

PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT BUAH DELIMA (*Punica granatum*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI KOLON TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI 1,2-dimethylhidrazine (DMH)

Effect of Yogurt Fortified with Pomegranate (Punica granatum) Juice on Colon Histopathology in Rats Induced with 1,2-dimethyl hydrazine (DMH)

Ajeng Dyah Kurniawati^{1*}, Sabila Najah², Ana Widyawati³, Nurul Latifasari¹, Evia Zunita¹

¹Departemen Teknologi Pangan, Universitas Telkom, Purwokerto, Indonesia

²Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

³Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Ilmu Pangan dan Bioteknologi Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia
ajengk@telkomuniversity.ac.id

ABSTRACT

*This study aimed to discuss the effect of yogurt fortified with pomegranate-fortified yoghurt, containing key antioxidant compounds such as anthocyanins, on male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) induced by 1,2-dimethylhydrazine (DMH), a carcinogenic compound for colon cancer. The first stage of this study was testing antioxidant activity in various methods of making yogurt. A colon cancer rat group was induced with DMH with a dose of 20 mg/kg/body weight for 5 weeks by subcutaneous injection once a week. Induction of 1.2 DMH in experimental animals was carried out for 5 weeks, while the induction of pomegranate yogurt was carried out using oral induction every day for 4 weeks. The highest antioxidant activity was obtained from yogurt made by mixing plain yogurt and fermented pomegranate juice, where the proportion of pomegranate juice was greater, resulting in a percentage inhibition value of 77.96%. Giving pomegranate yogurt for 4 weeks was able to improve the histopathological picture of rats induced by 1.2 DMH. The best improvement in the histopathological in the colon of rats induced by 1.2 DMH was achieved by the P3 treatment group, where the proportion of pomegranate was greater when compared to plain yogurt.*

Keyword : antioxidants; colon cancer; histopathology; pomegranate; yoghurt

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membahas pengaruh yoghurt yang difortifikasi dengan buah delima, yang mengandung beberapa senyawa antioksidan penting seperti antosianin, pada hewan coba berupa tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi senyawa 1,2-dimethylhidrazine (DMH), sebagai senyawa karsinogenik kanker kolon. Tahap pertama penelitian ini adalah pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai metode pembuatan yoghurt. Pada penelitian ini tikus dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu, kontrol negatif (P0), kontrol positif (P1), dan perlakuan yang diinduksi 1,2 DMH sebesar 20 mg/KgBB melalui jaringan subkutan disertai pemberian yoghurt yang difortifikasi buah delima (P2, P3, P4). Induksi 1,2 DMH pada hewan coba dilakukan selama 5 minggu sedangkan, pemberian yoghurt delima dilakukan dengan cara sonde sesuai dengan perlakuan setiap hari selama 4 minggu. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari yoghurt yang dibuat dengan mencampurkan yoghurt plain dan sari buah delima yang difermentasi, dimana proporsi sari buah delima lebih banyak menghasilkan nilai persen inhibisi sebesar 77,96%. Pemberian yoghurt delima selama 4 minggu mampu untuk memperbaiki gambaran histopatologi tikus yang diinduksi



1,2 DMH. Perbaikan gambaran histopatologi pada kolon tikus yang diinduksi 1,2 DMH yang paling baik dicapai oleh kelompok perlakuan P3 dimana proporsi delima lebih banyak jika dibandingkan dengan yoghurt plain.

Kata Kunci : antioksidan; delima; histopatologi; kanker kolon; yogurt

PENDAHULUAN

Berdasarkan data World Health Organization pada tahun 2020 terdapat lebih dari 1.9 juta kasus kanker kolon di Dunia. Selain itu, data dari Globocan 2020 mengungkapkan bahwa kanker kolorektal di Indonesia menduduki posisi ke empat di bawah kanker payudara, kanker serviks dan kanker payudara. Jumlah kasus baru kanker kolon menurut data WHO adalah 34.189 atau sebesar 8,6% dari semua kanker baru seluruh kanker di Indonesia. Kanker kolon atau sering disebut juga kanker kolorektal adalah masalah kesehatan berupa tumbuhnya sel kanker pada jaringan usus besar (kolon) dan rektum (bagian usus paling bawah sampai anus/dubur). Gejala yang umumnya timbul pada penderita kanker kolon adalah diare, konstipasi, diare yang disertai dengan keluarnya darah, nyeri perut, penurunan berat badan yang drastis, mudah lelah serta defisiensi zat besi (Kemenkes, 2020).

Beberapa faktor meningkatkan risiko kanker kolon diantaranya adalah faktor genetik dan gaya hidup yang tidak sehat.

Menurut Yu et al. (2022) gaya hidup yang tidak sehat meliputi kurangnya aktivitas fisik, kelebihan berat badan, konsumsi alkohol, merokok, pola makan tinggi lemak serta kurangnya konsumsi buah dan sayur dapat meningkatkan 71% resiko terkena kanker kolon. Pengobatan Kanker kolon selama ini dilakukan melalui pembedahan, penyinaran, dan kemoterapi. Pembedahan umumnya tidak efektif lagi untuk sel yang telah mengalami metastasis. Penyinaran seringkali tidak efektif dan tidak aman untuk sel – sel normal. Penggunaan kemoterapi anti-kanker belum memberikan hasil yang optimal karena bekerja tidak spesifik sehingga dapat merusak sel normal (Retnaningsih, 2022).

Kanker kolon disebabkan oleh adanya mutasi genetik yang mengakibatkan perubahan sel menjadi tidak terkendali. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya komponen radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan pada DNA yang dapat menghalangi proses transkripsi DNA dan menyebabkan terjadinya mutasi genetik. Antioksidan adalah molekul yang stabil



untuk mendonorkan elektron ke molekul radikal bebas yang reaktif dan menetralsirkannya, sehingga menjadi non-reaktif dan tidak merusak komponen lain (Islam et al., 2022). Salah satu sumber antioksidan yang banyak digunakan dalam pencegahan dan pengobatan kanker adalah buah delima. Buah delima (*Punica granatum*) mengandung beberapa senyawa antioksidan yang penting bagi tubuh diantaranya Antosianin. Antosianin yang dapat diidentifikasi pada buah delima merah antara lain *delphinidin 3-glucoside* dan *3,5-diglucoside*, *cyandin 3-glucoside* dan *3,5-diglucoside*, *pelargonidin 3-glucoside* dan *3,5 diglucoside* (Zhao et al., 2021). Pada buah delima terdapat pula senyawa flavonoid (golongan polifenol) yang dapat menstabilkan senyawa oksigen reaktif yang dapat mengurangi kerusakan akibat radikal bebas (Eroglu et al., 2021). Senyawa radikal karsinogenik yang akan dimetabolisme di dalam tubuh sehingga dapat memunculkan agen oksidasi dan membentuk kanker yaitu 1,2-dimethylhidrazine (DMH).

Selain itu, Sun et al. (2022) mengungkapkan bahwa konsumsi yoghurt yang mengandung probiotik dapat mengurangi resiko terjadinya kanker kolon.

Bakteri pada yoghurt menghambat pertumbuhan sel kanker dengan mekanisme apoptosis sel tumor. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dibahas terkait pengaruh yoghurt yang difortifikasi dengan buah delima pada hewan coba berupa tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi senyawa 1,2-dimethylhidrazine (DMH).

METODE

Desain penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain metode *post test control group design*. Sampel dipilih secara random dari populasi berupa tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) berumur 6 – 7 minggu dengan perlakuan antara lain:

1. Kontrol negatif (P0) : Pemberian diet normal (AIN – 93 M)
2. Kontrol positif (P1) : Pemberian diet normal + 30 mg/KgBB 1,2 DMH untuk mengkondisikan tikus menderita kanker kolon
3. Perlakuan 2 (P2) : Hasil P1 yang kemudian diberi yoghurt : delima (1:1)



4. Perlakuan 3 : Hasil P1 yang kemudian (P3) diberi yoghurt : delima (1:2)
5. Perlakuan 4 : Hasil P1 yang kemudian (P4) diberi yoghurt : delima (2:1)

Subyek penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus wistar jantan (*Ratus norvegicus*) berumur 6 – 7 minggu dengan berat badan antara 180 – 200 gram, dengan kondisi sehat, aktivitas dan tingkah laku normal. Tikus tersebut kemudian dipelihara pada bak plastik berukuran 45cm x 35,5cm x 14,5cm secara *ad libitum*.

Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bak plastik berukuran 45cm x 35,5cm x 14,5cm dengan tutup kandang terbuat dari kawat, spektrofotometer UV – Vis, *glassware*, timbangan, autoklaf, alat sonde, kaca preparate, mikroskop

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi susu sapi segar, susu skim, *starter* yoghurt “Biokul”, buah delima (*Punica granatum*), aquadest, tikus wistar jantan

(*Rattus norvegicus*); 1,2 – dimetilhidrazine (DMH), pakan standard AIN – 93 M, kapas, sekam, buffer formalin 10%, DPPH, ethanol, kloroform.

Tahapan penelitian

Pemeliharaan dan pengkondisian tikus putih

Tikus terlebih dahulu ditimbang berat badannya kemudian dimasukkan kedalam kandang yang dibuat dari bak plastik dengan penutup kawat dan diberi alas berupa sekam dengan ketebalan 1-2 cm. Tikus diadaptasikan selama 1 minggu dengan diberi pakan standar AIN – 93 M dan air minum secara *ad libitum*. Komposisi pakan standard AIN – 93 M yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Komposisi Pakan AIN – 93 M (Maligan *et al.*, 2011)

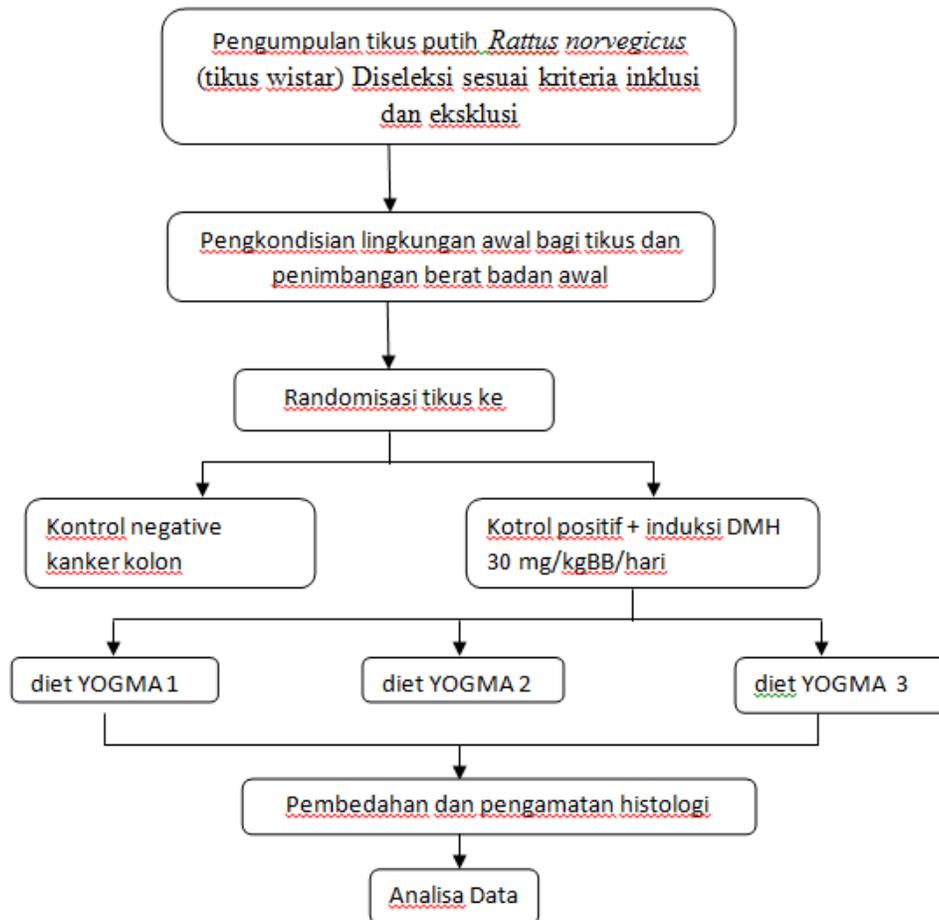
Komponen	Komposisi (gram/kg diet)
Tepung Jagung	620,692
Kasein	140
Sukrosa	100
Minyak Kedelai	40
Serat	50
Mineral <i>mix</i>	35
Vitamin <i>mix</i>	10
L-Sistein	1,8
Kolin bitartrat	2,5
TBHQ	0,008
Total	1000

Tikus dibagi menjadi kelompok yang sudah ditentukan, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan yang diinduksi 1,2 DMH sebesar 20 mg/KgBB melalui jaringan subkutan



disertai pemberian yoghurt yang difortifikasi buah delima. Induksi 1,2 DMH pada hewan coba dilakukan selama 5 minggu sedangkan, pemberian yogurt delima dilakukan dengan cara sonde sesuai dengan perlakuan setiap hari selama 4 minggu. Selama perlakuan induksi 1,2 – DMH

dan pemberian yoghurt delima, hewan coba tetap diberikan pakan standard AIN – 93 M dan minum secara *ad libitum*. Perlakuan dan pengkondisian hewan coba selama pengujian dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Diagram Alir Perlakuan dan Pengkondisian Hewan Coba

Pembuatan yoghurt delima

Proses pembuatan yoghurt delima dilakukan melalui 3 metode yang berbeda

dengan 3 proporsi yang berbeda pula. Fungsi dari pembuatan yoghurt dalam 3 metode yang berbeda ini adalah untuk mengetahui pengaruh



pembuatan yoghurt terhadap kadar antioksidan yang dihasilkan. Proses pembuatan yoghurt tersebut dilakukan menurut metode Ibrahim *et al.* (2020) dan Ning *et al.* (2021) yaitu sebagai berikut:

1. **(A1) (I)** Sari buah delima dipasteurisasi pada suhu 90 °C selama 15 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang hingga mencapai suhu 30 °C. Sari buah delima yang sudah dipasteurisasi sebanyak 100 mL ditambah dengan susu skim sebanyak 10% b/v dan sukrosa 5% b/v, kemudian diberikan *starter* yoghurt dengan perbandingan 1:5. (v/v) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27 °C. **(II)** Susu sapi segar dipasteurisasi pada suhu 90 °C selama 15 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang hingga mencapai suhu 30 °C. Susu sapi segar yang sudah dipasturisasi sebanyak 100 mL ditambah dengan susu skim sebanyak 10% b/v dan sukrosa sebanyak 5% b/v, kemudian diberikan *starter* yoghurt dengan perbandingan 1:5. (v/v) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27 °C. Setelah itu, hasil dari pencampuran (I) dan (II) dicampurkan sesuai dengan proporsi yaitu 1:1, 1:2, dan 2:1
2. (A2) Sari buah delima dan susu sapi segar

dipasteurisasi pada suhu 90 °C selama 15 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang hingga mencapai suhu 30 °C. Susu sapi segar dan sari buah delima yang sudah dipasteurisasi kemudian dicampurkan dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1, setelah itu ditambahkan susu skim sebanyak 10% b/v dan sukrosa sebanyak 5% b/v, kemudian diberikan *starter* yoghurt dengan perbandingan 1:5. (v/v) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27 °C.

3. (A3) Susu sapi segar dipasteurisasi pada suhu 90 °C selama 15 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang hingga mencapai suhu 30 °C. Susu sapi segar yang sudah dipasturisasi sebanyak 100 mL ditambah dengan susu skim sebanyak 10% b/v dan sukrosa sebanyak 5% b/v, kemudian diberikan *starter* yoghurt dengan perbandingan 1:5. (v/v) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27 °C. Setelah itu, campuran ditambahkan sari buah delima dengan proporsi yoghurt *plain* : sari buah delima adalah 1:1, 1:2, dan 2:1

Pengukuran aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan pada yoghurt dilakukan berdasarkan metode Kurniawati *et al.* (2024). Penentuan aktivitas



antioksidan dilakukan dengan menggunakan reagen 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl (DPPH). Yoghurt yang sudah difortifikasi dengan sari buah delima dilakukan pengenceran dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil pengenceran tersebut diambil sebanyak 3ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi gelap dan ditambahkan 1ml reagent DPPH 0,2 mM . Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Setelah selesai diinkubasi, dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517nm. Nilai persen inhibisi diperoleh dengan menggunakan persamaan (1)

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

.....
...(1)

Pengamatan histopatologi

Dilakukan pembedahan pada semua sampel tikus dengan berbagai perlakuan. Kemudian dilakukan pengamatan pada organ kolon, dilakukan pewarnaan *hematoksin eosin* dan selanjutnya diamati jumlah dan area nodul pada kolon.

Analisis data

Data yang telah diperoleh pada penelitian ini kemudian diolah menggunakan

software Microsoft Excel dan *software Minitab ver 16*. Analisis data secara deskriptif dilakukan untuk mengetahui pengaruh metode pembuatan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan dan pengaruh pemberian yoghurt terhadap kenampakan kolon tikus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh metode pembuatan yoghurt delima terhadap aktivitas antioksidan

Pada penelitian ini dilakukan 3 metode pembuatan yoghurt delima untuk mengetahui pengaruh jenis metode pembuatan yoghurt delima terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan pada penelitian ini dinyatakan dengan persen inhibisi. Berdasarkan Kurniawati *et al.* (2024) disebutkan bahwa persen inhibisi adalah kemampuan suatu antioksidan untuk merusak 50% struktur dari senyawa radikal sehingga senyawa tersebut kehilangan kemampuannya sebagai senyawa radikal. Semakin tinggi persen inhibisi suatu zat maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut. Pada Tabel 2. dapat dilihat bahwa rata – rata aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari yoghurt delima yang dibuat dengan metode A1.



Pada metode pembuatan A1, sari buah delima dilakukan proses fermentasi terlebih dahulu dengan menggunakan *starter* BAL kemudian dilanjutkan pencampuran dengan yoghurt *plain* pada proporsi tertentu. Menurut Leonard *et al.*, (2021) mengemukakan bahwa fermentasi komponen antosianin menggunakan bakteri asam laktat (BAL) dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dimana pada proses ini terjadi perubahan bentuk molekul antosianin menjadi bentuk *aglycone*. Antosianin dan flavonoid yang semula ada dalam bentuk kompleks dan

berikatan dengan senyawa lain (glukon) akan menjadi bebas (aglukon) dan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar. Braga *et al.*, (2018), Devi *et al.*, (2020) dan juga mengungkapkan bahwa fermentasi oleh BAL dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang diukur dengan menggunakan metode ABTS menjadi sebesar 49,2 dan 90,7% akibat perubahan bentuk struktur antosianin menjadi lebih sederhana dan tidak terikat oleh komponen lain (*aglycone*).

Tabel 2. Pengaruh Metode Pembuatan Yoghurt terhadap Aktivitas Antioksidan

Metode Pembuatan	Variasi Pencampuran (Yoghurt : Jus Delima)	% Inhibisi (PI)	Rata-rata PI (%)
(A2)	(1:1)	27.78	39.92
	(1:2)	31.87	
	(2:1)	60.11	
(A3)	(1:1)	80.96	61.59
	(1:2)	46.08	
	(2:1)	57.74	
(A1)	(1:1)	72.86	68.85
	(1:2)	77.96	
	(2:1)	55.74	

Pengaruh proporsi yoghurt dan sari buah delima terhadap pH dan aktivitas antioksidan

Berdasarkan data pada Tabel 3. dapat dilihat bahwa nilai pH semakin menurun seiring dengan peningkatan penambahan sari delima yang ditambahkan. Selain itu, nilai aktivitas antioksidan juga semakin

meningkat seiring dengan peningkatan sari delima yang ditambahkan. Hal ini sesuai dengan penelitian Bchir *et al.* (2019) bahwa penurunan pH dan peningkatan aktivitas antioksidan disebabkan oleh peningkatan konsentrasi ekstrak buah delima yang ditambahkan. Penurunan pH akibat penambahan ekstrak buah delima ini dapat



disebabkan oleh adanya kandungan asam organik pada buah delima. Kandungan asam organik pada buah delima diantaranya adalah asam sitrat (0.33 -8.96 g/L); asam malat (0.56 – 6.86 g/L); asam tartarat, oksalat dan suksinat (Gumienna *et al.*,

2015). Selain itu menurut Mittal *et al.* (2020) menyatakan bahwa penurunan pH juga dapat disebabkan oleh adanya asam – asam organik yang dihasilkan selama proses fermentasi berlangsung.

Tabel 3. Pengaruh Proporsi Yoghurt dan Sari Buah Delima terhadap pH dan Aktivitas Antioksidan

Perlakuan	Proporsi Yoghurt : Sari Buah Delima	Nilai pH	Aktivitas Antioksidan (%PI)
P2	1:1	4,31	72.86
P3	1:2	4,27	77.96
P4	2:1	4,34	55.74

Pengaruh pemberian 1,2 DMH dan yoghurt delima terhadap berat badan tikus

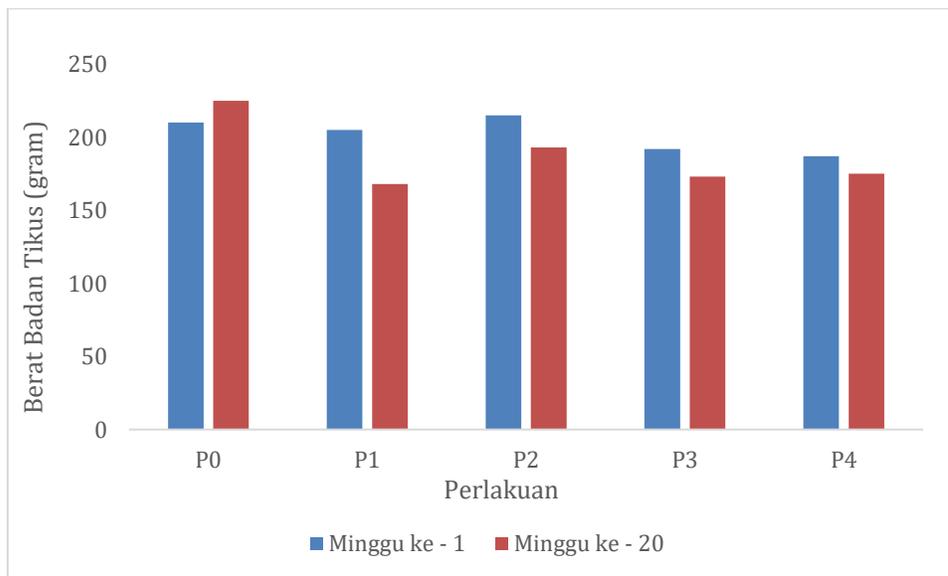
Pada penelitian ini dilakukan pengukuran berat badan tikus pada masing – masing kelompok perlakuan yang dilakukan setiap minggu selama 20 minggu perlakuan. Berdasarkan data pada Gambar 2. tikus kelompok kontrol yang diinduksi 1,2 – DMH saja tanpa adanya pemberian yoghurt yang difortifikasi jus buah delima (P1) menunjukkan penurunan berat badan yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Selain itu, kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan pakan standar saja (P0) tidak menunjukkan penurunan berat badan namun terjadi peningkatan berat badan tikus. Pada kelompok tikus yang diinduksi 1,2 – DMH serta dilakukan pemberian yoghurt delima juga

menunjukkan penurunan berat badan, namun tidak setinggi yang terjadi pada kelompok P1. Hal ini sesuai dengan penelitian Lokeshkumar *et al.* (2015) dan Thangaraj *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa senyawa 1,2 – DMH merupakan komponen *procarcinogen* yang dimetabolisme dalam tubuh menjadi senyawa yang memiliki gugus metil dan bersifat radikal bebas. Senyawa ini memicu terbentuknya *hydroxyl radical* dan hydrogen peroksida yang dengan adanya ion logam dapat menginisiasi tahap awal terjadinya kanker dan kerusakan oksidatif pada sel yang ditandai dengan terbentuknya *malonodialdehyde* (MDA). Pemberian 1,2 – DMH juga dapat memicuterbentuknya senyawa radikal bebas terutama pada bagian kolon dan peningkatan enzim *superoxide dismutase* (SOD) yang merupakan salah satu indikator terjadinya



kerusakan sel akibat adanya senyawa radikal bebas. Akibat adanya sifat toksisitas yang dimiliki oleh 1,2 – DMH ini dapat menyebabkan terjadinya penurunan berat badan pada hewan coba. Pada tikus yang diberi perlakuan kontrol negatif (P0) menunjukkan adanya peningkatan berat badan tikus yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan yang normal terjadi pada hewan

coba. Sedangkan, pada kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 terlihat terjadi penurunan berat badan tikus namun tidak setinggi pada perlakuan P1 yang disebabkan oleh adanya efek *chemopreventive* dari komponen antosianin yang terdapat pada yoghurt delima (Bars *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2021).



Gambar 2. Perubahan Berat Badan Tikus

Pengaruh pemberian yoghurt delima terhadap gambaran histopatologi kolon

Induksi 1,2 – DMH dilakukan pada hewan coba selama 5 minggu pada jaringan subkutan, Kemudian dilakukan pengamatan histopatologi dengan pewarnaan HE (*Hematosilin Eosin*) lalu diamati dengan mikroskop perbesaran 200 kali di mikroskop.

Berdasarkan data pada Gambar 3A. Kelompok tikus kontrol negatif (P0) terlihat bentuk dan susunan sel kolon yang masih teratur, belum ada pemecahan pembuluh darah maupun pelebaran lapisan *submucosa*. Hal ini sesuai dengan penelitian Lhokeskumar *et al.* (2015) yang juga melakukan pengamatan histopatologi pada kolon tikus yang tidak diberikan perlakuan apapun



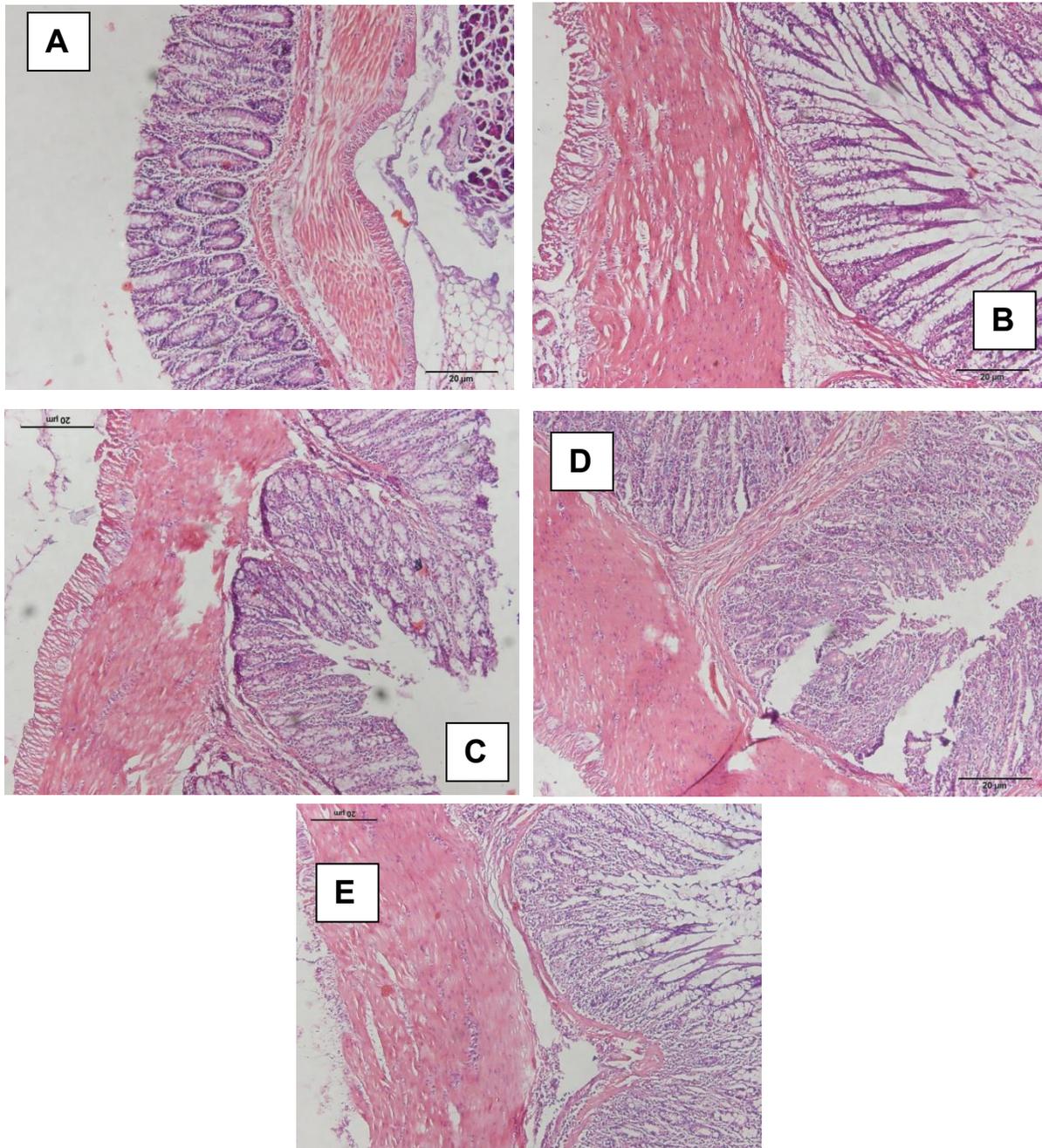
menunjukkan hasil nukleus dan sitoplasma dari sel masih terusun dengan rapi, tidak ada pemecahan pembuluh darah dan pembesaran ukuran.

Pada Gambar 3B yaitu tikus yang diberikan perlakuan 1,2 – DMH tanpa diberikan yoghurt delima (kelompok perlakuan P1) terlihat ukuran sel – sel tidak teratur, tampak terdapat beberapa pemecahan pembuluh darah. Komponen 1,2 – DMH ketika diinduksi pada hewan coba akan dieksresikan melalui empedu dan menyebabkan efek karsinogenik bagi kolon. DMH akan di metabolisme pada liver untuk membentuk *azoxymethane* dan *methylazoxymethanol* yang kemudian akan ditransportasikan menjadi komponen yang bersifat karsinogenik dan ion *diazonium* yang dapat mengakibatkan *stress oksidatif* pada sel epitelium usus dan mengakibatkan efek promutagenik yang menyebabkan inflamasi dan pembentukan tumor (Jam *et al.*, 2021).

Pada Gambar 3D yang merupakan preparat tikus perlakuan P3 dengan proporsi buah delima yang lebih banyak, terlihat ada perbaikan pada lapisan *muscularis externa*. Sel – sel epitel yang semula tersusun longgar akibat adanya *nekrosis* mulai rapat kembali. Selain itu, pada tikus yang diinduksi 1,2 DMH

pada perlakuan P1 (Gambar 3B), bentuk sel terlihat lonjong dengan ujung sel yang tidak teratur, pada kelompok P3 mulai ada perbaikan dinding sel (Gambar 3C). Selain itu jika pada kelompok kontrol positif terjadi pemecahan pembuluh darah, pada perlakuan P3 ini sudah terdapat perbaikan pembuluh darah dan inti selnya mulai terlihat teratur dimana sebelumnya pada P1 (Gambar 3b) inti sel banyak yang hilang. Selain itu juga terlihat ada perbaikan pada lapisan terluar dari usus yaitu lapisan *submucosa* dan *muscularis mucosa*. Hal ini sesuai dengan penelitian Jam *et al.* (2021) dan Hamiza *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa kandungan senyawa antioksidan alami dari tumbuh – tumbuhan dapat berperan sebagai *chemo preventive*. Induksi 1,2 DMH yang merupakan komponen karsinogenik pada hewan coba dapat menyebabkan terjadi stress oksidatif yang diawali dengan peristiwa peroksidasi lemak (*lipid peroxidation*) yang ditandai dengan adanya kenaikan nilai *malonaldehyde* (MDA). Adanya senyawa antioksidan berupa antosianin dari delima dapat mengurangi kerusakan dan inflamasi pada sel karena adanya mekanisme donor elektron pada





Gambar 3. Keterangan: (A)P1 (B) P1, (C) P2, (D) P3, (E) P4



senyawa radikal bebas yang membuat senyawa radikal bebas tidak bersifat radikal lagi. Mekanisme normalisasi senyawa radikal bebas oleh antosianin ini hamper mirip seperti mekanisme enzim *Glutathione Reductase* (GR), dan *Glutathione S-transferase* (GST) *glutathione peroxidase* (GPX)

Pada tikus kelompok perlakuan P4 (Gambar 3E) dimana yoghurt yang diberikan memiliki proporsi yoghurt *plain* yang lebih banyak terlihat ada perubahan dan perbaikan dibandingkan tikus kelompok positif (P1 Gambar 3b). Sel – sel yang tersusun longgar akibat adanya nekrosis mulai rapat. Inti sel mulai terlihat dan perbaikan pada dinding pembuluh darah (*blood vessel*) namun pada sel bagian terluar kolon yaitu *muscularis mukosa* dan lapisan mukosa masih terlihat rusak dan belum ada perbaikan. Hal ini terlihat dari jika pada kondisi normal (P0 gambar 3A) lapisan *muscularis mucosa* dipenuhi dengan jonjot yang berbentuk spiral yang merupakan *intestinal glands*. Namun pada kelompok P4 (Gambar 3E) ini tidak terlihat adanya jonjot pada lapisan *muscularis mucosa*. Menurut Jam *et al.* (2021) dan Desrouill`eres *et al.* (2015) mengemukakan bahwa bakteri *bifidobacteria*

dan *lactobacilli* pada yoghurt dapat menghambat pertumbuhan sel kanker pada kolon dengan mekanisme *apoptosis* sel tumor dan mencegah sel tumor untuk berkembang lebih banyak. *Lactobacillus acidophilus* dan *lactobacillus plantarum* dapat mencegah pembentukan ACF dan mengurangi pembentukan *Aberrant Crypt Foci* (ACF) dari tikus yang diinduksi 1,2 DMH serta mengurangi proliferasi sel dan meningkatkan *apoptosis*.

1,2 DMH merupakan senyawa karsinogenik yang dapat menyebabkan kanker kolon. Senyawa ini akan dimetabolisme di dalam hati melalui jalur sitokrom P450 yang dapat mengakibatkan terbentuknya agen oksidasi yang menyebabkan DNA menjadi mutasi dan terbentuk kanker. 1,2 DMH merupakan senyawa radikal. Perbaikan sel pada tikus yang diberi perlakuan P3 dimana proporsi jus delima lebih banyak menunjukkan perbaikan sel yang lebih baik dibanding P2 dan P4. Hal ini karena kandungan antioksidan yang lebih banyak. Antioksidan bersifat meredam atau menetralkan radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif, dengan cara mendonorkan satu atomnya pada agen oksidan sehingga zat radikal tersebut menjadi tidak reaktif lagi.



Jika zat radikal itu sudah tidak reaktif, maka tidak akan menyebabkan mutasi lagi pada DNA sehingga perbanyakkan sel kanker (tidak normal) dapat dicegah. Selain itu antioksidan juga berperan dalam perbaikan sel yang rusak.

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari yoghurt yang dibuat dengan mencampurkan yoghurt *plain* dan sari buah delima yang difermentasi, dimana proporsi sari buah delima lebih banyak menghasilkan nilai persen inhibisi sebesar 77,96%. Induksi 1,2 DMH pada kelompok tikus P1, P2, P3, dan P4 selama 5 minggu mampu menurunkan berat badan tikus. Penurunan berat badan paling tinggi dialami oleh tikus kelompok perlakuan P1. Pemberian diet standar AIN 93-M pada P0 selama masa pemeliharaan mampu meningkatkan berat badan tikus dibandingkan perlakuan P1, P2, P3, dan P4. Pemberian *yoghurt* delima selama 4 minggu mampu untuk memmpbaiki gambaran histopatologi tikus yang diinduksi 1,2 DMH. Perbaikan gambaran histopatologi pada kolon tikus yang diinduksi 1,2 DMH yang paling baik dicapai oleh kelompok perlakuan P3 dimana proporsi delima lebih banyak jika

dibandingkan dengan yoghurt *plain*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bars-Cortina, D., Sakhawat, A., Piñol-Felis, C., & Motilva, M. J. (2022). Chemopreventive effects of anthocyanins on colorectal and breast cancer: A review. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 81, pp. 241-258). Academic Press.
- Bchir, B., Bouaziz, M. A., Blecker, C., & Attia, H. (2019). Physicochemical, Antioxidant activities, Textural and Sensory Properties of yoghurt fortified with different states and rates of pomegranate seeds (*Punica granatum L.*). *Journal of Texture Studies*.
- Dahiya, D., & Nigam, P. S. (2022). The gut microbiota influenced by the intake of probiotics and functional foods with prebiotics can sustain wellness and alleviate certain ailments like gut-inflammation and colon-cancer. *Microorganisms*, 10(3), 665.
- Desrouill`eres, K., Millette, M., Vu, K. D., Touja, R., & Lacroix, M. (2015). Cancer preventive effects of a specific probiotic fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* CL1285, *L. casei* LBC80R and *L. rhamnosus* CLR2 on male F344 rats treated with 1, 2-dimethylhydrazine. *Journal of Functional Foods*, 17, 816–827.
- Eroglu Ozkan, E., Seyhan, M. F., Kurt Sirin, O., Yilmaz-Ozden, T., Ersoy, E., Hatipoglu Cakmar, S. D., Ozturk, O.



- (2021). Antiproliferative effects of Turkish pomegranate (*Punica granatum* L.) extracts on MCF-7 human breast cancer cell lines with focus on antioxidant potential and bioactive compounds analyzed by LC-MS/MS. *Journal of Food Biochemistry*, 45(9), e13904.
- Gumienna, M., Szwengiel, A., & Górna, B. (2015). Bioactive components of pomegranate fruit and their transformation by fermentation processes. *European Food Research and Technology*, 242, 631–640.
- Hamiza, O. O., Rehman, M. U., Tahir, M., Khan, R., Khan, A. Q., Lateef, A., Sultana, S. (2012). Amelioration of 1, 2-Dimethylhydrazine (DMH) induced colon oxidative stress, inflammation and tumor promotion response by tannic acid in Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(9), 4393-4402.
- Ibrahim, A., Awad, S., & El-Sayed, M. (2020). Impact of pomegranate peel as prebiotic in bio-yoghurt. *British Food Journal*, 122(9), 2911-2926.
- Islam, M. R., Akash, S., Rahman, M. M., Nowrin, F. T., Akter, T., Shohag, Simal-Gandara, J. (2022). Colon cancer and colorectal cancer: Prevention and treatment by potential natural products. *Chemico-biological interactions*, 368, 110170.
- Jam, S. A. M., Talebi, M., Alipour, B., & Khosroushahi, A. Y. (2021). The therapeutic effect of potentially probiotic *Lactobacillus paracasei* on dimethylhydrazine induced colorectal cancer in rats. *Food Bioscience*, 41, 101097.
- Jam, S. A. M., Talebi, M., Alipour, B., & Khosroushahi, A. Y. (2021). The therapeutic effect of potentially probiotic *Lactobacillus paracasei* on dimethylhydrazine induced colorectal cancer in rats. *Food Bioscience*, 41, 101097.
- Kurniawati, A. D., Latifasari, N., Budiary, D. F., Arlian, F., & Lu'lu, A. (2024). Peningkatan stabilitas oksidatif pada minyak kedelai dalam mempertahankan kualitas minyak goreng pada penggorengan berulang. *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 15(1), 83-94.
- Leksono, B. Y., Cahyanto, M. N., Rahayu, E. S., Yanti, R., & Utami, T. (2022). Enhancement of antioxidant activities in black soy milk through isoflavone aglycone production during indigenous lactic acid bacteria fermentation. *Fermentation*, 8(7), 326.
- Leonard, W., Zhang, P., Ying, D., Adhikari, B., & Fang, Z. (2021). *Fermentation transforms the phenolic profiles and bioactivities of plant-based foods. Biotechnology Advances*, 49, 107763.
- Lokeshkumar, B., Sathishkumar, V., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Madankumar, A., & Balasubramanian, M. P. (2015). Anti-oxidative effect of myrtenal in prevention and treatment of colon cancer induced by 1, 2-dimethyl hydrazine (DMH) in experimental animals. *Biomolecules & Therapeutics*, 23(5), 471.
- Maligan, J. M., Estiasih, T., Sunarharum, W. B., & Rianto, T. (2011).



- Hypocholesterolemics Effects of Yam Tuber (*Dioscorea hispida* Dennst) flour on Male Wistar Rat with Hypercholesterol Diet. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(2).
- Mittal, M., Thakur, A., Kaushik, R., & Chawla, P. (2020). Physicochemical properties of *Ocimum sanctum* enriched herbal fruit yoghurt. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(12), e14976.
- Ning, X., Luo, Z., Chen, Z., Zhou, C., Xie, C., Du, W., & Wang, L. (2021). Fortification of set yogurt with passion fruit juice: Effects on fermentation kinetics, physicochemical properties, and functionality. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4084-4093.
- Retnaningsih, D. (2021). *Keperawatan Paliatif*. Penerbit NEM.
- Shi, N., Chen, X., & Chen, T. (2021). Anthocyanins in colorectal cancer prevention review. *Antioxidants*, 10(10), 1600.
- Yu, J., Feng, Q., Kim, J. H., & Zhu, Y. (2022). Combined effect of healthy lifestyle factors and risks of colorectal adenoma, colorectal cancer, and colorectal cancer mortality: systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Oncology*, 12, 827019.
- Zhao, X., & Yuan, Z. (2021). Anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum* L.) and their role in antioxidant capacities in vitro. *Chemistry & Biodiversity*, 18(10), e2100399.

