The Influence Effect Kidney Histopathology of Mangosteen Rind (*Garcina mangostana L.*) 40% Ethanol Extract on Rifampicin in Male Rat.

Amalina HA, Muhartono, Fiana DN Faculty of Medicine Lampung University

Abstract

Rifampicin is one of the tuberculosis drug which induced kidney damage, such as acute renal impairment, acute tubular necrosis, acute tubulointerstitial nephritis, and chronic kidney disease. The skin of the mangosteen has pharmacological activities such as anti-inflammatory and antioxidant. Xanton compounds in mangosteen rind influence kidney damage due to the use of rifampin. The purpose of this study to determine the effect of 40 % ethanol extract of mangosteen rind (*Garcina mangostana L.*) on the description of the white rat renal histopathology which induced rifampicin. In this study, 25 male rats are divided randomly into 5 groups and treated for 14 days . K1 is given aquadest, K2 is given rifampicin 100 mg/100gBB), K3, K4, K5 are given rifampicin and mangosteen rind extract 20, 40,80 mg/100gBB. The results showed that the average number of necrotic cells in the renal tubules K1: 2.50±2.50; K2: 92.±1.76; K3: 66.5± 3.79; K4: 39±3.35; and K5: 8±2.09. In the one-way ANOVA test found a significant difference (p<0.001). Improvement evident in group 5.

Key words: Dose-rise, Garcina mangostana L., kidney histopathology, rifampicin,

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 40% Kulit Manggis (*Garcina Mangostana L.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Yang Diinduksi Rifampisin

Abstrak

Rifampisin merupakan salah satu obat tuberkulosis yang menginduksi kerusakan ginjal, diantaranya adalah gangguan ginjal akut, nekrosis tubular akut, tubulointerstitial nefritis akut, dan penyakit ginjal kronis. Kulit manggis mempunyai aktifitas farmakologi seperti antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa xanton dalam kulit manggis dianggap mampu mempengaruhi kerusakan ginjal akibat penggunaan rifampisin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 40% kulit manggis (*Garcina mangostana L*) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih yang diinduksi rifampisin. Pada penelitian ini, 25 tikus jantan dibagi dalam 5 kelompok secara acak dan diberi perlakuan selama 14 hari. K1 yang diberi aquadest, K2 yang diberi rifampisin 100 mg/100gBB), K3, k4, k5 masing-masing diberikan rifampisin dan ekstrak kulit manggis 20, 40,80 mg/100gBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah sel nekrotik tubulus ginjal pada K1: 2,50±2,50; K2: 92,5±1,76; K3: 66,5±3,79; K4: 39±3,35; dan K5: 8±2,09. Pada uji one-way anova didapatkan perbedaan yang bermakna (p<0,001). Perbaikan terlihat jelas pada kelompok 5.

Kata kunci: Dosis bertingkat, gambaran histopatologi ginjal, *Garcina mangostana L.*, rifampisin.

Pendahuluan

Tuberkulosis menjadi salah satu penyakit yang pengendaliannya menjadi komitmen global dalam MDGs (*Millenium development goals*). Indonesia termasuk kedalam kelompok *high burden countries*, menempati urutan ketiga setelah India dan China berdasarkan laporan *World Health Organzation* (WHO) tahun 2009 (Depkes, 2012).

Terapi lini pertama untuk TB adalah Rifampisin. Efek samping dari rifampisin salah satunya adalah nefrotoksisitas seperti nekrosis tubular akut dan nefritis interstitia. Dalam kasus nekrosis tubular akut, antibodi yang tergantung rifampisin menunjukkan hubungan antara rifampisin dan gagal ginjal (Meulen *et al.*, 2009). Toksisitas ginjal rifampisin telah dilaporkan secara sporadis dan histologi nefrotoksisitas dari rifampisin dikaitkan dengan nefritis akut tubulointerstitial (ATIN), tubular nekrosis, nekrosis papiler, nekrosis kortikal akut, dan penyakit perubahan minimal (Min *et al.*, 2013).

Hingga saat ini belum ada obat yang secara spesifik mengatasi kerusakan ginjal yang disebabkan oleh obat, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan obat herbal yang dapat digunakan sebagai nefroprotektor. Salah satu obat herbal yang memiliki efek nefroprotektor atau efek menghambat kerusakan ginjal adalah kutit manggis (Nugroho, 2007).

Nakatni *et al.*, (2004) melakukan penelitian aktivitas anti-inflamasi in vitro dari gamma mangostin terhadap sintesa PGE2 dan siklooksigenase (COX) dalam sel glioma tikus C6. Kedua senyawa dan enzim tersebut merupakan mediator terpenting dalam terjadinya reaksi inflamasi. Dari penelitian ini dapat dibuat hasil: gamma mangostin secara langsung produksi PGE2 dalam proses inflamasi.

Dalam Moongkarndi *et al.*, (2004) melaporkan bahwa ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan. Jung *et al.*, (2006) melakukan penelitian aktivitas antioksidan dari semua senyawa kandungan kulit buah manggis. Dari hasil skrining aktivitas antioksidan dari senyawa- senyawa tersebut, yang menunjukkan aktivitas poten adalah : 8-hidroksikudraxanton, gartanin, alphamangostin, gamma-mangostin dan smeathxanton A.

Dalam rangka mengembangkan penelitian tentang ekstrak kulit manggis sebagai obat herbal maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi rifampisin, serta dosis ekstrak yang optimal memberikan pengaruh pada ginjal. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi tentang manfaat ekstrak kulit manggis terutama pada ginjal dan sebagai dasar penelitian selanjutnya untuk pengembangan ekstrak kulit manggis sebagai obat herbal terstandar.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pola *post test-only control group design*. Subyek penelitian adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10-16 minggu yang dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok, dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Bahan penelitian yang digunakan ada dua yaitu rifampisin 100 mg/100gBB dan ekstrak kulit manggis (*Garcina Mangostana L*) dengan dosis 20 mg/100g, 40 mg/100g, dan 80 mg/100g (Wijaya dkk., 2011).

Proses pembuatan ekstrak kulit manggis dalam penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut. Ekstraksi dimulai dari penimbangan buah manggis selanjutnya kulit dikupas dan dikeringkan dalam almari pengering, dibuat serbuk dengan menggunakan *blender* atau mesin penyerbuk. Etanol dengan kadar 40% ditambahkan untuk melakukan ekstraksi dari serbuk ini selama kurang lebih 2 (dua) jam kemudian dilanjutkan maserasi selama 24 jam. Setelah masuk ke tahap filtrasi, akan diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang didapatkan akan diteruskan ke tahap evaporasi dengan *Rotary evaporator* pada suhu 40 °C sehingga akhirnya diperoleh ekstrak kering.

Pada saat perlakuan tikus sebagai hewan coba dibagi dalam 5 kelompok secara acak. Kelompok I (K1) yaitu kontrol normal, hanya diberikan aquades. Kelompok II (K2) yaitu kontrol negatif, hanya diberikan rifampisin dengan dosis 100mg/100gBB. Kemudian 2 jam diberikan induksi ekstrak kulit manggis, untuk Kelompok III (K3) adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian ekstrak

kulit manggis 20 mg/100gBB, kelompok IV (K4) dengan ekstrak kulit manggis 40 mg/100gBB, dan kelompok V (K5) dengan ekstrak kulit manggis 80 mg/100gBB. Masing-masing diberikan secara per oral selama 14 hari. Selanjutnya tikus dinarkose, dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal, dan dilakukan pembuatan preparat.

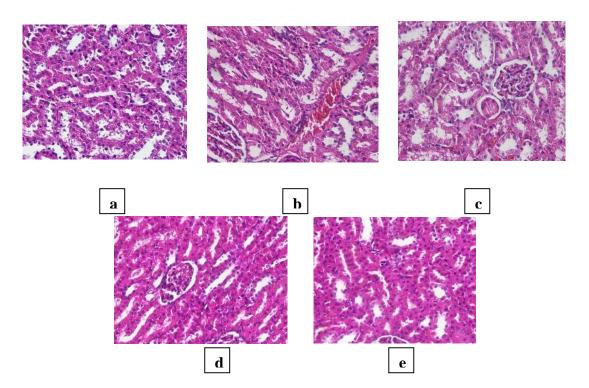
Pengamatan terhadap adanya kerusakan ginjal dilakukan secara histopatologis. Gambaran histopatologi ginjal diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Kerusakan yang dinilai adalah sel tubulus yang mengalami kerusakan berupa sel nekrotik seperti disajikan pada tabel 1. Data yang diperoleh dibandingkan antara kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, dan ketiga kelompok perlakuan ekstrak.

Tabel 1. Kriteria Kerusakan sel nekrosis tubulus ginjal

Skor	Gambaran Histopatologis			
0	tidak ada sel yang nekrotik			
1	<10% sel yang mengalami nekrotik			
2	10% - 33% sel yang mengalami nekrotik			
3	34% - 66% sel yang mengalami nekrotik			
4	67% - 100% sel yang mengalami nekrotik			

Hasil

Hasil penelitian berupa gambaran histopatologi yaitu kerusakan tubulus berupa sel nekrosis bisa dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Histopatologi ginjal tikus pewarnaan H.E. (pembesaran 400x). Keterangan : a. Kelompok I b. Kelompok II c. Kelompok III d. Kelompok IV e. Kelompok V

Analisis gambaran histopatologi ginjal tikus pada setiap kelompok perlakuan dibuat rerata menggunakan statistik tampak pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata gambaran histopatologi sel nekrosis ginjal

Kelompok Uji	Rerata sel nekrosis (X±SD)
K1	$2,50 \pm 2,50$
K2	$92,50 \pm 1,76$
K3	$66,50 \pm 3,79$
K4	$39,00 \pm 3.35$
K5	$8,00 \pm 2,09$

Rerata jumlah sel ginjal yang mengalami nekrosis sel diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk* dan didapatkan databerdistribusi normal. Oleh karena data yang digunakan berdistribusi normal maka dalam pengujian hipotesis berikutnya akan digunakan statistik parametrik (*One-way ANOVA*). Pada uji statistik *One-way ANOVA*, diperoleh nilai p<0,001 (p<0,05) yang artinya paling tidak terdapat perbedaan jumlah sel nekrosis tubulus yang bermakna antar kelompok. Analisis data dilanjutkan menggunakan analisis *Post Hoc* LSD untuk

menilai perbedaan masing-masing kelompok dan diperoleh hasil sebagai berikut, pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji statistik perbandingan antar kelompok (*Post Hoc* LSD)

	r	6	. r .	/	
Kelompok	I	II	III	IV	V
I	<0,001	<0,001	< 0,001	< 0,001	0,006
II	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
III	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
IV	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	<0,001
V	0,006	< 0,001	< 0,001	< 0,001	<0,001

^{*}Hasil analisis *Post Hoc* LSD bermakna jika p<0,05

Berdasarkan analisis *Post Hoc* LSD untuk jumlah sel nekrosis ginjal pada tabel 3, didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan bermakna antara K1 dengan kelompok lainnya. Perbedaan bermakna tersebut yaitu K1 yaitu K1 dengan K2 (p<0,001), K1dengan K3 (p<0,001), K1 dengan K4 (p<0,001), K1dengan K5 (p=0,006), K2 dengan K3 (p<0,001), K2 dengan K4 (p<0,001), K2 dengan K5 (p<0,001), K3 dengan K4 (p<0,001), K3 dengan K5 (p<0,001).

Pembahasan

Pada hasil pengamatan ginjal tikus dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400x didapatkan bahwa kelompok I (K1) yang hanya diberikan akuades terdapat kerusakan yang sangat kecil dengan rerata kerusakan 2,50 ± 2,50) disebabkan karena perubahan pada lingkungan sangat berpengaruh terhadap pola sikap dan perilaku tikus dan mencit. Termasuk pada saat mengisolasi tikus secara individu. Tikus yang dipisahkan dari kelompoknya akan mempengaruhi pola sikap dan perilakunya sampai bisa membuat stres. Misalnya terjadi perubahan perilaku menjadi hiperaktif, kecemasan meningkat serta peningkatan kepekaan terhadap stres (Khakim, 2007).

Gambaran histopatologi kelompok II menunjukkan kerusakan ginjal paling parah di antara kelompok yang lain yaitu dengan rerata sebesar $92,5 \pm 1,76$ diakibatkan oleh mekanisme kompleks antigen-antibodi (kompleks-toksik) akibat

induksi rifampisin. Kerusakan ginjal karena rifampisin terutama disebabkan oleh proses rifampisin tergantung antibodi. Mekanisme kerusakan berhubungan dengan pengembangan kekebalan yang disebabkan oleh tokisisitas rifampisin bahwa jumlah antibodi terakumulasi selama pemakaian rifampisin menyebabkan kompleks imun tersimpan di dalam pembuluh darah atau interstitium dan menyebabkan cedera tubular sehingga mengurangi fungsi ginjal (Rekha *et al.*, 2005).

Terjadinya degenerasi tubulus ginjal setelah pemberian rifampisin ini sesuai dengan teori bahwa proses ekskresi obat yang berlangsung di ginjal dapat menimbulkan dampak buruk bagi ginjal itu sendiri. Tingginya aliran darah yang menuju ginjal inilah yang menyebabkan berbagai macam obat dan bahan-bahan kimia dalam sirkulasi sistemik dikirim ke ginjal dalam jumlah yang besar. Zat- zat toksik ini akan terakumulasi di ginjal dan menyebabkan kerusakan bagi ginjal tersebut (Robbins & Kumar, 2007).

Berdasarkan uraian hasil penelitian di atas, kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kulit manggis yaitu kelompok III, IV, dan V mempunyai gambaran histopatologi dengan derajat kerusakan yang berbeda-beda tetapi lebih ringan dibandingkan dengan kelompok II. Nilai ini berarti menunjukkan bahwa tikus yang diberikan ekstrak kulit manggis (dosis 20 mg/100BB; 40 mg/100BB; dan 80 mg/100BB) mampu memberikan efek protektif terhadap ginjal yang diinduksi oleh isoniazid, hal ini sejalan dengan penelitian-penelitian sebelumnya tentang pemberian ekstrak kulit manggis.

Kulit buah manggis setelah diteliti ternyata mengandung beberapa senyawa dengan aktivitas farmakologi misalnya antiinflamasi, antihistamin, pengobatan penyakit jantung, antibakteri, dan antijamur, antioksidan . Beberapa senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang dilaporkan bertanggungjawab atas beberapa aktivitas farmakologi adalah golongan xanton. Hal ini dapat dijelaskan bahwa kandungan kulit manggis memiliki potensi yang cukup beralasan untuk menjadikannya sebagai *anti-inflammatory agents dan anti-oxidant agents*. (Nugroho, 2007).

Dari penelitian Nakatani *et al.*, (2004) dibuat kesimpulan bahwa gamma mangostin secara langsung menghambat aktivitas enzim Ikappa B kinase, untuk kemudian mencegah proses transkripsi gen COX-2 (gen target NF- kappaB), menurunkan produksi PGE2 dalam proses inflamasi. Gamma mangostin terhadap sintesa PGE2 dan siklooksigenase (COX). Gamma-mangostin menghambat secara poten pelepasan PGE2. Dimana PGE2 dan jalur siklooksigenase, kedua senyawa dan enzim tersebut merupakan mediator terpenting dalam terjadinya reaksi inflamasi. Gamma- mangostin menghambat perubahan asam arakidonat menjadi PGE2 dalam mikrosomal, ini ada kemungkinan penghambatan pada jalur siklooksigenase.

Menurut Moongkarndi *et al.*, (2004) melaporkan bahwa ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan. Menurut hasil penelitian Weecharangsan *et al.*, (2006) menunjukkan bahwa semua ekstrak mempunyai potensi sebagai penangkal radikal bebas, dan ekstrak air dan etanol mempunyai potensi lebih besar. Menurut penelitian Jung *et al.*, (2006) antioksidan dari senyawa- senyawa tersebut, yang menunjukkan aktivitas poten adalah : 8-hidroksikudraxanton, gartanin, alpha-mangostin, gamma-mangostin dan smeathxanton A.

Simpulan

Berdasarkan penjelasan di atas, pemberian ekstrak kulit manggis baik dosis 20 mg/100grBB, dosis 40 mg/100grBB, dan dosis 80 mg/100grBB mampu memberikan efek renoprotektif dibuktikan dengan perbaikan sel tubulus. Pengaruh ini disebabkan oleh antioksidan dan antiinflamasu alami yang terkandung pada kulit manggis dapat menghambat peradangan dan stress aoksidatif dari sel tubulus ginjal, sehingga mencegah kerusakan sel.

Daftar Pustaka

- Depkes RI. 2012. Profil kesehatan indonesia 2011. Jakarta: Bakti Husada. hlm. 61-3.
- Jung HA, Su BN, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. 2006. Antioxidant xanthones from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). Journal from Agricultural and Food Chemistry. 54(6): 2077-82.
- Khakim JL. 2007. Pengaruh jus buah pepaya (*Carica papaya*) terhadap kerusakan histologis lambung mencit yang diinduksi aspirin. Skripsi. Surakarta: UNS.
- Meulen JVD, Jong GMTD, Westenend JP. 2009. Acute intertitial nephritis during rifampicin theraphy can be a paradoxical response. BMC Nephrology. 2(4): 1-3.
- Min HK, Kim EO, Lee SJ, Chang YK, Suh SY, Yang CW, Kim SY, Hwang HS. 2013. Rifampin-associated tubulointersititial nephritis and Fanconi syndrome presenting as hypokalemic paralysis. BMC Nephrology. 13(14):1-5.
- Moongkarndi P, Kosem N, Kaslungka S, Luanratana O, Pongpan N, Neungton N. 2004. Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. Journal Ethnopharmacol. 90(1):161-6.
- Nakatani K, Yamakuni T, Kondo N, Arakawa T, Oosawa K, Shimura S, Inoue H, Ohizumi Y. 2004. Gamma-mangostin inhibits ikappaB kinase activity and decreases lipopolysaccharideinduced cyclooxygenase-2 gene expression in rat glioma cells. Molecular Pharmacology Fast Forward. 3(66): 667-74.
- Nugroho. 2007. Manggis (*Garcinia mangostana L*.) dari kulit buah yang terbuang hingga menjadi kandidat suatu obat. Majalah obat tradisional. Yogyakarta: FKUGM. hlm. 3-5.
- Rekha W, Santha T, Jawahar MS. 2005. Rifampicin-induced renal toxicity during retreatment of patients with pulmonary tuberculosi. Journal assoc physicians india. 53(1): 811-3.
- Robbins SL, Kumar V. 2007. Buku ajar patologi anatomi , edisi ke-6. Jakarta: EGC. hlm. 113, 572, 595-7.
- Weecharangsan W, Opanasopit P, Sukma M, Ngawhirunpat T, Sotanaphun U, Siripong P. 2006. Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana L.*). Medical Principles and Practice.15(4): 281-7.
- Wijaya A, Setyawati S, Santosaningsih D. 2011. Pengaruh ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap penurunan jumlah foam cell pada aorta tikus (*Rattus novergicus*) model aterogenik. Skripsi. Malang: UB.