

**PENGARUH EKSTRAK KULIT MANGGIS PADA SEL
TUBULUS GINJAL YANG DIINDUKSI FORMALIN :
Studi Ekspresi Protein Bcl-2 dan Jumlah Sel Mati pada Tubulus Ginjal
Tikus Wistar**

*The Effect of Mangosteen Peel Extract in Renal Tubular Cells
Formalin-Induced :
Study on Bcl-2 Protein Expression and Number of Death Cells in The Wistar
Rat Renal Tubules*



**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat S-2**

Magister Ilmu Biomedik

Nanik Marfu'ati

2201011140051

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2014

TESIS
PENGARUH EKSTRAK KULIT MANGGIS PADA SEL
TUBULUS GINJAL YANG DIINDUKSI FORMALIN :
Studi Ekspresi Protein *Bcl-2* dan Jumlah Sel Mati pada Tubulus Ginjal
Tikus Wistar

Disusun oleh

Nanik Marfu'ati

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 6 Februari 2014
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. dr. Sarjadi, SpPA (K)

NIP. 194412111971051001

Prof. Dr. dr. Winarto, SpMK, SpM (K)

NIP. 194906171978021001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes

NIP. 19590527 198603 2 001

LEMBAR MONITORING PERBAIKAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang diajukan pada tanggal 6 Februari 2014 atas :

Nama Mahasiswa : dr. Nanik Marfu'ati
NIM : 22010111400051
Judul : Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis pada Sel Tubulus Ginjal yang Diinduksi Formalin : Studi Ekspresi Protein *Bcl-2* dan Jumlah Sel Mati Pada Tubulus Ginjal Tikus Wistar

No	Nama	Penguji	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dr.dr. RA Kisdjamiatun, RMD, M.Sc	Penguji Ketua		
2.	Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp. PA(K)	Penguji Anggota/ Pembimbing I		
3.	Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp. MK, Sp. M (K)	Penguji Anggota/ Pembimbing II		
4.	Prof. dr. Edi Dharmana, M.Sc, PhD, Sp. Par (K)	Penguji Anggotag		

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarsm sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No.17 tahun 2010. Sumber pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 6 Februari 2014

Nanik Marfu'ati

22010111400051

RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

Nama : Nanik Marfu'ati
NIM : 2201011140051
Tempat / Tgl lahir : Wonogiri, 11 Mei 1968
Agama : Islam
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri I Talunombo, Wonogiri, Jawa Tengah : Lulus tahun 1980
2. SMP Negeri I Baturetno, Wonogiri, Jawa Tengah : Lulus tahun 1983
3. SMA Negeri I Surakarta, Jawa Tengah : Lulus tahun 1986
4. FK Universitas Sebelas Maret Surakarta : Lulus tahun 1994
5. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang Jawa Tengah

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter PTT Puskesmas Sragi III Pekalongan (1995-1998)
2. PMI Surakarta (1998-1999)
3. RS Roemani Muhammadiyah Semarang (2000-sekarang)
4. Staf Pengajar FK UNIMUS Semarang (2008-sekarang)

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua :
Ayah : Marzuki
Ibu : Suwarni
2. Nama Suami : Moh. Kusyanto
3. Nama Anak : Rafif Sadid Hamdani

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan anugerahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis pada Tubulus Ginjal yang Diinduksi Formalin : Studi Ekspresi Protein Bcl-2 dan Jumlah Sel Mati pada Tubulus Ginjal Tikus Wistar”**

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S2 Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak. Kepada Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp PA (K) dan Prof. Dr. dr. H. Winarto, SpM (K), SpMK sebagai dosen pembimbing, penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan, sumbangan pikiran, waktu serta kesabarannya dalam proses penyelesaian tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dekan FK UNIMUS, dr. Siti Moetmainnah, MARS, SpOG(K), beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk belajar di Magister Ilmu Biomedik FK UNDIP.
2. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik FK Universitas Diponegoro, Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes, yang telah memberikan pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.
3. Prof. Dr. dr. Suprihati M.Sc, SpTHT-KL(K), Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP / RS Dr. Kariadi Semarang, atas kebijaksanaanya dalam perijinan penelitian tesis ini.
4. Prof. dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, SpParK dan Dr. dr. R.A Kisdjamiatun RMD, M.Sc selaku Tim Penguji dan narasumber yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.

5. Seluruh Dosen pengajar kami di Magister Ilmu Biomedik FK UNDIP atas segala bimbingannya selama pendidikan.
6. Dr. Noor Yazid, SpPA dan dr. Dik Puspasari, SpPA yang telah membantu pembacaan sediaan mikroskopis.
7. Bp Yulianto dan Bp Pur yang telah membantu proses penelitian di Laboratorium PAU UGM dan Laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP.
8. Semua rekan sejawat Magister Ilmu Biomedik FK UNDIP yang telah memberi dukungan semangat untuk menyelesaikan tesis ini.
9. Mbak Nata Sulastri, Mbak Fika dan Mas Dul yang telah membantu semua proses penyelesaian tesis ini.
10. Ucapan terima kasih khusus kepada orang tua, suami dan anak saya tercinta serta adik-adik tersayang yang telah memberi dukungan semangat moril, spiritual dan material untuk keberhasilan studi saya.
11. Semua pihak yang telah membantu proses penyelesaian tesis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna. Kritik dan saran demi kesempurnaan penelitian ini akan diterima dengan senang hati. Penulis berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat serta memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu kedokteran.

Semarang, Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1. Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	7
1.4. Manfaat Penelitian.....	7
1.5. Orisinalitas Penelitian	8

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. Formalin	11
2.1. 1. Gambaran Umum	11
2.1. 2. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi Formalin	14
2.1. 3. Toksisitas Formalin.....	16
2.1. 4. Efek Formalin Terhadap Ginjal	20
2.2. Proses Kematian Sel.....	21
2.2. 1. Adaptasi, Cedera dan Kematian sel	21
2.2. 2. Mekanisme Cedera Sel.....	22
2.2. 3. Nekrosis.....	26
2.2. 4. Apoptosis.....	28
2.2. 5. Patologi Ginjal	34
2.3. Protein Bcl-2	37
2.3. 1. Keluarga Protein Bcl-2.....	37
2.3. 2. Fungsi Protein Bcl-2	39
2.3. 3. Jalur Mekanisme Bcl-2 Menghambat / Mengatur Kematian Sel	40
2.4. Tanaman Manggis.....	44
2.4. 1. Gambaran Umum	44
2.4. 2. Kandungan Fitokimia Kulit Manggis.....	45
2.4. 3. Kajian Farmakologi Kulit Buah Manggis.....	45

BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN	
HIPOTESIS	51
3.1. Kerangka Teori.....	51
3.2. Kerangka Konsep	52
3.3. Hipotesis.....	52
BAB IV. METODE PENELITIAN	53
4.1. Ruang Lingkup Penelitian	53
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian	53
4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian	53
4.4. Populasi dan Sampel Penelitian	55
4.5. Variabel Penelitian	56
4.6. Definisi Operasional Variabel.....	57
4.7. Bahan dan Alat Penelitian.....	58
4.8. Cara Kerja dan Skala Pengukuran.....	61
4.9. Alur Penelitian	66
4.10. Analisis Statistik.....	69
4.11. Etika Penelitian	69
BAB V. HASIL PENELITIAN	70
BAB VI. PEMBAHASAN	76
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN	87
DAFTAR PUSTAKA	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Metabolisme Formalin	15
Gambar 2. Mekanisme Apoptosis	33
Gambar 3. Skema Struktur Protein Anti-Apoptosis dan Pro-Apoptosis.....	38
Gambar 4. Bcl-2 Mengatur Kematian Sel	43
Gambar 5. Pohon Manggis dan Kulit Buah Manggis	44
Gambar 6. Struktur Kimia Xanthon Kulit Buah Manggis	46
Gambar 7. Kerangka Teori.....	51
Gambar 8. Kerangka Konsep	52
Gambar 9. Skema Rancangan Penelitian	54
Gambar 10. Skema Alur Penelitian	68
Gambar 11. Foto sediaan mikroskopis ginjal tikus Wistar pre-penelitian,	70
Gambar 12. Foto sediaan mikroskopis ginjal tikus Wistar, <i>IHC</i> Bcl-2	73
Gambar 13. Foto sediaan mikroskopis ginjal tikus Wistar, pewarnaan HE.....	75

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penelitian Terkait Yang Telah Dilakukan oleh Peneliti Lain	8
Tabel 2. Pengaruh ekstrak kulit manggis pada rata-rata ekspresi protein Bcl-2 tubulus ginjal tikus Wistar yang diinduksi Formalin	71
Tabel 3. Perbedaan signifikansi ekspresi protein Bcl-2 tubulus ginjal antar kelompok.....	72
Tabel 4. Pengaruh ekstrak kulit manggis pada rata-rata jumlah sel mati tubulus ginjal tikus Wistar	74
Tabel 5. Perbedaan signifikansi jumlah sel mati tubulus ginjal antar kelompok	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i> Penelitian	94
Lampiran 2. Ijin Penelitian dan Pemeliharaan Hewan.....	95
Lampiran 3. Penentuan Skor Sediaan Imunohistokimia Menurut <i>Allred</i>	96
Lampiran 4. Data Skor <i>Allred</i> Bcl2 Tubulus Ginjal	97
Lampiran 5. Data Jumlah Sel Mati Pada Tubulus Ginjal.....	98
Lampiran 6. Grafik Histogram Skor Ekspresi Bcl-2 Pada Tubulus Ginjal	99
Lampiran 7. Grafik Box-plot Ekspresi protein Bcl-2 Pada Tubulus Ginjal.....	100
Lampiran 8. Uji Normalitas Data Ekspresi protein Bcl-2 Tubulus Ginjal.....	101
Lampiran 9. Uji beda <i>One way ANOVA</i> Ekspresi protein Bcl-2 Pada Tubulus Ginjal.....	102
Lampiran 10. Grafik Histogram Jumlah Sel Mati Tubulus Ginjal.....	103
Lampiran 11. Grafik <i>Box-plot</i> Jumlah Sel Mati Tubulus Ginjal.....	104
Lampiran 12. Uji Normalitas Data Sel Mati Tubulus Ginjal	105
Lampiran 13. Uji beda <i>One way ANOVA</i> Sel Mati Tubulus Ginjal.....	105
Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian.....	106

DAFTAR SINGKATAN

- AIF : *Apoptosis Inducing Factor*
- Apaf-1 : *Apoptosis Protease-Activating Factor-1*
- ATP : *Adenosine Triphosphate*
- Bcl-2 : *B cell lymphoma-2*
- Bad : *Bcl-2-Associated Death promoter.*
- BPOM : *Badan Pengawas Obat dan Makanan*
- Caspase : *Cysteine-Aspartic Proteases*
- DISC : *Death Induced Signaling Complex*
- DNA : *Deoxyribonucleic Acid*
- DR : *Death Receptor*
- FADD : *Fas Associated Death Domain*
- Fas : *Fatty Acid Synthetase*
- Fas-DR : *Fas Death Receptor*
- GPx : *Glutathione Peroksidase*
- GSH : *Glutathione (tereduksi)*
- IAP : *Inhibitors of Apoptosis Protein*
- IARC : *International Agency of Research Cancer*
- IPCS : *International Programme on Chemical Safety*
- iNOS : *Inducible nitric oxide synthase*
- LD : *Lethal Dose*

MDA : *Malondialdehyde*

MPT : *Membrane Permeability Transition*

MPTP : *Mitochondrial Permeability Transition Pore*

NfκB : *Nuclear Factor Kappa B*

NO : *Nitric oxide*

O₂⁻ : *Anion Superoxide*

OH* : *Radikal Hidroksil*

ONOO⁻ : *Peroxynitrite*

ORAC : *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

OSHA : *Occupational Safety and Health Administration*

PARP : *Poly (ADP-Ribose) Polymerase*

PTPC : *Permeability Transition Pore Complex*

RNS : *Reactive nitrogen species*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

SOD : *Superoxide Dismutase*

TRADD : *TNFR-Associated Death Domain Protein*

TRAF : *TNFR-Associated Factor*

TRAF2 : *TNFR-Associated Factor 2*

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

TNFR : *Tumor Necrosis Factor Receptor*

VDAC : *Voltage-Dependent Anion Channel*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth*

ABSTRAK

Latar Belakang : Kulit manggis kulit mengandung banyak antioksidan yang melindungi sel dari kerusakan. Formalin masih disalahgunakan sebagai pengawet makanan yang merupakan salah satu sumber oksidan.

Tujuan : untuk membuktikan pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap ekspresi protein Bcl - 2 dan jumlah kematian sel epitel tubulus ginjal tikus Wistar yang diinduksi formalin.

Metode : Penelitian eksperimen laboratorium dengan disain *post-test only control group*, menggunakan 18 ekor tikus Wistar jantan yang diberi formalin 200 mg / kgBB / hari melalui sonde selama 2 minggu. Tikus kemudian dibagi secara acak dalam 3 kelompok, yaitu kelompok Kontrol (K) tidak diberi ekstrak kulit manggis, kelompok perlakuan P1 dan P2 diberi ekstrak kulit manggis, masing-masing dosis 200 dan 400 mg / kgBB / hari selama 1 minggu. Semua tikus diterminasi, ginjal diperiksa secara histopatologi untuk menilai ekspresi protein Bcl - 2 dan jumlah kematian sel tubulus ginjal. Semua data dianalisis menggunakan One Way Anova dan Post Hoc Tukey HSD dengan tingkat signifikan $p < 0,05$.

Hasil : Skor ekspresi protein Bcl - 2 (rata-rata \pm SD) dari kelompok K, P1 dan P2 adalah $4,33 \pm 0,82$; $3,83 \pm 0,86$ dan $2,03 \pm 1,49$. Jumlah kematian sel tubulus ginjal dari kelompok K , P1 dan P2 adalah $682,50 \pm 149,68$; $633,50 \pm 59,56$ dan $465,67 \pm 65,44$. Analisis ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan dari ekspresi protein Bcl-2 ($p = 0,006$) dan kematian sel tubulus ginjal ($p = 0,005$) antara ketiga kelompok. Analisis Post Hoc menunjukkan bahwa ekspresi protein Bcl - 2 dan kematian sel tubulus ginjal kelompok P2 secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok K.

Simpulan : Ekstrak kulit manggis dosis 400 mg / kgBB / hari selama 1 minggu dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 protein dan memperbaiki kerusakan sel-sel tubulus ginjal yang disebabkan oleh formalin.

Kata kunci : formalin, manggis, Bcl2, kematian sel tubulus ginjal

ABSTRACT

Background: Mangosteen peel contains many antioxidants protecting cells from damage. Formalin misused as a food preservative is one source of oxidants.

Objective: to prove the effect of mangosteen peel extract on the expression of Bcl-2 protein and the number of renal tubular epithelial cell death induced by formalin in the Wistar rats.

Methods: A laboratory experimental with a post-test only control group design was performed by using 18 male Wistar rats received formalin 200 mg/kgBW/day through sonde for 2 weeks. The rats then was randomized in 3 groups, namely control group (K) received no mangosteen peel extract, treatment group P1 and P2 received mangosteen peel extract at dose level of 200 and 400 mg/kgBW/ day for 1 week, respectively. All of rats were terminated for kidney histopathological study of Bcl-2 protein expression and the number of renal tubular cell death. All data was analyzed using One Way Anova and Post Hoc Tukey HSD with level of significant $p < 0.05$.

Results : The expression of Bcl-2 protein score (mean \pm SD) of K, P1 and P2 groups were 4.33 ± 0.82 , 3.83 ± 0.86 and 2.03 ± 1.49 , respectively. The number of renal tubular cell death of K, P1 and P2 groups were 682.50 ± 149.68 ; 633.50 ± 59.56 and 465.67 ± 65.44 , respectively. One way ANOVA analysis showed significant differences of Bcl-2 expression ($p = 0.006$) and renal tubular cell death ($p = 0.005$) among the three groups. Post Hoc analysis showed that Bcl-2 expression and renal tubular cell death of P2 group were significantly lower than those of K group.

Conclusion : mangosteen peel extract at dose level of 400 mg/kgBW/day for 1 week can decrease Bcl-2 protein expression and repair damaged renal tubular cells caused by formalin.

Key words : formalin, mangosteen, Bcl2, tubular cell death.