

Histopatologis Aorta Tikus Putih Setelah Pemberian Teh Kombucha Konsentrasi 75% Berdasarkan Waktu Fermentasi

Aorta Histopathology of White Rats After Giving Kombucha Tea 75% Concentration Based on Fermentation Time

Sri Isdadiyanto*, Stefanus Fajar

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, 50275

*Email: isdadiyanto@yahoo.com

Diterima 19 Juni 2023 / Disetujui 27 November 2023

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui histopatologis aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian teh kombucha kadar 75% dengan variasi waktu fermentasi. Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 16 ekor umur 2 bulan, dengan perlakuan Teh kombucha yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari pada suhu 25°C per oral. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, yaitu: P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 12 hari. Penelitian dilakukan selama 28hari. Pada hari terakhir perlakuan, hewan dikorbankan dan diambil aorta serta jantung untuk pembuatan preparat histopatologi. Pengamatan preparat histopatologis aorta dengan pewarnaan hematoksilin-eosin dan dianalisis secara deskriptif. Aorta tikus putih yang diberi teh kombucha yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari menunjukkan gambaran normal. Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian teh kombucha berdasarkan waktu fermentasi tidak mempengaruhi struktur histologi aorta.

Kata kunci: *Rattus norvegicus*, teh kombucha kadar 75%, waktu fermentasi

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the aortic histology structure of rat (*Rattus norvegicus*) after treatment by 100% kombucha tea with variation of fermentation time. Sixteen male *Rattus norvegicus*, 2 months of age were used as experimental animals treated with kombucha tea that has been fermented for 6, 9 and 12 days at the temperature of 25°C per oral. The research design used to a completely randomized with 4 treatment (for 4 weeks) and 4 replications, namely: P0 = control, without of kombucha tea, P1 = water + 1,8 ml kombucha tea that has been fermented for 6 days in the morning and afternoon, P2 = water + 1,8 ml kombucha tea that has been fermented for 9 days in morning and afternoon, P3 = water + 1,8 ml kombucha tea that has been fermented for 12 days in morning and afternoon. The study was conducted for 28 days. On the last day of treatment, the animals were sacrificed and the aorta and heart were taken for making histopathological preparations. Observation of histopathological preparations of the aorta with hematoxylin-eosin staining and analyzed descriptively. Aorta of white rats fed with fermented kombucha tea for 6, 9 and 12 days showed normal appearance. Based on the results of the study, it can be concluded that administration of kombucha tea based on fermentation time does not affect the histological structure of the aorta.

Keywords: *Rattus norvegicus*, 75% kombucha tea level, fermentation time

PENDAHULUAN

Aorta merupakan pembuluh arteri paling besar dan memiliki banyak otot, yaitu pembuluh yang mengalirkan dan menyuplai darah dari area jantung. Aorta terletak pada bagian ventrikel kiri jantung dan berbentuk seperti cekungan dan menjalar ke arah jaringan perut yang mempunyai cabang cabang menjadi 2 bagian pembuluh yang berukuran kecil. Pembuluh arteri mempunyai karakteristik dinding yang relatif tebal, elastis, dan mampu memompa jantung untuk mengalirkan darah keseluruh tubuh. Fungsi aorta adalah membawa, mengatur dan menyuplai pasokan darah yang di dalamnya mengandung banyak oksigen ke seluruh jaringan pembuluh arteri termasuk arteri utama dari cabang cabang aorta (Moore *et al.*, 2010). Aorta memiliki dinding dengan banyak lapisan elastin berfenestra (bertingkap) pada tunika media. Dindingnya tampak kuning dalam keadaan segar akibat banyaknya elastin. Tunika media ini diregangkan selama jantung berkontraksi (sistol), dan penguncupan akibat kelenturan dindingnya selama diastol berfungsi sebagai pompa tambahan untuk mempertahankan aliran agar tetap meskipun jantung berhenti berdenyut sesaat. Dindingnya sangat kuat, tetapi kalau dibandingkan dengan besarnya relatif lebih tipis pada arteri sedang (Clason and Wilson, 2002).

Aterosklereosis adalah penyakit akibat respon peradangan pada pembuluh darah (arteri besar dan sedang), bersifat progresif, yang ditandai dengan deposit masa kolagen, lemak, kolesterol, produk buangan sel dan kalsium, disertai proliferasi miosit yang menimbulkan penebalan dan pengerasan dinding arteri, sehingga mengakibatkan kekakuan dan kerapuhan arteri (Brunner dan Suddart, 2002). Aterosklerosis berhubungan dengan peningkatan *Low-Density Lipoprotein* (LDL). Pengaruh peningkatan kadar LDL akan diikuti akumulasi ester kolesterol dalam makrofag sehingga kemudian makrofag disebut sebagai sel busa. Kadar LDL yang tinggi menyebabkan tingginya kadar LDL intimal. Selanjutnya LDL intimal akan mengalami oksidasi dan menarik monosit dari sirkulasi darah serta berubah secara fenotipik menjadi makrofag.

Peningkatan LDL teroksidasi pada dinding arteri disertai dengan terbentuknya sel busa, akan berkembang menjadi lempeng lemak (Isdadianto dan Tana, 2016).

“*Tea-cider*” atau yang lebih dikenal dengan nama “Kombucha”, merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula yang memiliki cita rasa dan aroma yang khas, yaitu rasa asam-manis (Tana dan Djaelani, 2015). Teh kombucha memiliki beberapa khasiat bagi tubuh antara lain dapat mempengaruhi tubuh secara menyeluruh dengan menstabilkan metabolisme tubuh. Melalui peningkatan metabolisme, penimbunan lemak di dalam tubuh yang terlalu banyak bisa dihindari. Teh kombucha mengandung senyawa-senyawa kimia yaitu vitamin B (tiamin / B1, riboflavin / B2, niasin / B3, piridoksin / B6, sianokobalamin / B12), vitamin C dan polyfenol. Teh kombucha diduga berperan dalam metabolisme lemak sehingga mempunyai potensi untuk menurunkan kadar kolesterol jahat, yakni LDL dan trigliserida, serta meningkatkan kadar HDL, hingga bisa mengurangi risiko terhadap penyakit pembuluh darah dan jantung coroner. Katekin merupakan salah satu unsur dari polyfenol dapat mencegah tekanan darah tinggi, mengurangi penimbunan kolesterol dalam darah, mempercepat pembuangan kolesterol melalui feces, menangkal radikal bebas, serta dapat mengurangi risiko penyakit kardiovaskuler (Naland, 2008).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Purwaning (2010) dan Rahayu (2005) menggunakan teh kombucha terhadap tikus putih menunjukkan penurunan kadar kolesterol. Hal ini didukung pula oleh Winarni dkk. (2010) menyatakan bahwa teh kombucha mempunyai kecenderungan menurunkan kadar kolesterol darah. Rahayu (2005) menyatakan bahwa kolesterol tidak sepenuhnya merupakan racun dalam tubuh, karena kolesterol merupakan unsur penting dalam tubuh yang diperlukan untuk mengatur proses kimiawi di dalam tubuh, tetapi kolesterol dalam jumlah tinggi bisa menyebabkan terjadinya aterosklerosis yang akhirnya akan berdampak pada penyakit jantung koroner. Terdapat korelasi yang jelas antara penyakit aterosklerosis arteria koroner dengan kadar kolesterol total dalam darah, yang

terutama mencerminkan kandungan kolesterol pada LDL (Kolesterol LDL). Terdapat pula korelasi negatif yang lebih kuat antara penyakit aterosklerosis arteria koroner dengan kandungan kolesterol pada fraksi HDL. Orang yang kadar LDL-nya tinggi lebih mudah menderita penyakit jantung, sedangkan yang kadar HDL-nya tinggi jarang menderita penyakit tersebut.

Penelitian pemberian teh kombucha kadar 75% berdasarkan waktu fermentasi terhadap struktur histologi aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) belum pernah dilakukan, maka penting dilakukan untuk mengkaji dan menganalisis struktur histopatologis aorta pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian 6, 9, dan 12 hari fermentasi teh kombucha konsentrasi 75%.

METODE PENELITIAN

Subjek dalam penelitian yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) umur dua bulan sebanyak 16 ekor untuk 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ulangan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan 4 pengulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, yaitu: P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 12 hari. Bahan perlakuan yaitu Teh kombucha kadar 75% yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari pada suhu 25°C per oral dengan spuit injeksi ujung berkanul diberikan selama 28 hari. Tikus diaklimasi dikandang kolektif selama ± 1 minggu. Selama masa aklimasi, hewan uji diberi pakan standar dan air minum secara *ad libitum*. Kandang dibersihkan dengan cara mengganti sekam setiap tiga hari sekali dengan sekam padi yang baru. Setiap minggu tikus ditimbang untuk mengetahui perkembangan bobot badan.

Pembuatan Preparat Histologi

Preparat histopatologi aorta dibuat dengan metode parafin dan fiksatif yang digunakan adalah larutan 10% neutral buffered formalin. Tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi adalah melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai dengan organ yang akan dipotong (trimming). Pisau yang digunakan untuk trimming adalah pisau skalpel No. 22-24. Jumlah potongan jaringan yang dapat dimuat dalam *embedding cassette* berkisar antara 1-5 buah disesuaikan dengan ukuran organ. Dehidrasi jaringan dilakukan setelah trimming menggunakan *tissue processor* (Leica, Germany), ini dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan dengan menggunakan cairan dehidran seperti etanol atau iso propyl alkohol. Cairan dehidran kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih (clearing agent) yaitu xylol. Reagen pembersih ini akan diganti dengan parafin dengan cara dimasukkan dalam larutan parafin cair sehingga parafin terpenetrasi ke dalam jaringan; proses ini disebut impregnasi. Parafin yang digunakan mempunyai titik cair 56-58°C.

Setelah melalui proses dehidrasi, jaringan yang berada di dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam base mold, kemudian diisi dengan parafin cair dan dilekatkan pada *embedding cassette* yang disebut blok. Jaringan dalam blok yang telah dingin, selanjutnya dipotong pada ketebalan irisan 4 μm dengan rotary microtome. Irisan tersebut ditempel pada gelas objek yang sebelumnya diolesi Mayer's egg albumin dan ditetesi aquades kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar. Untuk selanjutnya setelah preparat mikroanotomi kering dilakukan pewarnaan dengan metode pewarnaan Hematoxylin Ehrlich-Eosin, kemudian dilakukan mounting dengan meneteskan entelan secukupnya dan ditutup dengan coverglass. Pengamatan preparat pada setiap perlakuan dilakukan dengan mikroskop cahaya untuk mengamati histopatologis aorta antar kelompok perlakuan.

Analisis dan Interpretasi Data

Pewarnaan preparat mikroanotomi dengan metode pewarnaan Hematoxylin Ehrlich-Eosin

Analisis, kemudian pengamatan histopatologis aorta dilakukan secara deskriptif untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Data tebal dinding dan diameter aorta dianalisis dengan ANOVA ($\alpha = 0,05$). Analisis keseluruhan menggunakan perangkat lunak software SPSS 16,0 (Mattjik dan Sumertajaya, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan dengan mikroskop, analisis tebal dinding dan diameter lumen aorta tikus putih *Sprague Dawley* setelah pemberian teh kombucha kadar 75% dengan variasi waktu fermentasi selama 28 hari dengan pewarnaan hematoxilin-eosin secara lengkap disajikan pada Gambar 1- 4 dan Tabel 1. Pengamatan dengan mikroskop cahaya preparat histopatologis aorta terlihat dinding aorta terdiri dari sel-sel endotelial dan tiga tunika berturut-turut dari bagian dalam ke arah luar yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia (Gambar 1-4). Gambaran histopatologis aorta tikus putih kontrol (PO) maupun aorta tikus putih yang diberi air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 6, 9 dan 12 hari (P1, P2, dan P3) terlihat normal. Hal ini berarti the kombucha kadar 75% fermentasi 6, 9, dan 12 hari tidak menyebabkan histopatologis aorta tikus putih.

Aorta adalah arteri elastis yang besar dan bagian dalamnya lebih tebal dari arteri lainnya. Dinding pembuluh darah arteri terdiri dari tiga lapis. Lapisan dinding dari dalam ke luar secara berurutan yaitu tunika intima atau tunika interna (lapisan terdalam), tunika media (lapisan tengah), dan tunika eksterna atau tunika adventisia (lapisan terluar). Seluruh lapisan dinding dikemas dalam jaringan adiposa perivaskular. Batas antara tunika intima dan tunika media disebut lamina elastika internal, sedangkan batas antara tunika media dan tunika adventisia disebut lamina elastika external (Milutinović *et al.*, 2020). Tana dan Djaelani (2015) menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi teh kombucha maka semakin banyak kandungan asam-asam organik. Pemberian teh kombucha secara *ad libitum* dengan konsentrasi yang semakin meningkat pada setiap perlakuan berakibat semakin

menurunnya konsumsi minum dibandingkan dengan tanpa pemberian teh kombucha.

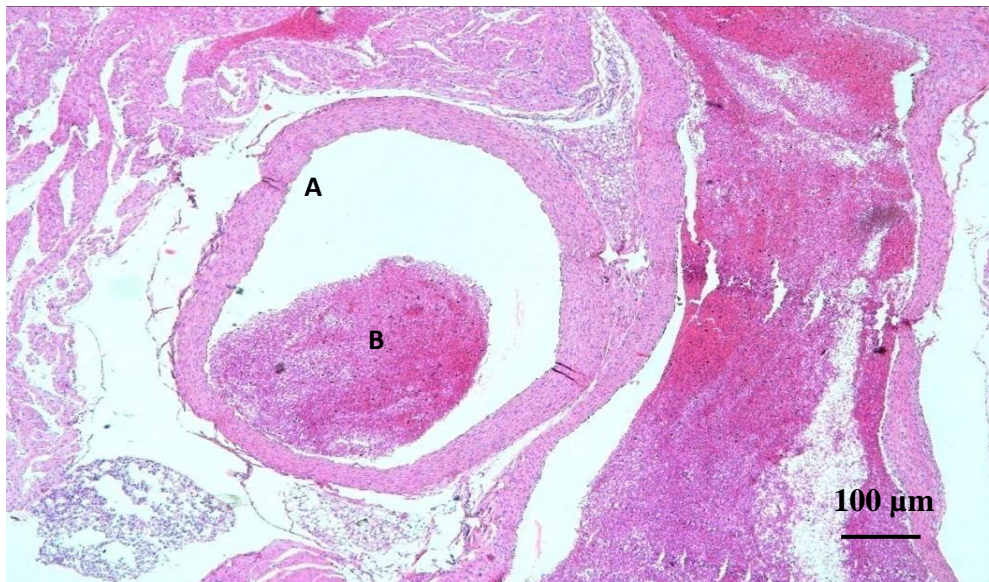
Tunika intima terdiri atas satu lapis sel endotel yang membatasi permukaan dalam pembuluh. Lapisan di bawah endotel disebut subendotel, terdiri atas jaringan ikat, saraf, fibroblas, fibril kolagen, fibril elastin, dan sel otot polos lainnya yang berperan untuk kontraksi pembuluh darah. Tunika media adalah tunika yang paling tebal dan terdiri dari sel otot polos. Sel otot polos pada tunika media tersusun atas serabut kolagen dan elastin yang berperan dalam kontraksi sel otot untuk menjaga agar pembuluh darah tetap terbuka dan memberikan tekanan yang konstan pada darah. Tunika media mendapatkan nutrisi dan oksigen dari lumen pembuluh darah. Tunika adventisia mengandung fibril kolagen, fibril elastin, dan sel fibroblas. Tunika adventisia berperan sebagai perisai bagi pembuluh darah (Wang *et al.*, 2017).

Gambaran histopatologi aorta tikus pada kondisi normal menunjukkan lapisan dinding aorta tersusun rapi, sel-sel otot polos vaskular dan sel endotel masih tersusun rapi (Gambar 1-4). Tikus model hiperlipidemia dan aterosklerosis yang telah diberi pakan tinggi lemak menunjukkan lapisan sel endotel yang tidak tersusun rapi. sel otot polos pada tunika intima mulai tidak beraturan, serta terjadinya pembentukan vakuola (vakuolisasi) (Christianty *et al.*, 2020). Gambar 1-4 pada penelitian ini tidak ditemukan adanya vakuola atau terjadi vakuolisasi. Sarihati *et al.*, (2017) menyatakan bahwa tikus dengan induksi pakan tinggi lemak juga menunjukkan adanya disfungsi endotel dan terbentuknya plak ateroma. Pembentukan plak ateroma pada dinding aorta yang hampir memenuhi lumen aorta akan mempersempit diameter lumen aorta. Diameter lumen aorta yang semakin sempit menyebabkan aliran darah menjadi tersumbat. Hasil analisis tebal dinding dan diameter lumen aorta tikus putih setelah pemberian teh kombucha 75% dengan variasi waktu fermentasi selama 28 hari tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan (Tabel 1). Hal ini mendukung hasil pengamatan histopatologis aorta yang menunjukkan hasil tidak berefek.

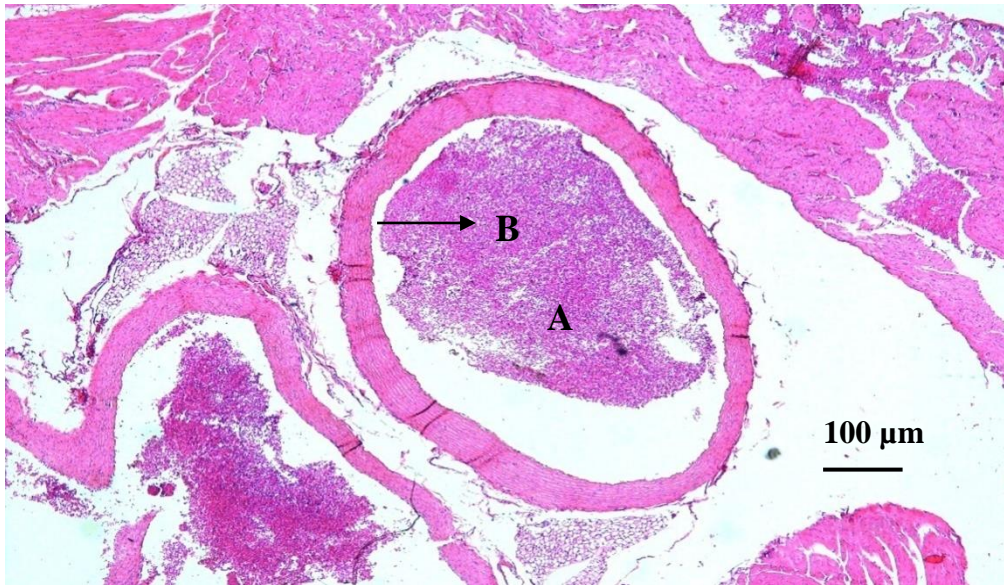
Tabel 1. Hasil analisis rata-rata tebal dinding dan diameter lumen aorta tikus putih setelah pemberian teh kombucha.

Variabel	P0	P1	P2	P3
Tebal Dinding (µm)	1021,5 ^a ± 190,69	1057 ^a ± 115,14	1100 ^a ± 134,21	1271,25 ^a ± 210,2
Diameter Lumen (µm)	1959 ^a ± 148,77	2111,5 ^a ± 234,82	2120,5 ^a ± 82,64	2196,5 ^a ± 202,5

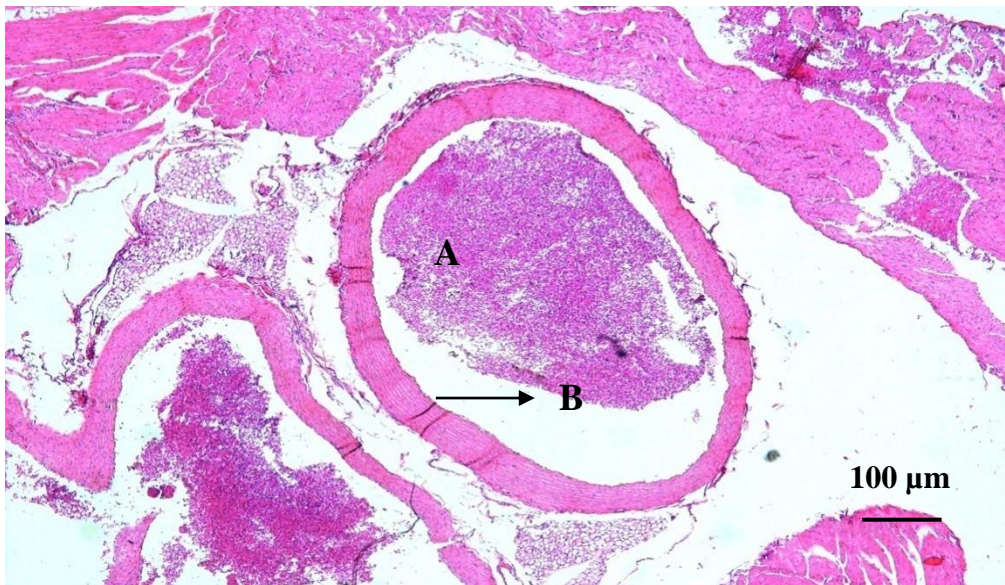
Keterangan: Angka dengan superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata antar perlakuan ($P > 0,05$). P0 = kontrol, tanpa teh kombucha, P1 = kombucha fermentasi 6 hari pagi dan sore konsentrasi 75%, P2 = 1,8 ml teh kombucha fermentasi 9 hari pagi dan sore konsentrasi 75%, P3 = 1,8 ml teh kombucha fermentasi 12 hari pagi dan sore konsentrasi 75%.



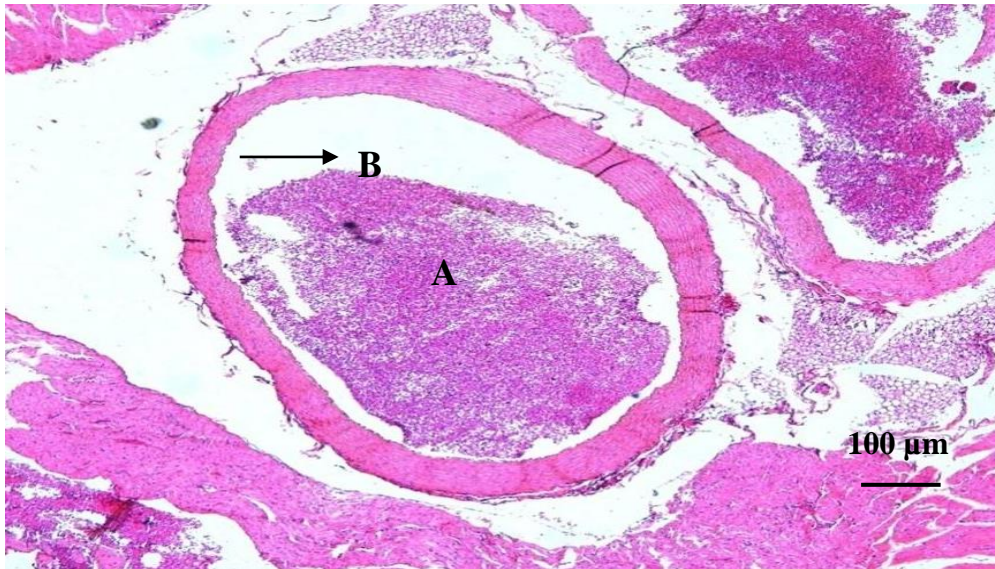
Gambar 1. Gambaran histopatologis aorta tikus putih kontrol (P0) aorta tampak normal. Lumen aorta (A) dan Dinding aorta (B) (Hematoksilin dan eosin, 100x.).



Gambar 2. Gambaran histopatologis aorta tikus putih yang diberi air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 6 hari (P1) selama 28 hari. Aorta tampak normal (tidak terbentuk plak ateroma). Lumen aorta (A) dan dinding aorta (B) (Hematoksilin dan eosin, 100x.).



Gambar 3. Gambaran histopatologis aorta tikus putih yang diberi air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 9 hari (P2) selama 28 hari. Aorta tampak normal (tidak terbentuk plak ateroma). Lumen aorta (A) dan dinding aorta (B) (Hematoksilin dan eosin, 100x.).



Gambar 4. Gambaran histopatologis aorta tikus putih yang diberi air minum + 1,8 ml teh kombucha kadar 75% pagi dan sore fermentasi 12 hari (P3) selama 28 hari. Aorta tampak normal (tidak terbentuk plak ateroma). Lumen aorta (A) dan dinding aorta (B) (Hematoksilin dan eosin, 100x.).

KESIMPULAN

Paparan teh kombucha berdasarkan waktu fermentasi selama 28 hari menunjukkan hasil tidak berefek pada histopatologis aorta semua kelompok perlakuan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian teh kombucha berdasarkan waktu fermentasi tidak mempengaruhi struktur histologi aorta.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Nomor: 1812/UN7.3.8/PG/2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Brunner & Suddarth, (2002). *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*, alih bahasa: Waluyo Agung., Yasmin Asih., Juli., Kuncara., I.made karyasa, EGC, Jakarta.
- Christianty, Holiday, D., Fajrin, F. A., Salsabina, M. C. A., & Roni, A. (2020). Profil Lipid dan Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Hiperlipidemia dengan Pemberian Ekstrak Kopi Hijau. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(1): 21–27.
- Clason, A., and Wilson., R.G., (2002). *Peripheral*

Vascular Disease in Mc Latchie. GR., Leaper. DJ., *Oxford Handbook of Clinical Surgery*, 2nd ed. New Delhi, Oxford University Press, 308- 310.

- Isdadiyanto S. dan Tana S., (2016). The Influence of Tea Kombucha Fermentation Time on Level 75% To Lipid Profile. *Buletin Anatomi dan Fisiologi. E-journal undip Volume 1 Nomor 1*
- Isdadiyanto, S. (2018). Tebal Dinding dan Diameter Lumen Arteria Koronaria Tikus Putih Setelah Pemberian Teh Kombucha Kadar 100% Waktu Fermentasi 6, 9 dan 12 Hari. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3(1): 97–104.
- Mattjik, A.A. dan Sumertajaya. I.M. 2006. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Ed. Ke-3. IPB-Press. Bogor.
- Milutinović, A., Šuput, D., & Zorc-Pleskovič, R. (2020). Pathogenesis of Atherosclerosis in The Tunica Intima, Media, and Adventitia of Coronary Arteries: an Updated Review. *Bosn J Basic Med Sci*, 20(1): 21–30.
- Moore, K. L., Dalley, A. F, and Agur, A. M. R.. (2010). *Clinically Oriented Anatomy*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Naland, H. (2008). *Kombucha Teh dengan Seribu Khasiat*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Purwaning, A. (2010). *Pengaruh kombucha Teh*

(*Acetobacter xylinum*) terhadap kadar kolesterol tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Department of Biology Universitas Muhammadiyah, Malang*. 12 (1)

- Rahayu, T. (2005). Kadar kolesterol darah tikus putih setelah pemberian cairan kombucha per oral Jurusan Pendidikan Biologi, FKIP Universitas Muhammadiyah, Surakarta. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 6 (2): 87-97
- Sarihati, I. G. A. D., Suastika, K., Wita, I. W., Astawa, I. N. M., & Adi, A. A. A. M. (2017). Atherosclerosis towards Rat Relating with High Cholesterol Feed. *International Research Journal of Engineering, IT & Scientific Research*, 3(2): 150–156.
- Tana, S. dan M.A. Djaelani. (2015). Kadar kolesterol daging ayam broiler setelah pemberian the kombucha. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 23 (1): 1-8.
- Wang, D., Wang, Z., Zhang, L., & Wang, Y. (2017). Roles of Cells from The Arterial Vessel Wall in Atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*, 2017: 1–9.
- Winarni, D., Eva,N., Faqihuddin, A., Galih,H. dan Toumi, S. (2010). Pengaruh pemberian teh kombucha terhadap penurunan kadar kolesterol total dalam darah. *Fakultas Sebelas Maret Surakarta. Fk.uns.ac.id*. 1 Maret 2012