

KELAINAN PATOLOGI PADA MENCIT DAN TIKUS DISEBABKAN ZAT WARNA RHODAMINE B DAN METANIL YELLOW

Iwan T. Budiarmo*, G. Nainggolan - Sihombing**, Oey Kam Nio**

ABSTRACT

PATHOLOGICAL LESIONS IN MICE AND RATS CAUSED BY DYESTUFFS RHODAMINE B AND METANIL YELLOW. Rhodamine B and Metanil Yellow are 2 non-edible dyestuffs which are widely used for coloring snacks and drinks in Jakarta. These substances are reportedly toxic for human beings, however no data on acute or chronic intoxications are available so far.

Groups of mice and rats were fed with either Rhodamine B or Metanil Yellow. The doses of these dyestuffs varied from 0.5 mg to 1350 mg per kilogram body weight. These animals were divided into 3 different experimental groups, respectively acute, subacute and chronic toxicity tests.

Clinical signs included discoloration of the skin and its intensity depended upon the concentration of the dyestuffs used. The body weight gain of the test animals were consistently lower than those of the controls. Some animals became aggressive and cannibalism occurred.

Pathological lesions consisted of unthriftiness, focal liver inflammation, hydronephrosis, hepatoma and lymphoma.

Considering the results of the experiments, it is justified to warn that the wide use of Rhodamine B and Metanil Yellow for food coloring might be hazardous for human health.

PENDAHULUAN

Rhodamine B dan Metanil Yellow adalah 2 macam zat pewarna sintetik yang bukan untuk makanan. Walaupun demikian kedua zat pewarna ini banyak dijual-belian secara bebas di pasaran Jakarta dan dipakai secara meluas untuk mewarnai segala macam jenis panganan dan minuman.

Dalam survei yang dilakukan oleh Sihombing (1978) pada berbagai jenis panganan dan mi-

numan yang murahan, banyak yang menggunakan zat pewarna yang bukan untuk makanan. Dari hasil analisisnya, baik yang berasal dari panganan atau minuman, dengan cara "paper and thin layer chromatography". spektroskopi dan uji spektra infra-merah, ternyata lebih dari 80 % zat pewarna merah dan kuning adalah berasal dari bahan sintetik, yakni Rhodamine B dan Metanil Yellow.

Zat pewarna Rhodamine B akan memberikan warna merah jambu menyala, serta berfluorescensi bila kena cahaya matahari. Biasanya zat ini dipakai untuk mewarnai kertas, wol dan sutra. Demikian pula dengan Metanil Yellow, biasanya dipakai untuk mengecat kayu, plaster dan besi.

Zat pewarna sintetik ini harganya murah sekali dan dapat memberikan efek rupa pada makanan, menjadi lebih menarik dan cerah warnanya. Tingkat pendidikan dari kebanyakan

Makalah dibacakan pada Kongres Nasional Biologi ke V, Universitas Diponegoro, Semarang, tanggal 26 - 28 Juni 1981.

* Bagian Patologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanegara, Jakarta.

** Pusat Penelitian Gizi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Depkes RI, Jakarta.

khalayak ramai masih rendah dan pengetahuan mengenai pemakaian "food additives" masih sangat kurang.

Laporan ini akan menyajikan hasil penelitian biologik dari 2 macam zat pewarna (Rhodamine B dan Metanil Yellow), yang tidak tergolong zat pewarna yang diizinkan oleh pemerintah (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1968), pada hewan mencit dan tikus. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan penerangan kepada masyarakat Indonesia, bahwa penggunaan zat pewarna yang salah dan tidak disadari oleh masyarakat dapat kiranya dihentikan dan atau ditanggulangi melalui peraturan-peraturan pemerintah.

BAHAN DAN METODA

Zat Pewarna: Rhodamine B dibeli dari toko kimia, produk pabrik Ciech Organik B2 Div. Warszawa, P.T. Krikas dan Metanil Yellow dari pabrik Imperial Chem. In. Ltd. London.

Hewan Percobaan: Mencit dan tikus putih diperoleh dari Puslitbang, Gizi, Unit Diponegoro, Salemba, Badan Penelitian dan Pengem-

bangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI Jakarta.

Perlakuan Hewan Percobaan

Trial I: Delapan belas ekor mencit dibagi menjadi 3 grup, yang masing-masing terdiri dari 6 ekor. Grup I diberi makanan standar yang dicampur dengan Rhodamine B (1 gram Rhodamine B dalam 3 kg makanan standar). Grup II diberi makanan Metanil Yellow (1 gram Metanil Yellow dalam 3 kg makanan standar). Grup III diberi makanan standar saja dan dipakai sebagai grup kontrol. Semua hewan diberi makan dan minum secara *ad libitum* selama 16 minggu (Tabel 1).

Trial II-A: Lima puluh empat ekor mencit dibagi menjadi 9 kelompok, yang masing-masing terdiri dari 6 ekor. Setiap ekor mencit dari masing-masing 9 kelompok mulai dari Grup I sampai dengan Grup VIII dicekoki masing-masing setiap hari dengan Rhodamine B sebesar 0.017, 0.034, 0.068, 0.102, 0.134, 0.170, 0.340 dan 0.680 mg. Setiap dosis Rhodamine B dilarutkan dalam 0.5 ml akwades. Grup IX hanya dicekoki 0.5 ml akwades dan dipergunakan sebagai kontrol (Tabel 2).

Setiap hewan dicekoki setiap hari selama

Tabel 1. Trial I Jumlah Kematian dan Jenis Kelainan Patologi pada Mencit yang diberi makan makanan yang dicampur dengan Rhodamine B dan Metanil Yellow (masing-masing 1 gram zat pewarna dalam 3 kg Makanan) selama 16 minggu.

GRUP	JENIS MAKANAN	JUMLAH MENCIT	JUMLAH KEMATIAN MENCIT PADA MINGGU KE -			JUMLAH TOTAL	KELAINAN PATOLOGI		KETERANGAN
			VIII	IX	X		HATI	GINJAL	
I	Rhodamine B	6	0	0	1	1	1*	0	Hepatoma (1 ekor)
II	Metanil Yellow	6	1	1	0	2	0	2*	Cystic kidney (2 ekor)
III	Kontrol	6	0	0	0	0	0	0	--

* kelainan patologi ditemukan pada semua mencit yang dibunuh pada akhir minggu ke 16.

21 hari. Makan dan minum diberikan secara *ad libitum*.

Trial II-B: Lima puluh empat ekor tikus dibagi menjadi 9 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Setiap ekor tikus dari masing-masing kelompok diperlakukan sama seperti pada mencit dalam Trial II-A akan tetapi dosis-nya adalah 0.17, 0.34, 0.68, 1.02, 1.34, 1.70, 3.40 dan 6.80 mg (Tabel 2).

Trial III-A: Dua puluh empat ekor mencit atau tikus dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 ekor. Setiap ekor mencit atau tikus dari masing-masing kelompok dicekoki dengan Rhodamine B setiap hari selama 3 minggu dengan dosis 75 mg, 225 mg dan 450 mg/kg BB. Kelompok ke-4 hanya dicekoki dengan 0.5 ml akwades dan dipakai sebagai kontrol (Tabel 3).

Trial III-B: Dua puluh empat ekor mencit atau tikus dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-

masing terdiri dari 6 ekor. Setiap ekor mencit atau tikus dari masing-masing kelompok dicekoki dengan Metanil Yellow setiap hari selama 3 minggu dengan dosis 150 mg, 450 mg dan 1350 mg/kg BB. Kelompok ke-4 hanya dicekoki 0.5 ml akwades dan dipergunakan sebagai kontrol (Tabel 3).

Trial IV: Grup A (Percobaan) dimulai dari seekor tikus jantan dan 2 ekor tikus betina yang berumur 3 bulan untuk dikawinkan selama 3 hari. Lalu kedua ekor yang betina itu dipisahkan selama masa kebuntingan sampai dekat hari melahirkan. Setelah beranak, anak-anaknya dibiarkan tetap campur dengan induknya sampai umur 3 bulan. Pada umur ini, dipilih secara acak 6 ekor anak jantan dan 6 ekor betina, untuk dipergunakan sebagai 6 pasang parent stock (F1). Sisa anak-anak yang tidak terpakai dibuang.

Ke-6 pasang parent stock (keturunan Grup

Tabel 2. Trial II-A dan Trial II-B. Jumlah Kelainan Mikroskopik pada hati Mencit dan Tikus yang dicekoki dengan berbagai kadar Rhodamine B selama 3 minggu.

	GRUP	JUMLAH (n = 6)	RHODAMINE B MG/HARI/EKOR)	JUMLAH KELAINAN HATI
TRIAL II-A	I	Mencit	0.017	0
	II	Mencit	0.034	0
	III	Mencit	0.068	0
	IV	Mencit	0.102	0
	V	Mencit	0.132	1
	VI	Mencit	0.170	1
	VII	Mencit	0.340	2
	VIII	Mencit	0.680	2
	IX	Mencit	0.000	0
TRIAL II-B	I	Tikus	0.170	0
	II	Tikus	0.340	2
	III	Tikus	0.680	3
	IV	Tikus	1.020	2
	V	Tikus	1.340	3
	VI	Tikus	1.700	2
	VII	Tikus	3.400	2
	VIII	Tikus	6.800	3
	IX	Tikus	0.000	0

n = Setiap grup terdiri dari 6 ekor hewan.

KELAINAN PATOLOGI PADA MENCIT DAN TIKUS

A) ini lalu dikawinkan, dan hasil perkawinan, 6 jantan dan 6 betina dipilih lagi secara acak dan dipasangkan untuk dikawinkan (F2). Demikianlah seterusnya dilakukan sampai dengan generasi ke-6 (F6) (Tabel 4).

Semua tikus mulai dari F1 sampai F6 dari keturunan Grup A ini diberi makanan campuran dengan Rhodamine B (1 gram Rhodamine B dicampur dalam 3 kg makanan standar) selama 12 bulan (Tabel 4).

Tabel 3. Trial III-A dan Trial III-B. Jumlah Kelainan Mikroskopik pada hati dari Mencit dan Tikus yang dicekoki dengan berbagai dosis Rhodamine B dan Metanil Yellow selama 3 minggu

JENIS HEWAN	KELAINAN	JUMLAH ZAT PEWARNA YANG DICEKOKKAN PER EKOR/HARI							
		RHODAMINE B (MG/KG BB)				METANIL YELLOW (MG/KG BB)			
		0	75	225	450	0	150	450	1350
Mencit	Hati	0	0	1	0	0	0	1	0
Tikus	Hati	0	0	2	2	0	1	1	0
TRIAL III-A					TRIAL III-B				

KET. : Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit atau tikus.

Tabel 4 Trial IV. Jumlah Kematian dan Jumlah Tumor dari tikus-tikus Grup A yang diamati selama 6 generasi yang diberi makan – Makanan yang mengandung 1 gram Rhodamine B dalam 3 kg makanan standar selama 12 bulan setiap generasi (F) terdiri dari 6 pasang hewan

Generasi ke (F)	Jumlah Tikus	Jumlah Kelamin	Jumlah Kematian & Jumlah Tumor yang ditemukan pada bulan ke –												Jumlah Total Kematian	Keterangan
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII		
F-1	12	6 ♂	0	0	0	0	0	0	0	2*	2	1	0	0	5	* Ditemukan limfoma pada 1 ekor tikus.
		6 ♀	0	0	0	0	1	2	0	2	1	–	–	–		
F-2	12	6 ♂	0	0	0	0	0	0	0	0	1*	1	1	1	4	
		6 ♀	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0		
F-3	12	6 ♂	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	4	
		6 ♀	0	0	0	0	2	0	0	2*	0	0	0	0		
F-4	12	6 ♂	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	3	
		6 ♀	0	0	0	0	2	2*	0	0	0	0	0	0		
F-5	12	6 ♂	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	
		6 ♀	0	0	0	0	0	0	0	2*	0	1	0	0		
F-6	12	6 ♂	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1*	0	0	2	
		6 ♀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		

Grup B (Kontrol) juga dimulai dari seekor tikus jantan dikawinkan dengan 2 ekor tikus betina (umur 3 bulan) sama seperti yang dilakukan pada Grup A (Percobaan) untuk cara memperoleh 6 generasi yakni dari F1 sampai dengan F6.

Lalu pasangan F1 dari Grup B (kontrol) merupakan pasangan counter part dari F1 Grup A (Percobaan). Demikian seterusnya pasangan-pasangan F2 sampai dengan F6 Grup B menjadi pasangan counter part masing-masing dari pasangan F2 sampai dengan F6 Grup A (Percobaan).

Semua tikus dari semua generasi Grup B hanya diberi makanan standar selama 12 bulan dan dipergunakan sebagai kelompok kontrol.

HASIL

Trial I: Mencit yang diberi makanan yang dicampur dengan Rhodamine B dan Metanil Yellow (1 gram zat pewarna dalam 3 kg makanan) selama 16 minggu (Tabel 1).

Gejala yang menyolok adalah bulu-bulu menjadi kasar, pertumbuhan badannya terhambat dan warna ekor serta kulitnya berubah kemerahan pada yang diberi Rhodamine B. Mata dan air seninya berfluorescensi bila kena sinar matahari (Gambar 1). Sekalipun demikian, hewan-hewan nampak masih aktif dan sadar. Pada minggu ke-10 ditemukan seekor mencit yang mati (Tabel 1).

Pada kelompok mencit yang diberi Metanil Yellow, di samping bulu-bulunya menjadi kasar dan pertumbuhan badannya terhambat, ekor dan kulitnya nampak kekuningan. Hewan ini masih kelihatan aktif dan sadar. Pada minggu ke-8 dan ke-9, masing-masing ditemukan seekor mencit mati (Tabel 1).

Otopsi dari ke-3 ekor mencit yang mati (1 ekor dari Grup Rhodamine B dan 2 ekor dari Grup Metanil Yellow) hanya menunjukkan keadaan gizi yang jelek, di mana semua deposito lemak di dalam tubuhnya habis sama sekali.

Dari sisanya 5 ekor (Grup 1) yang dibunuh pada akhir minggu ke-16 ditemukan 1 ekor mencit yang di dalam hati mengandung suatu bungkul tumor hepatoma dengan ukuran $\pm 0,5 \times 0,5 \times 0,25$ cm yang terletak pada lobus hepatis dextra (Gambar 2).

Dari sisanya 4 ekor (Grup II) yang dibunuh pada akhir minggu ke-16 ditemukan 2 ekor, yang ginjalnya mengalami perubahan cystic kidney, berupa bagian dari pyelum meluas dan bagian kortek menipis (Gambar 3).

Trial II: Mencit (Trial II-A) dan tikus (Trial II-B) dicekoki 8 macam kadar Rhodamine B selama 3 minggu (Tabel 2).

Gejala klinik yang nyata ialah perubahan warna kemerahan pada bagian buntut dan kulit. Makin tinggi kadar Rhodamine B yang dicekokkan, makin merah pula warna dari buntut dan kulitnya. Mata dan air seninya berfluorescensi bila terkena cahaya matahari. Tubuhnya rata-rata lebih kecil bila dibandingkan dengan tubuh hewan kontrol. Akan tetapi semua hewan masih terlihat aktif dan sehat sampai pada akhir minggu ke-3.

Pada otopsi, kecuali perubahan warna kemerahan pada hampir semua alat tubuh dan kurus seperti yang terlihat pada gejala klinik, semua organ tubuh nampak normal.

Pada pemeriksaan histologi dari hati mencit dan tikus yang dicekoki Rhodamine B ditemukan peradangan lokal dan setempat dari sel-sel hati. Sel-sel hati mengalami hialinisasi dan nekrosa serta diserbuki oleh sel-sel radang netrofil (Tabel 2).

Trial III: Mencit dan tikus dicekoki 3 macam kadar Rhodamine B (Trial III-A) dan Metanil Yellow (Trial III-B) (Tabel 3).

Gejala klinik dari mencit dan tikus yang dicekoki kedua zat pewarna ini kurang lebih sama seperti yang telah diterangkan pada hewan-hewan dalam Trial II. Di samping itu hewan-hewan yang dicekoki dengan zat pewarna yang kadarnya tinggi, banyak yang memperlihatkan sifat galak, kanibal dan juga mencret.

Pada otopsi, kecuali kekurusan, perubahan warna pada kulit dan buntut, tidak ditemukan kelainan pada alat-alat tubuhnya.

Secara mikroskopik, kelainan hanya ditemukan pada hati saja seperti yang telah diuraikan pada Trial II (Tabel 3).

Trial IV: Enam pasang tikus selama 6 generasi diberi makan makanan yang dicampuri Rhodamine B (333.3 ppm) (Tabel 4).

Gejala klinik kurang lebih sama seperti gejala klinik pada hewan-hewan dalam Trial II dan Trial III. Hanya, dalam Trial IV banyak tikus yang menjadi lebih galak, agresif dan kanibal, sehingga bila ada yang mati, maka dimakan oleh teman-teman sekandangnya.

Angka kematian pada generasi pertama cukup tinggi, akan tetapi makin lama pada generasi berikutnya menjadi makin berkurang (Tabel 4).

Pada otopsi ditemukan tumor limfoma, masing-masing 1 ekor pada F-1, F-2, F-3, F-4, F-5 dan F-6 (Tabel 4). Waktu yang diperlukan untuk menimbulkan tumor limfoma lamanya antara 6 sampai 10 bulan.

Limfoma yang sering ditemukan adalah pada mediastinum dan kadang-kadang pada mesenterium. Besarnya bervariasi dari yang berdiameter \pm 0.25 sampai 2.5 cm. (Gambar 4).

Pada generasi F-1 dan F-4, ditemukan masing-masing 2 ekor, serta dari generasi F-2, F-3, F-5 dan F-6, masing-masing 1 ekor tikus yang mengalami retensi urinae. Sehingga kantong air seninya mengalami dilatasi kira-kira dari 4 – 10 kali daripada kantong air seni kelompok kontrol. Pada tikus-tikus yang mengalami dilatasi kantong air seni yang hebat

biasanya juga disertai dengan dilatasi dari kedua ureternya. Air seni yang terkandung di dalam kantong air seni warnanya kemerahan dan bila kena cahaya matahari berfluorescensi kehijauan.

Tikus-tikus dari Grup Kontrol dari mulai generasi F-1 sampai dengan F-6 yang semuanya dibunuh pada akhir percobaan, pada otopsi tidak ditemukan adanya tumbuh ganda atau dilatasi kantong air seni.

DISKUSI

Hasil percobaan pada mencit dan tikus menunjukkan, bahwa Rhodamine B dan Metanil Yellow memang bersifat racun dengan bukti kedua zat tersebut menghambat pertumbuhan, menyebabkan diare dan bahkan kematian, sekalipun dosis Rhodamine B yang dipergunakan cukup rendah (0.117 mg/kg BB) dan dosis Metanil Yellow sebesar 14.33 mg/kg BB. Menurut Gosselin dkk (1976) diperkirakan, bahwa dosis lethalis per oral pada manusia untuk Metanil Yellow adalah kira-kira 0.5 – 5 gram/kg BB.

Di samping itu, Rhodamine B menyebabkan hepatoma pada mencit (1 dari 6 ekor = 16.6%), limfoma pada 6 ekor tikus dari 72 ekor (8.3%) dan 8 dari 72 ekor tikus juga mengalami dilatasi kantong air seni (11.1 %). Sedangkan pada mencit dan tikus kontrol tidak ditemukan kelainan tersebut.

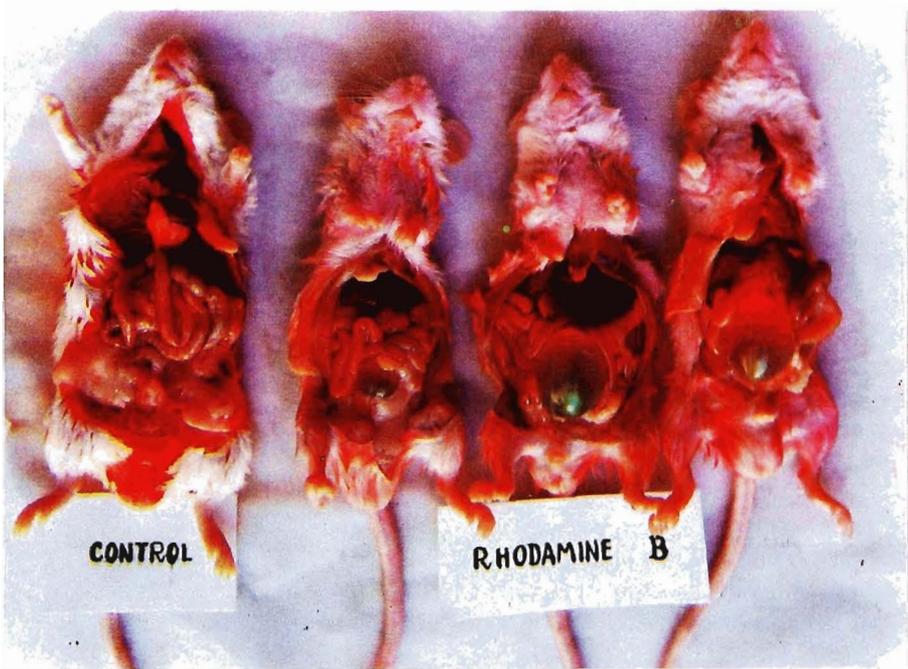
Mengingat hasil dari penelitian percobaan ini, maka kita harus waspada terhadap penggunaan zat sintetik ini sebagai zat pewarna untuk makanan.

KEPUSTAKAAN

1. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat, Makanan dan Minuman (1968) : Kumpulan Peraturan. Perundang-undangan Dalam Bidang Pengawasan Makanan, Jakarta. Hal. 77 – 79.
2. Gosselin, R.E., Hodge, H.C., Smith, R.P., Cleason, M.N. (1976) : Clinical Toxicology of Commercial Products. 4th Ed., The William Co., Baltimore.

3. Sihombing, G., (1978) : An Exploratory Study on Three Synthetic Colouring Matters Commonly Used as Food Colours

in Jakarta. M.Sc. Thesis. Seameo and Faculty of Medicine, University of Indonesia, Jakarta.



Gambar 1. Mencit yang diberi makan Rhodamine B. Perhatikan kantong air seninya membesar \pm dari 5 sampai 20 kali dari yang normal. Air seninya bila kena cahaya matahari berfluorescensi kehijauan.



Gambar 2. Hati dari seekor mencit yang diberi makan Rhodamine B. Perhatikan benjolan tumor hati pada lobas hati kanan (warnanya pucat kekuningan).



Gambar 3. Ginjal mencit yang diberi makan Metanil Yellow. Perhatikan ginjal mencit percobaan (kiri) membesar \pm 3 kali dibandingkan dengan ginjal mencit kontrol (kanan) Disamping membesar, pyelumnya sangat meluas dan bagian kortek menipis.



Gambar 4. Tikus yang diberi makan Rhodamine B. Perhatikan tumor kelenjar getah bening dari mediastinum sangat membesar (pada gambar teratas, besar tumor kurang lebih sama dengan besar paru-paru plus jantung). Bandingkan dengan paru-paru dan jantung tikus kontrol (paling bawah)