

BAB I**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Saat ini banyak senyawa produk industri yang bersifat toksik dan teratogenik. Diantaranya adalah *2-Methoxyethanol* (2-ME) yang merupakan DMEP (*dimethoxyethyl phthalate*) yaitu salah satu turunan dari *phthalic acid ester* (PAEs) dan digunakan secara luas sebagai *plasticizer* dalam pembuatan plastik. *Phthalic acid ester* telah diketahui menjadi polutan di perairan, ditemukan di mitokondria dalam hati domba, terakumulasi dalam tubuh ikan, dalam bahan makanan, dan jaringan tubuh manusia. Senyawa 2-ME juga digunakan sebagai pelarut untuk berbagai tujuan seperti pernis, pewarna, dan resin. Senyawa 2-ME masuk ke dalam tubuh melalui tubuh melalui mulut, sistem pernapasan, atau melalui pori-pori kulit yang terkena langsung dan segera menyebar ke seluruh tubuh (Copestake, 2009). Di dalam sel, 2-ME akan mengalami proses oksidasi. Oksidasi 2-ME menyebabkan molekul H hilang dan memakai oksigen bebas yang lepas dari radikal bebas. Proses oksidasi 2-ME di dalam sel dapat memicu terbentuknya radikal yang bersifat reaktif dan oksidan yang mengakibatkan kerusakan dan kematian sel (Nicola *et al.*, 2008).

Senyawa 2-ME masuk dalam tubuh dimetabolisme dengan katalis *alcohol dehidrogenase* menjadi *2-methoxyacetaldehyde* (MALD). Kemudian oleh *aldehyd dehidrogenase* diubah menjadi *2-methoxyaceticacid* (MAA) yang toksik. Enzim golongan dehidrogenase bekerja pada reaksi pengambilan atom hidrogen dari suatu senyawa (donor). Hidrogen yang di lepas diterima oleh senyawa lain

(akseptor). Reaksi pembentukan aldehida dari alkohol adalah contoh reaksi dehidrogenase. Enzim yang bekerja pada reaksi ini ialah *alcohol dehidrolase*. MAA merupakan oksidan kuat yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Mekanisme toksisitas MAA adalah melalui peningkatan permeabilitas membran sel. Keadaan ini mengakibatkan influks Ca^{2+} berlebih, sehingga mengganggu keseimbangan ionik di dalam sitoplasma sel yang mengakibatkan kerusakan hingga kematian sel.

Salah satu organ yang sering mengalami perubahan akibat efek samping penggunaan suatu zat atau makanan adalah ginjal. Ginjal merupakan salah satu organ yang berperan aktif melakukan detoksifikasi zat yang masuk ke dalam tubuh, dimana organ ini menerima 20-30% sirkulasi darah (Santoso *et al.*, 2006), sehingga kemungkinan terjadi perubahan ke arah patologik akibat terpapar zat-zat yang bersifat toksik sangat besar. Indikator adanya gangguan ginjal dapat diketahui dengan mengamati adanya proliferasi glomerulus yang berasal dari pembengkakan dan penambahan sel-sel endotel dan kapiler. Ginjal menghasilkan urin yang merupakan jalur utama ekskresi toksikan. Ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, dan membawa toksikan melalui sel tubulus, serta mengaktifkan toksikan tertentu. Akibatnya ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik (Santoso *et al.*, 2006).

Salah satu faktor yang mempengaruhi perubahan struktur dan fungsi dari sel ginjal adalah adanya radikal bebas. Kadar radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya kondisi stres oksidatif serta memicu terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel yang akan menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA).

Malondialdehyde (MDA) dijadikan sebagai biomarker kadar radikal bebas di dalam tubuh (Agarwal, 2005). Radikal bebas merupakan salah satu produk reaksi kimia dalam tubuh yang bersifat sangat reaktif dan mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga bersifat tidak stabil. Karena bersifat reaktif, maka radikal bebas menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak komponen sel hidup seperti protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat. Secara umum radikal bebas dibagi menjadi dua, yaitu radikal bebas endogen dan radikal bebas eksogen. Radikal bebas endogen diantaranya adalah superoksida (O_2^*), radikal hidroksil (OH^*), radikal nitrat oksida (NO^*) dan radikal lipid peroksil (LOO^*). Sedangkan radikal bebas eksogen diantaranya adalah asap rokok, polutan lingkungan, radiasi, obat-obatan tertentu, pestisida, larutan industry dan ozon (Hayati, 2011). Beberapa pembahasan mutakhir tentang mekanisme terjadinya penyakit, mensinyalir bahwa stres oksidatif dan radikal bebas sangat berpengaruh terhadap kerusakan jaringan pada sel ginjal.

Menurut Sauriasari (2006), stres oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas (prooksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Keadaan stres oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh dan menyebabkan munculnya beberapa penyakit. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan yang disebabkan oleh stres oksidatif. Peningkatan produksi radikal bebas dapat menyebabkan kelainan pada ginjal. Salah satu bahan kimia yang bersifat toksik

dan oksidan kuat yang dapat menyebabkan kerusakan sel adalah 2-*Methoxyethanol* (2-ME) (Prakash *et al.*, 2012).

Seperti halnya hati, ginjal juga rawan terhadap zat-zat toksik. Oleh karena itu, zat toksik yang terlalu banyak berada di dalam ginjal diduga akan mengakibatkan kerusakan sel, seperti degenerasi sel atau bengkak keruh (*cloudy swelling*) dan nekrosis. Pada ginjal, 2-ME mengakibatkan sel tubulus ginjal mengalami degenerasi sel atau bengkak keruh yang merupakan degenerasi yang paling ringan bersifat reversibel. Ditandai adanya timbunan albumin dalam sitoplasma serta tampak keruh dan membengkak sehingga lumen tubulus ginjal mengalami penyempitan. Selain itu, 2-ME dapat mengakibatkan nekrosis atau kematian sel pada epitel glomerulus dan tubulus ginjal (Winaya dan Suarsana, 2005). Nekrosis ditandai dengan adanya piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Adanya nekrosis tersebut karena adanya kontak langsung antara racun yang diekskresi dalam urin dengan epitel-epitel sel tubulus ginjal.

Paparan zat-zat toksik yang berulang dapat menyebabkan terjadinya nekrosis tubular akut (NTA) nefrotoksik. Nekrosis tubular akut (NTA) bersifat reversibel karena sel epitel dapat mengalami regenerasi sebagai bentuk aktivitas mitotik pada sel epitel tubulus yang masih ada. Kerusakan khas terletak pada tubulus proksimal dimana terjadi penyempitan lumen dan nekrosis sel epitel tubulus, sedangkan pada tubulus distalis jarang ditemukan.

Sampai saat ini, telah banyak pemanfaatan tanaman obat tradisional oleh masyarakat Indonesia untuk menanggulangi beberapa penyakit. Upaya pemanfaatan tanaman sebagai sumber suatu obat menjadi pilihan utama bagi para

peneliti obat di Indonesia. Proses penemuan suatu obat dari suatu tanaman merupakan sesuatu yang tidak mudah dan membutuhkan waktu yang lama. Proses tersebut meliputi : studi etno farmakologi, kemo taksonomi, skrining senyawa bio-aktif, sintesis senyawa tunggal, studi pre-klinik maupun klinik, hingga produksi skala besar untuk tujuan medik. Salah satu tanaman tersebut adalah manggis (*Garcinia mangostana* L.), terutama pemanfaatan kulit buahnya. Pericarp manggis yang dibuang, ternyata dapat dikembangkan sebagai bahan obat. Pericarp manggis setelah diteliti ternyata mengandung beberapa senyawa dengan aktivitas farmakologi misalnya anti-inflamasi, anti-histamin, pengobatan penyakit jantung, anti bakteri, anti jamur. Selain itu, pericarp manggis memiliki kandungan antioksidan yang tinggi serta dapat bermanfaat untuk menyembuhkan peradangan, menstabilkan radikal bebas dan memperbaiki komunikasi antar sel (Fanany, 2013).

Beberapa senyawa utama kandungan pericarp manggis adalah golongan *xanthone*. Menurut Weecharangsan *et al.* (2006) dan Jujun *et al.* (2006), kandungan *xanthone* yang terdapat dalam pericarp manggis juga memiliki potensi antioksidan dalam menangkal adanya radikal bebas. Efek negatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas diyakini dapat dinetralisir oleh antioksidan di dalam tubuh. Tingginya radikal bebas dapat melemahkan mekanisme pertahanan antioksidan di dalam tubuh sehingga tidak mampu menetralisir efek radikal bebas. Oleh karena itu, dibutuhkan suplemen antioksidan dari luar seperti obat, makanan atau minuman (Astuti *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pericarp manggis, pada fraksi nonpolar ditemukan senyawa antioksidan saponin, -mangostin, dan triterpenoid (Acharya *et al.*, 2012). Pada fraksi semipolar ditemukan senyawa antioksidan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan polifenol, sedangkan pada fraksi polar ditemukan senyawa antioksidan flavonoid dan *xanthone*. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dengan cara mengurangi konsentrasi oksigen, mencegah pembentukan singlet oksigen yang reaktif, mencegah inisiasi rantai pertama dengan menangkap radikal primer seperti radikal hidroksil, mengikat katalis ion logam, mendekomposisi produk-produk primer radikal menjadi senyawa non-radikal, dan memutus rantai hidroperoksida.

Senyawa *xanthone* pada pericarp manggis merupakan antioksidan tingkat tinggi sehingga dapat dimanfaatkan untuk melindungi dan mengurangi kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas terutama kerusakan jaringan pada ginjal (Soediby, 2008). *Xanthone* merupakan substansi kimia alami yang berhubungan dekat dengan flavonoid dan tergolong senyawa fenol atau *polyphenolic*. Senyawa *xanthone* dan derivatnya dapat diisolasi dari pericarp manggis. Seperti halnya flavonoid, *xanthone* dimungkinkan terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida, yang berikatan dengan suatu gula. Karena itu biasanya *xanthone* dalam tumbuhan bersifat polar. Sesuai dengan hukum kelarutan *like dissolves like*, artinya kelarutan akan terjadi bila memiliki sifat kepolaran yang sama. Jumlah dan senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi berbeda-beda tergantung pada jenis tumbuhan.

Berdasarkan kandungan zat-zat yang berpotensi sebagai obat tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kerusakan struktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar senyawa *2-Methoxyethanol* setelah pemberian fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana* L.).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian variasi kepolaran fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) berpengaruh terhadap struktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-ME ?
2. Apakah pemberian variasi dosis pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) berpengaruh pada kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-ME ?
3. Pada fraksi kepolaran dengan dosis berapakah yang dapat bekerja secara optimal dalam memperbaiki kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-ME ?

1.3 Asumsi Penelitian

Penelitian ini didasarkan pada asumsi bahwa pericarp manggis mengandung *xanthone* yang mampu menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh oksidan kuat dari senyawa 2-ME. Di dalam tubuh, senyawa 2-ME dimetabolisme dalam hati menghasilkan MAA (*2-Methoxyaxeticacid*) yang sangat

toksik. Di dalam ginjal mekanisme toksisitas MAA adalah melalui peningkatan permeabilitas membran sel. Keadaan ini mengakibatkan influks Ca^{2+} menjadi berlebih (Ca^{2+} *overload*), sehingga mengganggu keseimbangan di dalam sitoplasma sel. Hal ini dapat mempengaruhi kerusakan akut pada struktur penyusun sel dan fisiologi ginjal, sehingga mengakibatkan adanya perubahan struktur sel ginjal (degenerasi sel dan nekrosis) terutama dalam tubulus proksimal ginjal yang merupakan tempat reabsorpsi dan sekresi zat toksik. Pemberian variasi tingkat kepolaran fraksi pericarp manggis dan dosis yang optimal dapat berpengaruh terhadap perbaikan kerusakan struktur sel yang terpapar oleh oksidan kuat 2-ME.

1.4 Hipotesis Penelitian

1.4.1 Hipotesis kerja

Jika pemberian fraksi pericarp manggis berpengaruh terhadap stuktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*), maka pemberian variasi tingkat kepolaran fraksi pericarp manggis dengan dosis yang optimal dapat memulihkan stuktur sel penyusun ginjal (*Mus musculus*) yang mengalami kerusakan akibat paparan oksidan kuat senyawa 2-ME.

1.4.2 Hipotesis statistik

$H_0(1)$: Pemberian variasi kepolaran fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) tidak berpengaruh terhadap struktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*).

H₁(1) : Pemberian variasi kepolaran fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) berpengaruh terhadap stuktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*).

H₀(2) : Pemberian variasi dosis pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) tidak berpengaruh terhadap kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*).

H₁(2) : Pemberian variasi dosis pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) berpengaruh terhadap kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*).

H₀(3) : Pemberian dosis optimal fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) tidak berpengaruh terhadap kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*).

H₁(3) : Pemberian dosis optimal fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) berpengaruh terhadap kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*).

1.5 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi kepolaran fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap struktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-ME.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi dosis pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-ME.

3. Untuk mengetahui dosis optimal fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana*) dalam memperbaiki kerusakan sel ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-ME.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh berbagai pemberian dosis dan fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang mengandung senyawa antioksidan dalam mencegah kerusakan pada struktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-Methoxyethanol dan dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan pericarp manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai obat alternatif.