| Gambar 6. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan C (12, 5 mg Rhodamin B/ 200gBB dalam 2 ml aquades)..... | 49 |
| Gambar 7. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan D (25 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades)..... | 50 |
| Gambar 8. Rata- rata diameter vena sentralis hepar tikus setelah perlakuan menggunakan aquades dan 3 dosis Rhodamin B yang berbeda. | 55 |
| Gambar 9. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan A (kontrol)..... | 58 |
| Gambar 10. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan B (6, 25 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades)..... | 59 |
| Gambar 11. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan C (12, 5 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades)..... | 60 |
| Gambar 12. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan D (25 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades) | 61 |
| Gambar 13. Rata- rata diameter glomerulus ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades dan 3 dosis Rhodamin B yang berbeda. | 63 |
| Gambar 14. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok kontrol..... | 64 |

commit to user

Gambar 15. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok perlakuan B 65

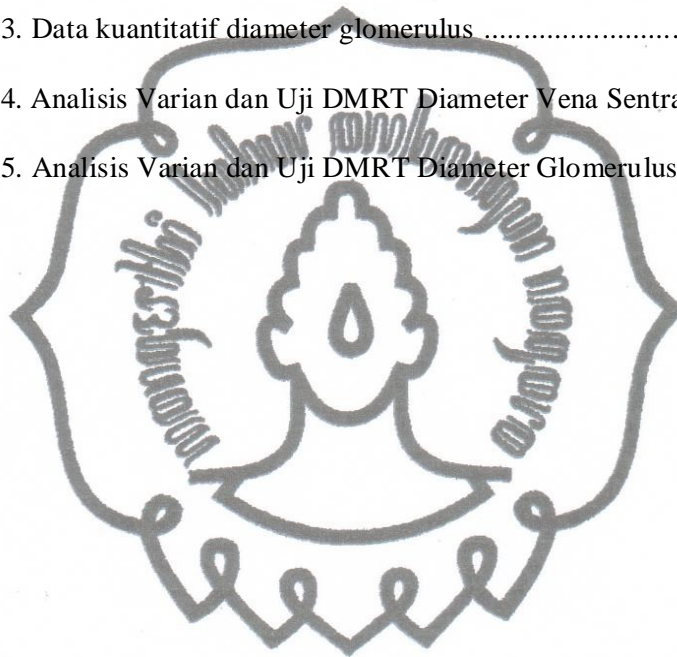
Gambar 16. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok perlakuan C 66

Gambar 17. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok perlakuan D 67



DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------|---------|
| Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Preparat Metode Parafin | 78 |
| Lampiran 2. Data kuantitatif diameter vena sentralis | 79 |
| Lampiran 3. Data kuantitatif diameter glomerulus | 80 |
| Lampiran 4. Analisis Varian dan Uji DMRT Diameter Vena Sentralis | 81 |
| Lampiran 5. Analisis Varian dan Uji DMRT Diameter Glomerulus | 84 |



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Seiring dengan pertambahan jumlah penduduk, kebutuhan pangan juga semakin meningkat. Salah satu tolok ukur kesejahteraan masyarakat adalah pemenuhan kebutuhan pangan dengan konsumsi makanan yang berkualitas. Banyak terjadi perkembangan di bidang industri makanan dan minuman yang bertujuan untuk menarik perhatian para konsumen. Oleh karena itu, produsen makanan dan minuman menambahkan zat tambahan makanan atau yang sering disebut sebagai *food additive* dalam produknya. Beberapa dekade terakhir, usaha produsen untuk meningkatkan ketertarikan masyarakat terhadap suatu jenis produk makanan meninggalkan konsep utama keamanan pangan. Mereka menggunakan zat tambahan pada makanan yang seharusnya tidak ditambahkan pada produk makanan.

Penggunaan bahan tambahan makanan yang tidak memenuhi syarat termasuk bahan tambahan yang dilarang, seperti pewarna, pemanis dan bahan pengawet. Pelarangan juga menyangkut dosis penggunaan bahan tambahan makanan yang melampaui ambang batas maksimum yang telah ditentukan (Effendi, 2004).

Adanya penambahan zat pewarna akan dapat meningkatkan nilai jual konsumen karena warna adalah faktor penting, dimana sebagian orang melihat kelayakan makanan dari penampakan fisiknya. Di Indonesia, pewarna makanan digunakan secara luas pada berbagai macam makanan dan minuman. Dahulu, orang menggunakan pewarna makanan alami yang berasal tanaman dan hewan

commit to user

tetapi sekarang pewarna makanan sintetik lebih dipilih karena lebih mudah didapatkan dengan harga yang relatif murah.

Kebanyakan negara mengatur penggunaan zat tambahan makanan dengan membuat suatu aturan khusus dan beberapa zat tambahan dilarang digunakan dengan berbagai alasan. Untuk menjaga keamanan pangan, pemerintah membuat suatu batasan penggunaan zat tambahan makanan yang boleh digunakan berdasarkan jenis makanan yang akan diwarnai, kemurnian pewarna makanan dan kadar maksimum yang boleh dikonsumsi per hari yang disebut dengan *acceptable daily intake* (ADI) (Merck, 2006).

Rhodamin B adalah zat warna sintetik berbentuk serbuk kristal berwarna kehijauan, berwarna merah keunguan dalam bentuk terlarut pada konsentrasi tinggi dan berwarna merah terang pada konsentrasi rendah. Rhodamin B awalnya digunakan sebagai pewarna tekstil, kertas dan cat tetapi sering disalahgunakan untuk pewarna makanan (Hidayah, 2010).

Efek samping dari penggunaan zat warna Rhodamin B adalah toksik kronik dan karsinogenik. Efek toksik kronik terjadi bila penggunaan zat warna Rhodamin B pada dosis kecil yang terus menerus sehingga tertimbun dalam tubuh. Struktur kimia dari Rhodamin B mengandung unsur N^+ (nitronium) yang bersifat karsinogenik sehingga memacu pertumbuhan sel-sel kanker hati (Mukaromah dan Maharani, 2008).

Zat pewarna tekstil Rhodamin B sering dijumpai pada bahan makanan, terutama pada saos yang biasa disajikan sebagai pelengkap bakso ataupun mie ayam. Rhodamin B juga ditemukan dalam produk kerupuk, kembang gula, sirup,

manisan, dawet, bubur, ikan asap, cendol, agar-agar, aromanis, dan minuman serta dalam terasi. Zat warna tersebut walaupun telah dilarang penggunaannya ternyata masih ada produsen yang sengaja menambahkan zat Rhodamin B untuk produk cabe giling merah sebagai pewarna merah (Djarismawati *et al.*, 2004).

Dampak yang lebih ditakutkan adalah jika makanan yang mengandung Rhodamin B dikonsumsi oleh ibu hamil. Saat kehamilan merupakan masa untuk janin mengalami pembelahan dan pembentukan organ-organ vital tubuh. Semua itu tergantung dari nutrisi serta asupan makanan yang dikonsumsi oleh ibu hamil. Jika yang mengkonsumsi adalah manusia normal (tidak dalam kondisi hamil), kemungkinan regenerasi sel masih bisa terjadi. Namun, lain halnya jika pada kondisi hamil.

Penggunaan obat maupun masuknya senyawa kimia pada hewan yang bunting dapat menyebabkan efek pada fetus yang dikandungnya. Hal ini terjadi karena obat maupun senyawa kimia yang ada di dalam sirkulasi induk dapat mencapai fetus lewat plasenta serta mempengaruhi pertumbuhannya dan menyebabkan cacat pada fetus (Puspa, 1988).

Pada kondisi kehamilan, terjadi berbagai perubahan pada fisiologi tubuh, misalnya menurunnya motilitas saluran pencernaan, menurunnya kadar protein darah, meningkatnya kecepatan aliran darah ginjal dan terpacunya enzim-enzim metabolisme. Pada keadaan hamil, distribusi obat dalam tubuh berubah menjadi sedikit kompleks karena disini terdapat dua macam sirkulasi, yakni sirkulasi maternal (dalam tubuh ibu) dan sirkulasi fetal (dalam fetus) (Astirin dan Widiyani, 2010).

Hepar adalah organ terbesar yang mampu melakukan tugas metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini dilibatkan dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan (Lu, 2006). Sebagai organ utama metabolisme dan detoksifikasi obat di dalam tubuh manusia, hepar merupakan tempat yang paling potensial mengalami kerusakan akibat bahan – bahan kimia.

Ren rentan terhadap efek toksik obat-obatan dan bahan-bahan kimia karena: ren menerima aliran darah sebesar 25 % dari volume darah yang mengalir ke jantung sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah besar, interstitium yang hiperosmotik memungkinkan zat kimia dikonsentrasikan pada daerah yang relatif hipoosmotik, ren merupakan jalur ekskresi obligatorik untuk sebagian besar obat sehingga mengakibatkan penimbunan obat dan peningkatan konsentrasi dalam cairan tubulus (Price dan Wilson, 1994).

Hepar dan ren ternyata rentan terhadap pengaruh berbagai zat kimia. Hal ini mungkin berhubungan dengan fungsi metabolik dan ekskretoriknya (Koeman, 1987). Berdasarkan latar belakang di atas, perlu ada suatu penelitian untuk mengetahui struktur histologis hepar dan ren tikus putih betina hamil setelah pemberian Rhodamin B secara oral.

B. Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, dapat dirumuskan permasalahan:

1. Bagaimanakah pengaruh pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral terhadap struktur histologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) feminina gravid?.
2. Bagaimanakah pengaruh pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral terhadap struktur histologis ren tikus putih (*Rattus norvegicus*) feminina gravid?.

C. Tujuan penelitian:

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral terhadap struktur histologis hepar *R. norvegicus* feminina gravid.
2. Mengetahui pengaruh pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral terhadap struktur histologis ren *R. norvegicus* feminina gravid.

D. Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian Rhodamin B terhadap struktur histologis hepar dan ren *R. norvegicus* feminina gravid. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang bahaya Rhodamin B terhadap kesehatan, sehingga masyarakat tidak menyalahgunakan Rhodamin B sebagai bahan pewarna untuk makanan dan lebih berhati-hati dalam memilih makanan yang berkualitas.

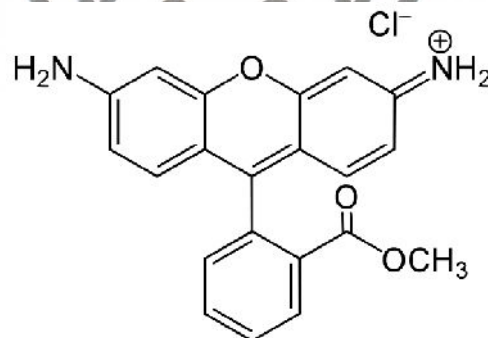
BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan pustaka

1. Zat Pewarna Rhodamin B.

Rhodamin B termasuk salah satu zat pewarna yang diperuntukkan sebagai pewarna kertas atau tekstil serta dinyatakan sebagai zat pewarna berbahaya dan dilarang digunakan pada produk pangan. Sifat fisika-kimia Rhodamin B berbentuk kristal ungu kemerahan. Rumus empirisnya $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$, bobot molekul 479,00, terdiri atas 70,20 % karbon, 6,52 % nitrogen, 7,40 % klor, 5,85 % hidrogen, 10,20 % oksigen, biasa digunakan pada pewarna kertas, wol dan sutra (Djarismawati *et al.*, 2004). Struktur kimia Rhodamin B sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur Kimia Rhodamin B (Windholz, 1983).

Rhodamin B merupakan zat kimia berbahaya yang tak boleh dicampur dengan makanan. Rhodamin B merupakan zat pewarna yang tersedia di pasar untuk industri tekstil. Zat ini sering disalahgunakan sebagai zat pewarna makanan dan kosmetik di berbagai negara. Makanan yang ditemukan mengandung Rhodamin 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. Rhodamin B merupakan zat warna sintetis berbentuk serbuk kristal, tidak berbau, berwarna merah keunguan, dalam bentuk larutan berwarna merah terang berpendar (berfluoresensi). Zat warna ini dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan dan merupakan zat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker) serta dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada hati (Pramuktiajuni, 2009).

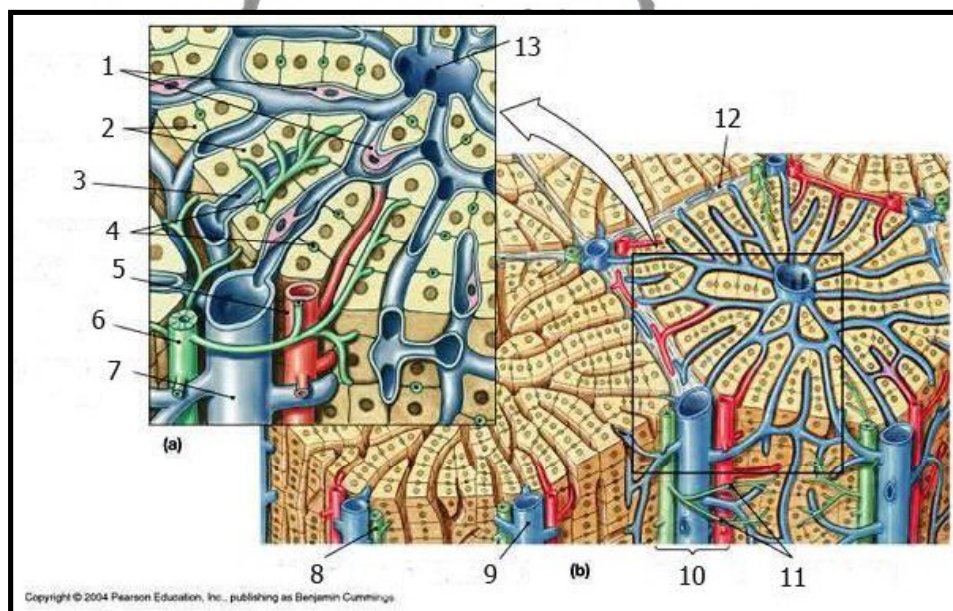
2. Hepar

a. Histologi Hepar

Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh. Pada manusia dewasa normal, berat organ tersebut rata – rata sekitar 1500 gram atau 2, 5 % berat badan. Hepar memiliki dua lobulus utama, kanan (*lobus dextra hepatic*) yang besar dan lobus kiri (*lobus sinister hepatic*) yang kecil. Setiap lobus terbagi menjadi struktur-struktur yang dinamakan lobulus yang merupakan badan heksagonal yang terdiri dari lempeng sel hepar (hepatosit) (Price dan Wilson, 1994). Hepatosit tersusun radier dalam lobulus hepar yang tersusun membentuk lapisan sel, yang berkelompok membentuk lamina-lamina yang saling berhubungan. Lamina-lamina berjalan dari perifer lobulus menuju ke

bagian tengahnya dan beranastomosis dengan bebas membentuk struktur yang menyerupai busa. Celah antara lamina-lamina ini mengandung sinusoid-sinusoid kapiler yang dinamakan sinusoid hepar. Sinusoid merupakan pembuluh yang melebar tidak teratur dan hanya terdiri dari satu lapis sel endothelium yang tidak kontinyu (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Berikut adalah gambar struktural hepar:



Gambar 2. Struktur Anatomi Hepar (Cummings, 2004).

Keterangan:

- | | |
|---------------------------|-------------------------|
| 1. sel kupfler | 8. Saluran empedu |
| 2. hepatosit | 9. Vena porta hepatica |
| 3. sinusoid | 10. Triad portal |
| 4. saluran empedu | 11. Saluran empedu |
| 5. arteria porta hepatica | 12. Septum intralobular |
| 6. Saluran empedu | 13. Vena sentalis |
| 7. Vena porta hepatica | |

Dellman (1992) mengemukakan bahwa unit fungsional hepar adalah asinus yang memiliki tiga gambaran daerah/ zona. Zona I atau periportal

adalah daerah sekitar triad portal. Pada daerah ini, hepatosit adalah yang pertama-tama menerima darah dan nutrisi, tentunya yang paling akhir mati bila menjumpai bahan toksik dan yang pertama mengalami regenerasi karena menerima aliran darah yang bermutu paling baik yaitu yang kaya oksigen dan nutrisi. Zona III adalah daerah sekitar vena sentralis, sel-sel hepar di daerah ini paling toleran, paling peka, sehingga paling cepat mati karena menerima darah dengan mutu paling rendah karena pasokan oksigen dan nutrisinya merupakan sisa dari zona I dan II. Zona II adalah daerah antara zona I dan III, sel-sel hepar memperoleh darah berkualitas sedang.

Unit struktural dasar yang memungkinkan sel-sel berhubungan erat dengan darah adalah lobulus hepar. Lobulus terdiri dari simpul-simpul sel parenkim yang keluar dari vena sentral, tempat keluarnya darah dari lobulus dan diangkut ke vena cava. Lobulus terikat oleh beberapa triad portal yang terdiri dari percabangan vena portal, arteri hepatica dan saluran empedu. Sel-sel parenkim zona tengah adalah sel-sel yang terletak antara daerah periportal dan sentrilobular. Darah dari vena porta dan arteri hepatica memasuki lobulus hepar pada daerah portal mengalir dalam sinusoid antara simpul- simpul sel parenkim ke daerah sentralobular (Dellman, 1992).

b. Fisiologi hepar

1. Fungsi Vaskuler

Hepar menerima darah dari dua sumber. Dua pertiga volume darah dalam hepar berasal dari *vena portae*, hanya sepertiga berasal dari aorta lewat *arteri hepatica*. Darah dalam sinusoid hepar berisi oksigen yang kurang

banyak jika dibandingkan dengan organ– organ lain meskipun hepatosit membutuhkan banyak energi untuk menjalankan aktivitasnya. Apabila penyediaan oksigen pada hepatosit tidak mencukupi akan mudah terkena pengaruh kelainan dalam tekanan darah, penyaluran darah dan kadar oksigen dalam darah. Hepar merupakan organ yang paling besar volumenya dalam tubuh dan mampu bekerja sebagai tempat penampungan darah yang bermakna ketika volume darah berlebihan dan mampu mensuplai darah ekstra di saat kekurangan volume darah dalam hepar (Darmawan, 1998).

2. Fungsi Metabolisme

a. Metabolisme Karbohidrat

Hepar berperan penting dalam mempertahankan kadar glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan dalam hepar sebagai glikogen (Price dan Wilson, 1994).

b. Metabolisme Lemak

Lemak berasal dari usus dan depot-depot lemak. Hepar mengubah lemak ini menjadi lemak jaringan yang terdiri dari fosfolipid. Untuk perubahan lemak ini diperlukan kolin dan metionin. Bila kolin dan metionin tidak ada maka lemak akan tertimbun di dalam sel-sel hepar karena hepar memegang peranan penting dalam denaturasi lemak.

c. Metabolisme Protein

Hepar mempergunakan asam-asam amino untuk membentuk protein plasma, albumin, globulin, fibrinogen, protrombin. Bila fungsi hepar

terganggu maka kadar bahan-bahan nitrogen di dalam plasma darah akan berubah (Price dan Wilson, 1994).

3. Fungsi Eksresi dan Sekresi

Hepar mampu mendetoksifikasi dan mengubah metabolit seperti obat-obatan, hormon dan zat kimia lainnya yang tidak digunakan lagi untuk dieksresikan. Fungsi detoksifikasi dilakukan oleh enzim-enzim hepar yang melakukan oksidasi, reduksi hidrolisis atau konjugasi zat-zat yang secara fisiologis tidak aktif (Guyton, 1994).

Di dalam hepatosit terjadi suatu mekanisme yang rumit untuk menguraikan zat-zat toksik. Setiap obat, bahan kimia sintesis, pestisida, dan hormon dimetabolisme oleh enzim-enzim yang dihasilkan oleh sel hepar. Kebanyakan zat toksik yang masuk ke dalam tubuh adalah zat yang larut dalam lemak, sehingga membuat tubuh sulit mengeksresikan zat-zat tersebut karena akan mengalami reabsorpsi di epitel tubulus renal dan kandung kemih (Cabot, 2003; Suryawati, 1995).

Pertahanan tubuh yang paling utama untuk menghancurkan zat toksik dilakukan oleh hepar karena hepar memiliki mekanisme yang berfungsi untuk mengubah zat toksik yang larut dalam lemak menjadi larut dalam air sehingga dengan mudah mengeksresikannya melalui cairan tubuh seperti cairan empedu dan urin (Cabot, 2003). Dengan demikian disamping tempat eliminasi, hepar juga merupakan sasaran efek samping obat atau efek toksik obat (Suryawati, 1995).

Menurut Cabot (2003), detoksifikasi yang dilakukan oleh hepar ada 2 jalur yaitu jalur detoksifikasi fase I dan fase II. Fase I meliputi reaksi oksidasi, reduksi dan hidrolisis. Salah satu contoh reaksi fase I adalah jalur enzim sitokrom oksidase P-450 yang terletak pada sistem membran hepatosit. Ini merupakan mekanisme proteksi terhadap berbagai macam zat kimia yang bersifat toksik. Fase II disebut jalur konjugasi yaitu sel-sel hepar menambahkan substansi lain (misal: sistein, glisin atau molekul belerang) ke dalam zat toksik sehingga larut dalam air dan dapat dieksresikan melalui cairan tubuh seperti cairan empedu dan urin.

Obat dapat menimbulkan kerusakan hepar, baik yang dapat diperkirakan dan tergantung pada dosis maupun yang tidak dapat diperkirakan dan tidak tergantung dosis. Kelompok obat yang menyebabkan luka hepatic yang dapat diperkirakan disebut hepatotoksik intrinsik dan prosesnya disebut sebagai toksisitas intrinsik yang biasanya terjadi pada penggunaan obat dengan dosis berlebih atau dosis terapi jangka panjang (Suryawati, 1995).

c. Toksikologi Hepar

Hepar adalah organ terbesar dan mampu melakukan tugas metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Toksikan biasanya dapat didetoksifikasi, tetapi banyak toksikan dapat dibioaktifkan dan justru menjadi lebih toksik (Lu, 2006).

Sebagai organ utama metabolisme dan detoksifikasi obat dalam tubuh manusia, hepar merupakan tempat yang paling potensial mengalami kerusakan akibat obat-obatan dan bahan-bahan kimia. Kerusakan ini dapat diakibatkan oleh 1) toksisitas langsung, 2) konversi xenobiotik toksin dalam hepar 3) melalui mekanisme imun, yaitu obat atau metabolit yang bereaksi sebagai hapten yang mengubah protein sel menjadi immunogen (Murray *et al.*, 1999). Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal dan setelah diserap toksikan dibawa oleh vena porta ke hepar (Lu, 2006). Mekanisme kerusakan hepar terjadi pada zona-zona yang berbeda (zona I atau II) tergantung jenis agen xenobiotik. Kebanyakan hidrokarbon aromatik menimbulkan kerusakan pada zona III (sentrolobular) (Moslen, 2001).

d. Histopatologi hepar

Hepar merupakan organ tubuh yang paling sering mengalami kerusakan. Hepar merupakan pintu gerbang semua bahan yang masuk ke dalam tubuh sehingga organ ini sangat potensial menderita keracunan lebih dahulu sebelum organ lain (Robbins dan Kumar, 1995).

Beberapa obat-obatan dan bahan kimia dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel hepar secara akut dan kronis. Kerusakan hepar secara akut akan berakibat nekrosis atau degenerasi lemak, sedangkan kerusakan kronis akan berupa sirosis hepar. Pemberian bermacam-macam obat-obatan hepatotoksik secara berulang dan terus menerus akan menyebabkan terjadinya kerusakan setempat, kemudian terjadi kerusakan hepar yang merata dan akhirnya dapat terjadi sirosis hepar (Hadi, 2002).

Degenerasi dapat terjadi pada sitoplasma atau inti. Degenerasi sitoplasma hepar kadang-kadang disertai atrofi dan nekrosis sel sehingga sel-sel menghilang (Darmawan, 1998). Macam –macam kerusakan sel yaitu:

1. Degenerasi perlemakan

Terdapat banyak lemak yang tertimbun dalam sel sehingga inti sel terdesak ke satu sisi dan sitoplasma sel diduduki oleh suatu vakuola besar yang berisi lemak. Hal ini terjadi karena adanya gangguan metabolisme (Muhammad, 1999).

2. Degenerasi amiloid

Penimbunan amiloid, suatu kompleks protein-karbohidrat, tampak dalam celah Disse. Biasanya ditemukan pada penyakit menahun seperti tuberculosis (Darmawan, 1998).

3. Degenerasi bengkak keruh

Kerusakan hepar yang disebabkan oleh infeksi atau intoksikasi. Sel hepar bengkak dengan sitoplasma berbutir keruh, mungkin disebabkan oleh pengendapan protein yang disebabkan oleh gangguan metabolisme energi dalam sel yang membuat sel tidak mampu memompa natrium keluar dari sel sehingga terjadi perubahan morfologis yang disebut bengkak keruh (Price dan Wilson, 1994).

4. Degenerasi hidropik

Jika terdapat influks air yang hebat, sebagian dari organela sitoplasma seperti retikulum endoplasma dapat diubah menjadi kantong-kantong berisi

air, pada pemeriksaan mikroskopis terlihat sitoplasma bervakuola tetapi tidak mengandung lemak atau glikogen (Price dan Wilson, 1994).

5. Degenerasi glikogen

Dalam keadaan normal glikogen ditemukan dalam sitoplasma sel hepar. Penimbunan glikogen yang berlebihan terutama tampak pada diabetes melitus, penimbunan glikogen terutama dalam inti dan sedikit saja dalam sitoplasma. Secara biopsi kelihatan buih bergaris-garis halus, sedangkan pada autopsi kelihatan glikogen lisis setelah kematian berlangsung. (Darmawan, 1998).

6. Atrofi

Atrofi setempat disebabkan oleh desakan dari luar, misalnya tumor sedangkan atrofi umum sel hepar penyebab utamanya karena kekurangan gizi (makanan). Selain itu dijumpai pula timbunan pigmen-pigmen berwarna kuning kecoklatan yang disebut lipofuchsin (Muhammad, 1999).

7. Nekrosis

Nekrosis merupakan kematian sel. Umumnya, walaupun perubahan-perubahan yang terjadi dalam jaringan nekrotik dapat melibatkan sitoplasma sel, inti sel yang paling jelas menunjukkan perubahan-perubahan kematian sel. Kelainan itu bersifat *irreversible* karena rusaknya susunan enzim di dalam sel sehingga gambaran kromatin hilang dan inti menjadi keriput, tidak vesikuler lagi (Darmawan, 1998).

8. Piknotik

Inti sel yang mati biasanya menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini dinamakan piknosis dan inti selnya disebut piknotik (Price dan Wilson, 1994).

9. Sirosis hepar

Sirosis hepar merupakan penyakit hepar yang bersifat kronis dan ditandai dengan fibrosis, perubahan struktur normal menjadi nodul-nodul yang berstruktur tidak normal. Fibrosis berupa serat-serat halus sampai fibrosis tebal, prosesnya melibatkan seluruh jaringan hepar. Hal ini terjadi setelah nekrosis yang terus menerus, kolapsnya jalinan retikulin dengan peradangan di daerah portal dan sentral dan pembentukan septa fibrosa serta pembentukan nodul (Powell dan Piper, 1989).

3. Ren

Sistem urinaria merupakan sistem organ utama yang berperan dalam homeostasis air dan elektrolit. Pemeliharaan homeostatis memerlukan keseimbangan antara masukan dan keluaran, dalam sistem urinaria terdapat mekanisme pengeluaran kelebihan air dan elektrolit dari tubuh. Fungsi utama dari sistem urinaria adalah ekskresi sisa hasil metabolisme yang bersifat racun, khususnya senyawa nitrogen dan kreatinin, hasil akhir proses ini adalah urin (Burkitt *et al.*, 1995).

Sistem urinaria terdiri atas dua buah ren, dua ureter, satu vesica urinaria (kandung kemih) dan satu uretra. Urin diproduksi di dalam ren dan dibawa

melalui ureter ke kandung kemih, tempat urin untuk sementara ditampung dan kemudian dikeluarkan melalui uretra sewaktu berkemih (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Ren merupakan organ ekskresi terpenting dalam mempertahankan integritas cairan ekstraseluler yang berada dalam keseimbangan dinamis dengan kompartemen intraseluler. Komposisi cairan intraseluler senantiasa pula berubah dan dipengaruhi oleh variabilitas berbagai zat yang sehari-hari masuk ke dalam badan melalui makanan, minuman dan sebagainya. Untuk mempertahankan cairan tubuh ekstra dan intraseluler ini agar relatif konstan, ren melakukan pengaturan volume, komposisi dan tonisitas cairan tubuh tadi berikut dengan unsur-unsur padat yang larut di dalamnya (Soeparman dan Waspaeji, 1990).

Ren khususnya rentan terhadap efek toksik obat-obatan dan bahan-bahan kimia karena: ren menerima aliran darah sebesar 25 % dari volume darah yang mengalir ke jantung, sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah besar, interstitium yang hiperosmotik memungkinkan zat kimia dikonsentrasikan pada daerah yang relatif hipoosmotik, ren merupakan jalur ekskresi obligatorik untuk sebagian besar obat sehingga insufisiensi ren mengakibatkan penimbunan obat dan peningkatan konsentrasi dalam cairan tubulus (Price dan Wilson, 1994).

a. Histologi Ren

Pola dasar ren mammalia terdiri atas satu lobus yang dibentuk oleh piramid medula, yang diselubungi oleh korteks yang granular, gelap dan kecoklat- coklatan, mengandung bagian terbesar dari parenkim ren. Nefron

muncul di korteks kemudian melengkung ke bawah menuju medula dan setelah jarak yang bervariasi ia kembali ke korteks. Dari sini mereka mengalir ke duktus koligens yang turun kembali ke medula untuk mengeluarkan urin dari apeks piramid medula. Bagian apikal piramid diselubungi oleh pelvis renalis yang berbentuk corong yang merupakan bagian proksimal ureter yang melebar, bagian dari piramid medula yang dilingkupi oleh pelvis tersebut dikenal sebagai papila renalis. Medula renalis dibentuk oleh piramid medula *multiple* yang dipisahkan oleh perluasan korteks ke medula (Burkitt *et al.*, 1995).

Ren memiliki sisi medial yang cekung yang disebut hilum (hilus), merupakan tempat masuk pembuluh syaraf, keluar masuk pembuluh darah dan pembuluh limfa, dan tempat keluarnya saluran ureter, dan permukaan lateral yang cembung. Bagian luar dari ren disebut korteks dan bagian dalam disebut medula. Pada medula terdapat struktur yang berbentuk kerucut yang disebut piramid medula. Masa jaringan kortek yang mengelilingi setiap piramid medula membentuk sebuah lobus renis. Lobulus ren adalah unit fungsional yang lebih kecil, meliputi berkas medula, unit ren atau nefron dan lanjutan berkas dalam dari medula (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Pelvis renis adalah reservoir utama dalam sistem pengumpulan urin dan merupakan ujung bagian atas dari ureter yang terdiri dari dua atau tiga kalik mayor. Kalik mayor tersusun dari beberapa kalik minor (cabang yang lebih kecil). Ureter menghubungkan pelvis renis dengan kandung kemih (Junqueira dan Carneiro, 2005). Ren mengandung banyak tubulus uriniferus. Setiap tubulus terdiri dari dua bagian, nefron dan duktus koligens (Tambajong, 1995).

1. Nefron

Setiap ren mengandung satu juta atau lebih nefron. Setiap nefron terdiri atas korpuskulus renal; merupakan bagian yang melebar, tubulus kontortus proksimal; ansa (Lengkung Henle), merupakan segmen tipis dan tebal; dan tubulus kontortus distal (Junqueira dan Carneiro, 2005). Nefron juga mengandung apparatus juxtaglomerularis yang merupakan suatu struktur pada kutub vaskuler pada korpuskulus ren (Johnson, 1994).

Struktur nefron bervariasi dalam bagian ginjal yang berbeda. Nefron kortikal mempunyai ansa Henle yang pendek terbatas pada korteks. Sebaliknya, nefron juxtamedularis mempunyai ansa Henle panjang yang mulai di korteks dan meluas ke bawah ke dalam medula (Johnson, 1994).

i) Korpuskulus Renalis (Badan Malphigi)

Korpuskulus ren terdiri dari kapsula Bowman dan rumbai kapiler glomerulus. Kapsula Bowman mengelilingi glomerulus, bangunan ini dilapisi oleh sel-sel epitel ber dinding ganda. Sel-sel epitel parietal berbentuk pipih dan membentuk bagian terluar dari kapsula sedangkan sel-sel epitel *visceral* jauh lebih besar dan membentuk bagian dalam kapsula dan melapisi bagian luar dari rumbai kapiler. Membrana basalis membentuk lapisan tengah dinding kapiler, terjepit diantara sel-sel epitel, sel endotel berkontak kontinyu dengan membrana basalis. Sel-sel endotel, membrana basalis dan sel-sel *visceral* merupakan tiga lapisan yang membentuk suatu jaringan kontinyu antara lengkung-lengkung kapiler glomerulus dan diduga juga berfungsi sebagai jaringan penyokong. Sel-

sel mesangial ini bukan merupakan bagian dari membran filtrasi (Price dan Wilson, 1994).

Glomerulus merupakan struktur yang dibentuk oleh beberapa berkas anastomosis kapiler yang berasal dari cabang-cabang arteriol aferen. Komponen jaringan ikat pada arteriol aferen tidak masuk ke dalam kapsula Bowman, dan secara normal sel-sel jaringan ikat digantikan oleh tipe sel khusus, yaitu sel-sel mesangial. Ada dua kelompok sel-sel mesangial, yaitu sel-sel mesangial ekstraglomerular yang terletak pada kutub vaskuler dan sel-sel mesangial intraglomerular mirip perisit yang terletak di dalam korpuskulus ginjal (Gartner dan Hiatt, 2007).

Sekelompok sel khusus, yaitu aparatus jukstaglomerulus, terletak dekat dengan kutub vaskuler masing-masing glomerulus yang berperan penting dalam mengontrol volume cairan ekstraseluler dan tekanan darah, serta mengatur pelepasan renin (Wilson, 2005). Pada kutub urinarius dari korpuskulus ginjal, epitel skuamous dari lapisan parietal kapsula Bowman berhubungan langsung dengan epitel silindris dari tubulus kontortus proksimal (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Tubulus kontortus proksimal terdapat banyak pada korteks ginjal dengan diameter sekitar 60 μm dan panjang sekitar 14 mm. Tubulus kontortus proksimal terdiri dari pars konvoluta yang berada di dekat korpuskulus ginjal dan pars rekta yang berjalan turun di medula dan korteks, kemudian berlanjut menjadi lengkung Henle di medula (Gartner dan Hiatt, 2007).

Epitel yang melapisi tubulus ini adalah selapis kuboid atau silindris yang menunjang dalam mekanisme absorpsi dan ekskresi. Sel-sel epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang sekitar 1 μm , yang membentuk suatu *brush border* (Guyton dan Hall, 2007; Junqueira dan Carneiro, 2005).

Pada glomerulus terdapat tiga zat yang mengalami filtrasi, ketiga zat tersebut adalah elektrolit, non elektrolit dan air. Glomerulus ren merupakan jala-jala anastomose kapiler fenestrata yang menerima tekanan darah yang sangat tinggi dari arteri renalis (Price dan Wilson, 1994).

Kapsula Bowman mempunyai lapisan epitel khusus disebut podosit. Podosit mempunyai juluran primer yang besar, yang mempunyai banyak cabang sekunder dan tersier, ujung cabang ini mempunyai juluran halus disebut pedikel (juluran kaki) yang membentuk interdigitasi kompleks dengan pedikel pada cabang-cabang sel yang berdekatan. Interdigitasi membentuk sejumlah celah kecil antara sel-sel disebut membrana celah filtrasi yang menghubungkan antar celah pedikel yang berdekatan (Johnson, 1994). Lapisan parietal adalah epitel pipih selapis yang kontinyu dengan visceral podosit (pada polus vaskularis) dan sel epitel kubus tubulus kontortus proksimalis (pada kutub urinarius) (Price dan Wilson, 1994).

ii) Tubulus Kontortus Proksimalis

Langkah kedua dalam proses pembentukan urin sesudah filtrasi adalah reabsorpsi selektif dan sekresi zat-zat yang sudah difiltrasi. Proses ini diawali

pada tubulus kontortus proksimalis dan diselesaikan pada tubulus kontortus distalis dan duktus koligens. Proses reabsorpsi dan sekresi berlangsung baik melalui mekanisme transport aktif maupun pasif (Guyton, 1994). Kadar toksis pada tubulus kontortus proksimalis lebih tinggi karena tempat ini untuk mendetoksikasi atau mengaktifkan toksikan (Price dan Wilson, 1994).

Kira-kira 65 % dari semua reabsorpsi dan sekresi yang terjadi dalam sistem tubulus terjadi dalam tubulus kontortus proksimalis. Sel-sel di tempat ini mempunyai tanda-tanda sel yang bermetabolisme tinggi, mempunyai banyak mitokondria untuk menyokong proses transport aktif yang sangat cepat dan cukup tepat (Price dan Wilson, 1994).

iii) Ansa Henle (Lengkung Henle)

Ansa Henle adalah struktur berbentuk U terdiri atas ruas tebal desenden, dengan struktur yang sangat mirip tubulus kontortus proksimal; sedangkan ruas tipis desenden, ruas tipis asenden, dan ruas tebal asenden, dengan struktur yang sangat mirip tubulus kontortus distal. Pada medula bagian luar, ruas tebal desenden, dengan garis tengah luar sekitar 60 μm , secara mendadak menipis sampai sekitar 12 μm dan berlanjut sebagai ruas tipis desenden. Lumen ruas nefron ini lebar karena dindingnya terdiri atas sel epitel gepeng yang intinya hanya sedikit menonjol ke dalam lumen. Bila ruas tebal asenden lengkung Henle menerobos korteks, struktur histologisnya tetap terpelihara tetapi menjadi berkelok-kelok disebut tubulus kontortus distal, yaitu bagian terakhir nefron. Tubulus ini dilapisi oleh sel-sel epitel selapis kuboid (Junqueira dan Carneiro, 2005).

iv) Tubulus Kontortus Distalis

Tubulus kontortus distalis lebih pendek daripada tubulus kontortus proksimalis, diameter lebih kecil dan sel-sel epitelnya kuboid (Tambajong, 1995). Disinilah tempat mekanisme yang mengendalikan jumlah total garam dan air dalam tubuh dan mensekresi ion hidrogen dan amonium ke dalam urin. Hal ini untuk mempertahankan keseimbangan asam basa darah (Junquiera dan Carneiro, 2005).

v) Aparatus Jukstaglomerulus

Merupakan modifikasi kumpulan sel otot polos yang berada di dekat katup vaskuler setiap glomerulus yang memiliki inti lonjong sitoplasma penuh granula sekretoris dan berperan dalam mempertahankan tekanan darah sebagai pengatur pengeluaran renin (Junquiera dan Carneiro, 2005).

2. Duktus Koligens

Duktus koligens bukan merupakan bagian dari nefron. Duktus koligens berjalan dalam berkas medula menuju ke medula, duktus koligens berhubungan secara tegak lurus dengan beberapa generasi tubulus koligens yang lebih kecil yang mengalirkan cairan setiap berkas medula. Dalam medula, duktus koligens merupakan komponen utama dari mekanisme pemekatan urin karena adanya sedikit absorpsi yang dipengaruhi oleh hormon antidiuretik (ADH). Duktus koligens menyalurkan air dari nefron ke pelvis renis (Ganong, 2003).

b. Histofisiologi Ren

Fungsi utama ren adalah menyingkirkan buangan metabolisme normal dan mengeksresikan xenobiotik dan metabolitnya (Lu, 2006). Ren mengatur

komposisi kimia dari lingkungan dalam melalui suatu proses majemuk yang melibatkan filtrasi, absorpsi aktif, absorpsi pasif dan sekresi (Guyton dan Hall, 2007). Filtrasi terjadi dalam glomerulus, tempat ultrafiltrat dari plasma terbentuk. Tubulus nefron terutama tubulus kontortus proksimal, mengabsorpsi dari filtrat tersebut substansi-substansi yang berguna bagi metabolisme tubuh (Junquiera dan Carneiro, 2005).

Reabsorpsi selektif zat-zat seperti air, garam, gula sederhana dan asam amino dilakukan oleh tubulus nefron, terutama tubulus kontortus proksimalis (Amenta, 1987; Guyton dan Hall, 2007). Pada keadaan tertentu, dinding duktus koligens dapat ditembus air sehingga membantu memekatkan urin yang umumnya hipertonik terhadap plasma. Melalui cara ini, organisme mengatur air, cairan interseluler dan keseimbangan osmotiknya (Junquiera dan Carneiro, 2005).

Fungsi metabolisme ren yang lainnya yaitu sekresi dan ekskresi. Sekresi zat-zat oleh tubulus dari darah ke dalam lumen tubulus untuk diekskresikan ke dalam urin (Junquiera dan Carneiro, 2005).

c. Histopatologi Ren

1. Degenerasi

Degenerasi dalam patologi didefinisikan sebagai kehilangan struktur dan fungsi normal. Degenerasi sel sering diartikan sebagai kehilangan struktur normal sel sebelum kematian sel (Spector dan Spector, 1993). Perubahan degenerasi menurut Atmodjo (1990) adalah degenerasi reversibel sel sebagai akibat pengaruh agen penyebab yang ditandai oleh gangguan

metabolisme sel berupa peningkatan katabolisme dan gangguan transportasi bahan-bahan yang berakibat penimbunan bahan-bahan abnormal intra maupun ekstraseluler. Degenerasi terjadi sebagai akibat gangguan oksigenasi seperti misalnya intoksikasi dan defisiensi bahan-bahan esensial tertentu. Perubahan tampak pada sitoplasma sel dengan keadaan inti tidak terpengaruh.

Menurut tingkat keparahan, degenerasi dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

i) Bengkak keruh (Degenerasi Parenkim/ Albumin)

Berupa pembengkakan sel oleh penimbunan air dan metabolit dalam sitoplasma yang tampak keruh berkabut (Atmodjo, 1990), sedangkan menurut Thomas dan Richter (1988), bengkak keruh merupakan gangguan lingkungan ion sel yang disebabkan oleh masukan air dan natrium bersama hilangnya kalium dari sel yang kemudian membengkak, pembengkakan terutama terjadi pada mitokondria. Secara makroskopis, organ tampak lunak membesar dengan permukaan irisan tak mengkilap, parenkim menonjol ke atas permukaan (Thomas dan Richter, 1988).

ii) Degenerasi Vakuola/ Hidropik

Berupa pembengkakan sel dengan penimbunan lebih banyak air dan metabolit dalam vakuola-vakuola yang terbentuk di dalam sitoplasma (Atmodjo, 1990). Degenerasi ini terutama terjadi pada mitokondria dan juga pada retikulum endoplasma (Thomas dan Richter, 1988).

iii) Degenerasi Perlemakan

Berupa pembengkakan sel dengan penimbunan lemak trigliserida dalam sitoplasma. Sebagai akibat gangguan eliminasinya, maka terbentuk sel yang menyerupai sel lemak adiposa (Atmodjo, 1990). Endapan lemak ini dapat terjadi pada epitel tubulus yang diakibatkan resorpsi tubulus. Secara makroskopis, organ terlihat agak membesar (Thomas dan Richter, 1988).

2. Nekrosis

Nekrosis adalah degradasi atau disorganisasi seluler yang reversibel atau kematian jaringan tubuh sebagai akibat agen yang masuk. Nekrosis ditandai dengan perubahan morfologi yang nyata pada inti sel, sebagai piknosis (penggumpalan kromatin dengan selaput inti berkerut), karyoreksis (selaput inti pecah dengan fragmentasi isinya), dan karyolisis atau kromatolisis (seluruh inti melarut) (Atmodjo, 1990). Nekrosis dapat dibedakan menjadi 4 macam, yaitu:

i) Nekrosis Koagulatif

Daerah nekrotik tampak kering dan dalam waktu singkat sitoplasma dan nukleus akan mengalami perubahan. Sitoplasma dan mitokondria tampak keruh dan ditandai dengan adanya vakuolasi (Thomas dan Richter, 1988). Secara samar, bentuk sel tanpa struktur yang jelas (Atmodjo, 1990).

ii) Nekrosis Kolikatif

Nekrosis ini merupakan kelanjutan dari nekrosis koagulatif. Daerah koagulatif tampak lunak dan basah. Jaringan menjadi cepat mengalami

disintegrasi dan pada tahap akhir, sel-sel terlihat suram dan menghilang (Thomas dan Richter, 1988).

iii) Nekrosis Likufaktif

Nekrosis ini terjadi pada daerah dengan taraf aktivitas enzim autolitik cukup tinggi, misalnya pada sistem saraf, saluran eksresi dan pankreas (Thomas dan Richter, 1988). Penampakan makroskopis hampir sama dengan nekrosis kolikuatif hanya saja daerah likufaktif tampak lebih lunak dan basah, sel-sel terlihat suram dan menghilang (Dorland, 1996).

iv) Nekrosis Enzimatik/ Lemak

Nekrosis terjadi pada daerah yang mengalami perlemakan jaringan (Thomas dan Richter, 1988); tampak sel masih utuh dan isinya berupa endapan garam-lemak putih (Atmodjo, 1990).

3. *Protein cast*

Protein cast adalah gumpalan silinder yang berasal dari protein dan terdapat pada lumen tubulus. *Protein cast* disebut juga *renal cast*, *tube cast* dan *urinary cylinder* (Dorland, 1996).

4. Masa Kehamilan Tikus

Tikus merupakan spesies poliestrus yang mengulang siklusnya sepanjang tahun tanpa banyak variasi, panjang siklusnya 4-6 hari dengan mekanisme ovulasi yang spontan dengan 6 - 8 jam dari fase estrus dan mempunyai periode kehamilan sekitar 21 hari (Rugh, 1968).

Menurut Roberts (1971) periode kehamilan ada tiga tahap, yaitu :

1. Periode blastula, yang dimulai setelah ovulasi dan dilanjutkan perkembangan membran zigot primitive di uterus.
2. Periode embrio (organogenesis), yang merupakan periode terbentuknya jaringan utama, organ dan sistem tubuh serta terjadi perubahan bentuk tubuh dan diakhiri ketika embrio sudah seperti induknya.
3. Periode pertumbuhan fetus, yaitu terjadi diferensiasi jaringan, organ dan sistem yang tumbuh serta pemasakan individu antenatal.

Pada mamalia perkembangan dimulai dari zigot yang terus membelah menghasilkan struktur berupa bola berongga multiseluler yang disebut *blastula*. Setelah *blastula* terbentuk terjadi dinamika perpindahan sel sehingga terbentuk embrio dengan 3 lapis benih (*ectoderm*, *mesoderm* dan *endoderm*). Pada tingkat sel saat itu telah terjadi diferensiasi. Sel-sel yang memiliki potensi genetik sama akan mengekspresikan gen tertentu saja. Pola bentuk tubuh juga pada saat ini telah tegas ditentukan (*pattern formation*) antara kiri-kanan, depan-belakang, dan *cranial-caudal*. Dari ketiga lapis benih itu kemudian berkembang organ-organ tubuh (melalui proses morfogenesis). Tiap sel hasil pembelahan zigot mengambil tempat dan waktu yang tepat (*presisi spatiotemporal*) untuk mengekspresikan DNA tertentu dan bekerja bersama-sama dengan sel lain menuju terwujudnya individu, hal itulah yang menyebabkan embrio yang sedang berkembang sangat rentan terhadap gangguan. Gangguan kecil yang tidak dapat ditoleransi pada salah satu tahapan perkembangan dapat menjelma menjadi kecacatan atau malformasi saat kelahiran (Hutahaean, 1998).

Suatu senyawa yang diberikan secara ekstra vaskuler kepada ibu akan mengalami absorpsi dari tempat pemberiannya, untuk kemudian memasuki peredaran darah maternal. Dalam darah maternal, molekul suatu senyawa terdapat dalam keseimbangan yang dinamis antara fraksi bebas dan fraksi yang terikat pada protein plasma. Besarnya fraksi yang terikat protein plasma ini berbeda-beda untuk setiap jenis senyawa tergantung pada sifat fisika kimiawinya. Dalam perjalanannya bersama peredaran darah, sebagian obat-obat/ senyawa akan terdistribusi ke jaringan-jaringan yang mempunyai afinitas kuat terhadap molekul suatu senyawa, sebagian ke tempat aksi dan sebagian mungkin akan mengalami metabolisme di organ-organ metabolisme (misalnya hepar, dinding usus, korteks adrenal), untuk kemudian metabolit yang terbentuk dibuang melalui organ-organ ekskresi (misalnya ginjal) (Astirin dan Widiyani, 2010).

5. Jalan Masuk Zat Asing ke Dalam Membran Sel

Zat asing dalam tubuh (*xenobion*) dapat berupa obat, racun, zat anorganik atau logam berat dan agen kimia dan fisika lain yang sebenarnya tidak diperlukan. Kemungkinan masuknya zat asing ke dalam tubuh ada berbagai jalan yaitu kontak langsung dari kulit, lewat sistem pernafasan, lewat sistem pencernaan, secara eksperimen disuntikkan atau disinari, kemudian dibawa oleh sistem peredaran darah sampai ke dalam jaringan sel (Howland, 1975).

Zat asing dalam jaringan berada di membran sel, dalam sitosol, organela, inti sel dan berikatan dengan enzim, protein reseptor, protein pengikat, substrat metabolisme, hormon protein struktural dan lemak. Di dalam jaringan lemak biasanya zat asing berperan sebagai residu dan bersifat tahan lama. Bila ditinjau

dari efek yang ditimbulkan, zat asing dapat bersifat sebagai karsinogen, mutagen dan teratogen. Keberadaan zat asing dalam sel dapat menimbulkan efek yang merugikan, tergantung dari jenis dan dosisnya (Howland, 1975).

Menurut Makfoeld (1993), perjalanan suatu senyawa yang diberikan secara oral ke dalam tubuh meliputi 3 hal yaitu:

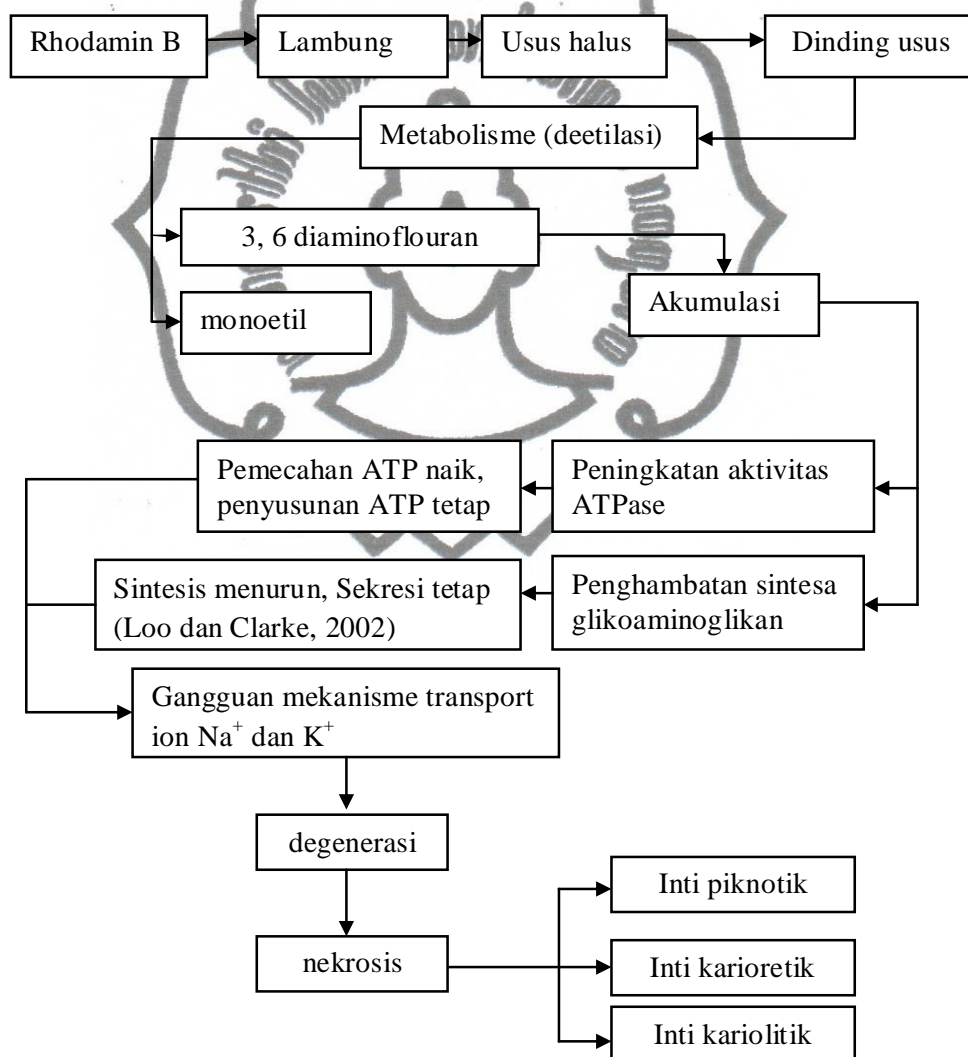
- a) Absorpsi, dimulai dari suatu zat masuk melalui mulut dan melewati lambung sehingga sampai pada usus. Dari usus kemudian diabsorpsi dan masuk ke pembuluh darah. Di pembuluh darah senyawa tersebut mengalami metabolisme dan kemudian masuk ke dalam hepar. Di dalam hepar terjadi proses biotransformasi.
- b) Biotransformasi, merupakan proses metabolisme atau perubahan alami senyawa atau zat di dalam tubuh menjadi suatu metabolit yang secara kimia berbeda dengan zat kimia induk, umumnya senyawa metabolik lebih polar daripada senyawa induk, sehingga lebih mudah dieksresi oleh ginjal maupun hepar.
- c) Distribusi, peristiwa diabsorpsinya zat ke cairan darah melalui membran sel. Setelah melalui sirkulasi darah, zat yang menyerupai plasma difiltrasi melalui dinding kapiler glomerulus ke tubulus renalis di ginjal (filtrasi glomerulus). Dalam perjalanannya, volume zat akan berkurang dan komposisinya berubah akibat proses absorpsi dan proses sekresi untuk membentuk urin yang akan disalurkan ke pelvis renalis. Air serta elektrolit dan metabolit penting lainnya akan diserap kembali. Selain itu komposisi urin dapat berubah-ubah dengan berbagai mekanisme perubahan homeostatis yang meminimalkan atau

mencegah perubahan susunan cairan ekstra sel (CES) dan intra sel (CIS) dengan cara mengubah jumlah air dan zat terlarut yang dieksresi melalui urin (Guyton, 1994).



B. Kerangka Pemikiran

Berdasarkan latar belakang masalah dan landasan teori, Rhodamin B yang diberikan secara oral pada *R. norvegicus* akan masuk ke saluran cerna kemudian masuk ke sistem sirkulasi lalu sistem urinaria. Hal tersebut akan menyebabkan perubahan histologis hepar dan ren sehingga dapat disusun kerangka pemikiran sebagai diagram di bawah ini:

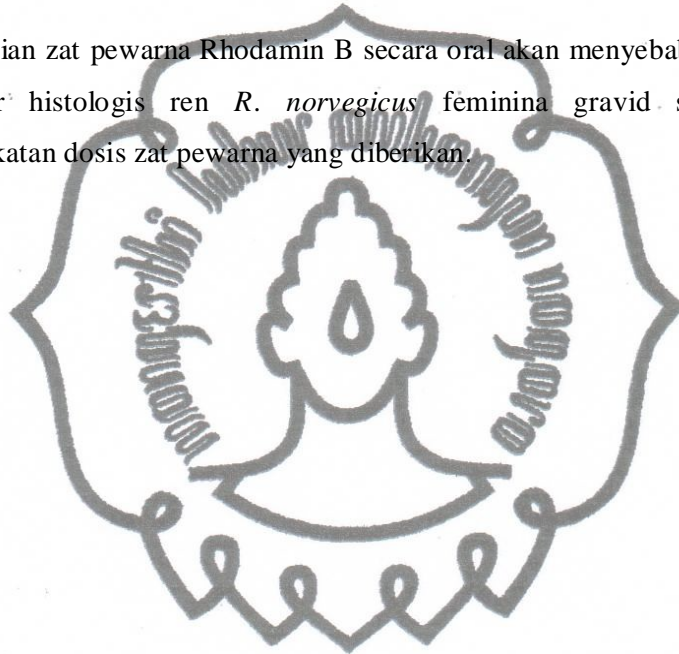


Gambar 3. Skema kerangka pemikiran

. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral akan menyebabkan perubahan struktur histologis hepar *R. norvegicus* feminina gravid seiring dengan peningkatan dosis zat pewarna yang diberikan.
2. Pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral akan menyebabkan perubahan struktur histologis ren *R. norvegicus* feminina gravid seiring dengan peningkatan dosis zat pewarna yang diberikan.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Juli 2012 di Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta dan Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT-LP3HP) UGM Yogyakarta. Pembuatan preparat histologis dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- a. alat untuk perlakuan : kandang untuk pemeliharaan tikus, spuit ukuran 3 ml, tempat minum dan timbangan analitik.
- b. alat pembuatan preparat: bak parafin, *dissecting kit*, kertas untuk pelabelan, botol flakon, gelas benda, gelas penutup, mikrotom putar, *staining kit*, oven.
- c. alat untuk pengamatan visual: mikroskop digital.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- a. Bahan untuk perlakuan: hewan uji berupa 28 tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina berumur 3 bulan bunting pada hari ke-7 berat rata-rata 200 gram

commit to user

,Par G pellet sebagai pakan, aquades, dan Rhodamin B.

- b. Bahan untuk pembuatan preparat: hepar tikus putih, ren tikus putih, larutan Bouin, alkohol, toluol, xylo1, parafin dengan titik cair 56-60° C, pewarna Hematoxylin dan Eosin, aquades, *Meyer's albumin*, canada balsam.

C. Cara Kerja

1. Tahap persiapan hewan uji

Sampel sebanyak 28 tikus putih dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari tujuh tikus putih. Jumlah ini diperhitungkan menurut rumus Federer yaitu $(k-1)(n-1) > 15$, dengan k =jumlah kelompok, n =jumlah tikus putih untuk tiap kelompok (Alfiansyah, 2008). Hewan uji berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina sebanyak 28 dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu selama 5 hari agar dapat menyesuaikan dengan lingkungan kandang pemeliharaan. Selama penelitian, hewan uji diberi makan pelet serta minum secara *ad libitum*. Rancangan penelitian ini adalah *post-test only control group design* (Taufiqurohman, 2004). Untuk perlakuannya dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 7 ulangan:

- a. Kelompok A: kontrol
- b. Kelompok B: perlakuan I
- c. Kelompok C: perlakuan II
- d. Kelompok D: perlakuan III

2. Penentuan dosis Rhodamin B

Perhitungan dosis maksimal didasarkan pada LD_{Lo} (*Lethal Dose Low*) dimana per oral 500 mg/kgBB tikus (Mbriio-food.com). Sehingga dosis maksimal untuk tikus

putih dengan berat badan 200g adalah 100mg/200gBB. Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya, dosis maksimal yang dipakai adalah 25 mg/200gBB, dosis maksimal tersebut diberikan pada perlakuan III, perlakuan II ditentukan setengah dari perlakuan dosis III, dan perlakuan I ditentukan setengah dari dosis perlakuan II. Sedangkan untuk perlakuan kontrol hanya diberi aquades.

3. Perlakuan hewan uji

Perlakuan dilakukan saat hewan uji pada masa kehamilan 7-17 hari, dan diberi perlakuan secara oral 1X sehari dengan dosis Rhodamin B masing-masing kelompok. Menurut Ritschell (1974) dalam Smith dan Mangkoewidjojo, 1988, volume maksimum larutan sediaan yang boleh diberikan pada tikus putih dengan berat badan 100 g adalah 5 ml, sehingga masing-masing perlakuan diberi 2 ml aquades.

a. Kelompok A (kontrol)

Diberi 2 ml aquades

b. Kelompok B

Diberi 6,25 mg/200 gBB Rhodamin B dalam 2 ml aquades

c. Kelompok C

Diberi 12,5 mg/200 gBB Rhodamin B dalam 2 ml aquades

d. Kelompok D

Diberi 25 mg/200 gBB Rhodamin B dalam 2 ml aquades

4. Pengambilan Organ

Pada akhir perlakuan (hari ke-18) semua tikus putih dimatikan dengan cara dislokasi *cervik*, dan dilakukan pembedahan tikus putih kemudian diambil organ hepar dan ren kemudian difiksasi dengan larutan Bouin.

5. Pembuatan Preparat

Pembuatan sediaan histologis dilakukan dengan pembuatan preparat *section* menggunakan metode paraffin dengan pewarnaan H. E. (Hematoxylin Eosin) yang meliputi *labeling*, fiksasi, *washing*, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, *sectioning*, *affixing*, *staining*, *mounting* dan *labeling* (Suntoro *et al.*, 1983).

6. Pengamatan

Preparat hepar diamati secara mikroskopis dan dibandingkan antara kelompok perlakuan dengan kontrol. Pengamatan diperjelas dengan visualisasi gambar berupa foto preparat pada masing-masing perlakuan dan kontrol.

D. Teknik Pengumpulan Data

1. Data Kualitatif

Struktur ren dan hepar diamati secara deskriptif dalam bentuk irisan penampang melintang untuk melihat ada tidaknya perubahan struktur mikroanatomi setelah perlakuan. Data diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan sel hepar dan ren tiap-tiap ulangan. Presentase derajat kerusakan hepar, kerusakan glomerulus ren dan kerusakan tubulus ren dikuantifikasikan dengan mengikuti metode Mitchel, yaitu:

commit to user

a. Tingkat Kerusakan Hepatosit

Tabel 1. Tingkat Kerusakan Hepatosit (Mitchel dalam Gufron, 2001).

| Tingkat kerusakan | Keterangan |
|-------------------|-------------------------------------------------------------|
| Normal | Hepar normal |
| Sangat ringan | Bengkak keruh + |
| Ringan | Bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik +, nekrosis + |
| Sedang | Degenerasi hidrofik ++, degenerasi lemak ++, nekrosis ++ |
| Berat | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi lemak +++, nekrosis +++ |

Keterangan:

- : normal
 + : kerusakan hepar mencapai 25 % dalam lima bidang pandang
 ++ : kerusakan hepar mencapai 50 % dalam lima bidang pandang
 +++ : kerusakan hepar mencapai 75 % dalam lima bidang pandang (perbesaran 400x)

b. Tingkat kerusakan Glomerulus

Tabel 2. Tingkat Kerusakan Glomerulus (Mitchel dalam Gufron, 2001).

| Tingkat kerusakan | Glomerulus |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Normal | Normal, inti terlihat jelas, bentuk bulat |
| Ringan | Pembesaran glomerulus +, penyempitan ruang kapsuler +, butir-butir eritrosit + |
| Sedang | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++ |
| Berat | Pembesaran glomerulus +++, penyempitan ruang kapsuler +++, butir-butir eritrosit +++ |

Keterangan :

- : normal
 + : kerusakan sel mencapai 25 % dari lima bidang pandang
 ++ : kerusakan sel mencapai 50 % dari lima bidang pandang
 +++ : kerusakan sel mencapai 75 % dari lima bidang pandang (perbesaran 400x)

c. Tingkat kerusakan tubulus ren

Tabel 3. Tingkat Kerusakan Tubulus Ren (Mitchel dalam Gufron, 2001)

| Tingkat Kerusakan | Tubulus Proksimal | Kontortus Tubulus Distal |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Normal | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen sel tubulus jelas | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen sel tubulus jelas |
| Ringan | Degenerasi bengkak keruh +, degenerasi hidrofik +, lumen sel tubulus tidak jelas | Degenerasi bengkak keruh +, degenerasi hidrofik +, lumen sel tubulus tidak jelas |
| Sedang | Degenerasi bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik ++, perlemakan +, lumen sel tubulus tidak jelas | Degenerasi bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik ++, perlemakan +, lumen sel tubulus tidak jelas |
| Berat | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas, ada sel yang nekrosis | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tubulus tidak jelas, ada sel yang nekrosis |

Keterangan :

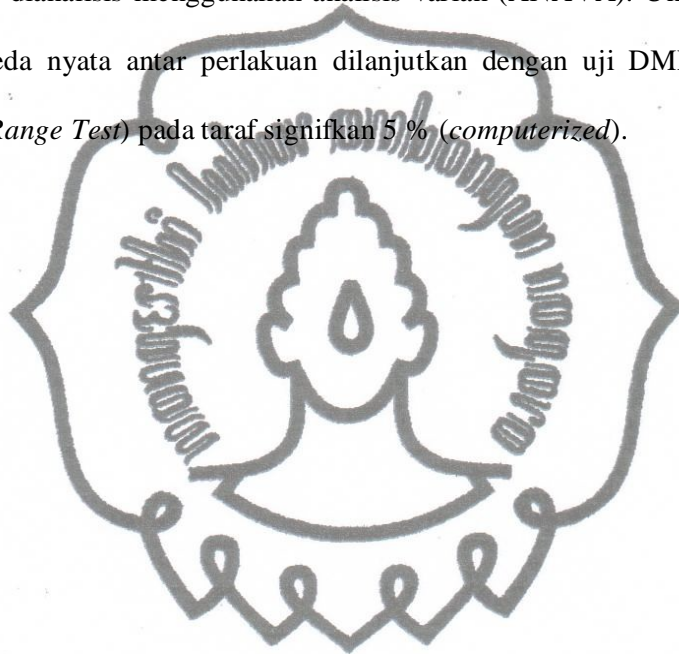
- : normal
- + : kerusakan sel mencapai 25 % dari lima bidang pandang
- ++ : kerusakan sel mencapai 50 % dari lima bidang pandang
- +++ : kerusakan sel mencapai 75 % dari lima bidang pandang (Perbesaran 400x)

2. Data kuantitatif

Pengambilan data kuantitatif dilakukan dengan pengukuran diameter vena sentralis pada hepar dan diameter glomerulus pada ren.

E. Analisis Data

Data kualitatif dianalisis dengan cara membandingkan antar kelompok perlakuan berdasarkan perbedaan dosis Rhodamin B yang diberikan. Data kuantitatif dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA). Untuk mengetahui adanya beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan' s Multiple Range Test*) pada taraf signifikan 5 % (*computerized*).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pewarna Rhodamin B secara oral terhadap struktur histologis hepar dan ren *R. norvegicus* feminina gravid.

Rhodamin B termasuk golongan pewarna *xanthenes* basa, dan terbuat dari *meta dietilaminofenol* dan *ftalik anhidrid*, suatu bahan yang tidak boleh dimakan (Nainggolan dan Sihombing, 1984) serta sangat berfluoresensi (Merck, 2006). Struktur kimia pada Rhodamin B terdapat ikatan senyawa klorida, dimana klorida tergolong sebagai senyawa halogen dan sifat halogen yang berada di dalam senyawa organik sangat berbahaya serta memiliki reaktivitas yang tinggi untuk mencapai kestabilan di dalam tubuh dengan cara berikatan dengan senyawa-senyawa di dalam tubuh yang menimbulkan efek toksik dan memicu kanker pada manusia (Kusmayadi dan Sukandar, 2009).

Sumber lain juga menyebutkan bahwa Rhodamin B merupakan bentuk senyawa Alkaliting ($\text{CH}_3\text{-CH}_3$) dan bentuk struktur kimia yang poli aromatik hidrokarbon (PAH) dimana bentuk senyawa tersebut bersifat sangat radikal, akan menjadi bentuk metabolit yang reaktif setelah mengalami aktivasi dengan enzim sitokrom P- 450. Bentuk radikal ini akan berikatan dengan protein, lemak dan DNA (Levi, 1987; Zakaria, 1996).

A. Hepar Sebagai Organ Sasaran Efek Toksik Rhodamin B

Rhodamin B yang masuk ke dalam saluran cerna akan diserap oleh dinding usus halus (Dange *et al.*, 1996). Oleh vena usus, Rhodamin B didistribusikan ke dalam hati untuk dimetabolisme melalui proses deetilasi. Proses metabolisme Rhodamin B tidaklah sempurna, pada proses deetilasi terjadi pelepasan monoetil dari Rhodamin B dan menyisakan 3,6-diaminofluoran. Senyawa 3,6-diaminofluoran merupakan senyawa yang tidak dapat diuraikan dan akan terakumulasi dalam hati (Webb dan Hansen, 1963). Senyawa tersebut akan menyebabkan perubahan aktivitas metabolisme sel-sel hati, antara lain perubahan metabolisme glikosaminoglikan (Kaji *et al.*, 2007; Robert *et al.*, 2006) dan ATP (Loo dan Clarke, 2002).

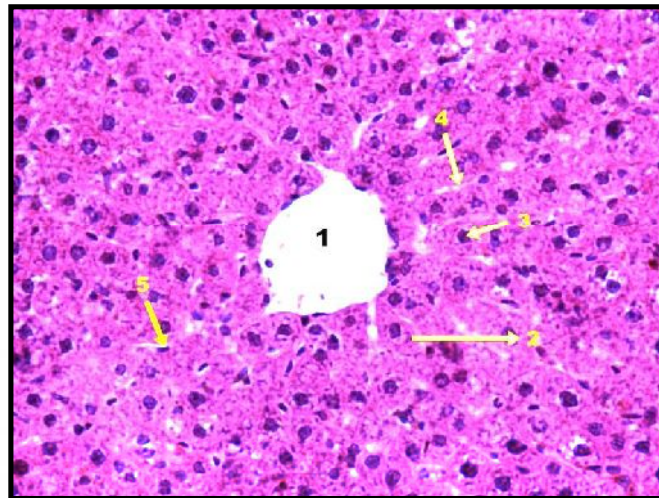
Senyawa 3,6-diaminofluoran menghambat produksi glikosaminoglikan dengan menghambat proses pemanjangan (elongasi) gugus rantainya (Robert *et al.*, 2006), sedangkan pelepasan glikosaminoglikan tidak mengalami perubahan (Kaji *et al.*, 2007). Selain itu, senyawa tersebut juga meningkatkan aktivitas ATP-ase sehingga meningkatkan pemecahan ATP menjadi ADP dan monofosfat. Pada kondisi yang berlebihan akibat akumulasi senyawa tersebut, pemecahan ATP lebih cepat dibandingkan penyusunannya (Loo dan Clarke, 2002). Kedua kejadian tersebut akan menyebabkan gangguan keseimbangan energi sedemikian hingga menyebabkan kerusakan dan bahkan kematian sel.

1. Pengamatan Mikroskopis Struktur Histologis Hepar

a. Hepar Kontrol

Pengamatan struktur histologis secara menyeluruh pada hepar tikus kelompok kontrol yang hanya diberi aquades selama 11 hari tidak menunjukkan kerusakan baik pada vena sentralis, hepatosit dan sinusoid (Gambar 4). Di dalam lobulus hepar, hepatosit menyebar dari vena sentralis menuju ke perifer secara radier dan teratur. Hepatosit berbentuk poligonal. Ukurannya bermacam-macam, inti sel terlihat jelas, bulat. Sinusoid berada diantara parenkim hepar dan saling beranastomosis. Sinusoid dilapisi endotel.

Hepatosit (sel parenkim hati) merupakan bagian terbesar organ hati dan bertanggungjawab terhadap peran sentralnya dalam metabolisme. Sel-sel ini terletak diantara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu sedangkan sel kupffer melapisi sinusoid hati dan merupakan bagian penting dari sistem retikuloendothelial tubuh. Vena sentralis sebagai titik tengah yang mengalirkan darah ke vena sublobularis dan kemudian ke vena hepatica.



Gambar 4. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan A (kontrol).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

Keterangan:

1. Vena sentralis
2. Hepatosit
3. Inti hepatosit

4. Sinusoid

5. Sel kupffer

b. Hepar kelompok perlakuan B.

Preparat histologis hepar dari kelompok B yang diberi Rhodamin B 6,25 mg/200 gBB dalam 2 ml aquades memperlihatkan tingkat kerusakan sedang (Gambar 5). Terdapat sel-sel darah di vena sentralis dan sinusoid. Susunan hepatosit tidak teratur secara radier. Pada sebagian bidang pandang mengalami degenerasi perlemakan dan degenerasi hidrofik. Beberapa inti hepatosit mengalami pembengkakan dan degenerasi inti seperti piknosis, karioreksis dan kariolisis.

Degenerasi perlemakan dapat terjadi karena terbentuknya radikal bebas yang merusak membran lipid pada sel yang disertai dengan pembentukan peroksidasi lipid. Radikal bebas merupakan oksidan yang terdiri dari *Reactive Oxygen Spacies* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Spacies* (RNS). Pada kadar

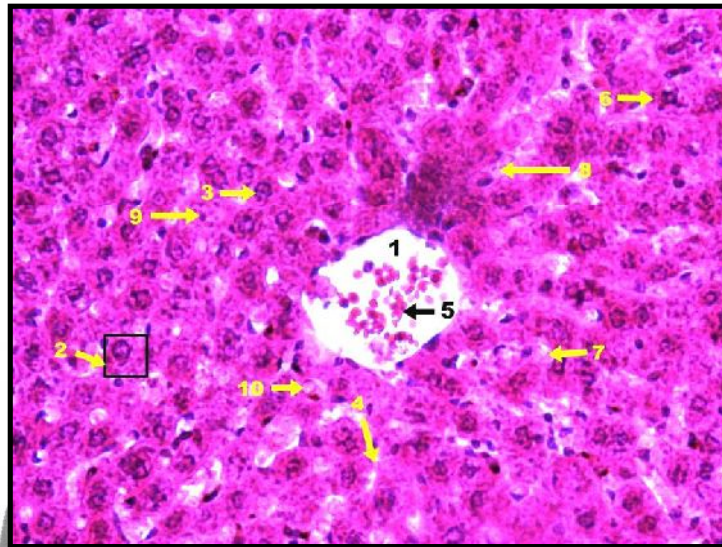
yang melebihi kemampuan antioksidan endogen akan menyebabkan kerusakan sel (Jawi *et al.*, 2006). Radikal bebas juga menimbulkan kerusakan pada membran mitokondria dan lisosom yang mengakibatkan hilangnya bioenergi yang dibutuhkan untuk memelihara integritas sel dan terjadi pelepasan enzim lisosim yang bersifat destruktif terhadap sel (Kardena dan Winaya, 2011).

Secara alamiah sel-sel tubuh baik sel normal atau sel kanker melakukan apoptosis (bunuh diri). Pada saat melakukan apoptosis, semua isi sel akan keluar dan menghasilkan radikal bebas (Haliwell, 1999; Roitt dan Delves, 2001).

Sifat negatif radikal bebas (ROS/RNS) dapat menyebabkan stres oksidatif yaitu keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, radikal bebas dalam jumlah berlebihan, sementara jumlah antioksidan seluler tetap atau lebih sedikit, maka akan terjadi stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel merupakan gangguan atau perubahan yang dapat mengurangi viabilitas dan fungsi esensial sel. Target kerusakan sel yaitu: (1) lipida melalui oksidasi PUFA dengan tahapan inisiasi, propagasi dan terminasi; (2) protein (glikoprotein) melalui inaktivasi enzim, mengikat protein atau reseptor; (3) DNA melalui perusakan penyusun DNA (asam nukleat), lipoprotein, karbohidrat, pada tahapan mutasi, inisiasi dan promosi kanker (Costa *et al.*, 2005). Stres oksidatif dapat pula menyebabkan kematian sel secara apoptosis dan nekrosis. Kematian sel apoptosis mencakup proses otonomi seluler aktif yang ditandai dengan penyusutan sel,

kerusakan membran dan fragmentasi DNA inti, atau kematian terjadi secara terprogram. Nekrosis merupakan kematian sel akibat kerusakan berat yang ditandai oleh kerusakan struktural seluler secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peradangan jaringan (Forres *et al.*, 1994).

Nekrosis merupakan kematian suatu sel atau kelompok yang masih merupakan bagian dari organisme hidup dengan penyebab yang bervariasi dan mekanisme berkelanjutan. Kematian sel umumnya paling jelas ditunjukkan pada perubahan inti sel. Inti sel yang mati akan menyusut, batasnya tidak teratur, dan berwarna lebih gelap dengan warna yang digunakan oleh ahli patologi seperti biru trifan. Prosesnya disebut piknosis, intinya sendiri disebut piknotik, selain itu ada kemungkinan inti hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar dalam sel yang disebut dengan karioreksis. Hal ini menyebabkan kehilangan kemampuan untuk diwarnai. Proses ini dikenal dengan kariolisis (Anderson *et al.*, 1995).



Gambar 5. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan B (6, 25 mg Rhodamin B /200 gBB dalam 2 ml aquades).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

Keterangan:

- | | |
|--------------------------|-----------------------------------|
| 1. Vena sentralis | 6. Karioreksis hepatosit |
| 2. Hepatosit | 7. Kariolisis hepatosit |
| 3. Inti hepatosit | 8. Pelebaran sinusoid |
| 4. Sinusoid | 9. Degenerasi lemak hepatosit |
| 5. Butir-butir eritrosit | 10. Degenerasi hidrofik hepatosit |

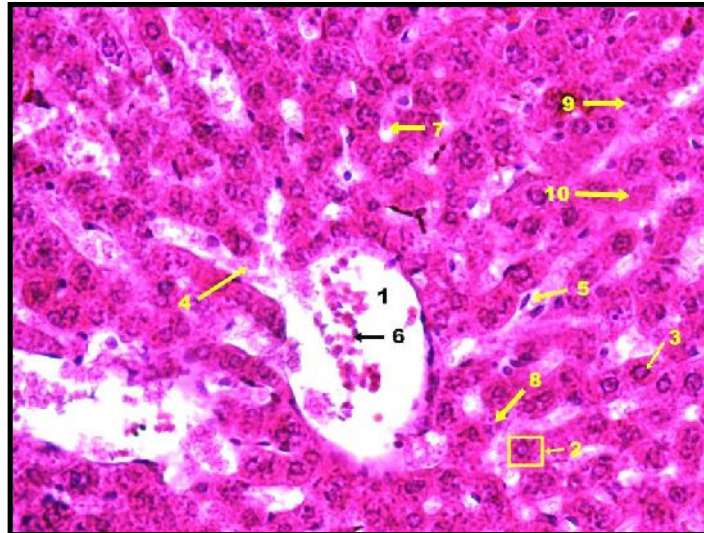
c. Hepar Kelompok Perlakuan C

Preparat histologis hepar dari kelompok perlakuan C yang diberi Rhodamin B 12,5 mg/ 200gBB memperlihatkan tingkat kerusakan sedang (Gambar 6). Degenerasi perlemakan terlihat di beberapa hepatosit. Hepatosit mengalami pembengkakan dengan sitoplasma terlihat keruh. Beberapa hepatosit mengalami karioreksis (50 % dalam 5 bidang pandang). Sel-sel darah masih terlihat pada vena dan sinusoid. Terjadinya degenerasi yang merupakan tanda kerusakan hepatosit. Fase degenerasi sel yang merupakan tanda kerusakan hepatosit antara lain: degenerasi bengkak keruh, degenerasi hidrofik, degenerasi lemak dan nekrosis. (Hidayati, 2008).

commit to user

Menurut Santoso *et al.* (2006), apabila senyawa racun masuk terlalu besar sehingga bersifat toksik pada hepar akan menimbulkan degenerasi jaringan hepar kemudian terjadi nekrosis yang dapat merusak jaringan hepar. Degenerasi lemak terjadi karena perubahan metabolisme lemak (trigliserida) sehingga terjadi peningkatan sintesis atau penurunan sekresi lemak dari sel (Porth dan Matfin, 2008). Degenerasi lemak bersifat reversible. Gambaran histopatologi yang lain adalah perdarahan yang terjadi akibat abnormalitas fungsi atau integritas dari satu atau lebih dari beberapa faktor dalam homeostasis (Gavin dan Zachari, 2006).

Sel hepar yang normal bentuknya isositosis, tanpa vakuolisasi, inti normokromatik dan tidak ada perdarahan. Sel disebut mengalami degenerasi apabila terdapat vakuolisasi pada sitoplasma tetapi inti sel masih normokromatik. Sel mengalami nekrosis apabila inti sel tidak normokromatik (Lakhani *et al.*, 2002).



Gambar 6. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan C (12, 5 mg Rhodamin B/ 200gBB dalam 2 ml aquades).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

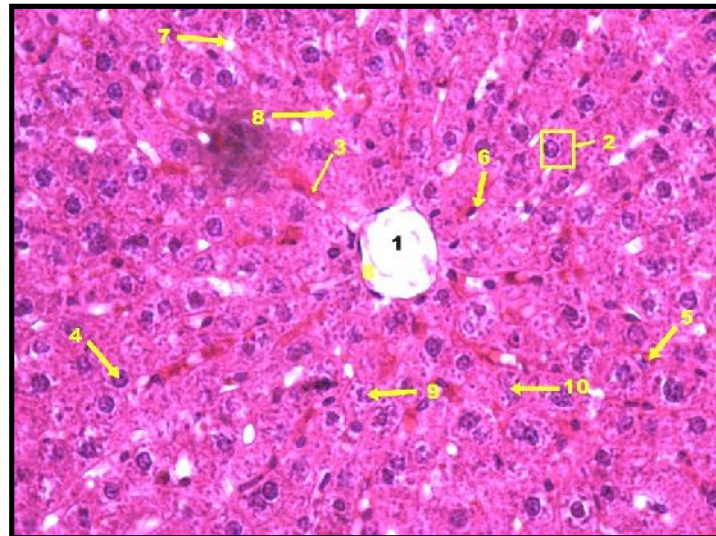
Keterangan:

1. Vena sentralis
2. Hepatosit
3. Inti hepatosit
4. Sinusoid
5. Sel Kupffer

6. Butir-butir eritrosit
7. Degenerasi hidrofik hepatosit
8. Degenerasi lemak hepatosit
9. Karioreksis hepatosit
10. Kariolisis hepatosit

d. Hepar Kelompok Perlakuan D

Struktur histologis hepar kelompok perlakuan D yang diberi Rhodamin B 25 mg/ 200gBB memperlihatkan tingkat kerusakan berat (Gambar 7). Sinusoid terisi butir-butir eritrosit. Tampak adanya vakuola-vakuola kecil yang menandakan terjadinya degenerasi hidrofik. Degenerasi hidrofik dan degenerasi lemak mencapai 75 % dalam lima bidang pandang.



Gambar 7. Penampang melintang hepar (vena sentralis dan hepatosit) tikus kelompok perlakuan D (25 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

Keterangan:

1. Vena sentralis

2. Hepatosit

3. Sinusoid

4. Inti hepatosit

5. Butir-butir eritrosit

6. Sel Kupffer

7. Degenerasi hidrofik

8. Degenerasi lemak hepatosit

9. Karioreksis hepatosit

10. Kariolisis hepatosit

Berdasarkan pengamatan terhadap struktur histologis hepar dalam bentuk irisan melintang dengan perbesaran 400x diperoleh data kerusakan hepatosit yang kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakannya. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4:

Tabel 4. Tingkat kerusakan hepatosit tikus setelah perlakuan dengan pemberian Rhodamin B secara oral dengan 3 dosis yang berbeda.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan |
|--------------------|-------------------|------------------------------------------------------------|
| A (kontrol) | Normal | Hepatosit normal |
| Perlakuan B | Sedang | Degenerasi hidrofik ++, degenerasi lemak ++, nekrosis + |
| Perlakuan C | Sedang | Degenerasi hidrofik ++, degenerasi lemak ++, nekrosis ++ |
| Perlakuan D | Berat | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi lemak +++, nekrosis ++ |

Keterangan:

- + : kerusakan sel mencapai 25% dalam lima bidang pandang
- ++ : kerusakan sel mencapai 50 % dalam lima bidang pandang
- +++ : kerusakan sel mencapai 75 % dalam lima bidang pandang

Data kualitatif tingkat kerusakan hepar lebih ditekankan pada kerusakan hepatosit. Hasil yang diperoleh (Tabel 4) menunjukkan tingkat kerusakan paling tinggi pada kelompok perlakuan D (kerusakan berat) yaitu 75 % dari lima bidang pandang mengalami degenerasi hidrofik, degenerasi pelemakan dan nekrosis. Kelompok perlakuan B dan C menunjukkan tingkat kerusakan yang hampir sama, yaitu kerusakan sedang, hanya saja jumlah sel yang mengalami nekrosis (piknosis, kariolisis dan karioreksis) pada kelompok perlakuan B tidak sebanyak pada kelompok perlakuan C (50 % bidang pandang). Hepatosit pada kelompok kontrol menunjukkan struktur normal.

Kerusakan sel pada tingkat pembengkakan sering disebut dengan istilah degenerasi hidrofik yang merupakan kerusakan sel pada tingkatan ringan dengan tanda-tanda sel tampak membengkak dengan ukuran relatif besar dibandingkan dengan hepatosit normal dan sitoplasmanya lebih keruh. Hal ini dikarenakan di dalam sitoplasma terdapat granula-granula kasar serta jumlah air yang masuk ke

sitoplasma bertambah. Akumulasi air ini dapat terjadi antara lain karena faktor mekanik dan pengaruh toksik akibat bahan-bahan kimia dan obat-obatan. Gangguan tersebut menyebabkan air mengalir ke dalam sel lebih banyak dibandingkan dengan keadaan normal, karena mekanisme transport aktif ion Na^+ dan K^+ terganggu sehingga mitokondria tampak membengkak dan sitoplasma tampak berisi granula protein halus dan tampak keruh (Mutschler, 1991).

Degenerasi lemak terjadi akibat akumulasi lemak yang bersifat abnormal dalam sitoplasma hepatosit. Pada keadaan normal, lemak diambil dalam bentuk asam lemak melalui pinositosis. Asam lemak disintesis menjadi trigliserida, terikat pada fosfolipid dan protein kemudian diangkut oleh darah sebagai lipoprotein. Lemak dibutuhkan untuk pengikatan substrat, memudahkan transfer elektron dan menyediakan tempat untuk interaksi molekul sitokrom P-450 reduktase. Pemberian senyawa kimia akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas di dalam hepar, yang kemudian menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel dan akan mengganggu aktivitas sitokrom P-450 yang berfungsi dalam proses biotransformasi (sebagai katalis proses oksidasi). Hal ini akan berakibat terhambatnya reaksi fase I pada proses biotransformasi yang akan menyebabkan gagalnya mekanisme detoksifikasi di hepar.

Menurut Plaa (1986), perubahan yang terjadi pada membran sel mencerminkan gangguan pengaturan ion dan volume yang disebabkan oleh hilangnya ATP. Gangguan pada membran sel yang bersifat terus menerus akan menimbulkan robekan pada membran sel dan membran organela. Hal ini menyebabkan Na^+ yang masuk ke dalam sel berlebih dan diikuti oleh

pembengkakan mitokondria karena pergeseran ion yang terjadi pada bagian dalam sel. Mitokondria yang mengalami tekanan berakibat pada gangguan dalam proses fosforilasi pernafasan oksidatif dalam mitokondria. Kegagalan dalam pengikatan energi akibat terganggunya mitokondria akan menyebabkan sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida akibatnya terjadi akumulasi lemak yang dikenal sebagai degenerasi lemak.

Degenerasi lemak bersifat *reversible*, yang merupakan awal terjadinya nekrosis. Nekrosis merupakan perubahan morfologi atau struktur sel yang sifatnya *irreversible*. Kerusakan hepatosit berupa nekrosis ditandai dengan nukleus yang menghitam dan mengalami fragmentasi. Selain itu, hepatosit tampak semakin kecil dan mengkerut sehingga bentuknya menjadi tidak teratur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kumar dan Robbins (2004) bahwa nekrosis adalah proses patologi setelah sel mengalami cedera. Sel yang nekrotik menunjukkan warna yang lebih eosinofilik karena hilangnya warna basofilik yang dihasilkan oleh rRNA pada sitoplasma serta meningkatnya pengikatan eosin oleh protein sitoplasma yang rusak. Pada inti sel, kematian sel akan memberikan gambaran inti sebagai berikut:

- 1) Kariopiknosis, inti mengecil dan terjadi peningkatan warna basofilik
- 2) Karioreksis, inti yang piknotik atau sebagian piknotik mengalami fragmentasi
- 3) Kariolisis, berupa gambaran basofilik, gambaran kromatin dan inti sel menghilang.

Kerusakan hepatosit sering kali disebabkan oleh metabolit toksik. Penimbunan hasil metabolit yang reaktif dan toksik akan menyebabkan

terganggunya permeabilitas selaput, homeostasis osmosa, kebutuhan enzim dan kofaktor yang selanjutnya akan membebani sel tersebut dan menyebabkan jejas dan disfungsi (Robins dan Kumar, 2004). Penumpukan bahan-bahan toksik dalam parenkim hepar dapat menimbulkan kerusakan hepatosit akibat paparan metabolit toksik (Katzung, 2001).

Pelebaran pembuluh darah, dalam hal ini vena sentralis merupakan gangguan sirkulasi yang disebut hiperemia. Himawan (1996) menyatakan bahwa hiperemia merupakan suatu keadaan yang disertai meningkatnya volume darah dalam pembuluh yang melebar pada suatu bagian tubuh. Hiperemia diduga terjadi karena adanya penyumbatan dalam suatu pembuluh yang mengakibatkan aliran darah terhambat sehingga vena sentralis melebar. Hiperemia dapat berlanjut menjadi hemoragi yaitu pecahnya pembuluh darah sehingga darah keluar dari pembuluh dan menyebar ke jaringan di sekitarnya. Pada pengamatan struktur mikroanatomi hepar ditunjukkan pada vena sentralis dan sinusoid (gambar 4-6).

Selain itu, terjadi juga pelebaran sinusoid (gambar 5 dan 6) yang terjadi karena penyaluran darah dengan aliran kuat dan rusaknya hepatosit. Sinusoid menerima aliran darah dari vena porta dan arteri hepatica, kemudian menyalurkan ke vena sentralis. Banyaknya konsentrasi toksikan dalam darah yang disalurkan oleh sinusoid mengakibatkan kerusakan pada sinusoid. Dinding sinusoid tersusun atas sel-sel endotel yang membentuk lapisan tidak utuh. Terdapat pembatas antara hepatosit dan sinusoid yaitu celah subendotel yang mengandung mikrofilia dari hepatosit. Hal ini mempermudah terjadinya kontak langsung antara permukaan hepatosit dan sinusoid sehingga memudahkan terjadinya pertukaran

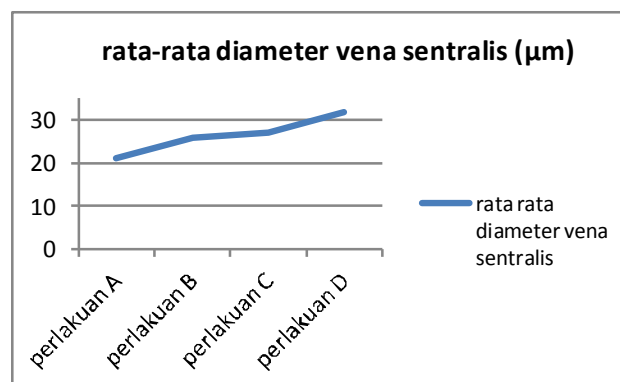
molekul termasuk toksikan. Menurut Setyawati *et al.* (2011), apabila konsentrasi toksikan tinggi akan mengakibatkan kerusakan berupa pelebaran sinusoid. Pelebaran sinusoid juga dapat terjadi karena adanya desakan pada dindingnya akibat terjadinya pembendungan pada vena oleh zat toksik. Pembendungan vena dimulai dari vena sentralis yang mengalami peradangan lalu ke bagian tengah lobulus hepar.

Untuk membuktikan adanya pelebaran diameter vena sentralis maka dilakukan pengukuran. Hasilnya tercantum dalam Tabel 5 dan Gambar 8.

Tabel 5. Rata-rata diameter vena sentralis hepar tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral.

| Kelompok perlakuan | Rata-rata diameter vena sentralis (μm) |
|-----------------------|-----------------------------------------------------|
| Perlakuan A (kontrol) | 20, 7381 ^a |
| Perlakuan B | 26, 3143 ^b |
| Perlakuan C | 26, 7714 ^b |
| Perlakuan D | 31, 6857 ^c |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.



Gambar 8. Rata-rata diameter vena sentralis (μm) hepar tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral.

Data kuantitatif diperoleh dengan mengukur diameter vena sentralis. Hasil uji anava dilanjutkan dengan uji DMRT dengan taraf signifikansi 5 % (Lampiran 3) pada kelompok perlakuan B yang diberi Rhodamin 6, 25 mg/ 200gBB tidak berbeda nyata (tidak signifikan) dengan kelompok perlakuan C yang diberi Rhodamin B sebanyak 12, 5 mg/ 200 gBB. Sedangkan kelompok perlakuan D yang diberi Rhodamin B sebanyak 25 mg/ 200 gBB menunjukkan beda nyata dengan kelompok perlakuan A, B, maupun C.

Analisis data untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis Rhodamin B yang berbeda terhadap struktur histologis hepar menunjukkan persamaan pada data kualitatif dan kuantitatif. Pada data kualitatif kelompok perlakuan B dan C menunjukkan tingkat kerusakan yang sama yaitu tingkat kerusakan sedang. Sedangkan kelompok perlakuan D menunjukkan tingkat kerusakan berat. Setelah dianalisis diameter vena sentralisnya, data kualitatif menggambarkan kelompok perlakuan B dan C tidak menunjukkan berbeda nyata jika dibandingkan kelompok perlakuan D.

Hasil pengamatan yang menunjukkan terjadinya nekrosis pada semua kelompok perlakuan pemberian Rhodamin B sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahardi (2010), dimana pemberian Rhodamin B menyebabkan kematian sel hati yang ditandai dengan perubahan inti sel hati (piknosis, karioreksis dan kariolisis).

B. Ren Sebagai organ Sasaran Efek Toksik Rhodamin B

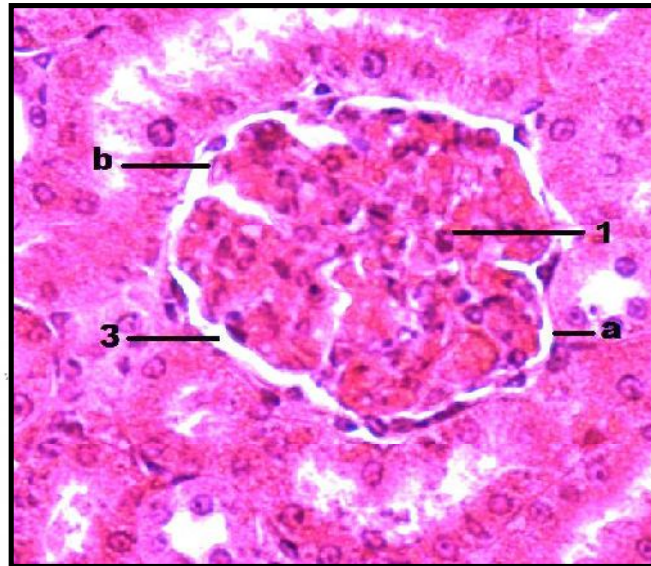
Selain hepar, ren juga merupakan organ sasaran dari efek toksik Rhodamin B. Ren mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu. Hal ini berkaitan dengan fungsinya sebagai organ pembersih darah. Sesudah difiltrasi, sebagian filtrat akan diabsorpsi kembali sehingga konsentrasi toksikan dalam tubulus renalis akan semakin besar dan berakibat pada terjadinya kerusakan.

1. Pengamatan Mikroskopis Struktur Histologis Glomerulus

Glomerulus berfungsi sebagai tempat filtrasi zat-zat dari sistem peredaran darah. Glomerulus merupakan suatu jaringan yang bersal dari arteriol afferent, suatu cabang dari arteri ren. Kapiler glomerulus mempunyai pori-pori yang besar (70 nm). Darah memasuki glomerulus bertekanan sekitar 60 mmHg dan diatur oleh sel khusus dari arteriol afferen yang disebut sel juxtaglomerular. Tekanan tersebut mendorong cairan darah keluar dari pori-pori melalui membran dasar dan melewati arteriol afferent untuk difiltrasi diantara podosit (sel penyusun lapisan simpai Bowman) (Moneim dan Ghafeer, 2007).

a. Ren kontrol

Glomerulus pada kelompok kontrol tampak normal (Gambar 9) sebagai anyaman kapiler darah yang berbelit-belit seperti jala. Kapsula Bowman tersusun atas lapisan visceralis dan lapisan parietal, membentuk ruang kapsula.



Gambar 9. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan A (kontrol).

Perbesaran: 400x

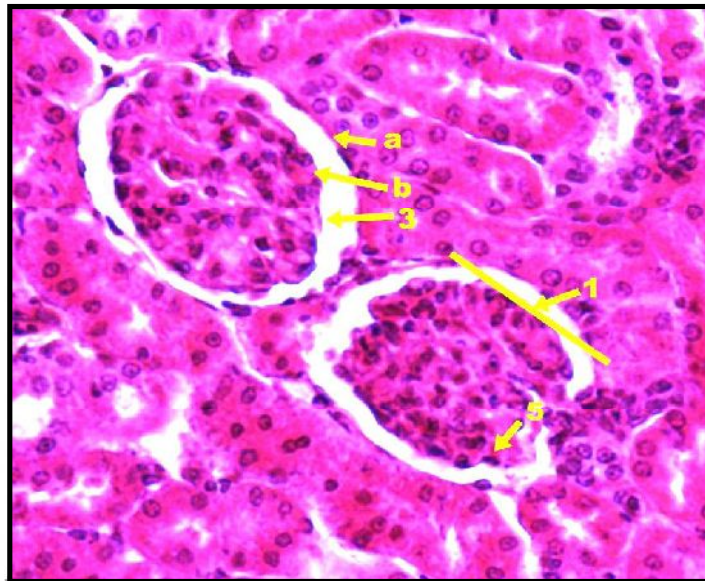
Pewarnaan: H. E.

Keterangan:

1. Glomerulus
2. Kapsula Bowman
 - a. lapis parietal
 - b. lapis visceral
3. Ruang Bowman

b. Ren kelompok perlakuan B.

Preparat histologis ren dari kelompok B yang diberi Rhodamin B 6,25mg/200 gBB dalam 2 ml aquades memperlihatkan tingkat kerusakan ringan dengan terjadinya pembesaran glomerulus sehingga ruang kapsuler menyempit (Gambar 10). Tampak adanya butir - butir eritrosit. Peningkatan diameter glomerulus terjadi akibat adanya interaksi antara toksikan dan pembuluh darah sehingga mengakibatkan vasodilatasi pembuluh darah. Vasodilatasi ini menyebabkan membesarnya anyaman kapiler glomerulus sehingga diameternya bertambah (Moneim dan Ghafeer, 2007).



Gambar 10. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan B (6, 25 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

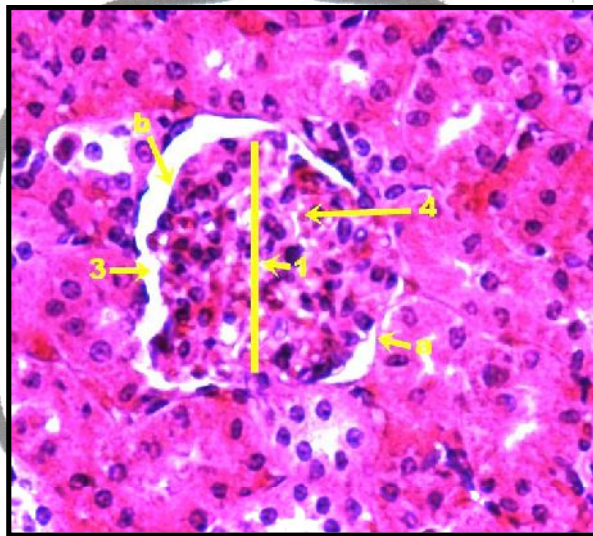
Keterangan:

1. Glomerulus
2. Kapsula Bowman
 - a. lapis parietal
 - b. lapis visceral
3. Ruang Bowman
4. Butir-butir eritrosit

c. Ren kelompok perlakuan C

Preparat histologis glomerulus pada kelompok perlakuan C tidak jauh berbeda dengan kelompok perlakuan B. Tampak adanya butir-butir eritrosit yang lebih banyak dibanding kelompok perlakuan B (gambar 11). Glomerulus membengkak sehingga ruang Bowman tampak menyempit. Pembengkakan pada glomerulus mengakibatkan aliran darah menjadi terganggu sehingga sel darah merah terjebak dalam kapiler darah. Sirkulasi darah menjadi tidak lancar karena gangguan pada kapiler darah, darah akan terkumpul dalam kapiler dan menyebabkan tekanan dinding kapiler naik. Jika hal ini terus berlangsung

dinding kapiler akan pecah sehingga sel darah seperti eritrosit akan memasuki jaringan. Glomerulus adalah tempat awal terjadinya pendedahan kimiawi pada nefron. Fungsi dari glomerulus adalah untuk filtrasi sehingga menghasilkan filtrat yang komposisinya sama dengan plasma darah tanpa protein plasma (Martini, 1992).



Gambar 11. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan C (12, 5 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

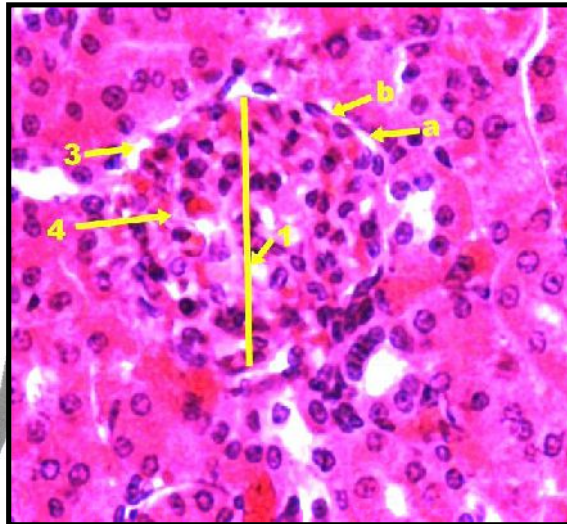
Keterangan:

1. Glomerulus
2. Kapsula Bowman
 - a. lapis parietal
 - b. lapis visceral
3. Ruang Bowman
4. Butir-butir eritrosit

d. Ren kelompok perlakuan D

Preparat histologis glomerulus pada kelompok perlakuan D menunjukkan tingkat kerusakan berat (gambar 12). Tampak adanya butir-butir eritrosit yang

lebih banyak dibanding kelompok perlakuan C. Glomerulus membengkak sehingga ruang Bowman tampak menyempit.



Gambar 12. Penampang melintang korteks ren (glomerulus) tikus perlakuan D (25 mg Rhodamin B/ 200 gBB dalam 2 ml aquades).

Perbesaran: 400x

Pewarnaan: H. E.

Keterangan:

1. Glomerulus
2. Kapsula Bowman
 - a. lapis parietal
 - b. lapis visceral
3. Ruang Bowman
4. Butir-butir eritrosit

Berdasarkan pengamatan struktur histologi glomerulus pada masing-masing kelompok perlakuan diperoleh data kerusakan glomerulus yang meliputi pembengkakan glomerulus, penyempitan ruang kapsuler dan keberadaan butir-butir eritrosit yang kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan tersebut (Tabel 6).

Tabel 6. Tingkat Kerusakan glomerulus ren tikus setelah pemberian perlakuan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | keterangan |
|--------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| A (kontrol) | normal | Normal, inti terlihat jelas, bentuk bulat |
| Perlakuan B | ringan | Pembesaran glomerulus +, penyempitan ruang kapsuler +, butir-butir eritrosit + |
| Perlakuan C | sedang | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++ |
| Perlakuan D | berat | Pembesaran glomerulus +++, penyempitan ruang kapsuler +++, butir-butir eritrosit ++ |

Keterangan:

+ : kerusakan sel mencapai 25% dalam lima bidang pandang

++ : kerusakan sel mencapai 50 % dalam lima bidang pandang

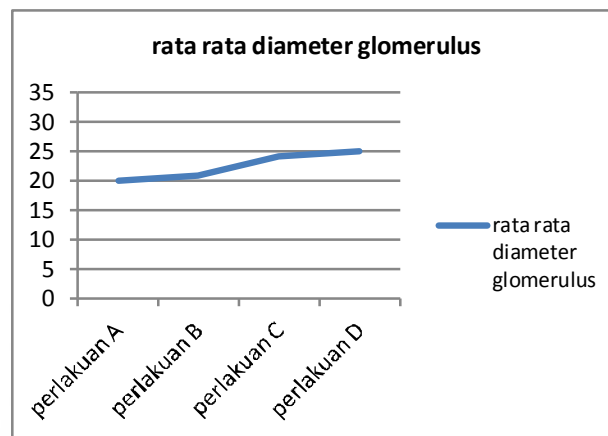
+++ : kerusakan sel mencapai 75 % dalam lima bidang pandang

Untuk membuktikan pengaruh tiap perlakuan terhadap diameter glomerulus, dilakukan pengukuran. Hasilnya tercantum pada Tabel 7 dan Gambar 13.

Tabel 7. Rata-rata diameter glomerulus ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral.

| Kelompok perlakuan | Rata-rata diameter glomerulus |
|-----------------------|-------------------------------|
| Perlakuan A (kontrol) | 20, 5143 ^a |
| Perlakuan B | 21, 1429 ^a |
| Perlakuan C | 23, 9143 ^b |
| Perlakuan D | 25, 1714 ^c |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.



Gambar 13. Rata-rata diameter glomerulus ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 BB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral.

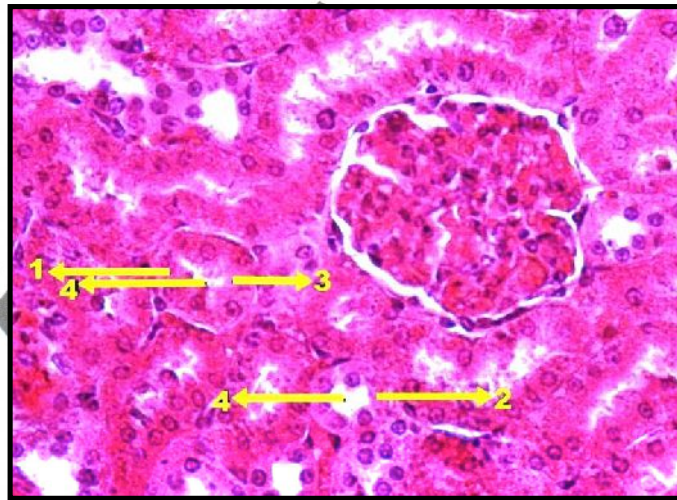
Hasil olah data kuantitatif dari diameter glomerulus (Lampiran 3) menunjukkan kelompok perlakuan C dan D berbeda nyata. Sedangkan pada kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan B.

2. Pengamatan Mikroskopis Struktur Histologis Tubulus Kontortus Proksimal dan Distal

Tubulus kontortus proksimal ren aktif untuk absorpsi dan sekresi sehingga toksikan pada bagian ini lebih tinggi dan merupakan sasaran efek toksik (Lu, 1995). Sel-sel pada tubulus ini memiliki suatu sisi tubuler/ luminal yang menghadap ke arah lumen tubulus (di bagian permukaannya terdapat brush border) dan sisi peritubuler yang menghadap kapiler efferent. Sel-sel tersebut mempunyai fungsi penting yaitu mereabsorpsi 60-80 % konstituen filtrat. Pada tubulus proksimalis juga terjadi proses sekresi, senyawa yang disekresi adalah senyawa di dalam darah yang terfiltrasi akan dipompakan ke dalam lumen tubulus oleh sel-sel epitel tubulus proksimalis (Stine dan Brown, 1996).

a. Tubulus proksimal dan distal kelompok kontrol

Pengamatan mikroskopis pada kelompok kontrol menunjukkan struktur normal. Sel tidak mengalami pembengkakan, inti sel bulat dan lumen tubulus jelas (Gambar 14).



Gambar 14. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok kontrol.

Perbesaran: 400x

pewarnaan: H. E.

Keterangan:

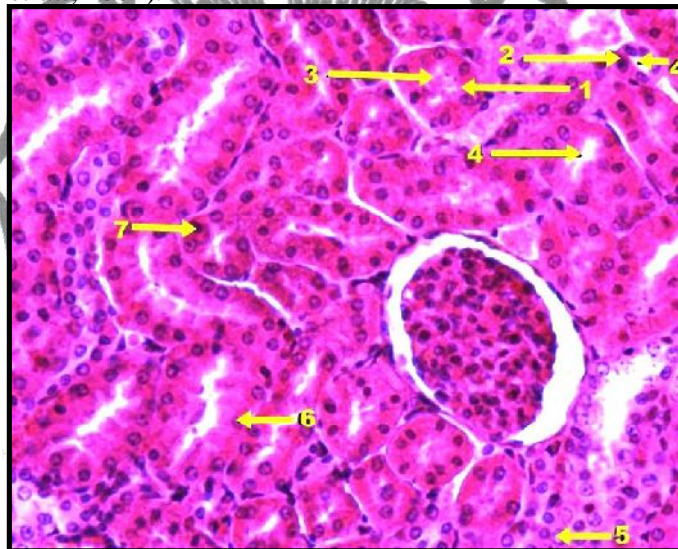
1. Tubulus kontortus proksimal
2. Tubulus kontortus distal

3. Brush border
4. Lumen

b. Tubulus proksimal dan distal kelompok perlakuan B

Tingkat kerusakan sel yaitu bengkak keruh tampak pada kelompok perlakuan B (gambar 15). Tampak adanya vakuola-vakuola kecil yang menunjukkan terjadinya degenerasi hidrofik. Kematian sel juga tampak pada inti sel, ditandai dengan memadatnya inti sel sehingga tampak terwarnai lebih gelap (piknosis) dan pecahnya inti sel menjadi fragmen-fragmen (karioreksis).

Bila sel mengalami kematian (nekrosis) biasanya inti sel yang mati itu menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini dinamakan piknosis. Kemungkinan lain, inti dapat hancur dan meninggalkan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini dinamakan karioreksis. Akhirnya pada beberapa keadaan inti yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja, proses ini disebut kariolisis (Susanti *et al.*, 2002).



Gambar 15. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok perlakuan B.

Perbesaran: 400x

pewarnaan: H. E.

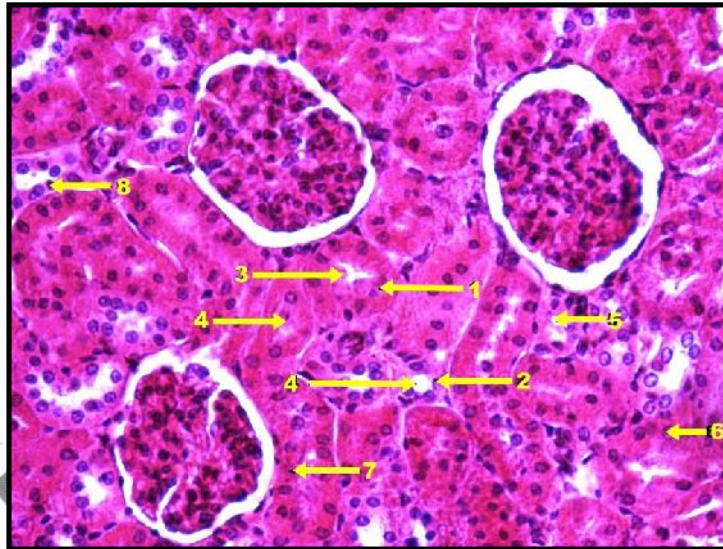
Keterangan:

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1. Tubulus kontortus proksimal | 5. Bengkak keruh sel epitel tubulus |
| 2. Tubulus kontortus distal | 6. Karioreksis sel epitel tubulus |
| 3. Brush border | 7. Piknosis sel epitel tubulus |
| 4. Lumen | |

c. Tubulus proksimal dan distal kelompok perlakuan C

Pengamatan pada tubulus kelompok perlakuan C menunjukkan tingkat kerusakan berat yang ditandai dengan tidak jelasnya lumen

tubulus, degenerasi hidrofik dan bengkak keruh serta adanya sel yang mengalami nekrosis (Gambar 16).



Gambar 16. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok perlakuan C.

Perbesaran: 400x

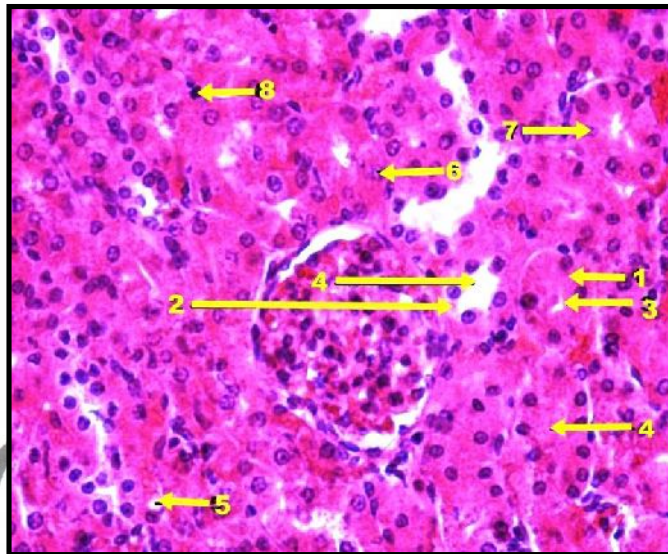
pewarnaan: H. E.

Keterangan:

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1. Tubulus kontortus proksimal | 5. Degenerasi hidrofik sel epitel |
| 2. Tubulus kontortus distal | 6. Bengkak keruh sel epitel tubulus |
| 3. Brush border | 7. Karioreksis sel epitel tubulus |
| 4. Lumen | 8. Piknosis sel epitel tubulus |

d. Tubulus proksimal dan distal kelompok perlakuan D

Pengamatan tubulus pada kelompok perlakuan D menunjukkan tingkat kerusakan berat yaitu sel yang mengalami nekrosis semakin banyak (Gambar 17).



Gambar 17. Penampang melintang korteks ren (tubulus) tikus kelompok perlakuan D.

Perbesaran: 400x

pewarnaan: H. E.

Keterangan:

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1. Tubulus kontortus proksimal | 5. Degenerasi hidrofik sel epitel |
| 2. Tubulus kontortus distal | 6. Bengkak keruh sel epitel tubulus |
| 3. Brush border | 7. Karioreksis sel epitel tubulus |
| 4. Lumen | 8. Piknosis sel epitel tubulus |

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap struktur histologis ren (tubulus) dalam bentuk irisan penampang melintang, diperoleh data kerusakan pada tubulus proksimal dan distal yang kemudian diklasifikasikan tingkat kerusakannya. Hasil pengklasifikasian tercantum pada tabel 8.

Tabel 8. Tingkat kerusakan tubulus kontortus proksimal dan distal ren tikus setelah perlakuan menggunakan aquades; Rhodamin B dosis 6, 25 mg/ 200 gBB; 12, 5 mg/200 gBB, dan 25 mg/ 200 gBB secara oral

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | keterangan |
|--------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A (kontrol) | normal | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen tubulus jelas |
| Perlakuan B | berat | Degenerasi bengkak keruh +, lumen tubulus tidak jelas, ada sel yang nekrosis |
| Perlakuan C | berat | Degenerasi hidrofik ++, lumen tubulus tidak jelas, ada sel yang nekrosis |
| Perlakuan D | berat | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi bengkak keruh ++, lumen tubulus tidak jelas, ada sel yang nekrosis |

Keterangan:

+ : kerusakan sel mencapai 25% dalam lima bidang pandang

++ : kerusakan sel mencapai 50 % dalam lima bidang pandang

+++ : kerusakan sel mencapai 75 % dalam lima bidang pandang

Indikasi kerusakan korpuskulum renalis dan tubulus renalis dapat dilihat dengan adanya degenerasi sel pada jaringan penyusunnya. Degenerasi adalah kehilangan struktur normal sel akibat pengaruh dari dalam ataupun dari luar. Degenerasi sel ditandai dengan adanya gangguan metabolik berupa peningkatan katabolisme, berkurangnya anabolisme. Hal ini menimbulkan terjadinya penimbunan bahan-bahan secara intraseluler maupun ekstraseluler.

Degenerasi yang paling banyak dijumpai adalah bengkak keruh. Degenerasi ini merupakan degenerasi paling ringan pada suatu sel. Secara mikroskopik sitoplasma sel tampak menjadi keruh dengan adanya granula-granula kasar. Granula-granula tersebut timbul akibat gangguan penyediaan ATP, seperti pada degenerasi hidrofik namun lebih ringan.

Perubahan fisiologis pada individu betina yang terjadi selama kehamilan bisa mempengaruhi konsentrasi senyawa obat maupun senyawa kimia dalam serum sehingga mempengaruhi efek toksikan. Kehamilan merubah absorpsi senyawa yang disebabkan peningkatan distribusi volume (intravaskuler, interstitial dan di dalam tubuh janin) serta peningkatan *cardiac output*. Kehamilan merubah interaksi toksikan-reseptor karena timbul dan tumbuhnya reseptor yang baru di plasenta dan janin. Kehamilan dapat merubah ekskresi senyawa melalui peningkatan aliran darah ginjal dan filtrasi glomerulus. Sesuai pernyataan Astirin dan Widiyani (2010) tersebut, terbukti bahwa kondisi individu berpengaruh pada metabolisme tubuh. Semakin kompleks metabolisme di dalam tubuh, maka semakin besar pula terjadi degenerasi seluler yang berpengaruh pada fungsi organ.

Hail penelitian ini membuktikan bahwa individu hamil memiliki perbedaan kerentanan terhadap efek rhodamin B yang masuk ke dalam tubuh karena pada kondisi kehamilan, terjadi berbagai perubahan pada fisiologi tubuh, misalnya menurunnya motilitas saluran pencernaan, menurunnya kadar protein darah, meningkatnya kecepatan aliran darah ginjal dan terpacunya enzim-enzim metabolisme. Pada keadaan hamil, distribusi obat dalam tubuh berubah menjadi sedikit kompleks karena disini terdapat dua macam sirkulasi, yakni sirkulasi maternal (dalam tubuh ibu) dan sirkulasi fetal (dalam fetus) (Astirin dan Widiyani, 2010).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan:

1. Pemberian Rhodamin B secara oral pada tikus putih feminina gravid menyebabkan perubahan struktur histologis hepar berupa kerusakan sel pada hepatosit yaitu degenerasi hidrofik, degenerasi perlemakan dan nekrosis yang ditandai dengan degenerasi inti berupa piknosis, karioreksis dan kariolisis. Tingkat kerusakan hepatosit meningkat seiring dengan kenaikan dosis Rhodamin B yang diberikan.
2. Pemberian Rhodamin B secara oral pada tikus putih feminina gravid menyebabkan perubahan struktur histologis ren berupa pembengkakan pada glomerulus dan perubahan struktur pada tubulus proksimal dan distal yang ditandai dengan bengkak keruh sel epitel tubulus, degenerasi hidrofik serta degenerasi lemak. Tingkat kerusakan struktur histologis ren meningkat seiring kenaikan dosis Rhodamin B yang diberikan.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan Rhodamin B pada beberapa makanan yang tidak memiliki izin secara resmi untuk dipasarkan.
2. Perlu adanya aturan pemerintah mengenai larangan penggunaan Rhodamin B disertai dengan hukuman dan sanksi yang jelas serta mengikat bagi pelanggarnya.

