

Kidney and Ileum Histopathology of *Rattus norvegicus* Toxicity Model of Rhodamine B and Saccharin Supplemented with Purple Roselle Yoghurt

Histopatologi Ginjal dan Ileum *Rattus norvegicus* Model Toksisitas Rhodamin B dan Sakarin yang Disuplementasi Yoghurt Rosela Ungu

Dzakiyyah Salmaa¹, Ajeng Erika Prihastuti Haskito^{2*}, Anna Safitri³, Aldila Noviatr⁴, Handayu Untari⁵, Citra Sari²

¹Student of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Brawijaya, Malang-Indonesia

²Laboratory of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Brawijaya, Malang-Indonesia

³Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Brawijaya, Malang-Indonesia

⁴Laboratory of Veterinary Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Brawijaya, Malang-Indonesia

⁵Laboratory of Veterinary Anatomy, Histology and Embriology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Brawijaya, Malang-Indonesia

ABSTRACT

Background: Rhodamin B and saccharin are chemicals that are harmful to the health of the body. Consumption of rhodamine B and saccharin for a long time can cause problems for the body such as impaired organ function. **Purpose:** The aim was to find out the benefits of giving purple rosella yogurt in preventing damage to the kidneys and ileum of *Rattus norvegicus* caused by rhodamine B and saccharin.

Methods: Using RAL with 28 male *Rattus norvegicus* aged 8-12 weeks. Group K(-) was not given any treatment, K(+R) was given rhodamine B, K(+S) was given saccharin, K(+K) was given rhodamine B and saccharin, P1 was given rhodamine B and yoghurt, P2 was given saccharin and yoghurt, P3 was given rhodamine B, saccharin, and yogurt. The dose of rhodamine B was 22.5 mg/kg, the dose of saccharin was 157.7 mg/kg, the volume of yoghurt was 1 ml/head. Administered orally with gastric tube for 14 days. The concentration of purple rosella extract used was 15% (v/v). **Results:** Group K(+K) showed the heaviest damage. Groups P1, P2, and P3 still found damage to the kidneys, in P1 they experienced thickening of Bowman's capsule in the glomerulus, in P2 they experienced a loss of more than 25% of the brush border in the tubules, and in P3 they experienced glomerular tufts in the glomerulus. In the ileum, P1 experienced thickening of the muscles, P2 experienced clusters of inflammatory cells in the submucosa, and P3 experienced 10-50% loss of goblet cells. **Conclusion:** Provision of purple rosella yogurt can prevent damage to the kidneys and ileum of *Rattus norvegicus* due to rhodamine B and saccharin, although it is not optimal

ARTICLE INFO

Received: 14 June 2023

Revised: 1 September 2023

Accepted: 7 October 2023

Online: 30 October 2023

*Correspondence:

Ajeng Erika Prihastuti Haskito
E-mail: drhajengerika@ub.ac.id

Keywords: Ileum; Kidneys; Purple Rosella; Rhodamine B; Saccharin; Yoghurt

ABSTRAK

Latar Belakang: Rhodamin B dan sakarin adalah bahan kimia berbahaya bagi kesehatan tubuh. Konsumsi rhodamin B dan sakarin dalam waktu lama dapat mengakibatkan masalah bagi tubuh seperti gangguan fungsi organ. **Tujuan:** Untuk mengetahui manfaat pemberian yoghurt rosella ungu dalam mencegah kerusakan ginjal dan ileum *Rattus norvegicus* yang disebabkan oleh rhodamin B dan sakarin. **Metode:** Menggunakan RAL dengan 28 ekor *Rattus norvegicus* jantan umur 8-12 minggu. Kelompok K(-) tidak diberi perlakuan, K(+R) diberi rhodamin B, K(+S) diberi sakarin, K(+K) diberi rhodamin B dan sakarin, P1 diberi rhodamin B dan yoghurt, P2 diberi sakarin dan yoghurt, P3 diberi rhodamin B, sakarin, serta yoghurt. Dosis rhodamin B 22,5 mg/kgBB, dosis sakarin 157,7 mg/kgBB, volume pemberian yoghurt 1 ml/ekor. Pemberian per-oral dengan sonde lambung selama 14 hari. Konsentrasi ekstrak rosella ungu yang digunakan adalah 15% (v/v). **Hasil:** Kelompok K(+K) menunjukkan kerusakan terberat. Kelompok P1, P2, dan P3 masih dapat ditemukan adanya kerusakan pada ginjal, pada P1 mengalami penebalan kapsula bowman pada glomerulus, P2 mengalami hilangnya brush border lebih dari 25% pada tubulus, dan P3 mengalami *glomerular tuft* pada glomerulus. Pada ileum, P1 mengalami penebalan pada otot, P2 mengalami kluster sel inflamasi pada submukosa, dan P3 mengalami hilangnya sel goblet 10-50%. **Kesimpulan:** Pemberian yoghurt rosella ungu dapat mencegah terjadinya kerusakan pada ginjal dan ileum *Rattus norvegicus* akibat dari rhodamin B dan sakarin meskipun belum maksimal.

Cite This Article:

Salmaa, D., Haskito, A.E.P., Safitri, A., Noviatr, A., Untari, H., and Sari, C., 2023. *Kidney and Ileum Histopathology of Rattus Norvegicus Toxicity Model of Rhodamine B and Saccharin Supplemented With Purple Roselle Yoghurt*. Journal of Applied Veterinary Science and Technology. 4(2):105-114. <https://doi.org/10.20473/javest.V4.I2.2023.105-114>

Kata kunci: Ginjal; Ileum; Rosela Ungu; Rhodamine B; Saccharin; Yoghurt

LATAR BELAKANG

Seiring perkembangan zaman dan bertambahnya jumlah penduduk, kebutuhan pangan juga semakin meningkat. Pada era saat ini, kualitas makanan dan ketertarikan masyarakat untuk mengonsumsi makanan diukur dari harga, bentuk, warna, dan rasa makanan tersebut. Demi memenuhi kebutuhan pangan tersebut, banyak produsen yang menggunakan Bahan Tambahan Makanan (BTM) kedalam makanan dan minuman untuk meningkatkan minat dan daya tarik konsumen terhadap suatu produk (Wahyudi, 2017). Di Indonesia, peraturan penggunaan BTM sudah diatur dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2012, yaitu tentang 27 golongan BTM yang diizinkan penggunaannya pada bahan pangan dan 19 jenis bahan yang dilarang penggunaannya sebagai BTM. Bahan Tambahan Makanan (BTM) dapat berupa pewarna buatan seperti rhodamin B dan pemanis buatan seperti sakarin. Rhodamin B termasuk dalam 19 jenis bahan yang dilarang penggunaannya sebagai BTM, dikarenakan rhodamin B adalah pewarna sintesis yang dijual bebas di pasaran sebagai pewarna industri tekstil, namun masih banyak disalahgunakan oleh produsen menjadi pewarna pangan dikarenakan harganya yang murah, mudah didapat, dan dapat memberikan warna yang menarik pada makanan dan minuman (Yamlean, 2011, Wahyudi, 2017). Sakarin termasuk dalam 27 golongan BTM yang diizinkan penggunaannya, namun dalam batasan atau jumlah tertentu, yaitu 0-5 mg/kg BB per-hari sesuai dengan batas *Acceptable Daily Intake* (ADI). Sakarin merupakan pemanis buatan yang diproduksi untuk penderita diabetes, namun banyak disalahgunakan pada produk pangan dengan jumlah yang melebihi batas. Sakarin banyak digunakan karena harganya yang murah dan rasanya lebih manis 200-700 kali dari sukrosa (Olivea Herman et al., 2020).

Konsumsi rhodamin B dan sakarin dalam waktu lama dan melebihi batas penggunaan dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas, kemudian menimbulkan keadaan stress oksidatif dalam tubuh. Stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan pada organ tubuh, seperti pada ginjal dan ileum (Utomo, et al., 2012; Wibowo and Saebani, 2016). Rhodamin B dan sakarin merupakan kelompok zat xenobiotik, yang apabila tertelan selanjutnya dimetabolisme didalam hati melalui dua tahapan, antara lain fase pertama adalah oksidasi yang dikatalis oleh sitokrom P450 dan fase kedua adalah senyawa hasil produksi fase pertama yang diubah menjadi berbagai metabolit polar oleh enzim spesifik. Zat xenobiotik yang dimetabolisme oleh sitokrom P450, kemudian menghasilkan radikal bebas (Weber et al., 2011).

Radikal bebas yang terbentuk akibat mengonsumsi rhodamin B dan sakarin dapat dicegah dengan senyawa antioksidan. Normalnya di dalam tubuh sudah terdapat antioksidan, disebut dengan antioksidan endogen, namun dengan jumlah secukupnya dan tidak memiliki banyak cadangan. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan eksogen atau antioksidan tambahan untuk mendukung kinerja antioksidan endogen (Khaira, 2010).

Saat ini, antioksidan alami banyak dikembangkan sehingga menjadi suatu bahan pangan fungsional. Penambahan bahan alami seperti rosella ungu kedalam yoghurt diketahui dapat meningkatkan kandungan antioksidannya (Werdhasari A., 2014). Rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan bahan alami kaya antosianin dan flavonoid, yang telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan. Antosianin bersifat stabil pada larutan asam dan sifat ini memungkinkan penambahan antosianin pada produk-produk makanan asam (Ratna et al., 2022). Yoghurt merupakan bahan pangan hasil fermentasi susu oleh Bakteri Asam Laktat (BAL). Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki enzim proteolitik yang mampu menghidrolisa peptida bioaktif yang terikat dalam protein prekursor, sehingga lepas dan akhirnya menghasilkan produk olahan susu dengan kandungan peptida bioaktif yang cukup tinggi. Beberapa fungsi biologis peptida bioaktif yang sudah diketahui, salah satunya sebagai antioksidan. Beberapa peptida bioaktif susu diketahui memegang peranan pada metabolisme oksidatif tubuh, yang berfungsi untuk mempertahankan kehidupan sel tubuh. Derivat antioksidan peptida bioaktif susu terdiri dari lima sampai sebelas asam amino hidrofobik, antara lain seperti proline, histidine, tyrosine, dan tryptophan, terutama yang telah terhidrolisa oleh aktivitas enzim proteolitik. Derivat antioksidan peptida bioaktif tersebut memiliki kemampuan mencegah kerusakan komponen seluler dengan mencegah pembentukan radikal dan memiliki efek scavenging radicals (Haskito et al., 2020). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui manfaat pemberian yoghurt rosella ungu, sebagai sumber antioksidan, dalam mencegah kerusakan yang terjadi pada ginjal dan ileum *Rattus norvegicus* model toksisitas Rhodamin B dan sakarin.

MATERIAL dan Metode

Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan yaitu *Rattus norvegicus*, strain Wistar, jenis kelamin jantan, berumur 8-12 minggu, dan bobot 100-200 gram. Hewan coba didapatkan dari Iwan Farm Pakisaji. Sebanyak 28 ekor *Rattus norvegicus* diletakkan secara acak pada kandang hewan coba yang sudah diberi sekam, masing-masing 4 ekor per-kandang. *Rattus norvegicus* diberi pakan BR-1 dan minum air mineral ad-libitum. Sebelum perlakuan penelitian dimulai, dilakukan masa aklimatisasi selama 7 hari untuk adaptasi lingkungan.

Starter Yoghurt

Sebanyak 50 ml susu dipasteurisasi dengan teknik *High Temperature Short Time* (HTST), kemudian didinginkan hingga suhunya mencapai 45°C. Dilakukan inokulasi pada susu pasteurisasi dengan starter powder Yogourmet® (berisi BAL *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus acidophilus*) sebanyak 3% (g/v), dihomogenkan, diinkubasi pada inkubator selama ±6 jam dengan suhu 45°C hingga mencapai pH 4,4-4,5, disimpan di dalam kulkas bersuhu ±4°C.

Yoghurt

Sebanyak 100 ml susu dipasteurisasi dengan teknik HTST, kemudian didinginkan hingga suhunya mencapai 45°C. Dilakukan inokulasi pada susu pasteurisasi dengan starter yoghurt sebanyak 3% (v/v), dihomogenkan, diinkubasi pada inkubator selama ±4 jam dengan suhu 45°C hingga mencapai pH 4,5-5, disimpan di dalam kulkas bersuhu ±4°C.

Ekstrak Rosella Ungu

Kelopak bunga rosella ungu yang sudah kering didapatkan dari Kota Kediri, Provinsi Jawa Timur, dilakukan penghalusan dengan mesin blender dan diayak dengan saringan 60-mesh hingga didapatkan bentuk seperti serbuk. Sebanyak 20 gram serbuk rosella ungu dilarutkan dalam 100 ml akuades, dihomogenkan, dipasteurisasi selama 30 menit dalam waterbath dengan suhu 63-65°C. Setelah 30 menit, cairan dan supernatan dipisahkan menggunakan corong dan kertas saring, kemudian cairan yang diperoleh disimpan di dalam kulkas bersuhu ±4°C.

Yoghurt Rosella Ungu

Sebanyak 15% (v/v) ekstrak rosella ungu ditambahkan ke dalam 100 ml yoghurt, dihomogenkan menggunakan *blender*, disimpan di dalam kulkas bersuhu ±4°C.

Pemberian Rhodamin B, Sakarin, dan Yoghurt Rosella Ungu

Yoghurt rosella ungu diberikan pada kelompok P1, P2, dan P3 per-oral, sebanyak 1 ml/ekor dengan sonde lambung pada pukul 10.00 WIB setiap hari selama 14 hari. Rhodamin B dan sakarin diberikan pada kelompok K(+R), K(+S), dan K(+K) per-oral dengan sonde lambung, dengan dosis rhodamin B 22,5 mg/kgBB dan sakarin 157,7 mg/kgBB pada pukul 14.00 WIB setiap hari selama 14 hari.

Kelompok Perlakuan

Pada penelitian ini terdapat 7 kelompok perlakuan, yaitu: K(-): kelompok tidak diberi perlakuan; K(+R): kelompok hanya diberi rhodamin B dosis 22,5 mg/kg BB; K(+S): kelompok hanya diberi sakarin dosis 157,7 mg/kg BB; K(+K): kelompok diberi rhodamin B dan sakarin masing-masing dosis 22,5 mg/kg BB dan 157,7 mg/kg BB; P1: kelompok diberi yoghurt rosella ungu sebanyak 1 ml/ekor dan rhodamin B dosis 22,5 mg/kg BB; P2: kelompok diberi yoghurt rosella ungu sebanyak 1 ml/ekor dan sakarin dosis 157,7 mg/kg BB; P3: kelompok diberi yoghurt ekstrak rosella ungu sebanyak 1 ml/ekor, rhodamine B dosis 22,5 mg/kg BB dan sakarin dosis 157,7 mg/kg BB.

Koleksi Sampel

Nekropsi dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan penelitian. Hewan coba dieuthanasi dengan metode overdosis anestesi menggunakan kombinasi ketamine 100 mg/ml dan xylazine 20 mg/ml, kemudian dilakukan dislokasi *os cervicalis*. Hewan coba direbah dorsal dan dibedah bagian abdomen untuk diambil ginjal dan ileum. Sampel ginjal dan ileum disimpan dalam pot organ berisi formalin 10% dengan perbandingan volume organ dan formalin 10% yaitu 1:20. Preparat histopatologi ginjal dan ileum dibuat dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Pengamatan Histopatologi Ginjal dan Ileum

Diamati preparat histopatologi ginjal dan ileum masing-masing pada perbesaran 100x dan 400x menggunakan mikroskop cahaya. Selanjutnya, gambaran yang didapat dilakukan skoring. Kriteria skoring yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Table 1.
Kriteria Skoring Ginjal (Khalid et al., 2016).

Jenis Jaringan	Kerusakan	Score
Tubulus	Tidak ada perubahan	0
	Hilangnya <i>Brush Border</i> <25% dari sel tubular	1
	Hilangnya <i>Brush Border</i> >25% dari sel tubular, membran basal menebal	2
	Inflamasi, nekrosis <60% dari sel tubular	3
	Nekrosis >60% dari sel tubular	4
Glomerulus	Tidak ada perubahan	0
	Kapsula Bowman menebal	1
	<i>Glomerular tuft</i>	2
	Fibrosis glomerulus	3

Table 2.
Kriteria Skoring Ileum (Koelink et al., 2018).

Jenis Jaringan	Kerusakan	Score
Submukosa	Tidak ada perubahan	0
	Sel infalamasi individu	1
	Cluster sel inflamasi	2
	Cluster besar sel inflamasi	3
Sel goblet yang hilang	Tidak ada perubahan	0
	<10%	1
	10-50%	2
	>50%	3
Otot	Tidak ada perubahan	0
	Sedikit menebal	1
	Tebal	2
	Penebalan berlebihan	3

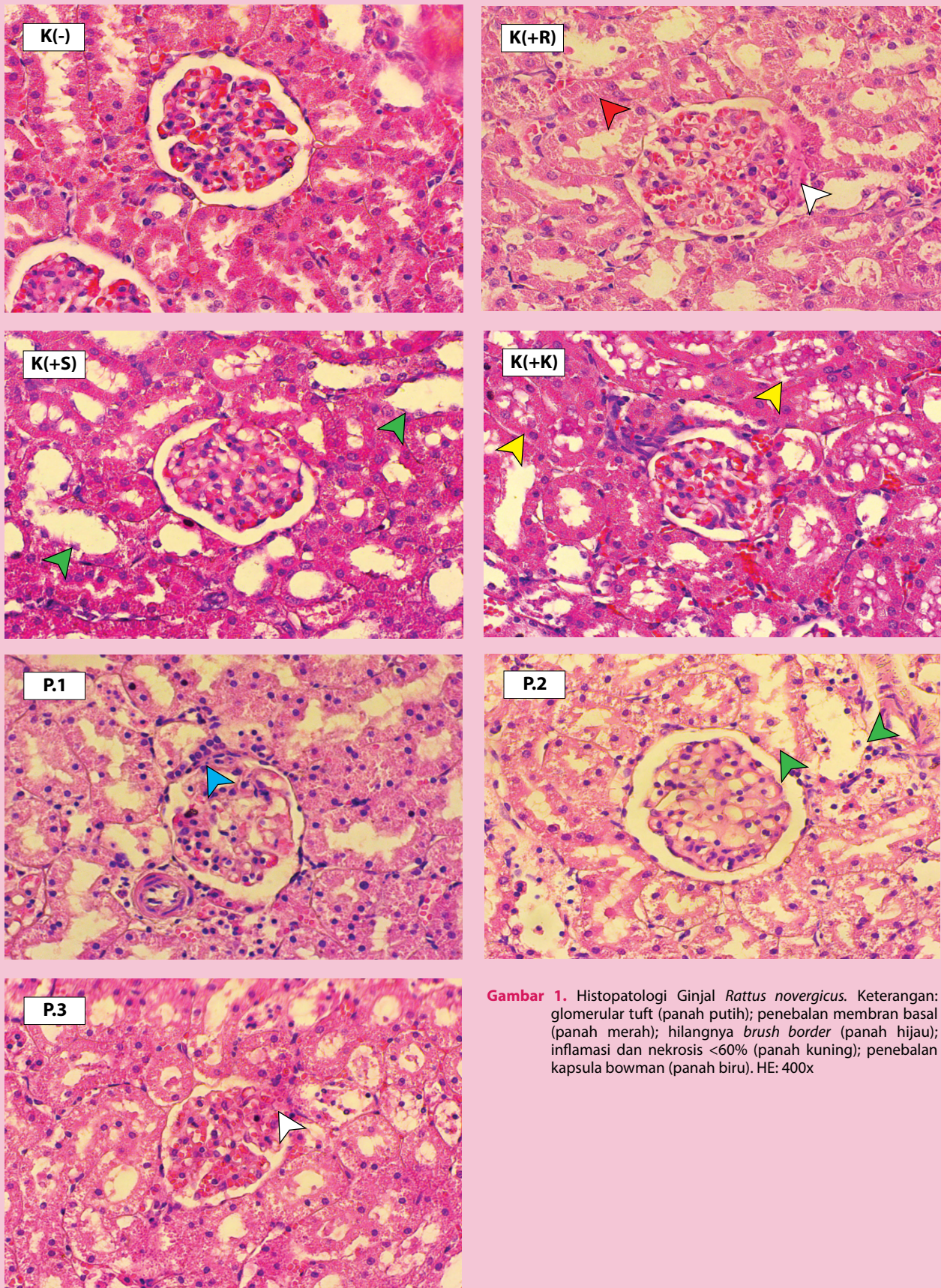
Analisis Data

Parameter pada penelitian yang digunakan adalah dengan melihat perubahan pada histopatologi glomerulus dan tubulus ginjal, serta submukosa, sel goblet, dan otot ileum *Rattus norvegicus*. Histopatologi ginjal dan ileum yang diamati dilakukan skoring. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Analisis data menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 26.

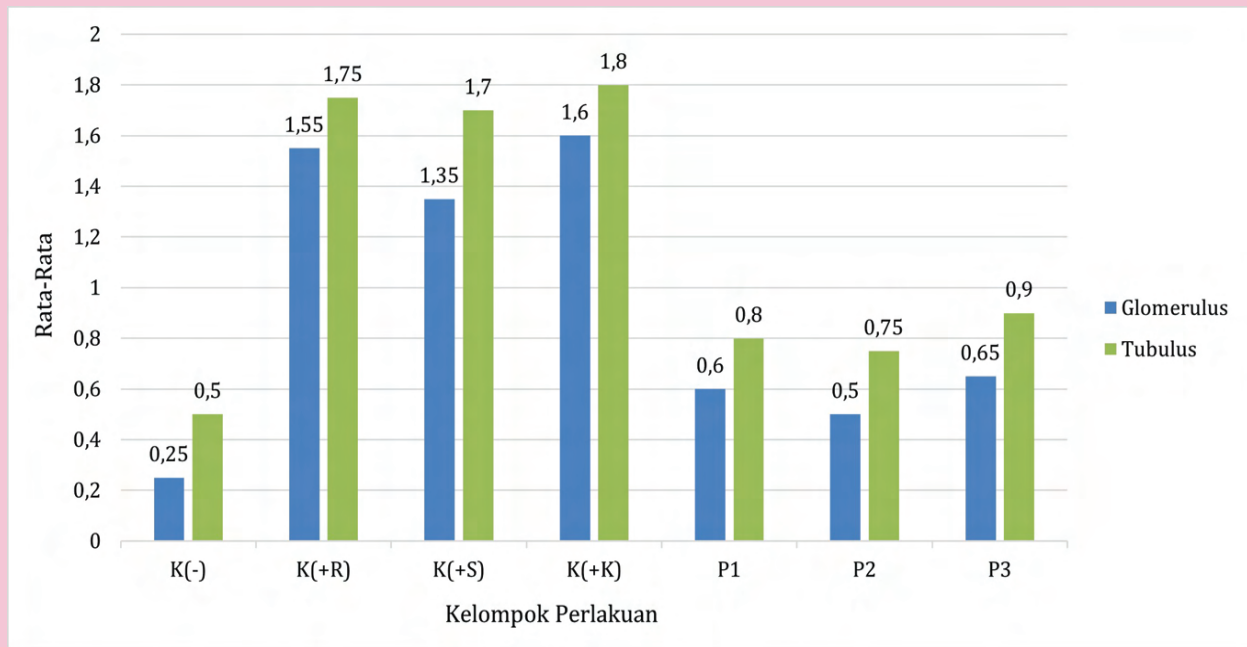
HASIL

Histopatologi Ginjal

Pada Tabel 3 dan Gambar 2, dapat dilihat bahwa rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal kelompok K(-) yang didapatkan masing-masing sebesar 0.25 dan 0.5. Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, kelompok K(-) memiliki rata-rata skor paling rendah, yang berarti sedikit terjadinya kerusakan atau hampir tidak ada perubahan pada kelompok tersebut. Kelompok K(+K) memiliki rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal masing-masing sebesar 1.6 dan 1.8. Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, kelompok K(+K) memiliki rata-rata skor paling tinggi. Oleh karena itu, kelompok K(+K) mengalami kerusakan yang paling parah dibanding kelompok lainnya, seperti terjadi



Gambar 1. Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus*. Keterangan: glomerular tuft (panah putih); penebalan membran basal (panah merah); hilangnya brush border (panah hijau); inflamasi dan nekrosis <60% (panah kuning); penebalan kapsula bowman (panah biru). HE: 400x



Gambar 2. Diagram Batang Rata-Rata Skoring Histopatologi Ginjal

glomerular tuft pada glomerulus, serta terjadi inflamasi dan nekrosis <60% pada tubulus. Kelompok K(+R) memiliki rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal masing-masing sebesar 1.55 dan 1.75. Kelompok K(+R) memiliki rata-rata skor tertinggi kedua setelah kelompok K(+K). Oleh karena itu, kelompok K(+R) mengalami kerusakan yang cukup parah dibanding kelompok K(+S), seperti terjadi glomerular tuft pada glomerulus dan terjadi penebalan membran basal pada tubulus. Kelompok K(+S) memiliki rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal masing-masing sebesar 1.35 dan 1.7. Kelompok K(+S) memiliki rata-rata skor tertinggi ketiga setelah kelompok K(+K) dan K(+R). Oleh karena itu, kelompok K(+S) mengalami kerusakan namun tidak lebih parah jika dibanding kelompok K(+K) dan K(+R). Perubahan yang terjadi seperti, mengalami hilangnya brush border lebih dari 25% pada tubulus, namun glomerulus normal. Histopatologi kerusakan glomerulus dan tubulus ginjal dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 3. Rata-Rata Skoring Histopatologi Ginjal

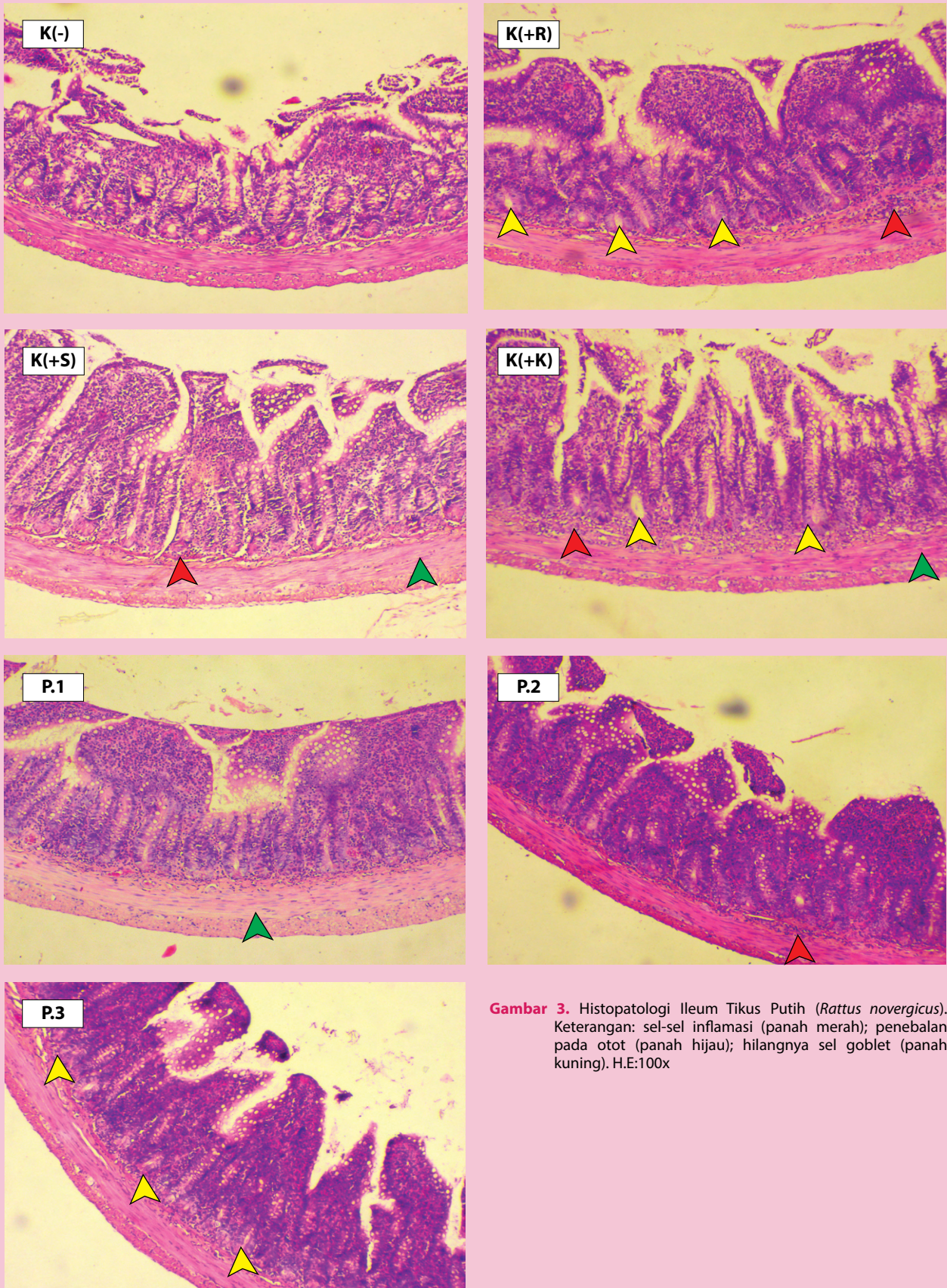
Kelompok	Glomerulus	Tubulus
K(-)	0.25 ± 0.19 ^a	0.50 ± 0.11 ^a
K(+R)	1.55 ± 0.30 ^b	1.75 ± 0.50 ^b
K(+S)	1.35 ± 0.10 ^b	1.70 ± 0.20 ^b
K(+K)	1.60 ± 0.34 ^b	1.80 ± 0.36 ^b
P1	0.60 ± 0.43 ^a	0.80 ± 0.28 ^a
P2	0.50 ± 0.25 ^a	0.75 ± 0.34 ^a
P3	0.65 ± 0.57 ^a	0.90 ± 0.41 ^a

Keterangan: Hasil ditunjukkan sebagai nilai rata-rata ± SD dengan superskrip huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0.05$)

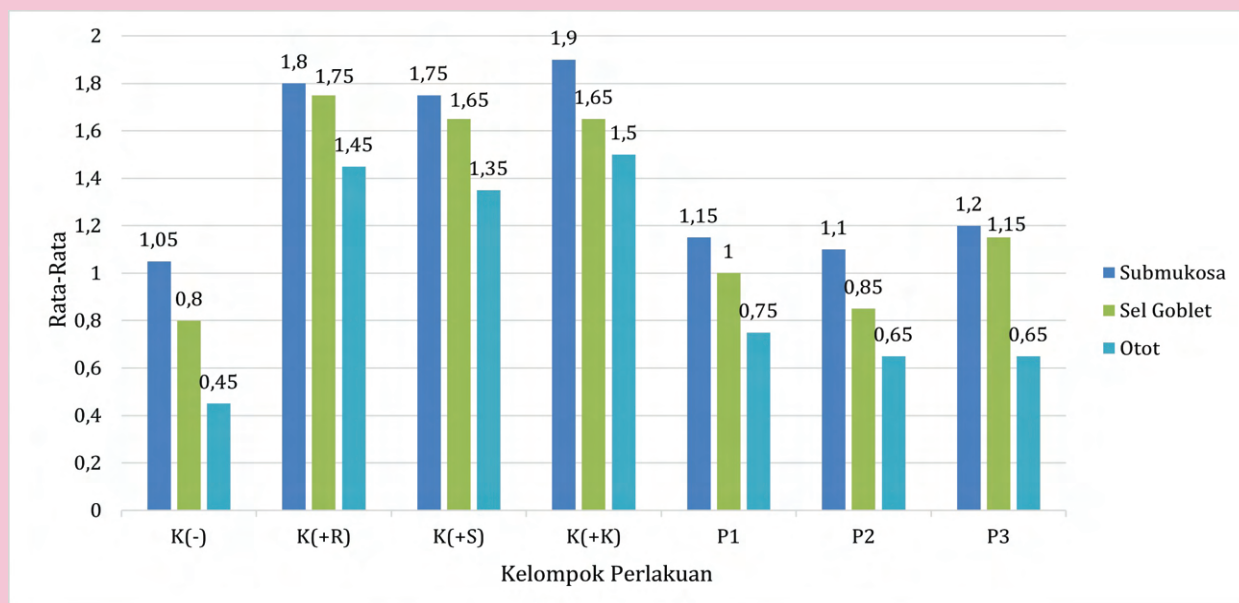
Pada Tabel 3 dan Gambar 2, dapat dilihat bahwa rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal kelompok P1 yang didapatkan masing-masing sebesar 0.6 dan 0.8. Kelompok P2 memiliki rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal masing-masing sebesar 0.5 dan 0.75. Kelompok P3 memiliki rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal masing-masing sebesar 0.65 dan 0.9. Pada kelompok P1, P2, dan P3 didapatkan bahwa rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal pada kelompok tersebut sudah mendekati rata-rata skor glomerulus dan tubulus ginjal kelompok K(-). Dapat disimpulkan bahwa pemberian yoghurt rosella ungu dapat mencegah terjadinya kerusakan pada ginjal, namun belum maksimal. Hal tersebut dapat disebabkan karena kemungkinan penggunaan konsentrasi ekstrak rosella ungu yang ditambahkan kedalam yoghurt, yaitu 15% (v/v) masih kurang efektif dalam menangani rhodamin B dan sakarin, sehingga pada kelompok P1, P2, dan P3 masih dapat ditemukan adanya kerusakan pada ginjal, seperti pada kelompok P1 mengalami penebalan kapsula bowman pada glomerulus, kelompok P2 mengalami hilangnya brush border lebih dari 25% pada tubulus, dan kelompok P3 mengalami glomerular tuft pada glomerulus.

Histopatologi Ileum

Pada Tabel 4 dan Gambar 4, dapat dilihat bahwa rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum kelompok K(-) yang didapatkan masing-masing sebesar 1.05, 0.8, dan 0.45. Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, kelompok K(-) memiliki rata-rata skor paling rendah, yang berarti sedikit terjadinya kerusakan atau hampir tidak ada perubahan pada kelompok tersebut. Kelompok K(+K) memiliki rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum masing-masing sebesar 1.9, 1.9, dan 1.5. Jika dibandingkan



Gambar 3. Histopatologi Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Keterangan: sel-sel inflamasi (panah merah); penebalan pada otot (panah hijau); hilangnya sel goblet (panah kuning). H.E:100x



Gambar 4. Diagram Batang Rata-Rata Skoring Histopatologi Ileum

dengan kelompok perlakuan lainnya, kelompok K(+K) memiliki rata-rata skor paling tinggi. Oleh karena itu, kelompok K(+K) mengalami kerusakan yang paling parah dibanding kelompok lainnya, seperti terjadi penebalan pada otot, hilangnya sel goblet 10-50%, dan terdapat kluster besar sel inflamasi pada submukosa. Kelompok K(+R) memiliki rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum masing-masing sebesar 1.8, 1.75, dan 1.45. Kelompok K(+R) memiliki rata-rata skor tertinggi kedua setelah kelompok K(+K). Oleh karena itu, kelompok K(+R) mengalami kerusakan yang cukup parah dibanding kelompok K(+S), seperti terjadi hilangnya sel goblet 10-50% dan terdapat kluster sel inflamasi pada submukosa. Kelompok K(+S) memiliki rata-rata submukosa, sel goblet, dan otot ileum masing-masing sebesar 1.75, 1.65, dan 1.35. Kelompok K(+S) memiliki rata-rata skor tertinggi ketiga setelah kelompok K(+K) dan K(+R). Oleh karena itu, kelompok K(+S) mengalami kerusakan, namun tidak lebih parah jika dibanding kelompok K(+K) dan K(+R). Perubahan yang terjadi seperti, otot mengalami penebalan, dan terdapat sel inflamasi individu pada submukosa. Histopatologi kerusakan submukosa, sel goblet, dan otot ileum dapat dilihat pada Gambar 3. Pada Tabel 4 dan Gambar 4, dapat dilihat bahwa rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum kelompok P1 yang didapatkan masing-masing sebesar 1.15, 1.0, dan 0.75. Kelompok P2 memiliki rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum masing-masing sebesar 1.1, 0.85, dan 0.65. Kelompok P3 memiliki rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum kelompok P3 yang didapatkan masing-masing sebesar 1.2, 1.15, dan 0.8. Pada kelompok P1, P2, dan P3 didapatkan bahwa rata-rata skor submukosa, sel goblet, dan otot ileum pada kelompok tersebut sudah mendekati rata-rata skor kelompok K(-). Dapat disimpulkan bahwa pemberian yoghurt ekstrak rosella ungu dapat mencegah terjadinya

kerusakan pada ileum, namun belum maksimal. Hal tersebut juga diduga disebabkan karena kemungkinan penggunaan konsentrasi ekstrak rosella ungu yang ditambahkan kedalam yoghurt, yaitu 15% (v/v) masih kurang efektif dalam menangani rhodamin B dan sakarin, sehingga, pada kelompok P1, P2, dan P3 masih dapat ditemukan adanya kerusakan pada ileum, seperti pada kelompok P1 mengalami penebalan pada otot, kelompok P2 mengalami kluster sel inflamasi pada submukosa, dan kelompok P3 mengalami hilangnya sel

Tabel 4. Rata-Rata Skoring Histopatologi Ileum

Kelompok	Submukosa	Sel Goblet	Otot
K(-)	1.05 ± 0.10 ^a	0.80 ± 0.36 ^a	0.45 ± 0.25 ^a
K(+R)	1.80 ± 0.36 ^b	1.75 ± 0.19 ^b	1.45 ± 0.19 ^b
K(+S)	1.75 ± 0.19 ^b	1.65 ± 0.25 ^b	1.35 ± 0.19 ^b
K(+K)	1.90 ± 0.75 ^b	1.65 ± 0.25 ^b	1.50 ± 0.11 ^b
P1	1.15 ± 0.10 ^a	1.00 ± 0.43 ^a	0.75 ± 0.34 ^a
P2	1.10 ± 0.11 ^a	0.85 ± 0.34 ^a	0.65 ± 0.30 ^a
P3	1.20 ± 0.16 ^a	1.15 ± 0.30 ^a	0.65 ± 0.30 ^a

Keterangan: Hasil ditunjukkan sebagai nilai rata-rata ± SD dengan superskrip huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata (p<0.05)

PEMBAHASAN

Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang penting dalam mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang masuk kedalam tubuh. Oleh karena itu, ginjal menjadi salah satu sasaran utama yang terkena efek toksik. Bahan-bahan yang bersifat toksik dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi ginjal (Mayori et al., 2019). Pada histopatologi ginjal, glomerulus yang membesar terjadi karena adanya interaksi pembuluh darah dengan zat toksik, sehingga terjadi vasodilatasi yang menyebabkan kapiler pada glomerulus membesar. Perubahan tersebut akan menyebabkan aliran darah terganggu

gu dan sel darah merah terjebak dalam kapiler, sehingga sirkulasi darah menjadi tidak lancar. Selain itu, membesarnya glomerulus juga dapat disebabkan karena peradangan dan akan mengakibatkan terganggunya fungsi produksi filtrat dan kontrol komposisi filtrat, yang akan mempengaruhi daya filtrasi glomerulus, sehingga daya saring pada glomerulus menjadi berkurang. Nekrosis merupakan tingkat kerusakan pada tubulus yang lebih parah setelah terganggunya permeabilitas membran dengan adanya bengkak keruh yang diikuti oleh lisis, yang ditandai dengan penyerapan warna oleh inti berkurang, dan terlepasnya sel-sel tubulus ke dalam lumen. Kerusakan pada tubulus dapat menyebabkan terganggunya proses reabsorpsi dan sekresi. Jika proses reabsorpsi terganggu, zat yang masih dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat diserap kembali sehingga zat tersebut dapat keluar melalui urin, sedangkan, jika proses sekresi terganggu, zat yang tidak dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat dikeluarkan melalui urin sehingga bersifat toksik dan dapat merusak ginjal (Togatorop et al., 2016; Roosdiana et al., 2017).

Yoghurt merupakan hasil dari fermentasi susu sapi yang memiliki kandungan antioksidan yang banyak, dikarenakan kandungan peptide bioaktif di dalam yoghurt seperti seperti proline, histidine, tyrosine, dan tryptophan (Haskito et al., 2020). Rosella ungu diketahui memiliki sifat antioksidan karena adanya kandungan zat bioaktif berupa antosianin dan flavonoid, yang jika ditambahkan kedalam yoghurt dapat meningkatkan kandungan antioksidan dari yoghurt itu sendiri (Ratna et al., 2022). Pada penelitian ini, flavonoid yang terkandung dalam rosella ungu memiliki aktivitas diuretikum yang dapat meningkatkan urinasi, pengeluaran elektrolit, dan dapat meningkatkan kecepatan filtrasi glomerulus, sehingga zat toksik yang masuk kedalam ginjal dapat dikeluarkan secara cepat dan meminimalisir terjadinya pengendapan rhodamin B dan sakarin pada ginjal. Selain itu, flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang dapat melindungi struktur sel epitel pada ginjal, serta dapat menghambat proses inflamasi pada daerah glomerulus dan tubulus dengan menghambat aktivitas enzim-enzim inflamasi dan pelepasan sitokin (Ratna et al., 2022). Sebagai antioksidan, flavonoid pada rosella ungu berperan dalam menangkap dan menangkal radikal bebas (*scavenger*) dengan cara mendonorkan satu atom hidrogen dari gugus hidroksil fenolik pada saat bereaksi dengan radikal bebas (Kusumastuti, 2014).

Pada ginjal, antosianin yang terkandung dalam rosella ungu akan terakumulasi kedalam sel endotel dan mampu melindungi sel endotel dari pengaruh radikal bebas, sehingga mampu mempertahankan *Nitric Oxide Synthase* (NOS) sebagai vasodilator yang kuat. Stress oksidatif yang terjadi dapat mengurangi bioavailabilitas NOS, sehingga terjadi respon relaksasi pembuluh darah. Sebagai antioksidan, antosianin memiliki struktur ikatan rangkap terkonjugasi yang mampu menghancurkan dan menangkal radikal bebas, serta memangsa berbagai jenis radikal bebas turunan oksigen reaktif, seperti hidroksil (OH), peroksil (ROO), dan oksigen tunggal (O₂) (Priska et al., 2018). Oleh karena itu, yoghurt rosella ungu terbukti dapat mempengaruhi daya tahan sel serta dapat membantu memperbaiki struktur sel pada ileum,

namun pada penelitian ini pencegahan kerusakan yang belum optimal dimungkinkan dari konsentrasi ekstrak rosella ungu yang ditambahkan ke dalam yoghurt masih kurang efektif.

Ileum merupakan bagian dari usus halus yang berfungsi untuk mengabsorpsi zat-zat makanan yang masuk ke dalam tubuh seperti asam amino dan asam lemak, serta produk akhir pencernaan, seperti protein, karbohidrat, dan lemak, sehingga, jika terdapat zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh akan diserap oleh mukosa ileum, sehingga dapat mengakibatkan kerusakan pada ileum. Pada histopatologi ileum, sel goblet yang terdapat pada lapisan mukosa ileum berfungsi untuk melindungi permukaan ileum dari patogen dengan cara mensekresikan mukus berbentuk gel. Oleh karena itu, hilangnya sel goblet dapat mengganggu produktivitas ileum sehingga patogen dapat masuk dengan mudah (Wiratmoko and Rafie, 2014). Adanya sel inflamasi atau sel radang pada ileum yang disebabkan oleh bahan kimia bersifat toksik, terbentuk karena adanya reaksi tubuh terhadap trauma pada jaringan. Peradangan sendiri berfungsi untuk menghancurkan atau membatasi agen yang merugikan, serta memicu terjadinya serangkaian proses pemulihan dan mengganti jaringan yang rusak. Peradangan pada ileum ditandai dengan dinding yang menebal, vili menjadi lebih panjang, dan jaringan limfatik menjadi lebih banyak (Prayoga et al., 2016).

Yoghurt merupakan hasil dari fermentasi susu sapi yang memiliki kandungan antioksidan yang banyak, dikarenakan ada kandungan peptida bioaktif didalam yoghurt seperti proline, histidine, tyrosine, dan tryptophan (Haskito et al., 2020). Pada penelitian ini, flavonoid yang terkandung dalam rosella ungu berperan sebagai stimulus enzim COX I yang membuat prostaglandin meningkat, sehingga terjadi peningkatan produksi mukus pada sel goblet yang berfungsi sebagai protektif usus dari bakteri endogen dan eksogen yang dapat menyebabkan inflamasi dan kerusakan pada ileum serta melindungi mukosa ileum (Kusumastuti, 2014; Ratna et al., 2022). Sebagai antioksidan, flavonoid bekerja dengan cara menghambat pembentukan radikal bebas (*free radical scavenging*) dan menghambat pembentukan nitrit oksida yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif. Flavonoid juga menghambat pembentukan enzim proinflamasi yaitu siklooksigenase dan lipooksigenase, yang menyebabkan penurunan mediator-mediator penting inflamasi seperti prostaglandin, leukotrien, dan nitrit oksida (Prayoga et al., 2016). Pada ileum, antosianin yang terkandung didalam rosella ungu memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menghambat oksidasi asam arakidonat menjadi endoperoxida, sehingga oksigen reaktif dan mediator kimia penyebab radang tidak dapat terbentuk. Selain itu, antioksidan dalam antosianin mampu menurunkan aktivitas enzim lipooksigenase, sehingga leukotrien yang dapat menginaktivasi leukosit yang memacu terjadinya peradangan tidak dapat terbentuk. Sebagai antioksidan, antosianin bekerja sebagai peredam atau pemerangkap, dimana molekul tersebut dapat bereaksi terhadap radikal bebas dan menetralkan radikal bebas (Priska et al., 2018). Oleh karena itu, yoghurt rosella

ungu terbukti dapat mempengaruhi daya tahan sel serta dapat membantu memperbaiki struktur sel pada ileum, namun pada penelitian ini pencegahan kerusakan yang belum optimal dimungkinkan dari konsentrasi ekstrak rosella ungu yang ditambahkan kedalam yoghurt masih kurang efektif.

KESIMPULAN

Pemberian yoghurt rosella ungu dapat mencegah terjadinya kerusakan pada ginjal dan ileum *Rattus norvegicus* akibat paparan radikal bebas dari rhodamin B dan sakarin meskipun belum maksimal. Disarankan dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan meningkatkan konsentrasi penambahan ekstrak rosella ungu >15% (v/v).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Brawijaya (LPPM UB) dan juga kepada Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB) sebagai fasilitator lokasi dilakukannya penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini

SUMBER PENDANAAN

Sumber pendanaan berasal dari Hibah Peneliti Pemula (HPP) Tahun 2022 Universitas Brawijaya

PERSETUJUAN ETIK

Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini telah mendapatkan sertifikat Laik Etik dari Komisi Laik Etik Penelitian Universitas Brawijaya Nomor 079-KEP-UB-2022.

KONTRIBUSI PENULIS

A.E.P.H berkontribusi dalam merancang desain penelitian. D.S., H.U., C.S., berkontribusi dalam mengambil data dan menginterpretasi data. A.E.P.H, A.S., A.N., berkontribusi dalam menyusun dan revisi naskah

DAFTAR PUSTAKA

- Haskito, A.E.P., Mahdi, C., and Noviatry, A., 2020. Comparison of Antioxidant Activity and Total Lactic Acid Bacteria (LAB) of Goat Milk Yoghurt, Goat Milk Yoghurt Fortified by Redand Black Rice Bran Flour. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 465 (1), 01-59.
- Khaira, K., 2010. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. *Jurnal Sainstek*, 2 (2), 183-187.
- Kusumastuti, I.R., 2014. Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) Effects on Lowering Blood Pressure as a Treatment for Hypertension. *Medical Journal of Lampung University*, 7 (4), 70-74.

- Mayori, R., Marusin, N., and Tjong, D. H., 2019. Pengaruh Pemberian Rhodamin B terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2 (01), 43-49.
- Olivea Herman, N., Ari Yusasrini, Nl., and Kencana Putra, I.N., 2020. Identifikasi Sakarin, Siklamat, dan Natrium Benzoat Serta Karakteristik Susu Kedelai yang Dijual di Pasar Tradisional Wilayah Jimbaran, Bali Selama Penyimpanan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9 (4), 468.
- Prayoga, R. D., Kurnijasanti, R., and Hastutiek, P., 2016. Pengaruh Ekstrak Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) Terhadap Gambaran Histoatologi Jejunum Tikus (*Rattus norvegicus*) Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Basic Medicine Veterinary*, 5 (1), 16-21.
- Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., and Dala N. Y., 2018. Review: Antosianin dan Pemanfaatannya. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 6 (2), 79-97.
- Ratna, N.K.D.N., Setianingrum, A., Nugroho, W., Haskito, A.E.P., and Noviatry, A., 2022. Suplementasi Yogurt Fotifikasi Konsentrasi Bertingkat Ekstrak Rosella Ungu Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi Ginjal Mencit. *Jurnal Kajian Veteriner*, 10 (1), 1-12.
- Roosdiana, A., Oktavianie, D. A., and Lestari, Y. P., 2017. Pengaruh Rhodamin B dan Sakarin Terhadap Aktivitas Superoxide Dismutase (SOD) Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY 2017*, 183-188.
- Togatorop, D., Pasiak, T., Wongkar, D., and Kaseke, M., 2016. Gambaran Histologik Ginjal Tikus Wistar yang Diberikan Jus Tomat Setelah Diinduksi dengan Monosodium Glutamat. *e-Biomedik*, 4 (2), 1-4.
- Utomo, Y., A., Hidayat, M., and F. A. Sasi., 2012. Studi Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Pemanis Buatan. *Jurnal MIPA*, 35 (2), 122-129.
- Wahyudi, J., 2017. Mengenali Bahan Tambahan Pangan Berbahaya: Ulasan. *Jurnal Litbang: Media Informasi Penelitian, Pengembangan dan IPTEK*, 13 (1), 3-12.
- Weber, K., Razinger, T., Hardisty, J.F., Mann, P., Martel, K.C., Frische, E.A., Blumbach, K., Hillen, S., Song, S., Anzai, T., and Chevalier, H.-J., 2011. Differences in Rat Models Used in Routine Toxicity Studies. *International Journal of Toxicology*, 30 (2), 162-173.
- Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3 (2), 59-68.
- Wibowo, B. A. and Saebani, 2016. Pengaruh Rhodamine B Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologis Jantung Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5 (2), 139-144.
- Wiratmoko, W. and Rafie, R., 2014. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Peroral dengan Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologi Mukosa Ileum Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 1 (1), 49-55.

Yamlean, P.V.Y., 2011. Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Jajanan Kue Berwarna Merah Muda yang Beredar di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 15 (1), 289-295.