

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Dalam kehidupan sehari-hari manusia dapat terpapar oleh ribuan xenobiotik yang setiap xenobiotik dapat berefek toksik. Xenobiotik (senyawa asing dalam tubuh) meliputi obat-obatan, pestisida, polutan, bahan kimia industri pewarna, penyedap dan bahan pengawet makanan termasuk salah satunya adalah formalin yang ditemukan dalam makanan.<sup>1,2</sup>

Formalin disalahgunakan sebagai pengawet makanan karena harganya murah dan tidak berwarna. Hal ini sering ditemukan dalam industri rumahan yang tidak terdaftar dan tidak terpantau oleh Depkes dan Badan POM setempat. Pemerintah Indonesia telah melarang penggunaan formalin sebagai pengawet makanan karena efek toksik dan karsinogeniknya. Peraturan tersebut tertuang dalam Peraturan Menteri Kesehatan No. 722/1988, Permenkes No. 1168/Menkes/PER/X/1999, UU No 7/1996 tentang Pangan dan UU No 8/1999 tentang Perlindungan Konsumen.<sup>3,4</sup>

Pemeriksaan yang dilakukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) menunjukkan ada beberapa makanan yang mengandung formalin dengan berbagai kadar, seperti mie basah, bakso, ikan asin dan tahu.<sup>3,5-7</sup>

Formalin merupakan larutan formaldehid dalam air, biasanya mengandung 37% formaldehid dan 12-15% methanol.<sup>8</sup> Formalin biasa digunakan sebagai antiseptik, bahan baku di berbagai industri seperti karet, plastik, tekstil dan kayu

lapis. Selain itu juga dipakai sebagai pengawet mayat, sediaan histologi dan patologi anatomi.<sup>9-10</sup>

Formalin sangat berbahaya jika tertelan. Akibat yang ditimbulkan dapat berupa iritasi pada saluran pencernaan, reaksi alergi dan timbulnya kanker pada manusia. Jika kadar formalin dalam tubuh tinggi, akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat di dalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel dan kerusakan organ tubuh. Formalin juga merupakan sumber senyawa oksigen reaktif / ROS ( *Reactive Oxygen Species* ) dan radikal bebas eksogen.<sup>4-5,11</sup> Menurut *International Programme on Chemical Safety* ( IPCS ), ambang batas aman formalin pada tubuh dalam bentuk cairan adalah 1 mg per liter, sedangkan dalam bentuk makanan untuk orang dewasa adalah 1,5 – 14 mg / hari.<sup>12</sup> LD50 untuk formalin per oral pada tikus adalah 800 mg/kg.<sup>13</sup>

Formalin yang masuk ke dalam tubuh dapat mengalami metabolisme menjadi asam format, distribusi dan diekskresikan dalam bentuk karbondioksida dan air, diperkirakan sekitar 10% diekskresi melalui urine, 1% melalui feses dan 10-20% melalui saluran nafas. Gugus format dan formalin yang tidak dimetabolisme dapat berikatan dengan tetrahidrofolat yang bersifat elektrofilik. Sebagian besar asam format dari formalin mengendap dalam jaringan tubuh dan dapat menimbulkan efek yang permanen atau bisa bergabung menjadi kelompok metil ke dalam asam nukleat dan protein. Meskipun hanya 10 % diekskresi melalui urin, formalin bersifat toksik dan elektrofilik sehingga berpotensi merusak sel / organ ginjal.<sup>10,14-17</sup>

Paparan formalin menyebabkan meningkatnya ROS. Keadaan tersebut menyebabkan menurunnya aktivitas antioksidan enzim *superoxide dismutase* (SOD), katalase dan glutathione yang merupakan *scavenger* utama yang terlibat dalam inaktivasi dan terminasi radikal oksigen bebas.<sup>11</sup> Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan yang tidak seimbang antara antioksidan yang ada dalam tubuh dengan produksi ROS. Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid, protein termasuk enzim dan DNA, yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif, bila ini berlanjut dapat mengakibatkan kerusakan dan kematian sel.<sup>11</sup>

Organ ginjal dipilih untuk mengetahui proses kerusakan sel dalam penelitian ini karena ginjal merupakan organ utama yang terkena efek toksik jika tubuh terpapar zat toksik selain hepar yang mempunyai fungsi detoksifikasi.<sup>18</sup> Sebagai organ ekskresi, ginjal mudah terpapar zat-zat kimia asing yang dapat merusak jaringannya.<sup>19</sup> Salah satu tanda kerusakan dari ginjal dapat dilihat dengan mengamati perubahan struktur histopatologi dari ginjal, antara lain kerusakan tubulointerstitial berupa dilatasi, inflamasi interstitial, fibrosis dan nekrosis. Bagian sel yang diteliti adalah sel tubulus ginjal karena sel tersebut sangat rentan terhadap hipoksia dan zat kimia toksik termasuk formalin karena fungsinya sebagai resorpsi dan mengkonsentrasikan zat toksik.<sup>20</sup>

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.<sup>21</sup> Paparan kronis formaldehid dapat menyebabkan degenerasi tubulus proksimal dan nekrosis pada ginjal.<sup>22</sup>

Untuk mengetahui proses inisiasi kematian sel, penulis menggunakan parameter ekspresi protein Bcl-2 karena fungsinya menjaga integritas membran sel sehingga berperan penting dalam regulasi kematian sel. Bcl-2 juga terdapat pada sel tubulus ginjal yang normal. Penelitian ini difokuskan pada efek ekstrak kulit manggis yang diharapkan dapat mengurangi ROS sehingga meningkatkan ekspresi Bcl-2 karena menurunnya sel mati pada tubulus ginjal.<sup>23-24</sup>

Bila ada kerusakan DNA akibat mutasi, radiasi, karsinogen kimia dan stres oksidatif maka ekspresi p53 dapat meningkat. p53 mengaktifasi transkripsi Bax ( pro-apoptosis ) yang akan menghambat Bcl-2 (anti-apoptosis), selain itu p53 juga berperan menekan transkripsi Bcl-2 sehingga terjadi apoptosis.<sup>25</sup>

Penelitian menunjukkan bahwa ROS menginduksi apoptosis berbagai jenis sel. Ada hubungan timbal balik antara kadar ROS dan Bcl-2 dalam sel. Penurunan kadar ROS berkorelasi dengan peningkatan ekspresi Bcl-2 dan sebaliknya.<sup>26</sup> Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ROS dan stres oksidatif berperan penting dalam apoptosis sel. Protein Bcl-2 telah terbukti dapat mencegah kematian / apoptosis sel kemungkinan melalui mekanisme antioksidan.<sup>27</sup>

Kemampuan menetralkan senyawa oksidan sebenarnya sudah dimiliki oleh tubuh atau sel itu sendiri. Secara alamiah dalam sel terdapat berbagai antioksidan baik enzimatis maupun non enzimatis yang berfungsi sebagai pertahanan bagi organel-organel sel dari pengaruh kerusakan reaksi radikal bebas.<sup>28</sup> Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga bila terpapar radikal berlebihan dibutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik maka antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih.<sup>29</sup>

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) mengandung polifenol dan turunan xanthon. Kedua substansi (zat) tersebut berefek antioksidan alami. Nilai antioksidan xanthon lebih besar dari pada wortel dan jeruk. Xanthon memiliki gugus hidroksi (OH) yang efektif mengikat radikal bebas di dalam tubuh.<sup>30</sup> Penelitian ini menggunakan ekstrak kulit manggis karena lebih murah dan mudah diaplikasikan untuk masyarakat dari pada memakai zat aktif xanthon saja.

Penelitian efek antioksidan kulit manggis telah dilakukan untuk menghambat oksidasi Low Density Lipoprotein (LDL) dan atherosklerosis<sup>31</sup> serta menurunkan kadar gula darah.<sup>32</sup> Tetapi belum ada penelitian yang melaporkan apakah ekstrak kulit manggis efektif untuk mengurangi stres oksidatif akibat pemberian formalin yang ditandai dengan peningkatan ekspresi protein Bcl-2 dan penurunan jumlah kematian sel tubulus ginjal tikus Wistar, untuk itu diperlukan penelitian lebih lanjut. Ekstrak kulit manggis diberikan selama 1 minggu dalam dosis bertingkat untuk melihat

tingkat keefektifannya menurunkan kerusakan oksidatif sel tubulus akibat induksi formalin per-oral.

Tikus Wistar dipilih dalam penelitian ini karena tidak etis jika langsung dilakukan penelitian sejenis pada manusia. Metabolisme tikus Wistar tidak jauh berbeda dengan manusia sehingga tikus sering digunakan sebagai binatang percobaan dalam penelitian untuk mengetahui efek suatu zat terhadap tubuh.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Dari latar belakang penelitian tersebut di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Apakah ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) berpengaruh terhadap ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal pada tikus Wistar yang diinduksi formalin ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) terhadap ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal pada tikus Wistar yang diinduksi formalin.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis dosis bertingkat terhadap ekspresi protein Bcl-2 sel epitel tubulus ginjal tikus Wistar jantan yang diinduksi formalin.
2. Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis dosis bertingkat terhadap jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal tikus Wistar jantan yang diinduksi formalin.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini dimaksudkan dapat bermanfaat sebagai :

1. Sumber pengetahuan atau informasi kepada masyarakat tentang sejauh mana perubahan ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis yang mengandung antioksidan pada tikus Wistar yang diinduksi formalin.
2. Tambahan informasi akan bahaya formalin sebagai zat tambahan dalam makanan bagi masyarakat pada umumnya.
3. Masukan dan tambahan rujukan untuk lembaga / instansi dan mahasiswa yang akan melakukan penelitian lebih lanjut.

### **1.5 Orisinalitas Penelitian**

Penelitian terkait yang telah dilakukan oleh peneliti lain sebelumnya tertera pada tabel dibawah ini.

**Tabel 1. Penelitian terkait yang telah dilakukan oleh peneliti lain**

No	Peneliti, tahun	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Mahdi C, Aulanium, Sumarno, M.A Widodo 2008. <sup>11</sup>	Suplementasi Yoghurt pada Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) yang Terpapar Formaldehid dalam Makanan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kerusakan Oksidatif Jaringan Hepar	Paparan formaldehid dengan konsentrasi 0; 25; 50 dan 75 ppm selama 7 hari dapat meningkatkan kadar Malondialdehid (MDA) masing-masing adalah 5,35 ; 18,71; 29,43 dan 35,30 µg/mL. Pemberian yoghurt bersamaan paparan formaldehid dalam waktu yang sama dapat menurunkan kadar MDA masing-masing sebagai berikut 5,35; 5,73; 12,17 dan 15,75 µg/mL. Paparan formaldehid juga menurunkan kadar superoxid dismutase (SOD) pada masing-masing pemberian formaldehid dosis 0; 25; 50 dan 75 ppm sebagai berikut 70,99 ; 29,43; 25,87; dan 20,48. U/mL. Pemberian yoghurt bersama paparan formalin dalam waktu yang sama dapat meningkatkan aktivitas SOD masing-masing sebagai berikut 70,99; 68,00 ; 38,58 ; 29,43 U/mL (p<0,05). Sehingga yoghurt secara nyata dapat mencegah kerusakan hepar dari paparan formaldehid dalam makanan.
2.	Zararsiz,I., et al 2007. <sup>21</sup>	Protective Effect Of Melatonin Against Formaldehyde-Induced Kidney Damage In Rats	Pemeriksaan biokimia dan histologis menunjukkan bahwa pemberian melatonin mencegah kerusakan oksidatif ginjal tikus yang diinduksi formaldehid. Aktivitas SOD dan GPx jaringan ginjal menurun secara bermakna dan kadar malondialdehid meningkat secara signifikan pada tikus yang diberi formaldehid intraperitoneal dosis 10 mg/kg, 37%, selama 14 hari dibandingkan dengan hewan kontrol. Pada pemeriksaan dengan mikroskop cahaya dari



			kelompok ini tampak degenerasi glomerulus, vakuola dan dilatasi tubulus distal serta kongesti vaskular. Terdapat peningkatan aktivitas SOD dan GPx serta penurunan kadar malondialdehid pada pemberian formaldehid bersama melatonin. Perubahan gambaran histopatologi akibat formaldehid tidak terlihat lagi kecuali sedikit dilatasi tubulus.
3	Hariyono, Yohana 2010. <sup>33</sup>	Pengaruh Paparan Berulang Formalin Melalui Inhalasi Terhadap Kerusakan Sel Hati Dan Sel Ginjal Mencit (Mus musculus) Galur Balb C	Paparan berulang formalin melalui inhalasi setiap hari 6 jam dan 8 jam selama 7 hari 8 minggu dengan konsentrasi yang berbeda dapat menyebabkan kerusakan sel hati dan sel ginjal. Paparan formalin 2 ppm menyebabkan karioreksis sel hati, sedangkan paparan formalin 4 ppm menyebabkan piknosis dan kariolisis sel hati serta karioreksis, piknosis dan kariolisis sel ginjal mencit betina (Mus musculus) Galur Balb C.
4	Wibowo, M 2012. <sup>34</sup>	Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Wistar	Pemberian formalin peroral dosis bertingkat yaitu 50 mg / kgBB / hari; 100 mg / kgBB / hari dan 200 mg / kgBB / hari selama 12 minggu menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis ginjal tikus wistar. Perubahan yang terlihat berupa atrofi dan dilatasi tubulus dan proses degenerasi sel tubulus ginjal.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang telah ada sebelumnya baik dari segi parameter yang dinilai, dosis, cara pemberian dan lama pemberian formalin serta organ target yang diteliti.

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan, pemberian formalin per-oral dilakukan lewat sonde. Sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan untuk

menentukan waktu yang dibutuhkan formalin dosis 200 mg/kgBB/hari (1/4 dosis lethal)<sup>35</sup> merusak sel tubulus ginjal. Penelitian selanjutnya difokuskan pada pengaruh ekstrak kulit manggis dosis bertingkat yaitu 200 mg/kg BB dan 400 mg/kgBB<sup>36</sup> terhadap ekspresi protein Bcl-2 dan jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal tikus Wistar akibat pemberian formalin peroral dosis 200 mg/kgBB/hari serta dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Bila dibandingkan dengan pemberian melatonin pada penelitian terdahulu, ekstrak kulit manggis diharapkan lebih unggul dalam menghambat kerusakan oksidatif pada ginjal yang terpapar formalin karena selain mengandung antioksidan juga terdapat anti inflamasi dan anti alergi.