

Imunotoksisitas pewarna makanan terhadap histopatologi *Peyer's patch goblet* mencit
(The immunotoxicity of food additive on histopathology of mice *Peyer's patch goblet*)

Muhammad Hilman Fu'adil Amin^{1)*}, Ida Bagus Rai Pidada¹⁾, Cicik Setyo Budi Utami¹⁾

¹⁾Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

*Email korespondensi: muhammadhilman87@gmail.com

Diterima 15 Januari 2013, diterima untuk dipublikasikan 5 Februari 2013

Abstrak

Zat aditif dalam makanan digunakan untuk memperbaiki karakter pangan agar mutunya meningkat. Pewarna makanan merupakan suatu substansi yang ditambahkan ke dalam makanan untuk merubah warna, aroma dan estetika. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui histopatologi *Peyer's patch* mencit akibat paparan pewarna sintetik dan alami. Ada tiga pewarna yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu curcumin, tartrazine, dan metanil yellow. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris menggunakan mencit sebagai hewan coba yang diperlakukan selama empat minggu dengan pemberian ketiga jenis pewarna dengan dosis 90 mg/kg BB. Di akhir perlakuan, intestinum bagian ileum diambil dan dibuat sediaan histologi untuk pengamatan histologi *Peyer's patch*. Hasil pengukuran dimensi *Peyer's patch*, menunjukkan bahwa pemberian pewarna makanan mampu menginduksi penurunan dimensi *Peyer's patch* dan berkorelasi positif dengan berat relatif limpa. Dimensi *Peyer's patch* yang paling kecil adalah kelompok yang diberi perlakuan tartrazine, linear dengan penurunan berat relatif limpa yang signifikan. Hal ini memperkuat indikasi efek immunosupresor akibat pemberian tartrazine. Pemberian curcumin dan metanil yellow terlihat tidak mempengaruhi komponen sistem imun secara signifikan berdasarkan penurunan berat relatif limpa dan dimensi *Peyer's patch*, meskipun terdapat tren penurunan.

Kata kunci : berat relatif limpa, pewarna makanan, *Peyer's patch*

Abstract

Food additives used to improve quality of food in order to increase the character. Food colorant is a substance added to food to change the color, flavor and aesthetics. This study aims to determine the histopathology *Peyer's patches* of mice caused by exposure of synthetic and natural dyes. There are three dyes used in this study, e.g curcumin, tartrazine, and metanil yellow. This research is an experimental laboratory using mice as experimental animals were treated for four weeks with three types of dye administration at a dose of 90 mg / kg b.wt. At the end of treatment, ileum were taken and histological preparations were made for histological observation of *Peyer's patches*. The results of dimensions measurements of *Peyer's patches*, suggesting that administration of food colorings able to induce dimension reduction *Peyer's patches* and positively correlated with relative weight of the spleen. The smallest dimension of *Peyer's patches* are tartrazine treated group, a linear decrease in relative spleen weight significantly. This strengthens the indication of the immunosupresor effects caused by administration tartrazine. Curcumin and Metanil yellow not affect significantly the immune system components based on relative spleen weight and dimensions of the *Peyer's patches*, despite the downward trend.

Keywords: food colorant, *Peyer's patches*, relative spleen weight

PENDAHULUAN

Zat aditif dalam makanan digunakan untuk memperbaiki karakter pangan agar mutunya meningkat. Pewarna makanan merupakan suatu substansi yang ditambahkan ke dalam makanan untuk merubah warna, aroma dan estetika. Beberapa zat aditif makanan, terutama zat aditif sintetik, telah dilarang digunakan karena toksisitasnya, misalnya *metanil yellow* dan *rhodamine*. Selain penggunaan jenis pewarna sintetik ilegal pada makanan, penggunaan pewarna sintetik makanan legal juga masih bersifat kontroversial karena beberapa penelitian menunjukkan bahwa pewarna sintetik makanan berdampak negatif bagi kesehatan, misalnya Brilliant Blue, Tartrazine, Citrus Red, Carmine, Amaranth, dan sebagainya. Sangat sedikit referensi mengenai telaah pengaruh pewarna pada imunitas tubuh. Oleh karena itu, penelitian "Toksitas Pewarna Makanan Sintetik Terhadap Histopatologi *Peyer's Patch* Mencit" ini dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan komponen imun jaringan dalam saluran pencernaan akibat paparan ingesti pewarna alami dan sintetik.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui histopatologi *Peyer's patch* dan populasi sel Goblet pada saluran pencernaan mencit akibat paparan pewarna sintetik dan alami. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi tentang dampak konsumsi pewarna makanan terhadap kesehatan, terutama terhadap sistem imun atau kekebalan tubuh.

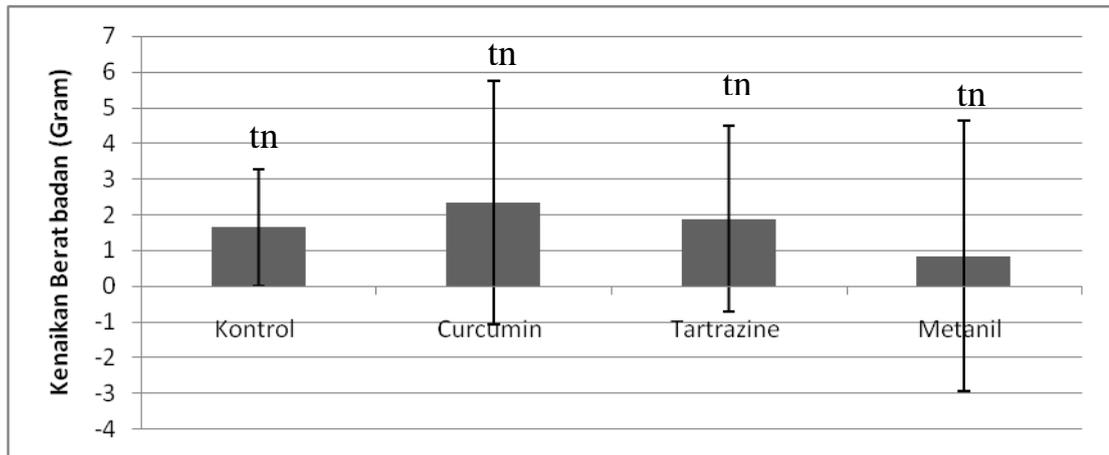
METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi dan Rumah Hewan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Mei – Nopember 2012. Penelitian ini menggunakan hewan

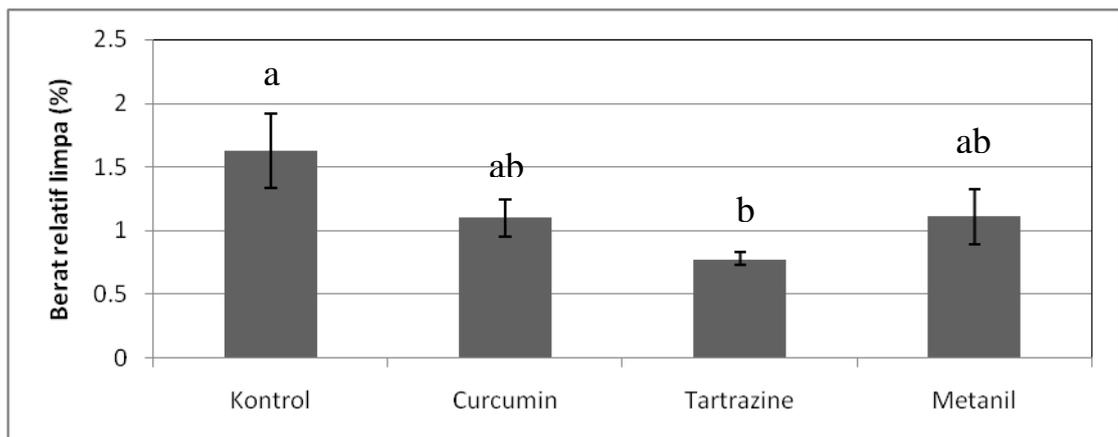
coba mencit jantan strain BALB/C, berumur 2-3 bulan, berat badan berkisar 20-30 gram. Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok (n=8), yaitu kontrol, curcumin, tartrazine, dan metanil yellow. Hewan coba dikelompokkan menjadi empat kelompok. Kelompok kontrol menggunakan mencit yang diberikan akuades secara oral. Penelitian ini menggunakan 3 macam pewarna, yaitu pewarna alami, sintetik untuk pangan dan sintetik non-pangan tetapi banyak disalahgunakan untuk aditif makanan. Curcumin digunakan untuk mewakili pewarna alami, tartrazine untuk pewarna sintetik untuk pangan, sedangkan metanil yellow untuk sintetik non-pangan. Semua pewarna diberikan dengan dosis 90 mg/kg BB setiap hari selama 4 minggu secara oral. Di akhir perlakuan, diambil ileum hewan coba untuk digunakan sebagai sediaan histologi. Berat badan dan berat relative limpa juga dicatat. Perubahan berat badan selama perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus : *berat badan hewan coba di akhir perlakuan – berat badan hewan coba di awal perlakuan*. Sedangkan berat relatif limpa terhadap berat badan dihitung dengan rumus : $(\text{berat limpa} / \text{berat badan hewan coba di awal perlakuan}) \times 100\%$. Pengamatan histologi *Peyer's patch* yang merupakan jaringan limfoid dilakukan dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x, serta dilakukan pengukuran dengan mikrometer. Data histologi *Peyer's patch* dianalisis secara deskriptif, sedangkan perubahan berat badan dan berat relatif limpa dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pemberian pewarna makanan terhadap kenaikan berat



Gambar 1. Kenaikan berat badan mencit setelah pemberian beberapa pewarna makanan selama empat minggu secara oral (tn: tidak berbeda)



Gambar 2. Berat relatif limpa mencit setelah pemberian beberapa pewarna makanan selama empat minggu secara oral (perbedaan notasi menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) dibanding kontrol)

badan hewan coba di akhir perlakuan yang diujikan selama empat minggu dengan dosis 90 mg/kg berat badan ditunjukkan pada Gambar 1, sedangkan pengaruhnya terhadap berat relatif limpa ditunjukkan pada Gambar 2.

Pemberian pewarna makanan dengan dosis 90 mg/kg berat badan selama empat minggu tidak mempengaruhi perubahan berat badan hewan coba di akhir perlakuan pada semua kelompok. Terjadi penurunan

berat relatif limpa pada semua jenis pewarna yang diujikan. Pemberian curcumin dan metanil yellow tidak menurunkan berat relatif limpa, sedangkan pemberian tartrazine mampu menurunkan berat relatif limpa secara signifikan ($P < 0,05$).

Pengaruh pemberian pewarna makanan yang diujikan selama empat minggu dengan dosis 90 mg/kg berat badan terhadap dimensi *Peyer's patch* ditunjukkan dalam Tabel 1.

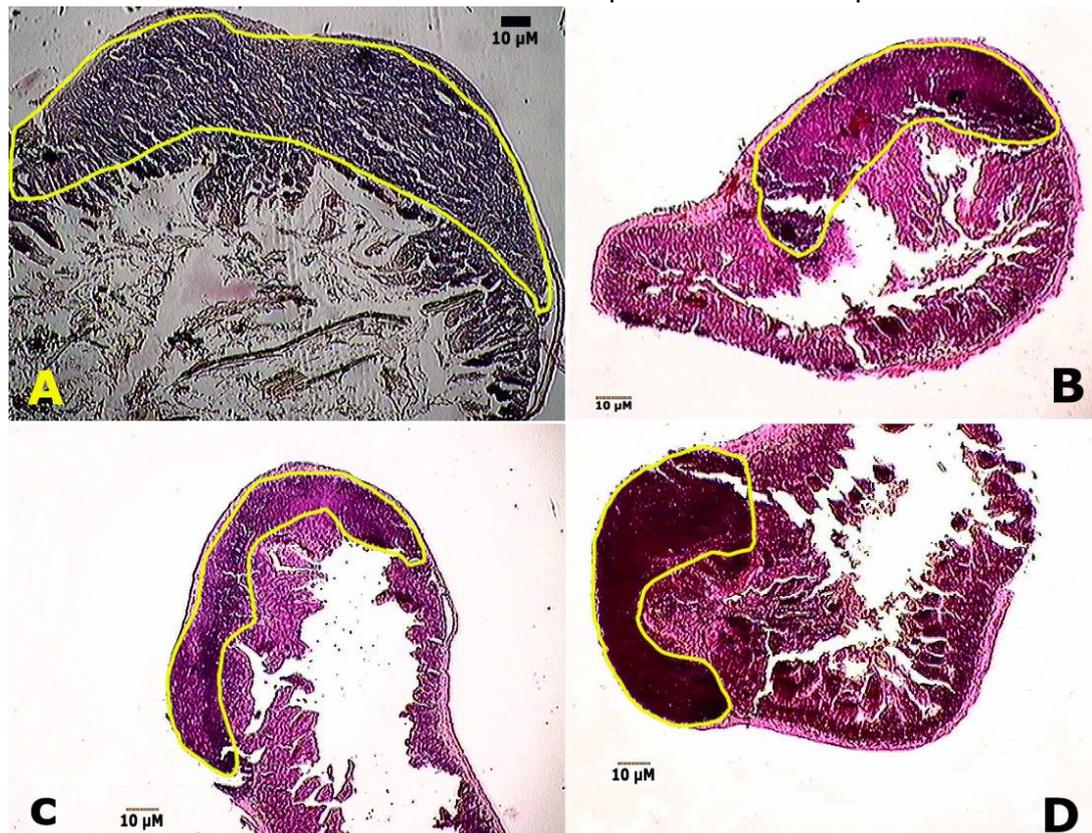
Tabel 1. Perubahan dimensi *Peyer's patch* setelah pemberian pewarna makanan dengan dosis 90 mg/kg berat badan selama empat minggu

	Dimensi Peyer's Patch
Kontrol	102,33 x 32,61 μ M
Curcumin	86,59 x 26,82 μ M
Tartrazine	73,17 x 25,83 μ M
Metanil	75,33 x 22,00 μ M

Hasil pengukuran dimensi *Peyer's patch* setelah pemberian pewarna makanan dengan dosis 90 mg/kg berat badan selama empat minggu menunjukkan bahwa terjadi penurunan dimensi *Peyer's patch* pada semua jenis pewarna yang diujikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil berat badan di akhir perlakuan, tidak terdapat pengaruh yang nyata akibat pemberian pewarna makanan yang diujikan dalam penelitian ini, tetapi terjadi tren penurunan berat badan pada kelompok yang diperlakukan dengan metanil yellow. Tren penambahan berat badan terjadi pada kelompok yang diperlakukan dengan curcumin dan tartrazine. Beberapa penelitian yang melakukan uji menggunakan pewarna makanan juga mencatat tidak terjadi perubahan berat badan yang signifikan dibanding kelompok kontrol. Hasil penelitian Hashem *et al.* (2010) menyatakan bahwa tidak terdapat perubahan berat badan yang signifikan pada tikus setelah pemberian



Gambar 3. Fotomikroskopi *Peyer's patch* menggunakan pewarnaan Hematoxylen-Eosin dengan perbesaran 60x. A) Kontrol; B) Curcumin; C) Tartrazine; D) Metanil Yellow.

tartrazine, sedangkan hasil penelitian Gautam *et al.* (2010) menyatakan bahwa terjadi peningkatan perubahan berat badan yang signifikan pada mencit yang diperlakukan tartrazine secara oral dengan dosis 400 mg/kg berat badan.

Hasil pengukuran berat relatif limpa berkebalikan dengan perubahan berat badan. Pemberian tartrazine mengakibatkan penurunan berat relatif limpa yang signifikan, meskipun terjadi tren peningkatan perubahan berat badan. Pemberian curcumin dan metanil yellow juga dapat menurunkan berat relatif limpa meskipun tidak signifikan.

Limpa berperan penting dalam fungsi imun dengan menangkap dan memproses antigen, *homing*, dan melakukan proliferasi limfosit serta mengaktifkan makrofag. Organ ini juga merupakan tempat dalam menghasilkan antibodi, khususnya untuk melawan antigen (Witztum, 2002). Higashijima *et al.* (2009) menyatakan bahwa limpa merupakan organ limfoid dengan ukuran besar yang menghasilkan berbagai macam sitokin yang mengalir hingga ke hati melalui pembuluh dan vena portal untuk meningkatkan sitotoksitas *natural killer cell (NK cell)* pada hati.

Penurunan berat relatif limpa yang signifikan setelah pemberian tartrazine dapat mengindikasikan terjadinya aktivitas immunosupresi. Im *et al.* (2012) menyatakan bahwa terjadinya immunosupresi dapat ditentukan melalui evaluasi berat organ limfoid (timus dan limpa) maupun seluleritas organ-organ limfoid. Menurut Food and Drug Administration/ FDA (2002), evaluasi penggunaan bahan makanan atau obat salah satunya harus melalui pengujian dampak suatu bahan makanan atau obat terhadap sistem imun, termasuk immunosupresi. Immunosupresi adalah pelemahan

atau penurunan komponen sistem imun yang mampu menurunkan fungsi imunitas. Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk mengetahui terjadi immunosupresi adalah perubahan berat organ yang terlibat dalam system imun dan kajian histologinya (meliputi hiposeluleritas jaringan dalam system imun, misalnya timus, limpa, limfnode dan sumsum tulang). Penelitian Koutsogeorgopoulou *et al.* (1998) menyimpulkan bahwa tartrazine memiliki efek immunosupresi pada limfosit perifer manusia.

Peyer's patch dalam sediaan histologis terlihat sebagai suatu struktur yang memiliki densitas sel lebih tinggi dibanding struktur lain dalam organ pencernaan, sehingga *Peyer's patch* seringkali berwarna lebih gelap dan ditunjukkan dengan daerah bergaris kuning dalam Gambar 3. Hasil pengukuran dimensi *Peyer's patch*, menunjukkan bahwa pemberian pewarna makanan mampu menginduksi penurunan dimensi *Peyer's patch* dan berkorelasi positif dengan berat relatif limpa. Dimensi *Peyer's patch* yang paling kecil adalah kelompok yang diberi perlakuan tartrazine, linear dengan penurunan berat relatif limpa yang signifikan. Hal ini memperkuat indikasi efek immunosupresor akibat pemberian tartrazine.

Pemberian metanil yellow juga mampu menurunkan dimensi *Peyer's patch* sehingga dapat diindikasikan bahwa metanil yellow juga memiliki efek immunosupresor, meskipun efek tersebut tidak sebesar tartrazine. Berdasarkan beberapa penelitian tentang toksisitas metanil yellow, pewarna tersebut tidak diindikasikan memiliki efek imunotoksitas, baik immunorepresor maupun hiperresponsifitas sistem imun. Walaupun efek imunotoksik metanil yellow tidak sebesar tartrazine, namun

pewarna ini memiliki efek sitotoksik yang lebih umum pada organ yang terpapar (misalnya hepar dan ginjal jika masuk ke dalam tubuh melalui ingesti), menginduksi inflamasi dan stres oksidatif, dan diindikasikan sebagai agen penginduksi tumor (Gupta *et al.* 2003; Rastogi *et al.* 1991; Ramachandani *et al.* 1992).

Pemberian curcumin dalam penelitian ini mengindikasikan terjadinya efek immunosupresi, Padahal telah banyak diketahui bahwa curcumin merupakan agen immunomodulator (Varalakshmi *et al.*, 2008). Efek immunomodulator dalam penelitian ini tidak terlihat karena dosis yang digunakan dalam penelitian ini sangat rendah jika dibanding dengan dosis penggunaan curcumin untuk memodulasi atau meningkatkan sistem imun. Konsumsi curcumin untuk memodulasi sistem imun biasanya sampai dosis 100 mg/kg BB dan dapat dikonsumsi tanpa menimbulkan efek samping sampai dosis 12 g/hari (Jagetia dan Aggarwal 2007).

Kesimpulan penelitian ini adalah dari ketiga pewarna yang diujikan dalam penelitian ini, hanya tartrazine yang memiliki pengaruh signifikan terhadap komponen imun. Tartrazine diindikasikan memiliki efek immunosupresor dengan indikator dimensi *Peyer's patch* yang lebih kecil dan penurunan berat relatif limpa sebagai salah satu organ sistem imun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Riset Universitas Airlangga tahun anggaran 2012.

DAFTAR PUSTAKA

Food and Drug Administration- Center for Drug Evaluation and Research (2002) Guidance for industry: immunotoxicology evaluation of investigational new drugs.

<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.

Gupta S, Sundarajan M dan Rao KVK (2003) Tumor promotion by metanil yellow and malachite green during rat hepatocarcinogenesis is associated with dysregulated expression of cell cycle regulatory proteins. *Teratogenesis Carcinog Mutagen Suppl* (1) :301–312

Hashem MM, Atta AH, Arbid MS, Nada SA dan Asaad GF (2010) Immunological studies on amaranth, sunset yellow and curcumin as food colouring agents in albino rats. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1581–1586

Higashijima J, Shimada M, Chikakiyo M, Miyatani T, Yoshikawa K, Nishioka M, Iwata T dan Kurita N (2009) Effect of splenectomy on antitumor immune system in mice. *Anticancer Research* 29: 385-394

Im S, Choi HS, Choi SO, Kim K, Lee S, Hwang BY, Lee MK, Lee CK (2012) Restoration of electric footshock-induced immunosuppression in mice by *Gynostemma pentaphyllum* Components. *Molecules* (17) 7695-7708

Jagetia GC, Aggarwal BB (2007) "Spicing Up" of the immune system by curcumin. *Journal of Clinical Immunology* 27 (1): 19-35

Koutsogeorgopoulou L, Maravellas C, Methenitou G (1998) Immunological aspects of the common food colorants, amaranth and tartrazine. *Vet Hum Toxicol* 40 (1):1-4

Ramachandani S, Das M, Khanna SK (1992) Lipid peroxidation of ultrastructural components of rat liver induced by metanil yellow

- and orange II: comparison with blend. *Toxicol Ind Health* 8(1-2):63-75
- Rastogi PB, Thilly WG, Shirnamé-Moré L (1991) Long-term low-dose mutation studies in human cells: metanil yellow and orange II. *Mutat Res* 249(1) : 265-73
- Varalakshmi C, Ali AM, Pardhasaradhi BVV, Srivastava RM, Singh S, Khar A (2008) Immunomodulatory effects of curcumin: in-vivo. *International Immunopharmacology* 8: 688–700
- Witztum J (2002) Splenic immunity and atherosclerosis: A glimpse into a novel paradigm? *J Clin Invest* 109:721–724