

Efek Ekstrak Kulit Manggis terhadap Ekspresi Protein Bcl-2 dan Jumlah Sel Mati Tubulus Ginjal Tikus yang Diinduksi Formalin

The Effect of Mangosteen Peel Extract in Bcl-2 Protein Expression and Renal Tubular Dead Cells Number of Formalin-Induced Rat

Nanik Marfu'ati¹, Sarjadi², Winarto³, Kis Djamiatun⁴

¹Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang

²Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

³Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

⁴Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

ABSTRAK

Kulit manggis mengandung antioksidan yang melindungi terhadap kerusakan sel. Formalin masih disalahgunakan sebagai pengawet makanan yang merupakan sumber oksidan. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh ekstrak kulit manggis (EKM) terhadap ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel tubulus ginjal tikus akibat formalin. Sebanyak 18 tikus Wistar jantan diberi formalin 200mg/kgBB/hari melalui sonde 2 minggu; dibagi 3 kelompok; K tanpa EKM; P1 dan P2 diberi EKM 200 dan 400mg/kgBB/hari seminggu. Dilakukan penilaian ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel tubulus ginjal tikus. Data dianalisis dengan *One Way ANOVA*. Analisis ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan ekspresi protein Bcl-2 ($p=0,006$) dan kematian sel tubulus ginjal ($p=0,005$) antara ketiga kelompok. Ekspresi protein Bcl-2 dan kematian sel tubulus ginjal P2 secara signifikan lebih rendah dibanding K. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan EKM 400mg/kgBB/hari selama 1 minggu menurunkan ekspresi protein Bcl-2 dan memperbaiki kerusakan sel tubulus ginjal yang diinduksi formalin.

Kata Kunci: Bcl-2, formalin, manggis, kematian sel tubulus ginjal

ABSTRACT

Mangosteen peel contains antioxidants that protect against cell damage. Formalin that is misused as a food preservative is source of oxidants. This study is conducted to prove the effect of mangosteen peel extract on Bcl-2 protein expression and the number of renal tubular dead cells in Wistar rats caused by formalin. A number of 18 male Wistar rats were given 200mg/kgbw/day formalin per-sonde for 2 weeks. The rats were divided into 3 groups: Control/K received no extract; P1 and P2 received 200 and 400mg/kgbw/day extract respectively for 1 week. Assessment of Bcl-2 expression and the number of renal tubular dead cells was performed. Data were analyzed with One Way ANOVA. ANOVA analysis showed significant differences of Bcl-2 expression ($p=0,006$) and the number of renal tubular dead cells ($p=0,005$) among the 3 groups. Bcl-2 expression and P2 renal tubular dead cells were significantly lower than K. It can be concluded that 400mg/kgbw/day extract for 1 week can decrease Bcl-2 expression and repair damaged formalin-induced renal tubular cells.

Keywords: Bcl-2, formalin, mangosteen, tubular cells-death

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 28, No. 2, Agustus 2014; Korespondensi: Nanik Marfu'ati. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang, Jl. Wonodri Sendang Raya 2A Semarang Tel. (024) 8415764 Email: nanikmarfuati@gmail.com

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari manusia dapat terpapar oleh ribuan xenobiotik yang dapat berefek toksik, salah satunya adalah formalin yang disalahgunakan sebagai pengawet makanan (1,2). Formalin bila masuk tubuh akan meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menurunkan antioksidan *Superoxyde Dismutase* (SOD) dan glutathione tereduksi (GSH), sehingga dapat menyebabkan stress oksidatif yang mengakibatkan kerusakan berbagai sel (3-5).

Penelitian menunjukkan bahwa ROS menginduksi apoptosis berbagai jenis sel. Ada hubungan timbal balik antara kadar ROS dan *B cell lymphoma-2* (Bcl-2) dalam sel. Penurunan kadar ROS berkorelasi dengan peningkatan ekspresi Bcl-2 dan sebaliknya (6). Protein Bcl-2 telah terbukti dapat mencegah kematian atau apoptosis sel kemungkinan melalui mekanisme antioksidan (7).

Ginjal merupakan salah satu organ yang rentan terhadap zat toksik, terutama pada tubulus proksimal (8). Tikus yang terpapar formaldehid 10% secara intraperitoneal selama 2 minggu akan menyebabkan gambaran glomerulus tidak teratur; vakuola dan dilatasi tubulus distal; kongesti pembuluh intratubulus; membran basal tubulus dan glomerulus menebal serta ruang Bowman hilang (5). Penelitian pada pasien sistitis dengan perdarahan yang diobati menggunakan formalin (37%) ke dalam kandung kemih menunjukkan obstruksi edematous dan nekrosis tubulus akut yang selanjutnya menyebabkan gagal ginjal akut (9).

Reactive oxygen species (ROS) yang berlebihan membuat tubuh memerlukan antioksidan endogen maupun eksogen. Adanya kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih. Salah satu tanaman Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah kulit manggis (10). Kulit manggis telah diteliti mengandung antioksidan, anti inflamasi, anti alergi, anti tumor dan anti bakteri (10). Antioksidan kulit manggis mampu menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan aterosklerosis serta menurunkan kadar gula darah sesuai dengan penelitian Mahabusarakam dkk dalam Nugroho dan Pasaribu dkk (11,12). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak kulit manggis dosis bertingkat yaitu 200mg/kg BB dan 400mg/kgBB (13), terhadap ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal tikus Wistar akibat pemberian formalin dosis 200mg/kgBB/hari peroral serta dibandingkan dengan kelompok kontrol.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post test only control group*. Sampel penelitian adalah tikus Wistar jantan 18 ekor, umur 10-12 minggu, berat badan 150-200 gram dari Laboratorium Pusat Antar Universitas (PAU) UGM Yogyakarta, diberi formalin dosis 200mg/kgBB/hari melalui sonde selama 2 minggu, kemudian dibagi dalam 3 kelompok secara acak, yaitu kelompok kontrol (K) tanpa pemberian ekstrak kulit manggis, kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) masing-masing diberi ekstrak kulit manggis dosis 200 dan 400 mg/kgBB/hari selama 1 minggu. Tikus determinasi, organ ginjal dibuat sediaan histopatologi, dinilai ekspresi protein Bcl-2 berdasarkan

kriteria Allred (14), dan jumlah sel tubulus ginjal yang mati menggunakan mikroskop, pembesaran 400x.

Ekspresi protein Bcl-2 adalah hasil *imunostaining* Bcl-2 pada jaringan ginjal yang dinilai dengan menghitung jumlah (proporsi) dan intensitas sel yang tercat positif untuk Bcl-2 (sitoplasma berwarna coklat) dalam 10 lapang pandang sel tubulus ginjal berdasarkan kriteria Allred. Skor proporsi berdasarkan atas sel yang tercat positif (sitoplasma berwarna coklat) dan dihitung juga skor intensitas pewarnaan dan dijumlahkan sebagai skor total.

Tabel 1. Skor proporsi dan intensitas pewarnaan

Skor	Proporsi	Intensitas Pewarnaan
0	Negatif	Negatif
1	Positif < 1/100	Lemah
2	Positif 1/100 sampai 1/10	Sedang
3	Positif 1/10 sampai 1/3	Kuat
4	Positif 1/3 sampai 2/3	
5	Positif >2/3	

Jumlah kematian sel tubulus ginjal yang dimaksud adalah jumlah sel tubulus ginjal dalam proses kematian pada korteks dan medula ginjal tikus Wistar jantan. Sel mati dihitung berdasarkan perubahan struktur histopatologi sel tubulus ginjal yaitu adanya inti sel piknotik, karioreksis atau kariolisis (15), dalam 1000 sel tubulus ginjal dengan pembesaran 400 kali.

Pembuatan ekstrak etanol kulit manggis terdiri dari proses pengeringan, proses ekstraksi dengan etanol 96% dan proses evaporasi (16). Data dianalisis dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Tukey HSD* dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$.

HASIL

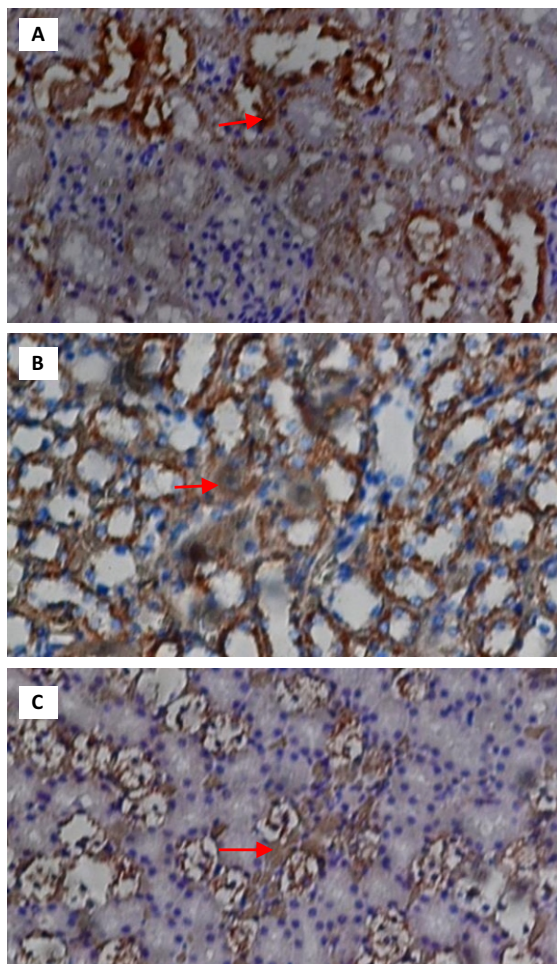
Efek Ekstrak Kulit Manggis pada Ekspresi Protein Bcl-2

Hasil uji normalitas data ekspresi protein Bcl-2 sel tubulus ginjal tikus Wistar pada ketiga kelompok berdasarkan *Allred Score* menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen, sehingga selanjutnya dilakukan uji beda dengan *One Way ANOVA* (Tabel 1). Berdasarkan Tabel 1 tampak bahwa rata-rata ekspresi protein Bcl-2 sel tubulus ginjal pada kontrol paling banyak yaitu $4,33 \pm 0,82$; sedangkan pada P1 sebanyak $3,83 \pm 0,86$ dan paling sedikit didapatkan pada P2 yaitu $2,03 \pm 1,49$. Hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai $p = 0,006$ ($p < 0,05$) pada ketiga kelompok, berarti ada perbedaan ekspresi protein Bcl-2 sel tubulus ginjal yang bermakna secara statistik pada ketiga kelompok tersebut.

Tabel 1. Uji *One Way ANOVA* efek ekstrak kulit manggis pada ekspresi protein Bcl-2

Kelompok	Mean $\pm$ Std.Dev*
K: Kontrol (tanpa EKM)	$4,33 \pm 0,82^*$
P1: EKM 200 mg/kgBB/hr	$3,83 \pm 0,86^*$
P2: EKM 400mg/ kgBB/hr	$2,03 \pm 1,49^*$

* perbedaan signifikan antara ketiga kelompok $p = 0,006$



Gambar 1. Foto sediaan mikroskopis ginjal tikus Wistar, pewarnaan IHC Bcl-2, 400x.

Keterangan:

- A. Kel. Kontrol /K (formalin+*placebo*);
 B. Kel. Perlakuan 1 / P1 (formalin+ekstrak kulit manggis 200 mg/kgBB);
 C. Kel. Perlakuan 2 /P2 (formalin+ekstrak kulit manggis 400 mg/kgBB).
 Tanda panah merah menunjukkan ekspresi Bcl-2

Foto sediaan mikroskopis pada ketiga kelompok dengan pengecatan imunohistokimia Bcl-2 tampak pada Gambar 1. Secara histologis gambaran menunjukkan intensitas yang sama antara kelompok kontrol dan perlakuan 1. Pada kedua kelompok tersebut tampak sitoplasma tercat coklat dengan intensitas sedang. Pada perlakuan 2 dengan dosis 400mg/kg/Bb memberikan gambaran yang berbeda, sitoplasma tampak tercat coklat dengan intensitas lemah.

Efek Ekstrak Kulit Manggis pada Jumlah Sel Mati Tubulus Ginjal Tikus

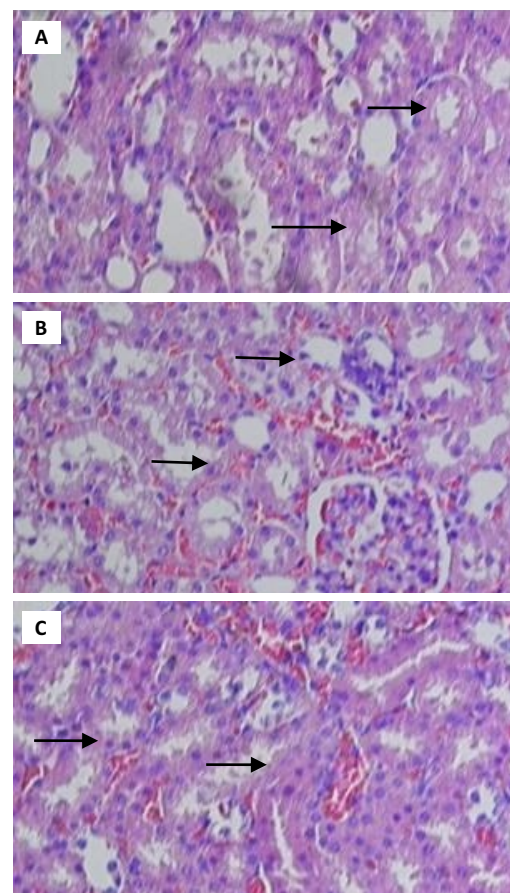
Hasil uji normalitas data jumlah sel mati tubulus ginjal tikus Wistar pada ketiga kelompok menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen, sehingga selanjutnya dilakukan uji beda dengan *One Way ANOVA* (Tabel 2). Berdasarkan Tabel 2 tampak bahwa rata-rata jumlah sel mati pada K paling banyak yaitu $682,50 \pm 149,68$, sedangkan pada P1 sebanyak $633,50 \pm 59,56$ dan paling sedikit didapatkan pada P2 yaitu $465,67 \pm 65,44$. Dari hasil analisis uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai $p=0,005$ ($p<0,05$) pada ketiga kelompok, berarti ada perbedaan jumlah sel mati pada tubulus ginjal yang bermakna secara statistik pada ketiga kelompok tersebut.

Tabel 2. Uji *One Way ANOVA* efek ekstrak kulit manggis pada rata-rata jumlah sel mati tubulus ginjal tikus

Kelompok	Mean $\pm$ Std.Dev *
Kontrol	682,50 $\pm$ 149,68 *
EKM 200mg/kgBB/hr	633,50 $\pm$ 59,56 *
EKM 400mg/ kgBB/hr	465,67 $\pm$ 65,44 *

* perbedaan signifikan ketiga kelompok $p=0,005$

Hasil uji *Post Hoc Tukey HSD* menunjukkan tidak terdapat perbedaan jumlah sel mati pada tubulus ginjal yang signifikan antara kelompok kontrol dengan P1 ($p=0,682$ atau $p>0,05$). Perbedaan jumlah sel mati pada tubulus ginjal yang signifikan terdapat di antara kelompok kontrol dengan P2 ($p=0,005$ atau $p<0,05$) dan antara P1 dengan P2 ($p=0,028$ atau $p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efek ekstrak kulit manggis pada jumlah sel mati baru ditemukan pada dosis 400 mg/kgBB.



Gambar 2. Foto sediaan mikroskopis ginjal tikus Wistar, pewarnaan HE, 400x

Keterangan:

- A. Kel. Kontrol formalin+*placebo* (tanda panah menunjukkan sel mati);
 B. Kel. P1 formalin+ekstrak kulit manggis 200 mg/kgBB);
 C. Kel. P2 formalin+ekstrak kulit manggis 400 mg/kgBB

Foto sediaan mikroskopis ginjal pada ketiga kelompok dengan pengecatan *Hematoxylin Eosin* (HE) tampak pada Gambar 2. Secara mikroskopis pada kelompok normal menunjukkan gambaran jumlah sel mati tubulus yang

paling banyak (ditunjukkan dengan tanda panah). Jumlah sel mati yang terlihat paling sedikit ditemukan pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis ekstrak kulit manggis 400mg/kgBB.

DISKUSI

Efek Ekstrak Kulit Manggis pada Ekspresi Protein Bcl-2

Hasil pewarnaan imunohistokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna untuk ekspresi protein Bcl-2 tubulus ginjal tikus Wistar yang diinduksi formalin pada ketiga kelompok ($p=0,006$). Formalin dapat menimbulkan cedera sel karena interaksi langsung dengan komponen seluler atau metabolisme bahan kimia itu sendiri dapat menghasilkan ROS berlebihan (4), sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel epitel tubulus ginjal (5).

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ROS dapat menyebabkan apoptosis berbagai jenis sel. Antioksidan Mn (III) tetrakis (5,10,15,20-*benzoic acid*) porfirin (MnTBAP) menurunkan ROS intraseluler dan mencegah apoptosis sel T yang diaktifkan oleh enterotoksin *staphylococcus B* *in vivo* kemudian sel dikultur (*invitro*). *Reactive oxygen species* membuat sel T rawan untuk apoptosis dengan menurunkan ekspresi Bcl-2. Pada kultur sel dengan MnTBAP mengungkapkan hubungan terbalik antara ekspresi Bcl-2 dan ROS dalam sel T (6). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa aktivitas SOD dan GPx jaringan ginjal menurun serta kadar malondialdehid meningkat secara signifikan pada tikus yang diberi formaldehid dosis 10mg/kg, 37% secara intraperitoneal selama 14 hari (5).

Formalin meningkatkan ROS dan menurunkan antioksidan GSH sehingga menyebabkan stres oksidatif yang merusak sel tubulus ginjal. 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 atau deskuamasi. Tubulus distal mempunyai cadangan beberapa faktor pertumbuhan yang penting untuk pertumbuhan dan perbaikan ginjal, seperti *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Hepatocyte Growth Factor*/HGF dan *Epidermal Growth Factor*/EGF (16).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol terdapat ekspresi protein Bcl-2 lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2, walaupun tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 1. Hasil skor ekspresi protein Bcl-2 ini tidak sesuai dengan hipotesis penelitian, karena referensi yang ditemukan penulis terutama merujuk pada keadaan stres oksidatif ataupun hipoksia akan terjadi penurunan ekspresi Bcl-2. Perbedaan hasil penelitian ini mungkin karena pengamatan hanya dilakukan 1 kali pada saat 1 minggu setelah pemberian formalin atau hanya pada fase awal, yang hasilnya mungkin akan berbeda bila penelitian ini dilanjutkan pengamatannya pada waktu yang lebih lama. Pada cedera sel akibat keadaan hipoksia awal terdapat inflamasi akut dan sel akan beradaptasi untuk memelihara homeostasisnya. Bila keadaan cedera/inflamasi berlanjut (kronis) tanpa pemberian terapi, sel mungkin akan mengeliminasi sel yang tidak dapat diperbaiki lagi dengan apoptosis sehingga protein Bcl-2 menurun. Selain itu sel-sel epitel tubulus proksimal mempunyai kemampuan daya regenerasi yang baik karena termasuk sel stabil. Ekspresi Bcl-2 dan Bax akan meningkat dalam regenerasi sel-sel

tubulus proksimal (18). Sel tubulus distal telah terbukti menjadi cadangan penting untuk sintesis dan ekspresi beberapa faktor pertumbuhan. Gen Bcl-2 dan faktor pertumbuhan dapat bertindak secara sinergis untuk membantu meminimalkan kematian sel, meningkatkan regenerasi dan perbaikan ginjal melalui mekanisme autokrin dan/atau parakrin (17,18).

Pada kelompok perlakuan, ekspresi protein Bcl-2 cenderung lebih sedikit dibanding kelompok kontrol, kemungkinan hal ini karena faktor lain yang tidak diteliti yang merupakan keterbatasan dalam penelitian ini, misalnya anggota keluarga protein Bcl-2 yang lain (*Bax*), parameter faktor pertumbuhan yang mempengaruhi regenerasi sel, misalnya EGF, HGF, IGF dan parameter efek anti inflamasi (18). Kemungkinan lain setelah pemberian ekstrak kulit manggis terjadi perbaikan seluler sehingga protein Bcl-2 yang terekspresi lebih sedikit. Selain itu pemberian formalin selama 2 minggu kemungkinan belum menimbulkan kerusakan gen/genotoksik atau karsinogenik, sehingga ekspresi Bcl-2 sedikit dengan intensitas antara lemah-sedang. Pada tubulus ginjal normal hanya terdapat ekspresi protein Bcl-2 sedikit (17). Kulit manggis mengandung polifenol dan senyawa turunan *xanthon* yang merupakan antioksidan alami, karena kemampuannya dalam menstabilkan radikal bebas, yaitu dengan memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal bebas. Senyawa ini dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif (10,19).

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis memiliki aktivitas sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antibakteri, anti-virus, anti-alergi dan anti-tumor (11,19). Ekstrak kulit manggis secara signifikan dapat menurunkan pembentukan ROS intraseluler (20). Hasil penelitian lainnya mengungkapkan bahwa terdapat efek protektif dari mangostin terhadap sistem pertahanan antioksidan dan peroksidasi lipid untuk infark miokard akibat pemberian isoproterenol pada tikus (21). *Xanthon* menunjukkan aktivitas sebagai *scavenger* peroksininitrit (ONOO^-) dan *c-mangostin* sebagai *scavenger* $\text{OH}^\cdot$ (22). Efek anti-inflamasi telah diteliti secara *in vivo* bahwa *a-mangostin* memiliki aktivitas anti-inflamasi lebih baik dari *c-mangostin* (19).

Efek Ekstrak Kulit Manggis pada Jumlah Sel Mati Tubulus Ginjal Tikus

Hasil pemeriksaan sediaan mikroskopis dan uji statistik penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna jumlah sel mati pada tubulus ginjal tikus Wistar ketiga kelompok ($p=0,005$). Paparan formalin dapat menurunkan antioksidan dalam tubuh, seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathione tereduksi (GSH). Formalin meningkatkan produksi senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh, yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif mengakibatkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid, protein termasuk enzim dan DNA, yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif, apabila ini berlanjut dapat terjadi kerusakan dan kematian sel (3).

Formalin yang masuk tubuh dengan cepat dimetabolisme menjadi asam format terutama oleh hepar dan eritrosit melalui enzim formaldehida dehidrogenase tergantung GSH. Asam format ini merupakan zat toksik bagi tubuh. Asam format pada mitokondria dapat menghambat aktivitas sitokrom oksidase sehingga dapat memicu hipoksia histotoksik, penurunan pompa Na-K ATP-ase membran, akibatnya menurunkan produksi ATP yang

dapat menyebabkan nekrosis sel (4,23). Jika kadar formalin dalam tubuh tinggi, akan bereaksi secara kimiawi dengan hampir semua zat di dalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel dan kerusakan organ tubuh (3,24).

Efek toksik formaldehid pada sistem urinaria telah diteliti. Sebagai organ ekskresi, ginjal mudah terpapar zat-zat kimia asing yang dapat merusak jaringannya (8). Menurut penelitian pada tikus yang terpapar formaldehid 10% intraperitoneal selama 2 minggu tampak glomerulus tidak teratur; vakuola dan dilatasi tubulus distal; kongesti pembuluh intratubulus; membran basal tubulus dan glomerulus menebal serta ruang Bowman hilang. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa formaldehid menyebabkan kerusakan oksidatif pada ginjal tikus dan kerusakan ini dapat dicegah dengan pemberian melatonin yang terbukti adanya perbaikan gambaran histopatologis ginjal (5). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa pemberian formalin peroral dosis bertingkat 50, 100 dan 200 mg/kgBB/hari selama 12 minggu menyebabkan terjadinya atrofi dan dilatasi tubulus serta proses degenerasi sel tubulus ginjal tikus wistar (25).

Pada penelitian kami, efek formalin terhadap ginjal tampak pada pemeriksaan mikroskopis berupa vakuolisasi glomerulus, pembengkakan sel tubulus dan nekrosis sel tubulus; yang ditandai dengan inti sel piknotik, karioreksis serta kariolisis. Hal ini menunjukkan bahwa formalin menyebabkan cedera pada jaringan ginjal. Cedera yang *reversible* ditandai dengan degenerasi sel atau vakuolisasi dan pembengkakan sel, sedangkan cedera yang *irreversible* ditandai dengan nekrosis sel. Temuan ini sama dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (5,24).

Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa jumlah sel mati pada tubulus ginjal kelompok perlakuan lebih sedikit dibanding kelompok kontrol. Terdapat perbedaan jumlah sel mati tubulus ginjal secara bermakna secara statistik

pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,005$) dan antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,028$). Hal ini mungkin karena ekstrak kulit manggis yang mengandung antioksidan dan anti-inflamasi dapat memperbaiki kerusakan oksidatif pada ginjal akibat induksi formalin dan dapat memperbaiki kerusakan sel yang *reversible* serta menghambat cedera sel lebih lanjut, sehingga jumlah kematian sel tubulus ginjal tikus Wistar yang diinduksi formalin pada kelompok perlakuan lebih sedikit dibanding kelompok kontrol.

Pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 tidak ada perbedaan jumlah sel mati tubulus ginjal secara bermakna, nilai ($p=0,682$) mungkin karena dosis ekstrak kulit manggis pada perlakuan 1 (200 mg) belum mampu secara maksimal memperbaiki kerusakan sel epitel tubulus ginjal akibat formalin. Adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 serta antara kelompok perlakuan 1 dan 2 mungkin karena dosis ekstrak kulit manggis pada kelompok perlakuan 2 (400mg) lebih efektif memperbaiki kerusakan sel epitel tubulus akibat formalin tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu, bahwa dosis ekstrak kulit manggis 400mg/kgBB/hari dapat mempercepat healing ulkus lambung tikus yang diinduksi indometasin (13). Dapat disimpulkan ekstrak kulit manggis dosis 400mg/kgBB/hari selama 1 minggu dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 dan memperbaiki kerusakan sel tubulus ginjal akibat induksi formalin.

Ucapan Terima kasih

Penulis berterima kasih kepada *Health Professional Education Quality (HPEQ)*-Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Kompetisi Peningkatan Kualitas Pendidikan Dokter (PHK-PKPD) Universitas Muhammadiyah Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sugiyanto. *Peran Aktivasi Metabolik Toksikologi Biokimiawi Xenobiotik*. Yogyakarta; Universitas Gadjah Mada Yogyakarta; 2006.
2. Telaumbanua HPS. *Studi Identifikasi Kandungan Formalin pada Ikan Pindang di Pasar Tradisional dan Modern Kota Semarang*. Jurnal Kesehatan Masyarakat. 2012; 1(2): 983-994.
3. Mahdi C, Aulaniam, Sumarno, dan Widodo MA. *Suplementasi Yoghurt pada Tikus (Rattus norvegicus) yang Terpapar Formaldehid dalam Makanan terhadap Aktivitas Antioksidan Kerusakan Oksidatif Jaringan Hepar*. Natural B. 2011; 1(2).
4. Saito Y, Nishio K, Yoshida Y, and Niki E. *Cytotoxic Effect of Formaldehyde with Free Radicals via Increment of Cellular Reactive Oxygen Species*. Toxicology. 2005; 210(2-3): 235-245.
5. Zararsiz I, Sarsilmaz M, Tas U, Kus I, Meydan S, and Ozan E. *Protective Effect of Melatonin Against Formaldehyde-Induced Kidney Damage in Rats*. Toxicology and Industrial Health. 2007; 23(10): 573-579.
6. Hildeman DA, Mitchell T, Aronow B, Wojciechowski S, Kappler J, and Marrack P. *Control of Bcl-2 Expression by Reactive Oxygen Species*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2003; 100(25): 15035-15040.
7. Sasi N, Hwang M, Jaboin J, Csiki I, and Lu B. *Regulated Cell Death Pathways: New Twists in Modulation of BCL2 Family Function*. Molecular Cancer Therapeutics. 2009; 8(6): 1421-1429.
8. Widyastuti P. *Bahaya Bahan Kimia pada Kesehatan Manusia dan Lingkungan*. Jakarta: EGC; 2006; hal. 67-70.
9. Inci M, Zararsiz I, Davarci M, and Gorur S. *Toxic Effects of Formaldehyde on the Urinary System*. Turkish Journal of Urology. 2013; 39(1): 48-52.
10. Mardiana L dan Tim Penulis PS. *Ramuan dan Khasiat Kulit Manggis*. Depok: Penebar Swadaya; 2011; hal. 22-28.
11. Nugroho AE. *Manggis (Garcinia mangostana L.) dari Kulit Buah Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM; 2012.
12. Pasaribu F, Sitorus P, dan Bahri S. *Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah*. Journal of

- Pharmaceutics and Pharmacology. 2012; 1(1): 1-8.
13. Oktaviyanti IK. *Efek Ekstrak Etanolik Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.) Pada Healing Model Ulkus Lambung Tikus Wistar yang Dipapar Indometasin, Melalui Efek Anti Inflamasi dan Angiogenesis*. [Disertasi]. Universitas Brawijaya, Malang. 2012.
 14. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, and Clark GM. *Prognostic and Predictive Factors in Breast Cancer by Immunohistochemical Analysis*. Modern Pathology. 1998; 11(2): 155-168.
 15. Mitchell RN and Cotran R. *Jejas, Adaptasi dan Kematian Sel*. Di dalam: Kumar, Cotran, and Robbin (ed). Buku Ajar Patologi volume 1 edisi VII. Jakarta: EGC; 2007; hal. 4-31.
 16. Sukandar EY, Suwendar, dan Ekawati E. *Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Seledri (Apium Graveolens) dan Daun Urang-Aring (Eclipta Prostate L) terhadap Pityosporum Ovale*. Majalah Farmasi Indonesia. 2006; 17(1): 7-12.
 17. Gobe G, Zhang XJ, Willgoss DA, Schoch E, Hogg NA, and Endre ZH. *Relationship between Expression of Bcl-2 Genes and Growth Factors in Ischemic Acute Renal Failure in the Rat*. Journal of the American Society of Nephrology. 2000; 11(3): 454-467.
 18. Flaquer M, Romagnani P, and Cruzado JM. *Growth Factors and Renal Regeneration*. Nefrologia. 2010; 30(4): 385-393.
 19. Pedraza-Chaverri J, Cárdenas-Rodríguez N, Orozco-Ibarra M, and Pérez-Rojas JM. *Medicinal Properties of Mangosteen (Garcinia mangostana)*. Food and Chemical Toxicology. 2008; 46(10): 3227-3239.
 20. Moongkarndi P, Kosem N, Kaslungka S, Luanratana O, Pongpan N, and Neungton N. *Antiproliferation, Antioxidation and Induction of Apoptosis by Garcinia mangostana (mangosteen) on SKBR3 Human Breast Cancer Cell Line*. Journal of Ethnopharmacology. 2004; 90(1): 161-166.
 21. Devi Sampath P and Vijayaraghavan K. *Cardioprotective Effect of Alphamangostin, a Xanthone Derivative from Mangosteen on Tissue Defense System against Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats*. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 2007; 21(6): 336-339.
 22. Chin YW, Jung HA, Chai H, Keller WJ, and Kinghorn AD. *Xanthoness with Quinone Reductase-Inducing Activity from the Fruits of Garcinia mangostana (Mangosteen)*. Phytochemistry. 2008; 69(3): 754-758.
 23. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2006; 88: 1-418.
 24. Judarwanto W. *Pengaruh Formalin Bagi Sistem Tubuh RS. Bunda Jakarta*. (Online) 2006. <http://puterakembara.org/arvhives8/00000066.shtml>. [diakses 6 Oktober 2012].
 25. Wibowo M, Suharto G, dan Margawati A. *Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Wistar*. [Skripsi]. Universitas Diponegoro, Semarang. 2012.