BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui efek toksik dari pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) secara subkronik selama 14 minggu terhadap gambaran sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan diet normal. Desain penelitian yang dilakukan adalah eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium terhadap 50 hewan coba yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak kulit manggis, kelompok perlakuan 1 diberi dosis ekstrak kulit manggis 200 mg/kgBB, kelompok perlakuan 2 diberi dosis ekstrak kulit manggis 400 mg/kgBB, kelompok perlakuan 3 diberi dosis ekstrak kulit manggis 800 mg/kgBB, kelompok perlakuan 4 diberi dosis ekstrak kulit manggis 1600 mg/kgBB.

6.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap Gambaran Sel hepar Tikus

Hasil analisa statistik *Kruskal-Wallis* untuk menilai perbedaan rerata gambaran sel hepar normal, degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan didapatkan nilai p = 0.000 pada semua jenis gambaran sel hepar selain nekrosis yaitu p = 0.003, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) selama 14 minggu dapat mempengaruhi gambaran sel hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diberi diet normal.

Sebagian besar obat termasuk ekstrak kulit manggis yang mengandung *xanthone* bila dikonsumsi secara oral akan diabsorpsi ke dalam saluran cerna. Hepar terletak di antara permukaan absortif dari saluran cerna dan target obat dimana hepar berperan sentral dalam metabolisme obat. Hepatotoksisitas merupakan dampak yang hampir selalu terjadi pada setiap obat yang diberikan termasuk ekstrak kulit manggis, karena hepar adalah organ utama untuk metabolisme obat (Amalina, 2009). Pada inti *xanthone* terdapat gugus hidroksil fenolik (-OH) yang berperan penting dalam aktivitas uncoupling (pemutusan rangkaian) rantai pernafasan di mitokondria yang berdampak sitotoksik (Kawai *et al*. 1984). Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan produksi ATP, sehingga sel mengalami kerusakan karena keberlangsungan hidup sel bergantung pada metabolisme oksidatif di mitokondria. Penambahan atau pelepasan gugus fungsional (-OH) inilah yang terjadi pada reaksi fase I biotransformasi obat di hepar, sehingga dampak sitotoksik *xanthone* cenderung terjadi di hepar (Katzung, 2009).

Xanthone yang terdapat dalam ekstrak kulit manggis diduga memberikan efek toksik terhadap hepar. Derivat *xanthone* yang memiliki efek hepatotoksisitas dapat merusak sel hepar (Alam *et al*., 2014). Seperti halnya kegunaan *xanthone* yang berefek toksik terhadap sel tumor, juga bisa mengakibatkan dampak sitotoksisitas terhadap sel normal, dalam hal ini sel hepar. Hal ini karena derivat *xanthone* sebagai golongan fenolik dengan gugusan fungsional (-OH) memiliki sifat oksidatif stres yang menimbulkan aktivitas sitotoksik apabila diberikan dalam waktu yang lama dan dosis yang tinggi (Batova *et al*., 2010).

6.2 Dampak Peningkatan Dosis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap Rerata Gambaran Sel hepar Tikus

Hasil perhitungan rerata gambaran sel hepar degenerasi parenkim kelompok kontrol (K) adalah 3,72 ± 1,021, untuk kelompok perlakuan 1 (P1) adalah 34,42 ± 22,718, kelompok perlakuan 2 (P2) adalah 46,7 ± 18,261, kelompok perlakuan 3 (P3) adalah 60,8 ± 11,337, dan kelompok perlakuan 4 (P4) adalah 62,96 ± 7,139. Dari data tersebut dapat diartikan semakin meningkat dosis pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) maka semakin besar pula rerata gambaran sel hepar degenerasi parenkim.

Hasil perhitungan rerata gambaran sel hepar degenerasi hidropik kelompok kontrol (K) adalah 0 ± 0, untuk kelompok perlakuan 1 (P1) adalah 5,42 ± 10,138, kelompok perlakuan 2 (P2) adalah 6,5 ± 9,109, kelompok perlakuan 3 (P3) adalah 11,76 ± 11,788, dan kelompok perlakuan 4 (P4) adalah 16,42 ± 14,341. Dari data tersebut dapat diartikan semakin meningkat dosis pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) maka semakin besar pula rerata gambaran sel hepar degenerasi hidropik.

Hasil perhitungan rerata gambaran sel hepar nekrosis kelompok kontrol (K) adalah 0 ± 0, untuk kelompok perlakuan 1 (P1) adalah 0 ± 0, kelompok perlakuan 2 (P2) adalah 0 ± 0, kelompok perlakuan 3 (P3) adalah 0,2 ± 0,422, dan kelompok perlakuan 4 (P4) adalah 0,94 ± 1,603. Gambaran sel hepar nekrosis hanya terdapat pada kelompok perlakuan 3 dan 4 (dosis ekstrak kulit manggis 800 dan 1600 mg/kgBB) dengan peningkatan nilai rerata.

Pada kelompok kontrol juga didapatkan sel hepar degenerasi parenkim. Hal ini dimungkinkan karena bahan kimia yang terdapat di

lingkungan sekitar seperti polusi udara dapat menyebabkan jejas reversibel yaitu degenerasi parenkim (Kumar *et al*, 2007).

Beberapa persenyawaan telah dapat dibuktikan mengalami transformasi metabolik menjadi senyawa yang reaktif dan toksik terhadap berbagai organ tubuh. Reaksi toksik demikian mungkin tidak tampak pada pemaparan yang rendah di mana masih ada mekanisme detoksifikasi lainnya yang mengkompensasi dan masih tersedia cukup kosubstrat endogen (glutation, asam glukuronat, sulfat) untuk detoksifikasi. Dengan perjalanan waktu dan peningkatan dosis obat, kosubstrat endogen yang terpakai akan lebih cepat daripada regenerasinya. Akhirnya akan terjadi kekosongan kosubstrat endogen dan akan terjadi penimbunan suatu metabolit yang toksik dan reaktif, berakibat toksisitas terhadap organ-organ (Katzung, 2009).

Seperti halnya asetaminofen (parasetamol) pada dosis terapi (1,2 gram/hari untuk dewasa) cukup aman dikonsumsi. Secara normal parasetamol dimetabolisme melalui konyugat glutation yang tergantung pada sitokrom P450. Ketika asupan asetaminofen jauh melebihi dosis terapeutik, jalur sitokrom P450 menjadi lebih penting. Dengan perjalanan waktu terjadi kekosongan glutation, metabolit reaktif ini akan bereaksi dengan gugusan nukleofilik yang terdapat pada makromolekul sel, seperti protein menghasilkan hepatotoksisitas (Katzung, 2009).

6.3. Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) Berakibat Jejas Degenerasi Parenkim dan Hidropik terhadap Sel hepar Tikus

Hasil statistik Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada sel hepar degenerasi parenkim antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan (p=0.000). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dengan peningkatan dosis dapat memberikan dampak kerusakan secara reversibel berupa degenerasi parenkim terhadap sel hepar mulai dosis 200 mg/kgBB.

Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada sel hepar degenerasi hidropik antara kelompok kontrol dengan perlakuan 1 (p=0.031), dengan perlakuan 2 (p=0.0002), dengan perlakuan 3 dan 4 (p=0.000). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dengan peningkatan dosis dapat memberikan dampak kerusakan secara reversibel berupa degenerasi hidropik terhadap sel hepar mulai dosis 200 mg/kgBB.

Jejas reversibel berupa degenerasi parenkim dan hidropik dapat mengalami perubahan morfologi ultrastruktur berupa perubahan membran plasma, perubahan mitokondria, dilatasi retikulum endoplasma, dan perubahan nuklear. Degenerasi parenkimatosa atau degenerasi albumin terjadi akibat kegagalan oksidasi yang menyebabkan tertimbunnya air di dalam sel, akibatnya transportasi protein yang telah diproduksi ribosom terganggu. Hal tersebut menyebabkan pembengkakan sel dan pengeruhan sitoplasma dengan munculnya granul-granul dalam sitoplasma akibat endapan protein. Degenerasi parenkimatosa merupakan degenerasi sangat ringan dan reversibel (Kumar *et al*., 2007).

Degenerasi hidropik pada dasarnya sama dengan degenerasi parenkimatosa, degenerasinya juga bersifat reversibel. Namun, derajat degenerasi hidropik lebih berat dibanding dengan degenerasi parenkimatosa, tampak vakuola berisi air dalam sitoplasma yang tidak mengandung lemak atau glikogen. Hal ini disebabkan karena gangguan transpor aktif yang menyebabkan sel tidak mampu memompa ion Na^+ keluar sehingga konsentrasi ion Na^+ di dalam sel naik. Pengaruh osmosis menyebabkan influks air ke dalam sel sehingga terjadi perubahan morfologis yaitu sel menjadi bengkak atau disebut degenerasi hidropik (Kumar *et al*., 2007).

Dari data penelitian sel hepar degenerasi hidropik mulai didapat pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 200 mg/kgBB yang diberi ekstrak kulit manggis setiap hari. Diduga kemampuan regenerasi sel hepar kurang dapat mengkompensasi kerusakan yang terjadi akibat sitotoksik ekstrak kulit manggis, sehingga terjadi jejas berupa degenerasi hidropik (Junqueira, 2007).

Sterigmatocystin yang merupakan derivat *xanthone* memberikan efek *uncoupling* (pemutusan rangkaian) pada fosforilasi oksidatif dalam mitokondria. *Uncoupling* respirasi mitokondria yang bertindak sebagai pembawa proton melintasi membran dalam mitokondria menyebabkan penurunan laju sintesis ATP mitokondria, sehingga menimbulkan efek sitotoksik. Aflatoxin B_1 yang memiliki sifat kimia dan metabolik sama dengan derivat *xanthone* berinteraksi dengan rantai respiratori sehingga menggangu sintesis ATP dalam mitokondria. Secalonic acid D, derivat *xanthone* mycotoxin dari *Aspergillus ochraceus* dan *Penicillium oxalicum* menghambat

oksidasi fosforilasi dan Ca^{2+} yang menginduksi pembengkakan mitokondria. Avefurin dan vasicolorin A sangat berpotensi uncoupling reaksi mitokondria (Kawai *et al*. 1984). Berdasarkan teori dan penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa kemungkinan mekanisme sitotoksis yang terjadi pada sel hepar dikarenakan adanya kerusakan atau cidera mitokondria yang menyebabkan penurunan sintesis ATP. Produksi ATP yang menurun menyebabkan cidera sel karena keberlangsungan hidup sel bergantung pada metabolisme oksidatif di mitokondria (Kumar *et al*., 2007).

6.4. Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) Berakibat Jejas Nekrosis terhadap Sel hepar Tikus

Uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada sel hepar nekrosis antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 4 (p=0.013). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dengan peningkatan dosis dapat memberikan dampak kerusakan secara ireversibel berupa nekrosis terhadap sel hepar pada dosis 1600 mg/kgBB. Dari data penelitian sel hepar nekrosis mulai didapat pada kelompok perlakuan 3 dengan dosis 800 mg/kgBB, namun pada dosis tersebut tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada perlakuan 4 dengan dosis 1600 mg/kgBB menunjukkan perbedaan signifikan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sel hepar yang mengalami jejas akibat pemberian ekstrak kulit manggis pada dosis kurang dari 1600 mg/kgBB masih memiliki kemungkinan untuk memperbaiki massa jaringan aslinya hingga pulih.

Kerusakan membran sel merupakan salah satu patogenesis jejas sel ireversibel. Salah satu penyebab potensial kerusakan membran adalah radikal oksigen toksik. Radikal bebas bereaksi terhadap DNA mitokondria dan nuklear, mengakibatkan rusaknya untaian tunggal. Fragmentasi atau rusaknya DNA menyebabkan kariolisis, piknosis, dan karioreksis. Dalam 1-2 hari, inti sel yang mati akan menghilang (Kumar *et al*., 2007).

Nekrosis merupakan degradasi atau disorganisasi seluler yang irreversibel atau kematian sel jaringan tubuh sebagai akibat pengaruh jejas, dengan perubahan morforlogi yang nyata pada inti sel sebagai piknotik, karyoreksis, dan karyolisis (Maulida *et al*, 2013).

Cluvenone, analog derivat *xanthone* berfungsi sebagai anti kanker. Pada dosis tinggi (1µmol/L) dan dalam waktu 15 jam menunjukkan bahwa cluvenone menimbulkan stres sel yang diinduksi oleh pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Walaupun tingkat induksi hanya 30% diatas normal, cukup menyebabkan nekrosis. Hal ini dikarenakan peningkatan ROS sebanyak 30% telah melampaui kemampuan mekanisme pelindung untuk mencegah nekrosis (Batova *et al*., 2010).