

BAB IV

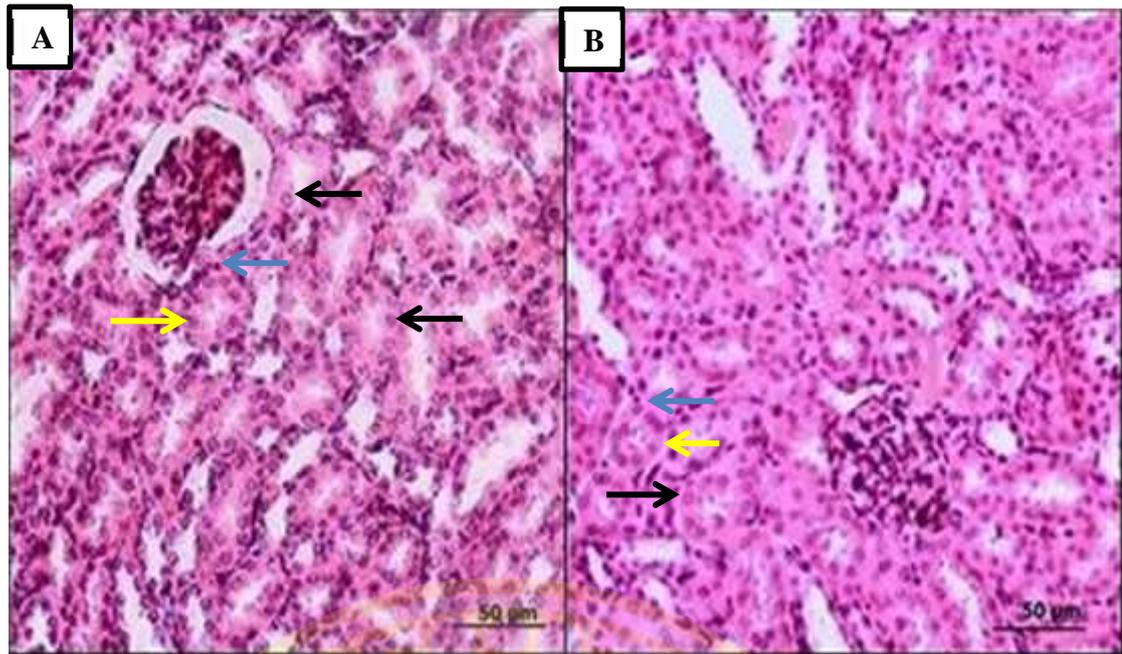
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

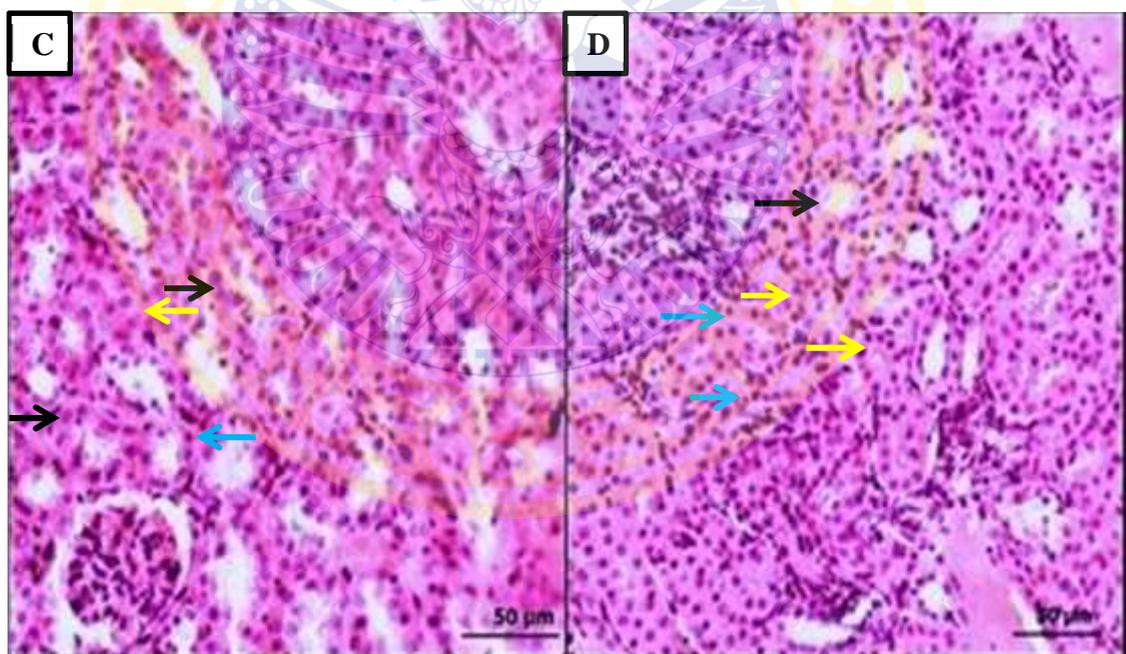
Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi pericarp manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada variasi tingkat kepolaran dan dosis terhadap struktur sel penyusun ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2-Methoxyethanol (2-ME). Hasil penelitian ini tersebut diuraikan sebagai berikut :

4.1.1 Pengamatan struktur penyusun sel ginjal

Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan adanya perbedaan kondisi penampang melintang tubulus kontortus proksimal ginjal pada kelompok kontrol negatif (Gambar 4.1 A) dengan kelompok kontrol positif (Gambar 4.1 B). Pada kontrol negatif tampak lebih banyak sel normal, sedangkan pada kontrol positif lebih banyak mengalami kerusakan yaitu degenerasi sel dan nekrosis. Pada kelompok fraksi nonpolar 0,6 mg/kg (Gambar 4.2 C) berbeda dengan kelompok perlakuan fraksi nonpolar 3 mg/kg (Gambar 4.2 D). Hal ini ditandai dengan banyaknya sel yang mengalami penyempitan lumen pada fraksi nonpolar 3 mg/kg, selain itu terlihat sel nekrosis yang ditandai dengan adanya piknosis, karioreksis dan kariolisis. Gambaran mikroskopik tubulus proksimal ginjal sebagai berikut:



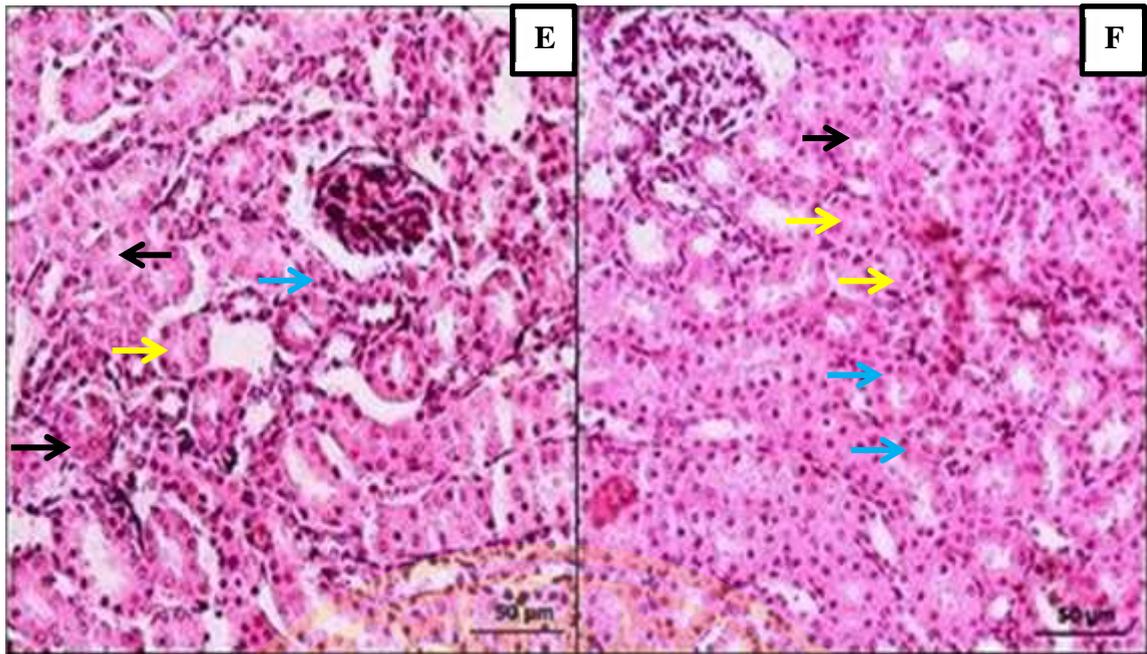
Gambar 4.1 Gambaran mikroskopis ginjal mencit pada perbesaran 400x, skala bar 50 μm. Panah hitam=Normal; Panah kuning=Bengkak; Panah biru=Nekrosis. Gambar A: Kontrol Negatif (CMC 0,05% sebanyak 0,05 ml); Gambar B: Kontrol Positif (2-ME 200mg/kg).



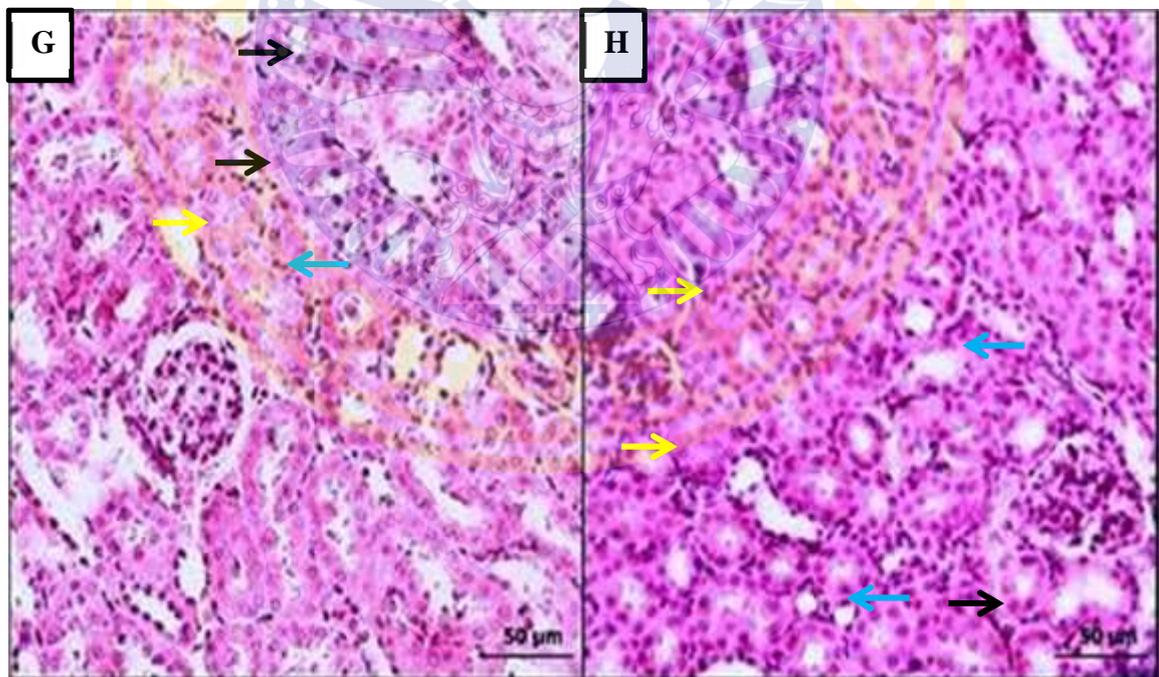
Gambar 4.2 Gambaran mikroskopis ginjal mencit pada perbesaran 400x, skala bar 50 μm. Panah hitam=Normal; Panah kuning=Bengkak; Panah biru=Nekrosis. Gambar C: P1 Fraksi Nonpolar dosis rendah 0,6 mg/kg; Gambar D: P2 Fraksi Nonpolar dosis tinggi 3 mg/kg.

Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan adanya perbedaan kondisi penampang melintang tubulus kontortus proksimal ginjal pada kelompok fraksi semipolar 4 mg/kg berbeda dengan kelompok fraksi semipolar 20 mg/kg. Pada fraksi semipolar 4 mg/kg (Gambar 4.3 E) tampak lebih banyak sel normal, sedangkan pada fraksi semipolar 20 mg/kg (Gambar 4.3 F) lebih banyak mengalami kerusakan yaitu degenerasi sel dan nekrosis. Pada kelompok fraksi polar 0,4 mg/kg (Gambar 4.4 G) berbeda dengan kelompok perlakuan fraksi polar 2 mg/kg (Gambar 4.4 H). Hal ini ditandai dengan banyaknya sel yang mengalami penyempitan lumen sitoplasma tampak keruh pada fraksi polar 2 mg/kg, selain itu terlihat banyak sel nekrosis yang ditandai dengan adanya piknosis, karioreksis dan kariolisis.

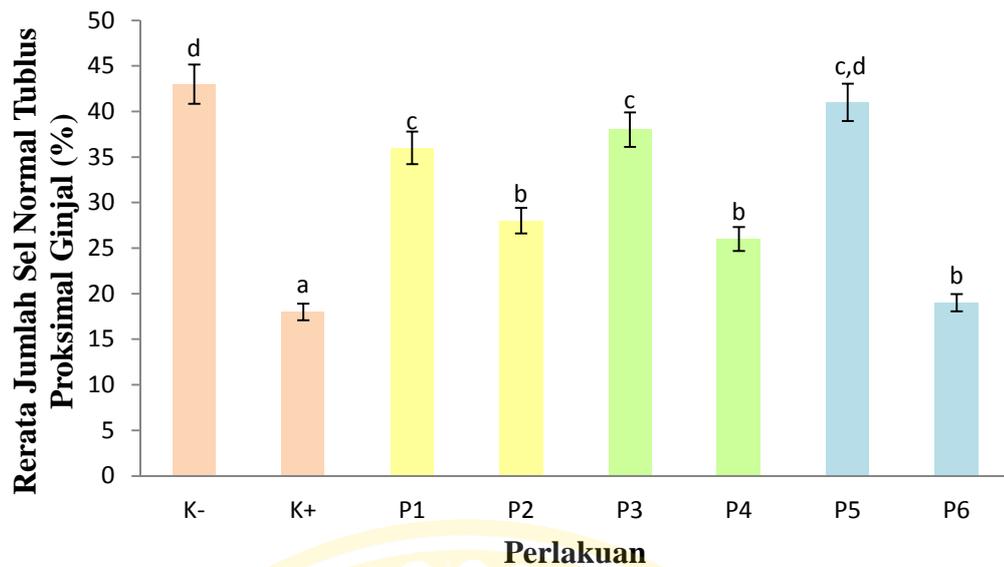
Hasil penghitungan data pada penelitian ini disajikan pada Gambar 4.5, Gambar 4.6, dan Gambar 4.7. Pada Gambar 4.5 menunjukkan rerata jumlah sel normal tubulus kontortus proksimal (%) pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi perlakuan berbagai dosis dan fraksi. Untuk hasil penghitungan data rerata jumlah sel yang mengalami degenerasi sel pada tubulus kontortus proksimal (%) pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.6. Pada Gambar 4.7 menunjukkan rerata jumlah sel tubulus proksimal ginjal yang mengalami nekrosis (%) pada kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk pengamatan data jumlah sel normal, degenerasi sel dan nekrosis dapat dilihat pada Lampiran 2.



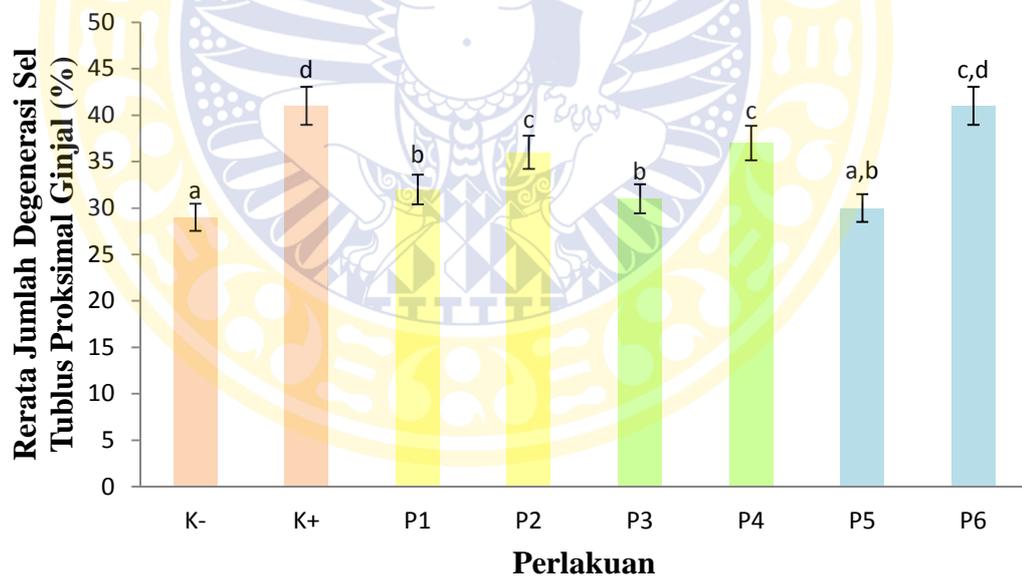
Gambar 4.3 Gambaran mikroskopis ginjal mencit pada perbesaran 400x, skala bar 50 µm. Panah hitam=Normal; Panah kuning=Bengkak; Panah biru=Nekrosis. Gambar E: P3 Fraksi Semipolar dosis rendah 4 mg/kg; Gambar F: P4 Fraksi Semipolar dosis tinggi 20 mg/kg.



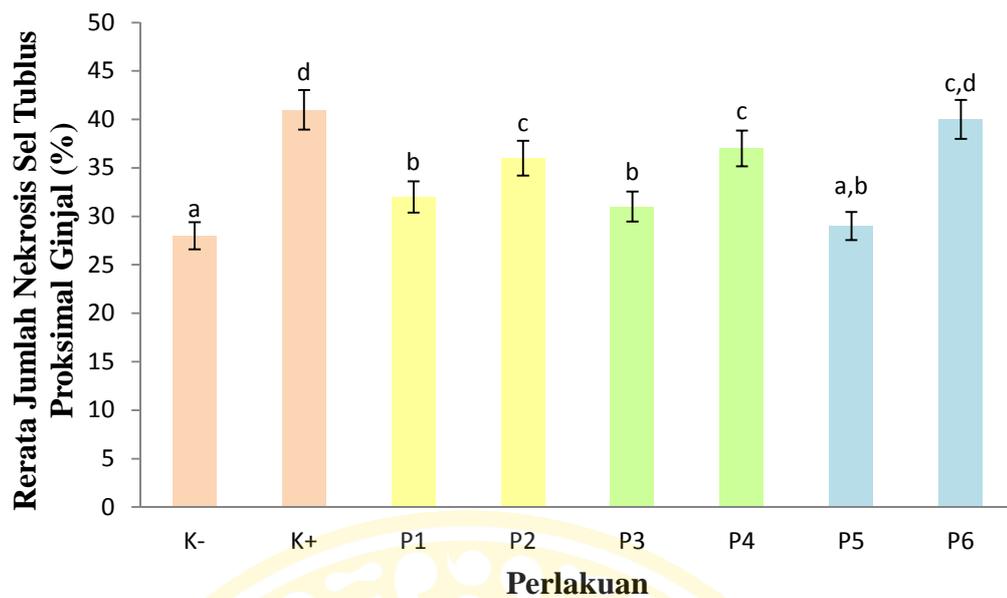
Gambar 4.4 Gambaran mikroskopis ginjal mencit pada perbesaran 400x, skala bar 50 µm. Panah hitam=Normal; Panah kuning=Bengkak; Panah biru=Nekrosis. Gambar G: P5 Fraksi Polar dosis rendah 0,4 mg/kg; Gambar H: P6 Fraksi Polar dosis tinggi 2 mg/kg.



Gambar 4.5 Rerata jumlah sel tubulus proksimal ginjal yang normal setelah diberi perlakuan berbagai dosis dan fraksi. K(-): pemberian CMC 0,05 ml; K(+): 2-ME 200 mg/kg; P1 dan P2 fraksi nonpolar 0,6 mg/kg dan 3 mg/kg; P3 dan P4 fraksi semipolar 4 mg/kg dan 20 mg/kg; P5 dan P6 fraksi polar 0,4 mg/kg dan 2 mg/kg.



Gambar 4.6 Rerata jumlah sel tubulus proksimal ginjal yang mengalami degenerasi sel setelah diberi perlakuan berbagai dosis dan fraksi. K(-): pemberian CMC 0,05 ml; K(+): 2-ME 200 mg/kg; P1 dan P2 fraksi nonpolar 0,6 mg/kg dan 3 mg/kg; P3 dan P4 fraksi semipolar 4 mg/kg dan 20 mg/kg; P5 dan P6 fraksi polar 0,4 mg/kg dan 2 mg/kg.



Gambar 4.7 Rerata jumlah sel tubulus proksimal ginjal yang mengalami nekrosis setelah diberi perlakuan berbagai dosis dan fraksi. K(-): pemberian CMC 0,05 ml; K(+): 2-ME 200 mg/kg; P1 dan P2 fraksi nonpolar 0,6 mg/kg dan 3 mg/kg; P3 dan P4 fraksi semipolar 4 mg/kg dan 20 mg/kg; P5 dan P6 fraksi polar 0,4 mg/kg dan 2 mg/kg.

Hasil analisis data dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnof* menunjukkan bahwa data sel tubulus normal, degenerasi sel, dan nekrosis berdistribusi normal dengan nilai $p=0,075$, $p=0,075$ dan $p=0,078$. Kemudian data nekrosis dilanjutkan dengan uji *Homogeneity of Variance* yang menunjukkan data bersifat tidak homogen ($p=0,000$) maka uji data nekrosis dilanjutkan dengan uji *Brown-Forsythe* menunjukkan $p=0,000$. Untuk mengetahui signifikansi antar 2 kelompok perlakuan maka dilakukan uji lanjutan yaitu menggunakan *Games-Howell*.

Hasil uji *Games-Howell* pada jumlah sel normal tubulus proksimal ginjal yang disajikan pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki rerata persentase jumlah sel normal tidak berbeda signifikan dengan

kelompok perlakuan fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg. Pada kelompok perlakuan fraksi nonpolar dosis rendah 0,6 mg/kg, fraksi semipolar dosis rendah 4 mg/kg dan fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan fraksi nonpolar dosis tinggi 3 mg/kg, fraksi semipolar dosis tinggi 20 mg/kg dan fraksi polar 2 mg/kg juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil rerata yang disajikan pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa secara keseluruhan kelompok perlakuan dosis rendah mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam memperbaiki kerusakan pada sel tubulus proksimal ginjal bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi pericarp manggis dosis rendah pada masing-masing kelompok pelarut lebih optimal dalam memperbaiki kerusakan sel pada tubulus proksimal ginjal akibat paparan 2-ME.

Hasil uji *Games-Howell* pada degenerasi sel tubulus proksimal ginjal yang disajikan pada Gambar 4.6 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki nilai rerata persentase terendah yang berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif yang terpapar 2-ME dan semua kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg. Pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan fraksi polar dosis tinggi 2 mg/kg tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan fraksi nonpolar dosis rendah 0,6 mg/kg tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan fraksi semipolar dosis rendah 4 mg/kg dan fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg. Pada kelompok

perlakuan fraksi nonpolar dosis tinggi 3 mg/kg tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan fraksi semipolar dosis tinggi 20 mg/kg dan fraksi polar dosis tinggi 2 mg/kg. Pada kelompok perlakuan nonpolar dosis rendah 0,6 mg/kg dan nonpolar dosis tinggi 3 mg/kg terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan semipolar dosis rendah 4 mg/kg dan semipolar dosis tinggi 20 mg/kg terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan polar dosis rendah 0,4 mg/kg dan polar dosis tinggi 2 mg/kg juga terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan dengan pemberian fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg paling baik dalam memperbaiki degenerasi sel tubulus proksimal ginjal yang terpapar 2-ME dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Hasil rerata yang disajikan pada Gambar 4.6 menunjukkan bahwa secara keseluruhan kelompok perlakuan dosis rendah mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam memperbaiki degenerasi sel pada tubulus proksimal ginjal bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi pericarp manggis dosis rendah pada masing-masing kelompok pelarut lebih optimal dalam memperbaiki degenerasi sel pada tubulus proksimal ginjal akibat paparan 2-ME.

Hasil uji *Games-Howell* pada jumlah nekrosis sel tubulus proksimal ginjal yang disajikan pada Gambar 4.7 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg. Pada kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Pada kelompok perlakuan fraksi nonpolar dosis rendah 0,6 mg/kg tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan semipolar dosis rendah 4

mg/kg dan kelompok perlakuan polar dosis rendah 0,4 mg/kg. Pada kelompok perlakuan fraksi nonpolar dosis tinggi 3 mg/kg tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan semipolar dosis tinggi 20 mg/kg dan kelompok perlakuan fraksi polar dosis tinggi 2 mg/kg. Pada kelompok perlakuan fraksi polar dosis tinggi 2,0 mg/kg tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Pada kelompok perlakuan fraksi polar dosis rendah 0,4 mg/kg paling baik dalam memperbaiki nekrosis sel pada tubulus proksimal ginjal akibat paparan 2-ME dibandingkan kelompok perlakuan lain.

Hasil rerata yang disajikan pada Gambar 4.7 menunjukkan bahwa secara keseluruhan kelompok perlakuan dosis rendah mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam memperbaiki kerusakan nekrosis tubulus proksimal ginjal bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi pericarp manggis dosis rendah pada masing-masing kelompok pelarut lebih optimal dalam memperbaiki kerusakan nekrosis pada tubulus proksimal ginjal akibat paparan 2-ME.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Efek 2-Methoxyethanol bagi sel ginjal

Senyawa 2-ME merupakan metabolit dari hidrolisis *dimethoxyethylphtalat* (DMEP). DMEP yang merupakan kelompok *phthalic acid ester* (PAEs) banyak digunakan sebagai *plasticizer* dalam pembuatan plastik. Dalam tubuh, 2-ME akan dioksidasi oleh *alcohol dehydrogenase* menjadi 2-Methoxyacetaldehid (MALD) dioksidasi lebih lanjut (biotransformasi) menjadi 2-Methoxyaxeticacid (MAA) dengan katalisator *aldehyd dehydrogenase*. Senyawa MAA dan MALD dapat

menyebabkan efek teratogenik dan toksik terhadap organ tubuh terutama organ ginjal yang sangat peka terhadap za-zat toksik. Pada toksisitas MAA terjadi mekanisme peningkatan permeabilitas membran sel yang mengakibatkan influks Ca^{2+} menjadi berlebih sehingga mengakibatkan terganggunya keseimbangan di dalam sitoplasma. Keadaan ini menyebabkan kerusakan hingga kematian sel.

Membran sel pada keadaan normal bersifat semipermeabel yang menyebabkan tidak semua molekul dapat melintasi membran. Pada membran sel yang telah mengalami kerusakan akan menyebabkan melintasnya molekul-molekul yang seharusnya tidak dapat terlewati oleh bahan toksik. Keluar masuknya bahan-bahan toksik akan merusak fungsi organel-organel sel maupun fungsi sel secara keseluruhan.

Senyawa 2-ME yang masuk ke dalam tubuh akan menimbulkan stress oksidatif, yaitu dengan meningkatnya kadar *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) melebihi sistem pertahanan tubuh. Keadaan ini akan berpengaruh terhadap organ lain, seperti ginjal. Ginjal yang terpapar stress oksidatif dan radikal bebas dari senyawa *2-Methoxyethanol* akan mengalami kerusakan pada sel-sel jaringannya. Pada senyawa antioksidan dengan kadar yang tinggi akan menyebabkan antioksidan intraseluler dan enzim peredam yang dihasilkan tidak cukup untuk melindungi organel-organel sel. Untuk mencegah reaksi oksidasi dari senyawa ROS dibutuhkan senyawa antioksidan dari luar sel atau antioksidan eksogen. Antioksidan merupakan suatu molekul yang mampu mencegah terjadinya reaksi oksidasi dengan cara menyumbangkan elektron yang ia miliki kepada molekul yang kekurangan elektron (radikal bebas) sehingga molekul-molekul radikal

bebas tidak menyerang sel lainnya. Antioksidan sendiri merupakan *scavenger* (peredam) dan menekan efek dari ROS dan peroksidasi lipid.

Reactive oxygen species (ROS) dapat bereaksi dan menyebabkan kerusakan pada banyak molekul di dalam sel. Fosfolipid yang menjadi unsur utama dalam membran plasma dan membran organela sel seringkali menjadi subjek dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi rantai radikal bebas yang diawali dengan terbebasnya hidrogen dari suatu asam lemak tak jenuh ganda oleh radikal bebas. Radikal lipid yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi-lipid dan lipid peroksida serta malondialdehyde (MDA) yang larut dalam air dan dapat dideteksi dalam darah. Konsekuensi penting dari peroksidasi lipid adalah meningkatnya permeabilitas membran dan mengganggu distribusi ion-ion yang mengakibatkan kerusakan fungsi sel dan organela.

Penelitian yang dilakukan Hayati *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak pericarp manggis pada dosis rendah (25 dan 50 mg/kg BB) mampu meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik serta dapat memperbaiki kualitas spermatozoa mencit yang telah terpapar 2-ME. Sedangkan pada dosis tinggi (100 mg/kgBB) menyebabkan menurunnya jumlah sel-sel spermatogenik dan kualitas spermatozoa mencit yang terpapar oleh 2-ME. Berdasarkan penelitian tersebut apabila ginjal diberi dosis rendah akan mampu mengurangi kerusakan pada tubulus akibat paparan senyawa 2-ME tetapi sebaliknya apabila diberi dosis tinggi akan merusak jaringan pada tubulus ginjal terutama tubulus proksimal ginjal.

Ginjal berperan dalam mengatur keseimbangan tubuh, mempertahankan cairan tubuh dan mengatur pembuangan sisa metabolisme dan zat-zat yang bersifat toksik seperti urea, asam urat, amoniak, kreatinin, garam anorganik dan juga senyawa obat-obatan yang tidak diperlukan oleh tubuh. Ginjal merupakan organ yang beratnya kurang dari 1% dari berat badan, meskipun demikian, ginjal menerima sekitar 20% aliran darah jantung. Kerusakan tubulus proksimal mencit terjadi setelah pemberian 2-ME ini sesuai dengan teori bahwa proses ekskresi obat yang berlangsung di ginjal dapat menimbulkan dampak buruk bagi ginjal itu sendiri. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya karena tingginya aliran darah yang menuju ginjal inilah yang menyebabkan 2-*Methoxyethanol* dalam sirkulasi sistemik dikirim ke ginjal dalam jumlah yang besar. Faktor lain yang mungkin menyebabkan kerusakan ginjal adalah kemampuan ginjal untuk memekatkan substansi xenobiotik di dalam sel. Jika 2-*Methoxyethanol* disekresi secara aktif dari darah ke urin, 2-ME terlebih dahulu diakumulasikan dalam tubulus proksimal atau jika substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Sebagai akibat dari proses pemekatan tersebut 2-ME akan terakumulasi di ginjal dan menyebabkan kerusakan ginjal.

Menurut Manggarwati *et al.* (2010) tubulus proksimal merupakan bagian ginjal yang paling banyak dan paling mudah mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksik karena di tubulus inilah terjadi proses reabsorpsi sehingga peluang terjadinya kerusakan paling tinggi. Selain itu, kerusakan tubulus proksimal ginjal dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan-bahan toksik yaitu 2-

Methoxyethanol pada segmen ini dan karakter tubulus yang memiliki epitel yang lemah dan mudah bocor.

4.2.2 Kandungan pericarp manggis dalam pelarut n-heksan, etil asetat, dan methanol

Salah satu tanaman yang sangat potensial untuk dijadikan sebagai obat adalah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terutama pada pemanfaatan kulit buahnya. Kulit buah atau pericarp manggis pada dosis rendah mampu memberikan efek antioksidan. Hasil fraksinasi dari pericarp manggis dengan pelarut n-heksan (nonpolar) mengandung golongan senyawa yang meliputi, senyawa steroid yang tersusun dari isoprene-isopren dari rantai panjang hidrokarbon sehingga bersifat nonpolar seperti senyawa saponin yang memiliki gugus steroid sebagai gugus nonpolar dan juga memiliki glikosil yang memiliki gugus polar (Sangi *et al.*, 2008). Selain itu juga mengandung senyawa triterpenoid yang memiliki bagian nonpolar dan polar serta juga ditemukan senyawa - mangostin (Taofik *et al.*, 2010).

Pada hasil fraksi semipolar yang menggunakan pelarut etil asetat mampu melarutkan senyawa-senyawa yang memiliki rentang polaritas lebar dari nonpolar hingga polar seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, polifenol dan triterpenoid (Putri, 2013). Berdasarkan skrinning fitokimia dapat diketahui golongan senyawa hasil fraksinasi pericarp manggis menggunakan pelarut metanol (polar) meliputi senyawa flavonoida sebagai antioksidan (Min *et al.*, 2008), saponin sebagai antifungsi (Barile *et al.*, 2007), triterpenoid sebagai antiinflamasi (Wu *et al.*, 2011), alkaloid dan *xanthone* sebagai antioksidan.

Pada beberapa penelitian lain telah disebutkan bahwa beberapa senyawa utama pada pericarp manggis yang memiliki aktivitas farmakologi adalah golongan *xanthone*. Alfamangostin, gammamangostin, dan garcinon-E merupakan senyawa turunan dari *xanthone* yang memiliki sifat antioksidan dan dapat menghambat proses proliferasi sel kanker.

4.2.3 Pengaruh pemberian fraksi pelarut nonpolar, semipolar, dan polar pada struktur sel penyusun ginjal setelah terpapar 2-Methoxyethanol

Pada hasil pengamatan mikroskopik kelompok kontrol negatif (K-) yang diberi CMC 0,05% sebanyak 0,05 ml memperlihatkan jumlah sel normal yang tinggi yaitu 43% dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Pada kelompok kontrol negatif terdapat juga degenerasi sel (29%) dan nekrosis (28%). Pembengkakan sel dapat dikarenakan adanya gangguan permeabilitas dalam membran sel tubulus sehingga sel mengalami pembengkakan tapi kerusakan yang berupa pembengkakan sel bersifat reversibel (Nisa', 2012). Adanya kerusakan pada kelompok kontrol dapat disebabkan oleh faktor eksternal yaitu lingkungan sekitar kandung serta teknik pengambilan dan pengolahan jaringan yang salah dapat merusak ginjal itu sendiri. Kegagalan dalam satu tahap pengolahan jaringan akan berefek pada proses selanjutnya. Adanya sel tubulus yang mengalami nekrosis termasuk dalam kategori yang wajar karena pada dasarnya setiap sel akan mengalami kematian (Nisa', 2012).

Pada hasil pengamatan kelompok kontrol positif (K+) memperlihatkan sel normal yang sangat kecil (18%) dan terjadi kerusakan yang tinggi pada sel tubulus ginjal yaitu degenerasi sel (41%) dan nekrosis (41%). Hal ini disebabkan oleh

paparan senyawa 2-ME yang bersifat sangat toksik sehingga mempengaruhi kinerja ginjal dalam mengabsorpsi, mereabsorpsi, dan memfiltrasi zat yang masuk ke dalam tubuh. Menurut Price dan Lorraine (2006) dalam Nisa' (2012), kerusakan membran sel epitel tubulus dapat mengakibatkan sel tidak mampu memompa keluar ion natrium dalam jumlah yang cukup sehingga natrium tinggi di dalam sel, peningkatan natrium di dalam sel menyebabkan masuknya air ke dalam sel secara osmosis alami. Oleh karena itu tubuli dan jaringan interstitium korteks ginjal lebih mudah terkena paparan 2-ME dan radikal bebas yang bersirkulasi dibandingkan dengan jaringan-jaringan lainnya.

Edema tubulus proksimal adalah manifestasi awal dari jejas ini. Gambaran mikroskopis ini berupa sel-sel epitel tubulus proksimal yang membengkak dengan sitoplasma granuler karena terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran cairan ini terjadi karena paparan senyawa 2-ME yang membentuk radikal bebas sehingga menyebabkan perubahan muatan listrik permukaan sel epitel tubulus, transpor aktif ion-ion (Na, Ca, dan K) dan asam organik, serta kemampuan mengkonsentrasikan dari ginjal yang akhirnya mengakibatkan tubulus rusak, aliran kandung kemih terganggu, tekanan intra tubulus meningkat serta kecepatan filtrasi glomerulus menurun (Wijaya & Miranti, 2005). Gambaran pembengkakan sel ini disebut degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa atau *cloudy swelling* (bengkak keruh) yang merupakan bentuk degenerasi paling ringan serta bersifat reversibel.

Zat metabolik dan paparan senyawa 2-ME dapat menyebabkan gangguan pada organel mitokondria yang menghasilkan energi (ATP). *Adenosin Tri*

Phosphat (ATP) dibutuhkan agar pompa natrium (Na^+) berjalan lancar. Bila ATP tidak dihasilkan maka Na^+ bersifat menarik air sehingga air terakumulasi ke dalam sel, akibatnya sel membengkak dan sitoplasma tampak keruh (Ardiyatufa, 2012). Hal inilah yang mungkin menyebabkan lumen tubulus proksimal mengalami penyempitan hingga menutup pada penelitian ini.

Apabila jejas tubuler seperti tersebut di atas dibiarkan dan terus berlanjut maka akan diikuti dengan proses vasokonstriksi yang dapat menyebabkan iskemik. Iskemik menyebabkan berbagai perubahan struktur dan fungsi dari sel epitel mulai dari kerusakan yang reversibel seperti yang tersebut di atas hingga kerusakan yang bersifat irreversibel yang ditandai dengan terjadinya nekrosis dan apoptosis.

Nekrosis adalah tingkat kerusakan tubulus yang lebih tinggi setelah terganggunya permeabilitas membran dengan adanya bengkak keruh kemudian diikuti oleh lisis. Nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Tahap berikutnya inti sel pecah (karioreksis) dan inti sel menghilang (kariolisis). Piknosis dapat terjadi karena adanya kerusakan di dalam sel antara lain kerusakan membran yang diikuti oleh kerusakan mitokondria dan aparatus golgi sehingga sel tidak mampu mengeliminasi air dan trigliserida sehingga tertimbun dalam sitoplasma sel. Pada ginjal, piknosis paling banyak terjadi pada tubulus proksimalis karena di tubulus inilah terjadi proses reabsorpsi sehingga peluang terjadinya kerusakan akibat dari toksikan paling tinggi.

Bagian dari ginjal yang paling rentan terhadap kerusakan iskemik adalah zona luar dari medulla luar yaitu tubulus proksimal yang paling sensitif dan sering

mengalami nekrosis. Proses ekskresi 2-ME secara terus menerus di dalam tubuh menyebabkan kerusakan tubulus berupa Nekrosis Tubular Akut (NTA) yang bersifat reversibel dan apabila tidak ditangani secara baik dapat berlanjut menjadi NTA yang bersifat irreversibel. Nekrosis Tubular Akut yang bersifat reversibel terjadi karena sel-sel epitel tubulus proksimal mempunyai kemampuan daya regenerasi yang baik. Secara morfologi ditandai dengan destruksi sel epitel tubulus proksimal namun membran basalis tubulus masih baik (Wijaya & Miranti, 2005).

Indikator lain adanya gangguan pada ginjal dapat diketahui dengan mengamati adanya gangguan glomerulus yang berasal dari pembengkakan maupun penambahan sel-sel endotel dan epitel. Penghitungan jumlah glomerulus dan diameter glomerular ginjal dapat digunakan untuk menentukan adanya gangguan pada ginjal. Meskipun demikian standar ketebalan dan potongan yang melalui inti atau *vascular pole glomerulus* normal sering memberikan rentang jumlah sel-sel serupa dengan yang menderita gangguan ginjal. Oleh sebab itu untuk menentukan adanya gangguan pada ginjal diperlukan gambaran selular dari kortek ginjal yang dikombinasikan dengan penghitungan glomerulus dan diameter glomerular ginjal (Nisa', 2012).

Pada hasil pengamatan kelompok perlakuan terlihat adanya sel normal serta kerusakan yang meliputi degenerasi sel dan nekrosis. Pada semua kelompok perlakuan fraksi dosis rendah baik nonpolar, semipolar dan polar tidak ada perbedaan yang signifikan pada ketiga parameter kerusakan. Pada data sel normal tubulus proksimal ginjal terlihat kelompok perlakuan fraksi polar dosis rendah 0,4

mg/kg (41%) tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif (43%). Kemampuan pada fraksi polar dosis rendah ini dikarenakan adanya kandungan senyawa *xanthone* pada fraksi polar yang berfungsi menetralkan radikal bebas (Pasaribu *et al.*, 2012). Pada kelompok perlakuan fraksi dosis tinggi baik nonpolar, semipolar, dan polar tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Pada data degenerasi sel, kelompok perlakuan fraksi polar 2 mg/kg (sebesar 41%) tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (K-) (sebesar 41%). Pada data nekrosis tubulus proksimal ginjal, kelompok perlakuan fraksi polar 2 mg/kg (sebesar 40%) tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (K-) (sebesar 41%).

Apabila paparan *2-Methoxyethanol* pada sel cukup lama atau berlangsung lama, maka sel akan mencapai suatu titik hingga sel tidak dapat lagi mengkompensasi dan tidak dapat melanjutkan metabolisme (Susanti, 2009). Dosis dan lama pemberian senyawa 2-ME juga menunjukkan rata-rata persentase kerusakan ginjal mencit sebanding dengan semakin tingginya perlakuan dosis dan lama perlakuan yang diberikan. Paparan dosis senyawa 2-ME yang bersifat toksik dalam jangka waktu yang cukup lama dapat mempengaruhi fungsi glomerulus. Filtrasi glomerulus adalah inti yang paling penting dari fungsi ginjal (Guyton, 2007). Bahan toksik dalam hal ini adalah senyawa 2-ME akan mempengaruhi daya filtrasi glomerulus, sehingga daya saring menjadi berkurang. Salah satu bentuk kerusakan pada ginjal terlihat adanya penyempitan pada ruang bowman. Penyempitan ruang bowman disebabkan terjadinya peradangan glomerulus ataupun proliferasi dari epitel kapsul bowman (Price, 2005).

Perubahan mikroskopis ketiga parameter pada kelompok perlakuan fraksi nonpolar 0,6 mg/kg (36%; 32%; 32%) berbeda signifikan dengan perlakuan fraksi nonpolar 3 mg/kg (28%; 36%; 36%). Pada kelompok perlakuan fraksi semipolar 4,0 mg/kg (38%; 31%; 31%) terjadi perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan fraksi semipolar 20 mg/kg (26%; 37%; 37%). Pada kelompok perlakuan polar 0,4 mg/kg (41%; 30%, 29%) berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan fraksi polar 2 mg/kg (19%; 41%; 40%).

Dari data hasil perbandingan antar kelompok di atas terlihat bahwa kerusakan degenerasi sel dan nekrosis tubulus proksimal meningkat seiring meningkatnya dosis fraksi pericarp manggis yang diberikan. Hal ini sesuai dengan respon terapi dan respon toksik dimana semakin tinggi konsentrasi, maka respon yang ditimbulkan semakin besar. Proses ekskresi 2-ME yang berlangsung di ginjal dapat mempengaruhi gambaran struktur sel penyusun ginjal, walaupun bersifat reversibel.

Perubahan yang terjadi pada glomerulus dan kapsula akan mengakibatkan terganggunya fungsi produksi filtrat dan kontrol komposisi filtrat sendiri, sementara perubahan pada tubula mengakibatkan terganggunya proses reabsorpsi daripada filtrat. Perlu diketahui bahwa turunan senyawa *xanthone* mengandung flavonoid yang bersifat antioksidan di mana antioksidan dapat bersifat toksik terutama bila digunakan dengan dosis yang sembarangan.

Aktivitas sebagai antioksidan yang dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya juga melalui daya tangkap terhadap radikal bebas serta aktivitasnya sebagai penarik

logam. Sesuai mekanisme kerjanya antioksidan memiliki dua fungsi, yaitu sebagai pemberi atom hidrogen dan memperlambat laju autooksidasi yang menghambat terbentuknya radikal lipid. Dengan memberikan atom hidrogen pada radikal lipid maka radikal lipid tersebut akan berubah menjadi bentuk lebih stabil dan tidak mengakibatkan kerusakan lebih lanjut. Oleh karena itu, diperlukan pemilihan dosis antioksidan yang tepat sebagai penggunaan obat untuk mengurangi adanya radikal bebas di dalam tubuh terlebih untuk organ yang peka terhadap paparan bahan toksik.

