

**KARYA AKHIR**

**EFEK ANTIINFLAMASI KRIM EKSTRAK KULIT GARCIANA  
MANGOSTANA PADA MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI  
DENGAN 12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETAT  
(ANALISA KADAR COX-2 DAN HISTOPATOLOGI)**

**ANTIINFLAMATION EFFECT OF GARCIANA MANGOSTANA  
PERICARP EXTRACT IN ALBINO MICE SKIN INDUCED BY  
12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETATE (COX-2  
LEVEL AND HISTOPATHOLOGY ANALYSIS)**



**KIRANA PRASANTY MOKOAGOW  
NIM: C115171005**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**



**EFEK ANTIINFLAMASI KRIM EKSTRAK KULIT GARCIANA  
MANGOSTANA PADA MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI  
DENGAN 12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETAT  
(ANALISA KADAR COX-2 DAN HISTOPATOLOGI)**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

**KIRANA PRASANTY MOKOAGOW**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)  
DEPARTEMEN ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**



KARYA AKHIR

EFEK ANTIINFLAMASI KRIM EKSTRAK KULIT GARCIANA MANGOSTANA  
PADA MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI DENGAN  
12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETAT  
(ANALISA KADAR COX-2 DAN HISTOPATOLOGI)

Disusun dan diajukan oleh  
KIRANA PRASANTY MOKOAGOW  
Nomor Pokok : C115171005

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
Pada tanggal 24 Agustus 2020  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasehat,



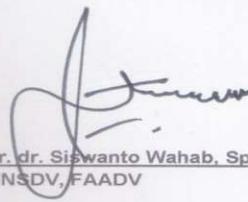
Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K),  
FINSDV, FAADV

Pembimbing Utama

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis  
Fakultas Kedokteran Unhas



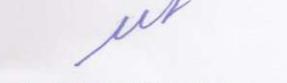
dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D  
NIP: 19680518 199802 2 001



Dr. dr. Siswanto Wahab, Sp.KK(K),  
FINSDV, FAADV

Pembimbing Anggota

Dekan,  
Wakil Dekan Bidang Akademik,  
Riset dan Inovasi



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes  
NIP: 19671103 199802 1 001



## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Kirana Prasanty Mokoagow  
No. Stambuk : C115171005  
Program Studi : Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 1 September 2020

Yang menyatakan



Kirana Prasanty Mokoagow



## PRAKATA

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmatNya sehingga penulis diberikan kemudahan untuk menyelesaikan tesis yang berjudul “Efek Antiinflamasi Krim Ekstrak Kulit *Garciana Mangostana* pada Mencit Albino yang diinduksi dengan 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetat (Analisa kadar COX-2 dan Histopatologi).

Adapun pengajuan tesis ini ditujukan sebagai pemenuhan beberapa syarat kelulusan pada jenjang perkuliahan Pendidikan Dokter Spesialis 1. Dalam penyusunan tesis ini tentunya penulis mengalami tantangan serta kesulitan, namun berkat bantuan dan bimbingan dari semua pihak, akhirnya tesis ini dapat terselesaikan.

Terimakasih penulis ucapkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar atas izin dan kesempatan yang telah diberikan sehingga penulis dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kepada Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin dan sekaligus sebagai pembimbing tesis II saya yang terhormat Dr. dr. Siswanto Wahab, SpKK(K), FINS DV, FAADV. Kepada Ketua Program Studi Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan juga sebagai pembimbing I tesis saya yang terhormat Dr. dr. Khairuddin Djawad, SpKK(K), FINS DV, FAADV. Terimakasih sebesar-besarnya penulis ucapkan atas seluruh kebaikan, nasehat, bantuan, arahan, bimbingan, didikan serta curahan perhatian yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga

selesaikan tesis ini,

Ucapan terimakasih penulis kepada yang terhormat Dr. dr.



Burhanuddin Bahar, MS selaku pembimbing statistik, kepada yang terhormat Dr. dr. Nurelly Waspodo, SpKK, FINS DV, FAADV selaku penguji, serta kepada yang terhormat dr. Upik Andriani Miskad, Ph,D, SpPA selaku penguji dalam tesis ini. Terimakasih penulis ucapkan atas segala bimbingan, arahan, bantuan, didikkan, perhatian dan segala kebaikan yang diberikan kepada penulis selama Pendidikan hingga terselesaikan tesis ini.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis ucapkan seluruh Staf pengajar dan guru-guru di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Terimakasih atas segala bimbingan, didikkan, kesabaran, *sharing* ilmu dan pengalaman, perhatian, kekeluargaan serta segala kebaikan kepada penulis sejak awal hingga selesai menempuh Pendidikan.

Terimakasih kepada suami Anugerah Ikbar Diansyah Papatungan dan anakku Muhammad Atilla Alghiffari Papatungan atas segala pengorbanan, kesabaran, pengertian, dukungan dan doa sehingga penulis dapat mewujudkan cita-cita untuk menjadi Dokter Spesialis. Terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada kedua orangtua Hi. Darusdin Mokoagow dan Hj. Sartje Lasabuda, kepada kedua mertua saya Hi. Iskandar Papatungan dan Hj. Sopiah Papatungan yang telah memberi kasih sayang, doa, dukungan, perhatian dan kebaikan yang tidak terhingga sehingga penulis bisa ada di titik ini dan dapat menyelesaikan pendidikan dengan lancar. Terimakasih kepada adik-adikku Daniar Prasatry Mokoagow, Agita Prasary Mokoagow, Amelita Prasany Mokoagow, Ridwan Manangin, Anugerah Ikhlas Riansyah Papatungan dan Sri Puspita Ratih Limbalo yang telah banyak membantu, memudahkan, mendoakan, mendukung dan memberi semangat penulis dalam menyelesaikan pendidikan.

Terimakasih kepada seluruh teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialisasi Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas segala bantuan, kebaikan, semangat dan pengertian bagi penulis selama menempuh pendidikan. Serta terimakasih kepada teman-teman seperjuangan 'Furious 8' dr. Yulia



Asmarani, dr. Dewi Nur Komalasari, dr. Irene Djuardi, dr. Welly Wijayanti, dr. Erlan Dimas Anggraini, dr. Andi Nurhaerani Zainuddin, serta kepada dr. Olivia Wibisono, SpDV dan dr. Ivan Kurniadi, terimakasih penulis ucapkan atas segala persahabatan, persaudaraan, perhatian, dukungan, bantuan dan doa sehingga penulis bisa menyelesaikan pendidikan dengan baik.

Terimakasih kepada seluruh pihak yang namanya tidak tercantum tapi terlibat dalam proses pendidikan dan menjadi inspirasi dan pelajaran bagi penulis.

Doa yang tulus penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang terlibat, semoga Allah SWT senantiasa selalu memberikan berkah kesehatan dan rezeki yang luas, Insyaallah segala kebaikan dan bantuan kepada penulis diberikan balasan berkali-kali lipat.

Dengan sepenuh hati penulis menyadari bahwa tesis ini masih penuh kekurangan dan keterbatasan, baik dari segi kualitas maupun kuantitas data atau referensi yang ditampilkan. Penulis berharap kritik dan saran dari seluruh pihak demi menjadikan tesis ini menjadi lebih baik. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan berguna bagi kemajuan Pendidikan dalam bidang Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin.

Makassar, 1 September 2020

**Kirana Prasanty Mokoagow**



## EFEK ANTIINFLAMASI KRIM EKSTRAK KULIT GARCIANA MANGOSTANA PADA MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI DENGAN 12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETAT (ANALISA KADAR COX-2 DAN HISTOPATOLOGI)

Kirana P Mokoagow<sup>1,2,3</sup>, Khairuddin Djawad<sup>1,2</sup>, Siswanto Wahab<sup>1,2,3</sup>, Burhanuddin Bahar<sup>4</sup>, Nurelly N Waspodo<sup>1</sup>, Upik Andriani Miskad<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Departemen Dermatologi dan Venereologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

<sup>2</sup>Rumah Sakit Dr. Wahiddin Sudirohusodo, Makassar, Indonesia

<sup>3</sup>Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

<sup>5</sup>Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

**Pendahuluan:** Kulit adalah organ terbesar tubuh yang memainkan peran penting dalam melindungi individu dari lingkungan eksternal. Dimana tidak hanya berfungsi sebagai penghalang fisik dan kimia, tetapi juga sebagai organ imun kompeten yang memunculkan respon imun bawaan dan adaptif terhadap iritan benda asing. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) adalah activator protein kinase yang dapat menginduksi reaksi inflamasi kulit. Kulit *garciana mangostana* telah banyak dilaporkan mengandung berbagai komponen bioaktif yang memiliki efek biologis seperti antiinflamasi. Pada penelitian ini, kami meneliti efek ekstrak kulit manggis sebagai agen penghambat reaksi inflamasi akut pada kulit mencit albino yang diinduksi dengan TPA.

**Metode:** Pemeriksaan ELISA dilakukan untuk mengukur kadar siklooksigenase (COX) 2 jaringan. Pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan H&E digunakan untuk melihat infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema dan peningkatan permeabilitas vaskular.

**Hasil:** Krim ekstrak kulit *garciana mangostana* tampak menghambat kadar COX-2 jaringan, mengurangi infiltrasi netrofil dan ketebalan epidermis yang diinduksi dengan TPA. Efek yang paling baik, masing-masing pada konsentrasi 20% dan 10%.

**Kesimpulan:** Hasil penelitian kami menyimpulkan bahwa krim ekstrak kulit *garciana mangostana* sebagai bahan alami memiliki efek antiinflamasi akut pada kulit.

**Kata kunci:** COX-2, Edema, *Garciana mangostana*, Infiltrasi netrofil, Permeabilitas vaskular, Tebal epidermis, TPA-induksi inflamasi akut kulit



## **ANTIINFLAMATION EFFECT OF GARCIANA MANGOSTANA PERICARP EXTRACT IN ALBINO MICE INDUCED BY 12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETATE (COX-2 LEVEL AND HISTOPATHOLOGY ANALYSIS)**

Kirana P Mokoagow<sup>1,2,3</sup>, Khairuddin Djawad<sup>1,2</sup>, Siswanto Wahab<sup>1,2,3</sup>, Burhanuddin Bahar<sup>4</sup>, Nurelly N Waspodo<sup>1</sup>, Upik Andriani Miskad<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Departement of Dermatology and Venereology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia.

<sup>2</sup>Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar, Indonesia.

<sup>3</sup>Hasanuddin University Hospital, Makassar, Indonesia.

<sup>4</sup>Departement of Public Health, Faculty of Public Health, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia.

<sup>5</sup>Department of Pathology Anatomy, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia

**Introduction:** The skin is the largest organ of the body which plays an important role in protecting individuals from the external environment. Where it not only functions as a physical and chemical barrier, but also as a competent immune organ that elicits an innate and adaptive immune response to foreign body irritants. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) is a protein kinase activator that can induce inflammatory skin reactions. Garciana mangostana bark has been reported to contain various bioactive components that have biological effects such as anti-inflammatory. In this study, we investigated the effect of mangosteen pericarp extract as an inhibiting agent for acute inflammatory reactions at albino mice skin of TPA-induced inflammation.

**Methods:** ELISA examination was performed to measure tissue cyclooxygenase (COX) 2 levels. H & E staining histopathology was used to see neutrophil infiltration, epidermal thickness, edema and increased vascular permeability.

**Results:** Cream of garciana mangostana pericarp extract showed to inhibit tissue COX-2 levels, reduce TPA-induced neutrophil infiltration and epidermal thickness. The best effect was at a concentration of 20% and 10%, respectively.

**Conclusion:** Our study suggest that the cream of garciana mangostana pericarp extract as a natural ingredient has an acute anti-inflammatory effect on the skin.

**Keywords:** COX-2, Edema, Epidermal thickness, Garciana mangostana, Neutrophil infiltration, TPA-induced acute inflammation of the skin of mice, ar permeability.



|  |     |
|--|-----|
| <b>DAFTAR ISI</b> .....  | i   |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....  | iii |
| <b>DAFTAR GRAFIK</b> .....   | iv  |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....   | v   |
| <b>BAB I</b>   |     |
| <b>PENDAHULUAN</b> .....   | 1   |
| 1.1. Latar Belakang Masalah.....                                     | 1   |
| 1.2. Rumusan Masalah .....   | 4   |
| 1.3. Tujuan Penelitian .....   | 4   |
| 1.3.1. Tujuan Umum .....   | 4   |
| 1.3.2. Tujuan Khusus .....   | 4   |
| 1.4. Hipotesis Penelitian.....                                       | 5   |
| 1.5. Manfaat Penelitian .....  | 5   |
| 1.5.1. Manfaat Akademik .....  | 5   |
| 1.5.2. Manfaat Praktis .....   | 5   |
| <b>BAB II</b>  |     |
| <b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....  | 6   |
| 2.1. Inflamasi Kulit .....   | 6   |
| 2.2. Siklooksigenase (COX)-2.....                                    | 11  |
| 2.3. Gambaran Histopatologi Inflamasi Kulit .....                    | 13  |
| 2.4. 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate .....                      | 14  |
| 2.5. Ekstrak Kulit <i>Garciana mangostana</i> .....                  | 19  |
| 2.6. Kerangka Teori .....  | 28  |
| 2.7. Kerangka Konsep .....   | 29  |
| <b>BAB III</b>   |     |
| <b>METODE PENELITIAN</b> .....                                       | 30  |
| 3.1. Rancangan Penelitian.....                                       | 30  |
| 3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian.....                                | 30  |
| 3.3. Prosedur Penelitian.....  | 30  |
| 3.3.1. Cara Penentuan Populasi dan Sampel .....                      | 30  |
| 3.3.1.1. Besar Sampel .....  | 31  |
| 3.3.1.2. Kriteria Sampel .....                                       | 32  |
| 3.3.2. Cara Pengambilan Sampel .....                                 | 32  |
| 3.3.3. Pembuatan Model Binatang .....                                | 33  |
| 3.3.4. Pembuatan Ekstrak Kulit <i>Garciana mangostana</i> .....      | 34  |
| 3.3.5. Pembuatan Krim Ekstrak Kulit <i>Garciana mangostana</i> ..... | 35  |
| 3.3.6. Pengenceran TPA.....  | 37  |
| Pengukuran Kadar COX-2 .....   | 37  |
| Pemeriksaan Histopatologi .....                                      | 40  |
| . Prosedur Pengambilan Sediaan Biopsi Kulit .....                    | 42  |



|  |           |
|--|-----------|
| 3.3.8.2. Pewarnaan Hematoksin Eosin.....                         | 42        |
| 3.4. Skema Alur Penelitian.....                                  | 44        |
| 3.7. Variabel yang Diamati.....                                  | 45        |
| 3.6. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif.....             | 45        |
| 3.7. Pengolahan dan Analisis Data .....                          | 47        |
| 3.8. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik (Ethical Approval) ..... | 48        |
| <b>BAB IV</b>  |           |
| <b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>                      | <b>49</b> |
| 4.1. Hasil Penelitian .....                                      | 49        |
| 4.2. Pembahasan.....   | 60        |
| <b>BAB V</b>   |           |
| <b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>                                 | <b>64</b> |
| 5.1. Kesimpulan .....  | 64        |
| 5.2. Saran .....   | 65        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>                                       | <b>66</b> |
| <b>LAMPIRAN</b>  |           |



## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 1. Xanthones yang diisolasi dari kulit buah<br><i>Garciana mangostana</i> .....  | 22 |
| Tabel 2. Formula Konsentrasi Ekstrak Kulit<br><i>Garciana mangostana</i> dalam sediaan krim .....  | 36 |
| Tabel 3. Uji Kandungan Ekstrak Kulit <i>Garciana mangostana</i> .....  | 37 |
| Tabel 4. Efek kadar COX-2 oleh <i>Garciana Mangostana</i> pada<br>Mencit yang diinduksi dengan TPA.....  | 51 |
| Tabel 5. Efek terhadap infiltrasi netrofil oleh <i>Garciana<br/>Mangostana</i> pada Mencit yang diinduksi dengan TPA.....                            | 54 |
| Tabel 6. Efek terhadap ketebalan epidermis oleh <i>Garciana<br/>Mangostana</i> pada Mencit yang diinduksi dengan TPA.....                            | 56 |
| Tabel 6. Efek terhadap edema dan peningkatan permeabilitas<br>vaskular oleh <i>Garciana Mangostana</i> pada Mencit yang<br>diinduksi dengan TPA..... | 58 |



## DAFTAR GRAFIK

|  |    |
|--|----|
| Grafik 1. Kadar COX-2 jaringan pada seluruh kelompok.....  | 53 |
| Grafik 2. Infiltrasi Neutrofil pada seluruh kelompok ..... | 55 |
| Grafik 3. Ketebalan epidermis pada seluruh kelompok .....  | 57 |



## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 1. Tahapan Reaksi Inflamasi.....                           | 8  |
| Gambar 2. Skema kaskade ekstravasasi netrofil .....               | 10 |
| Gambar 3. Struktur Tetradecanoyl-O-Phorbol-13-Acetate.....        | 15 |
| Gambar 4. TPA menginduksi ekspresi berlebihan iNOS dan COX-2..... | 17 |
| Gambar 5. Struktur kimia mangostana.....                          | 21 |
| Gambar 6. Aktivitas <i>xanthones</i> memblok inflamasi .....      | 24 |
| Gambar 7. Kerangka Teori Penelitian .....                         | 28 |
| Gambar 8. Alur Penelitian.....                                    | 44 |





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Kulit adalah organ terbesar tubuh, dimana sebagai organ yang utama kulit memainkan peran penting dalam melindungi individu dari lingkungan eksternal. Kulit tidak hanya berfungsi sebagai penghalang fisik dan kimia, tetapi juga sebagai organ imun kompeten yang memunculkan respon imun bawaan dan adaptif. Akibat adanya faktor eksogen seperti patogen asing, radiasi ultraviolet, dan iritan kimiawi, maka sel imun bawaan (granulosit, fagosit mononuklear, *natural killer cell*, keratinosit) menyusun berbagai jenis respon termasuk (1) pelepasan agen antimikroba; (2) induksi mediator inflamasi seperti sitokin, kemokin, neuropeptida, dan eikosanoid; dan (3) inisiasi dan modulasi respon imun adaptif. (Modlin, Miller et al. 2012, Xie, Sintara et al. 2015)

Inflamasi akut adalah respon imun awal untuk menjaga homeostatis jaringan terhadap trauma atau infeksi dengan menghilangkan patogen potensial. (Loynes, Lee et al. 2018) Inflamasi digambarkan pertama kali di Romawi oleh dr. Celsus 2000 tahun yang lalu (Abad I) yang menerangkan tentang reaksi lokal terhadap jejas pada jaringan yang dikenal sebagai *cardinal*

rupa rubor (kemerahan), calor (peningkatan panas), tumor (bengkak),



dolor (nyeri). Seabad kemudian dr. Galen dari Yunani menambahkan *functio laesa* (kehilangan fungsi). (Wahid and Miskad 2016)

Proses inflamasi pada kulit terjadi karena adanya suatu reaksi jaringan yang mengirimkan mediator-mediator pertahanan inang sel dan protein dalam darah menuju lokasi infeksi dan kerusakan jaringan. (Abbas, Lichtman et al. 2015) Mediator inflamasi seperti siklooksigenase-2 (COX-2), interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) berperan dalam penyakit inflamasi. (Lee, Kim et al. 2012) Pelepasan molekul mediator seperti nitrat oksida dan prostaglandin juga meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, sehingga memungkinkan terjadinya migrasi leukosit, terutama neutrofil, ke jaringan yang meradang. Siklooksigenase 2 (COX-2) merupakan enzim pengatur jalur prostaglandin/eicosanoid yang diinduksi oleh sitokin proinflamasi pada *NF- $\kappa$ B-dependent manner*. (Kupper and Fuhlbrigge 2004, Wei, Lin et al. 2011, Burnet, Jerne et al. 2015, Widowati, Darsono et al. 2016) Dalam bidang patologi, inflamasi melibatkan vasodilatasi pembuluh darah dan permeabilitas kapiler yang meningkat sehingga banyak sel-sel imun yang dapat dikerahkan ke jaringan yang memerlukan. (Wahid and Miskad 2016)

*Phorbol ester, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate* (TPA) juga dikenal sebagai *tetradecanoylphorbol acetate, tetradecanoyl phorbol acetate,* atau *phorbol 12-miristat 13-asetat (PMA)* merupakan aktivator protein kinase-

); aktivasi PKC dengan meniru *diacylglycerol*, yaitu ligan alami dan



penggerak PKC, untuk mengikat motif spesifik dalam domain pengaturannya. TPA adalah diester phorbol dan promotor tumor poten yang sering digunakan dalam penelitian biomedis. TPA juga digunakan untuk menginduksi efek biologis lain dalam konsentrasi rendah seperti efek iritasi kulit.(Madsen, Hansen et al. 2016)

Terapi atau pengobatan untuk mengatasi inflamasi dapat dilakukan dengan obat-obatan baik yang berbahan kimia maupun bahan alam. Seiring perkembangan ilmu dan teknologi, semakin dikembangkan pula obat-obatan berbahan alami. Genus *Garcinia* adalah keluarga terbesar *Clusiaceae* (atau *Guttiferae*) memiliki 400 spesies yang didistribusikan secara luas di Asia Tenggara. Beberapa spesies seperti *Garcinia mangostana* (GM) memiliki efek antiinflamasi, aktivitas antinosiseptif dan antipiretik. (Dzoyem, Lannang et al. 2015, Xie, Sintara et al. 2015, Anwar, Djawad et al. 2016)

Dalam penelusuran jurnal baik secara online maupun manual, masih sangat sedikit penelitian yang menggunakan aplikasi topikal krim ekstrak kulit *Garcinia mangostana* untuk mengobati inflamasi pada kulit. Berdasarkan hal tersebut maka kami melakukan penelitian ekstrak kulit *Garcinia mangostana* sebagai antiinflamasi pada kulit.



## 1.2 RUMUSAN MASALAH

- a. Apakah TPA dapat menginduksi inflamasi pada kulit mencit dengan menilai kadar COX-2 dan perubahan histopatologi (infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema, permeabilitas vaskular)?
- b. Apakah aplikasi topikal krim ekstrak kulit *Garciana mangostana* dapat menurunkan inflamasi yang dinilai berdasarkan kadar COX-2 dan perubahan histopatologi (infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema, permeabilitas vaskular) pada kulit mencit akibat induksi TPA?

## 1.3 TUJUAN PENELITIAN

### 1.3.1 Tujuan Umum

Menilai efektifitas antiinflamasi dari ekstrak kulit *Garcinia mangostana* topikal pada kulit mencit yang diinduksi TPA dengan mengamati kadar COX-2 dan perubahan histopatologi (infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema, permeabilitas vaskular)

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Melihat efek induksi TPA terhadap inflamasi berdasarkan analisa kadar COX-2 dan perubahan histopatologi (infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema, permeabilitas vaskular).
- b. Mengetahui konsentrasi terbaik dari krim ekstrak *Garciana mangostana*

yang dapat menghambat terjadinya inflamasi akut.



## **1.4 HIPOTESIS PENELITIAN**

- a. Terdapat peningkatan kadar COX-2 dan tanda-tanda inflamasi berdasarkan perubahan mikroskopik secara histopatologi (infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema, permeabilitas vaskular).
- b. Ada efek dari topikal krim ekstrak kulit *Garcinia Mangostana* sebagai antiinflamasi akut pada kulit mencit yang diinduksi dengan 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA) dengan adanya penurunan kadar COX-2, infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema dan permeabilitas vaskular.

## **1.5 MANFAAT PENELITIAN**

### **1.5.1 Manfaat Akademik**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumbangan ilmiah baik teoritis dan praktis pada bidang keilmuan Kesehatan Kulit dan Kelamin khususnya dalam penyakit inflamasi kulit.

### **1.5.2 Manfaat praktis**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif terapi penyakit inflamasi kulit yang bersumber dari bahan alamiah.



## **BAB II**

## TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 INFLAMASI KULIT

Kulit tidak hanya sebagai barier antara tubuh dan lingkungan yang membatasi kehilangan air, mencegah masuknya mikroorganisme dan lingkungan yang berpotensi merusak, tetapi kulit juga sebagai lini pertama respon imun dalam melindungi tubuh manusia. (Pasparakis, Haase et al. 2014) Jika pertahanan permukaan tubuh berhasil diterobos oleh mikroba atau kerusakan jaringan, maka akan mengaktifkan sel-sel imunitas *innate* yang bekerja pada epitel dan subepitel seperti sel dendritik, makrofag jaringan, sel mast, leukosit PMN, sel NK serta berbagai protein pertahanan seperti komplemen. (Wahid and Miskad 2016)

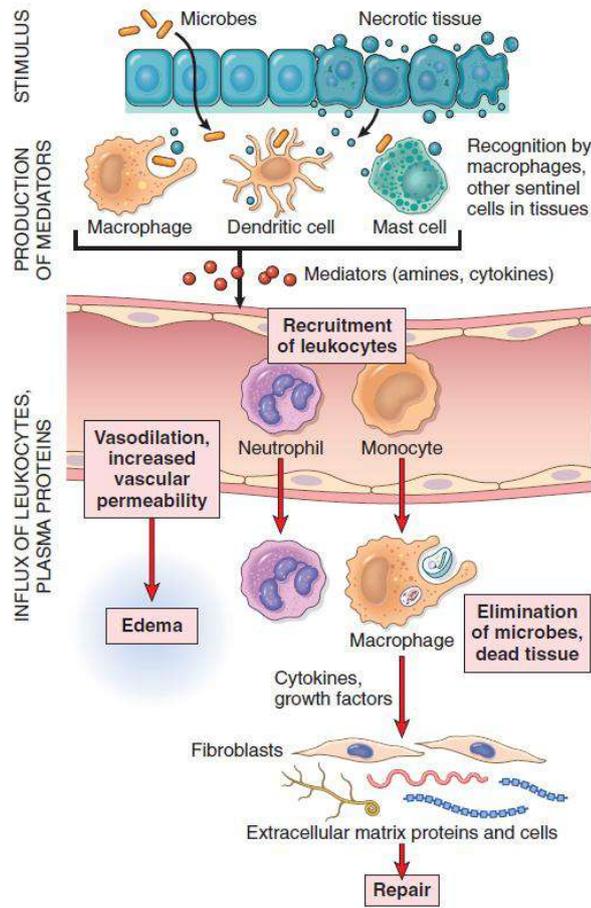
Inflamasi adalah respon pertahanan tubuh terhadap infeksi dan kerusakan jaringan yang melibatkan sel dan molekul untuk mengeliminasi penyebab jejas pada jaringan atau sel (*cell injury*), membersihkan jaringan dari sisa-sisa kerusakan, dan membangun jaringan baru. Penyebab inflamasi adalah agen infeksi, benda asing, jejas sel misalnya trauma fisik, suhu dan kiamawi serta iskemia yang menimbulkan kerusakan jaringan. Mediator pertahanan termasuk leukosit fagositik, antibodi dan protein komplemen. (Wahid and Miskad 2016, Kumar, Abbas et al. 2018)

Inflamasi terbagi atas inflamasi akut dan inflamasi kronik. Respon terhadap infeksi dan kerusakan jaringan disebut sebagai inflamasi akut.



Secara khas berlangsung singkat berkisar beberapa menit sampai beberapa hari, tetapi inflamasi kronik bisa berlangsung lama bahkan bertahun-tahun. Inflamasi akut melibatkan respon pembuluh darah, sel-sel pertahanan, dan matriks ekstraseluler. Sel-sel yang terlibat saling memicu untuk memerankan fungsi masing-masing dengan menggunakan sitokin atau protein lain sebagai media komunikasi sehingga disebut mediator inflamasi. Karakter utama adalah adanya eksudat cairan dan protein plasma (edema) dan leukosit, predominant neutrofil (disebut juga polimorfonuklear leukosit) di jaringan inflamasi. Inflamasi akut memiliki tiga komponen utama yaitu: (1) dilatasi pembuluh darah mengakibatkan peningkatan aliran darah, (2) peningkatan permeabilitas mikrovaskular, menyebabkan plasma protein dan leukosit keluar dari sirkulasi, dan (3) emigrasi leukosit dari mikrosirkulasi, dimana akumulasi fokus pada daerah trauma untuk mengeliminasi benda asing. (Wahid and Miskad 2016, Kumar, Abbas et al. 2018)



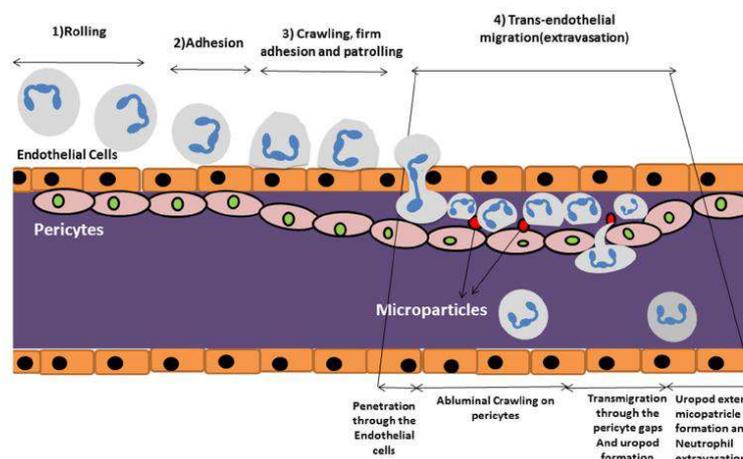


Gambar 1. Tahapan reaksi inflamasi. (Kumar, Abbas et al. 2018)

Neutrofil adalah leukosit yang paling melimpah dalam sirkulasi yang berperan sebagai lini pertama respon imun host terhadap inflamasi yang disebabkan oleh infeksi atau kerusakan jaringan. Adapun mekanisme kerjanya yaitu dengan fagositosis, degranulasi, melepaskan material nuclear dalam bentuk *neutrophil extracellular traps* (NETs) serta memodulasi respon imun berinteraksi dengan sel imun lain seperti limfosit dan *antigen*



presenting cells (APC). Migrasi netrofil intravaskular dimulai dengan “*tethering to*” dan “*rolling on*” ke endothelium pembuluh darah yang dimediasi oleh molekul selektin. Netrofil lalu diaktivasi oleh kemokin seperti CXCL8 dimana mencetuskan *G-protein coupled receptors* mengakibatkan perubahan dan aktifasi molekul integrin. Hal ini meningkatkan kemampuan *Ig-superfamily cell adhesion ligands* (seperti ICAM-1) di ekspresi ke dalam endothelium. Netrofil melakukan ekstravasasi ke endothelium melalui jalur paraseluler dan transseluler. Netrofil lalu mencapai membran basal endothelial hingga menemukan gap kecil diantara pericytes lalu bermigrasi melalui ruangan dengan membentuk lammellapodium yang menonjol. Sel ini juga kaya dengan *pattern recognition receptors* (PRRs). Setelah melewati pericytes, ekstravasasi netrofil akan melepaskan integrin CD18 yang memungkinkan akses ke area inflamasi. Netrofil lalu diaktifkan dan memulai fungsinya. (Mortaz, Alipoor et al. 2018)



Gambar 2. Skema kaskade ekstravasasi netrofil (Mortaz, Alipoor et al. 2018)

Sistem imun dapat mengenal molekul endogenous yang diproduksi atau dilepas oleh sel yang rusak atau mati, disebut *Damaged-Associated Molecular Patterns* (DAMPs). Kematian atau kerusakan sel dapat terjadi akibat infeksi atau sebab lain seperti racun kimia, trauma, terbakar, atau iskemia/hipoksia (*steril injury*). Berbagai macam tipe reseptor yang dapat mengikat DAMPs disebut Pattern Recognition Receptors (PRRs) yang berada pada berbagai sel yang berperan dalam *imunitas innate* seperti fagosit (makrofag, neutrophil dan sel dendritic) dan sel epitel yang membatasi tubuh dengan dunia luar. (Wahid and Miskad 2016) Ketika partikel asing terdeteksi oleh tubuh melalui membran fosfolipid, sel akan memicu jalur fosfolipase A yang mengarah ke biosintesis prostanooid dengan produksi *arachidonic acid*. Prostanoid seperti prostaglandin dan *prostacyclin* dihasilkan dari prekursor prostaglandin G<sub>2</sub> / H<sub>2</sub> akan mengaktifkan makrofag, yang melepaskan mediator inflamasi lainnya seperti *tumor necrosis factor α* (TNF $\alpha$ ). Kemudian akan dilanjutkan ke kaskade pensinyalan NF- $\kappa$ B. (Marzaimi and Aizat 2019) NF- $\kappa$ B merupakan salah satu faktor transkripsi sensitif redoks mengatur banyak proses biologis antara lain proliferasi seluler, diferensiasi dan inflamasi. Bentuk induksi utama NF- $\kappa$ B bersifat heterodimerik yang terdiri dari subunit p50 / p65. Dalam sel istirahat NF- $\kappa$ B berada bersama dengan cytosolic

or inhibitory protein I $\kappa$ B. Paparan berbagai stimuli berbeda seperti stres



oksidatif dan TPA menyebabkan fosforilasi dan degradasi I $\kappa$ B oleh cytoplasmic I $\kappa$ B kinase (IKK) yang menghasilkan translokasi nuclear NF- $\kappa$ B. Di dalam nukleus, ia mengatur transkripsi susunan target gen termasuk mediator proinflamasi seperti iNOS, COX-2, berbagai sitokin, kemokin, dan molekul adhesi. Temuan sebelumnya berimplikasi bahwa aktivasi NF- $\kappa$ B memicu regulasi transkripsional COX-2 dan sitokin proinflamasi sitokin, seperti IL-6, IL1- $\beta$  dan TNF- $\alpha$ .(Khan, Khan et al. 2012, Chen, Deng et al. 2018)

## 2.2 SIKLOOKSIGENASE (COX)-2

Siklooksigenase (COX) adalah enzim yang diproduksi dari prostaglandin (PGSs) dari *asam arachidonic* (AA). Terdapat 2 isoform COX yaitu COX-1 dan COX-2. COX-2 diinduksi oleh stimulus inflamasi seperti endotoksik bakteri dan sitokin. AA adalah prekursor metabolisme untuk banyak jalur inflamasi. Terdiri dari 20 rantai karbon asam lemak tak jenuh, terdistribusi secara luas pada *membrane lipid bilayer*. Tahap pertama dalam jalur *arachidonic* adalah pelepasan *arachidonic acid* dari membran fosfolipid oleh enzim fosfolipase A2. *Arachidonic acid* kemudian diubah menjadi eicosanoid melalui tiga jalur yakni siklooksigenase (COX), lipoksigenase (LOX), dan sitokrom P-450 (cyt P-450). Pada jalur COX, *arachidonic acid* diubah oleh COX menjadi prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) melalui dua tahap. Ketika *arachidonic acid* menempel ke tempat aktif siklooksigenase, struktur kanal L akan

at karbon-13 *arachidonic acid* tepat berada di depan Tyr-385. Saat



COX mengalami aktivasi, Tyr-385 akan berubah menjadi molekul radikal. Radikal tirosil akan melepaskan atom hidrogen dari karbon-13 (di 7 konfigurasi S). Lepasnya atom ini akan memicu reaksi siklooksigenasi dimana terjadi penambahan molekul oksigen membentuk jembatan endoperoksida antara karbon 9 dan 11 dan cincin 5 karbon yang khas pada senyawa prostaglandin. Molekul oksigen kedua memasuki karbon 15 menghasilkan gugus hidroperoksida PGG<sub>2</sub>. Setelah tahap siklooksidasi selesai, terjadi tahap peroksidasi dimana COX akan mereduksi gugus 15-hidroperoksi di PGG<sub>2</sub> menjadi gugus alkohol, membentuk PGH<sub>2</sub>. Setelah PGH<sub>2</sub> terbentuk, PGH<sub>2</sub> ini akan diproses kembali oleh enzim sintase terminal yang berbeda-beda menjadi prostanoid aktif yang akan bekerja di jaringan. Prostanoid menghasilkan banyak efek biologis dan berperan penting dalam fisiologi tubuh maupun patologi penyakit. Jumlah prostanoid dalam tiap sel bervariasi tergantung isoform COX yang banyak terekspresi. (Caughey, Cleland et al. 2001)

COX-2 mudah diinduksi oleh berbagai stimulus endogen dan eksogen termasuk sitokin pro inflamasi (IL-1 dan IL-6), TNF $\alpha$ , lipopolisakarida (LPS) dan stres. Induksi COX-2 dapat menyebabkan produksi berlebihan PGE<sub>2</sub> (produk utama metabolisme COX-2) bersama dengan prostaglandin lainnya yang membuka jalur penyakit inflamasi. (Attiq, Jalil et al. 2018)

### 2.3 GAMBARAN HISTOPATOLOGI INFLAMASI KULIT



Setelah patogen atau kerusakan jaringan memicu sejumlah sel melepaskan mediator (histamine, serotonin, PGE2 dan nitrit oxide) yang selanjutnya akan menyebabkan vasodilatasi, kongesti, dan peningkatan permeabilitas kapiler. Kongesti menyebabkan naiknya tekanan hidrostatis yang berakibat keluarnya cairan (transudate), permeabilitas kapiler menyebabkan keluarnya cairan protein plasma (eksudat) serta migrasi netrofil dan monosit menuju ke pemicu inflamasi (peran kemokin dan kemotaksis). Edema dan aktivasi komplemen berperan juga dalam mengantar netrofil menemukan pemicu inflamasi. Akhirnya terjadi eliminasi pemicu inflamasi oleh netrofil dan makrofag. (Wahid and Miskad 2016) Gambaran proses inflamasi ini yang dapat dilihat secara histopatologi, dimana salah satu tanda adalah peningkatan ketebalan epidermis. Parameter ini merupakan salah satu indikator dari proses yang terjadi selama inflamasi, antara lain peningkatan permeabilitas vaskular, edema dan proliferasi keratinosit epidermal. (Choi, Yoon et al. 2009) Pemeriksaan histologik dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin menunjukkan bahwa TPA menginduksi penebalan epidermis dengan adanya edema, hiperplasia epidermis dan infiltrasi sel inflamasi (netrofil) di epidermis dan dermis. (Sato, Ogino et al. 2003)

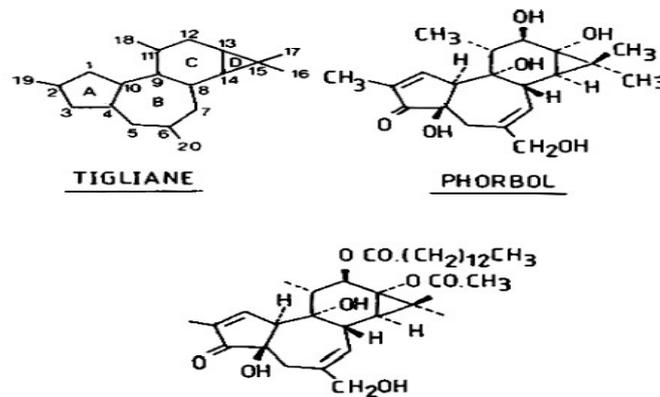
#### **2.4 12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETATE**

*12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate* (TPA), juga disebut *Phorbol tetradecanoylphorbol acetate*, *tetradecanoyl phorbol acetate*, dan



*phorbol 12-miristat 13-asetat (PMA)* merupakan obat bermolekul kecil, mengaktifkan transduksi sinyal enzim protein kinase C (PKC) dengan langsung mengikat ke domain C1. TPA umumnya digunakan sebagai agen pemicu tumor untuk karsinogenesis kulit pada hewan pengerat dan dikaitkan dengan peningkatan proliferasi sel ganas dari beberapa jenis tumor, seperti melanoma, kanker mulut dan kanker payudara. Selain agen pemacu tumor, TPA juga menyebabkan peradangan kulit lokal dengan didapatkan peningkatan ketebalan epidermal, infiltrasi sel-sel peradangan dan peningkatan mediator inflamasi. Struktur *phorbol ester* tergantung pada *tetracyclic* kerangka karbon diterpene yang dikenal sebagai tigliane. Tigliane adalah bagian alkohol mendasar dalam phorbol ester. Tigliane terdiri dari empat cincin yang disebut sebagai A, B, C, dan D. Hidroksilasi struktur dasar ini pada posisi yang berbeda dan kemudian berikatan dengan ester ke berbagai moieties asam menghasilkan pembentukan varietas besar senyawa ester phorbol. TPA merupakan ester phorbol yang berikatan dengan tigliane pada posisi cincin 12 dan 13. (Madsen, Hansen et al. 2016)





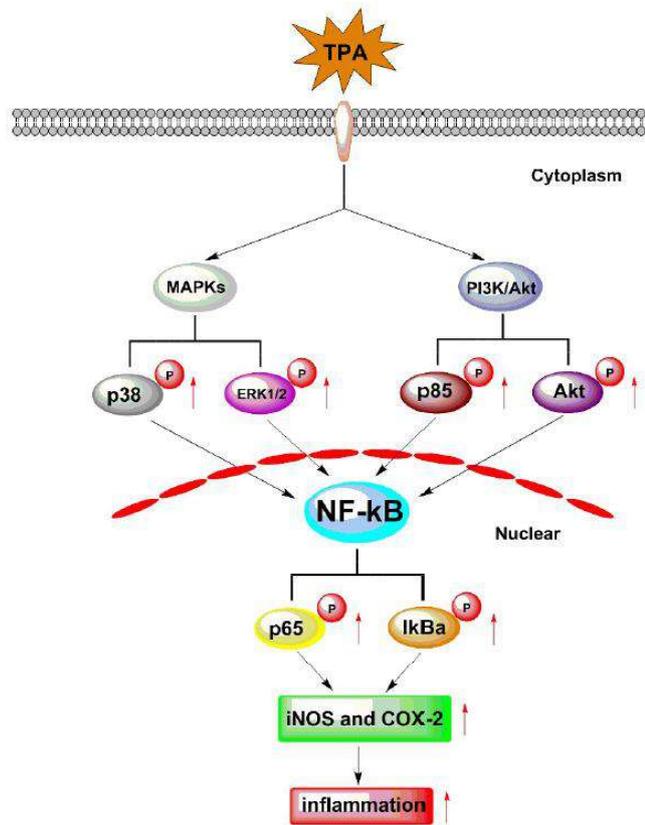
Gambar 3. Struktur *Tetradecanoyl Phorbol-13-Acetate* (Madsen, Hansen et al. 2016)

Karsinogenesis pada kulit mencit adalah proses *multistage* yang mencakup inisiasi dan promosi. Tahap inisiasi melibatkan reaksi dari spesies elektrofilik dengan DNA, menghasilkan mutasi penting. Ekspresi perubahan genom yang mengakibatkan terbentuknya tumor membutuhkan promosi dari TPA yang diaplikasikan secara berulang. Promosi dianggap merangsang ekspansi klonal sel yang diinisiasi, menghasilkan papiloma dan akhirnya karsinoma. Studi tentang TPA dan agen promosi lainnya mendukung pandangan bahwa peningkatan yang berkelanjutan dalam proliferasi sel epidermis, dengan magnitudo yang sesuai, cukup untuk promosi tumor. Peradangan yang diinduksi oleh promotor mungkin merupakan dasar terjadinya karsinogenesis melalui perangsangan proliferasi sel epidermis dan inisiasi. TPA diketahui menginduksi inflamasi dengan mengaktifkan

berbagai sitokin proinflamasi dan infiltrasi leukosit dan makrofag yang digunakan sebagai penanda inflamasi. (Stanley, Steiner et al. 1991, Casale, Higginbotham et al. 1997, Khan, Khan et al. 2012, Khan, Khan et al. 2013, Madsen, Hansen et al. 2016, Zhu, Chen et al. 2017)

Sel keratinosit, langerhans dan tipe sel lainnya merupakan komponen jaringan epidermis. Ketika epidermis terpapar TPA, sel keratinosit dan langerhans menstimulasi aktivasi protein kinase C (PKC), menghasilkan aktivasi PI3K/Akt, Erk, dan jalur transduksi signal NF- $\kappa$ B. Akt dan NF- $\kappa$ B berperan dalam aktivasi enzim kunci inflamasi seperti iNOS dan COX-2. (Khan, Khan et al. 2013, Liu, Huang et al. 2018) Wen-Chi Wei, dkk melaporkan bahwa COX-2 dan iNOS sebagian besar terdeteksi di epidermis setelah stimulasi TPA, sehingga mengindikasikan bahwa COX-2 dan iNOS dilepaskan dari sel epidermis (keratinosit). (Wei, Lin et al. 2011)





Gambar 4. TPA menginduksi ekspresi berlebihan iNOS dan COX-2  
(Liu, Huang et al. 2018)

Stanley dkk (1991) melaporkan penelitian dengan mengaplikasikan TPA topikal dosis 10 µl pada telinga tikus. Respon edema dicapai dalam waktu 6 jam, sedangkan infiltrasi netrofil didapat pada 24 jam setelah aplikasi TPA. TPA dioleskan pada permukaan dalam dan luar telinga tikus dengan pipet pada pagi hari. Aplikasi TPA dilakukan pada hari 0,2,4,7 dan 9.



Hasil penelitian didapatkan bahwa pada hari ke 11 ketebalan epidermis relatif tetap meningkat yang menjadi parameter lambatnya regresi spontan. Berat telinga meningkat setelah aplikasi TPA ketiga dan 3 hari sesudah aplikasi TPA terakhir ditemukan kontrol 175%. Pada hari ke 5 setelah aplikasi TPA terakhir, berat telinga menjadi 157% kontrol. Pada penelitian hiperplasia epidermis dipercaya berhubungan dengan stimulasi produksi prostaglandin E2. (Stanley, Steiner et al. 1991)

Lee Sun Hwa, dkk (2012) melaporkan studi dengan menginduksi inflamasi pada kulit mencit jantan berusia 6-8 minggu menggunakan TPA. TPA (1,0 µg) dilarutkan dalam 20 µl aseton diaplikasikan pada bagian dalam dan luar permukaan telinga tikus setiap hari selama 3 hari selama 1 jam. Setelah 3 hari, dilakukan biopsi telinga. Pada pemeriksaan didapatkan peningkatan sitokin seperti TNF-α, IL-1β, dan IL-6. (Lee, Kim et al. 2012)

Park HS, dkk (2016) melaporkan penelitian yang sama, yaitu menginduksi inflamasi pada kulit mencit dengan pengaplikasian topikal 3 µg TPA dalam aseton ke permukaan dalam dan luar telinga. Setelah 24 jam didapatkan perubahan ketebalan dan berat *punch* kulit telinga yang diukur menggunakan *gauge caliper* dan dilaporkan dalam skala mikro. (Park, Seo et al. 2016)

Oleh Do Yeon Lee dkk (2009) melaporkan studi yang menilai efek antiinflamasi akut dan kronik kulit dari ekstrak *chrysanthemum indicum* yang diuji dengan TPA. Dosis yang digunakan adalah 2.5 µg telinga dalam



aseton 20 µg untuk inflamasi akut, sedangkan untuk inflamasi kronik menggunakan 2.5 µg telinga selama 6 kali pada bagian dalam dan luar telinga bergantian hari. (Choi, Yoon et al. 2009)

Xue-Tao Xu dkk (2016) mengemukakan bahwa TPA menginduksi IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , dan COX-2, sehingga mengindikasikan bahwa TPA menstimulasi aktivasi NF- $\kappa$ B pada kulit mencit. (Xu, Mou et al. 2016)

## 2.5 EKSTRAK KULIT GARCIANA MANGOSTANA

Manggis dengan nama ilmiah *Garcinia mangostana* Linn. adalah pohon tropis termasuk dalam famili *Clusiaceae* yang telah dibudidayakan sebagai makanan buah di Asia Tenggara (seperti Indonesia, Malaysia, Thailand, Filipina dan India). Dikenal sebagai “*Queen of fruits*” manggis terdiri dari buah berwarna putih dibagi dalam septa, dibungkus kulit ungu gelap. Manggis memiliki tujuh tahap pematangan yang ditandai dengan perubahan warna kulitnya. Buah hijau mentah berangsur akan menjadi gelap saat proses pematangan berlangsung. Pohon manggis tumbuh sangat lambat dan tegak berbentuk mahkota pyramidal. Pohonnya dapat mencapai tinggi antara 20 sampai 82 kaki (6-25 m), berwarna coklat tua atau kulit kayu mengelupas hampir berwarna kehitaman dan kulit bagian dalam mengandung banyak getah kuning, kenyal dan pahit. Daun berwarna hijau dengan tangkai pendek. Kulit dan biji *Garcinia mangostana* telah digunakan secara tradisional sebagai obat

mengobati infeksi gastrointestinal dan traktus urinarius, dan sebagai anti-

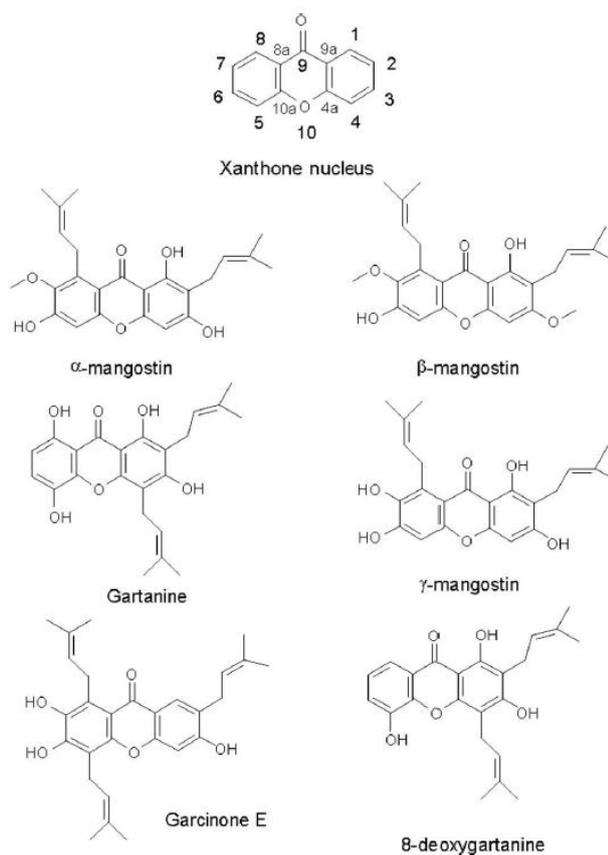


skorbutik, laksatif dan agen anti demam. Secara modern, manggis dipercaya dapat mengobati gejala penyakit yang berhubungan dengan infeksi seperti inflamasi, diare, nyeri abdomen, demam, jerawat, alergi makanan dan artritis. (Maione, Russo et al. 2016, Ovalle-Magallanes, Eugenio-Pérez et al. 2017)

Kulit manggis dilaporkan mengandung berbagai komponen bioaktif yang berpotensi sebagai agen terapi seperti xanthones, tannins, flavonoids, saponin, quinine dan komponen bioaktif lainnya. Komponen ini memiliki efek biologis seperti antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi. (Suttirak, Manurakchinakorn et al. 2014, Anwar, Djawad et al. 2016) Flavonoid merupakan senyawa alami yang dapat menangkal radikal bebas. (Pothitirat, Chomnawang et al. 2009) Tannins merupakan derivat komponen polifenolik yang terkandung pada ekstrak kulit manggis yang terdiri dari dua tipe yaitu *condensed tannins* dan *hydrolyzed tannins*. Tannin dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan HIV dan virus herpes simpleks, aktivitas antimikroba dan menstabilkan proinflamasi dengan mencegah kanker. (Puteri, Widjaja et al. 2019) Xanthone sebagai komponen mayor merupakan senyawa hidrofobik, tersusun atas sistem cincin trisiklik aromatik yang memiliki berbagai campuran isoprenil, hidroksil, dan substitusi metoksi. *α-mangostin* dan *γ-mangostin* adalah kandungan xanthones terbanyak dari kulit buah manggis yang paling berperan dalam pengobatan. Senyawa *xanthone* lainnya seperti *β-mangostin*, *gartanin*, *8-deoxygartanin*, *garcinones A, B, C, D and E*, *α-xanthone*, *9-hydroxycalabaxanthone* dan *isomangostin* secara konsisten



menunjukkan bahwa xanthone memiliki aktivitas antioksidan, antiproliferatif, proapoptotik, antimikroba, antiinflamasi, dan anti kanker. (Gutierrez-Orozco, Chitchumroonchokchai et al. 2013)



Gambar 5. Struktur kimia mangostana (Pedraza-Chaverri, Cárdenas-Rodríguez et al. 2008)



Sebanyak 50 xanthenes telah diisolasi dari kulit buah manggis, yang pertama ditemukan pada tahun 1855 disebut mangostin (setelah itu dinamakan  $\alpha$ -mangostin). (Pedraza-Chaverri, Cárdenas-Rodríguez et al. 2008)

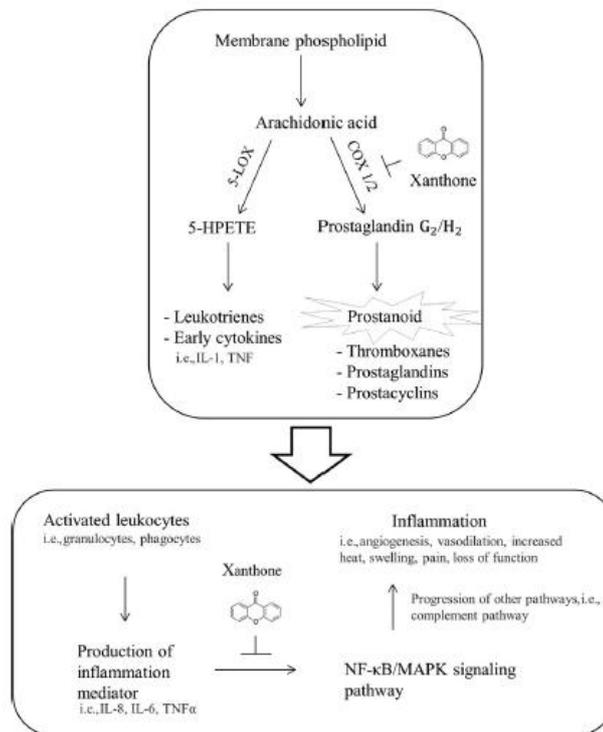
Tabel 1. Xanthenes yang diisolasi dari kulit buah *Garciana mangostana*

| Xanthone   | References   |
|--|--|
| $\alpha$ -Mangostin  | Schmid (1855), Yates and Stout (1958) and Stout and Krahn (1968)                 |
| $\beta$ -Mangostin   | Dragendorff (1930), Yates and Bhat (1968) and Mahabusarakam et al. (1987)        |
| $\gamma$ -Mangostin  | Jefferson et al. (1970), Mahabusarakam et al. (1987) and Jinsart et al. (1992)   |
| Mangostanol  | Chairungrilerd (1996a), Suksamrarn et al. (2002, 2003) and Huang et al. (2001)   |
| Mangostenol  | Suksamrarn et al. (2002, 2003)   |
| 1-Isomangostin   | Mahabusarakam et al. (1987) and Jung et al. (2006)                               |
| 1-Isomangostin hydrate   | Mahabusarakam et al. (1987)  |
| 3-Isomangostin   | Huang et al. (2001) and Mahabusarakam et al. (1987)                              |
| 3-Isomangostin hydrate   | Mahabusarakam et al. (1987)  |
| 1,6-Dihydroxy-7-methoxy-8-isoprenyl-6',6'-dimethylpyrano(2',3':3,2)xanthone (compound 7)       | Suksamrarn et al. (2003)   |
| Toxyloxanthone A (trapezifolixanthone)   | Suksamrarn et al. (2002, 2003)   |
| Calabaxanthone <sup>a</sup>  | Mahabusarakam et al. (1987) and Sen et al. (1980a)                               |
| Demethylcalabaxanthone   | Mahabusarakam et al. (1987) and Suksamrarn et al. (2003)                         |
| Caloxanthone A   | Linuma et al. (1996)   |
| Macluraxanthone  | Linuma et al. (1996)   |
| 1,7-dihydroxyxanthone  | Linuma et al. (1996)   |
| Euxanthone   | Gopalakrishnan et al. (1997)   |
| Cudraxanthone  | Jung et al. (2006)   |
| 8-hydroxycudraxanthone G   | Jung et al. (2006)   |
| Esmeatxanthone A   | Jung et al. (2006)   |
| BR-xanthone A  | Balasubramanian and Rajagopalan (1988)   |
| BR-xanthone B  | Balasubramanian and Rajagopalan (1988)   |
| Mangostanin  | Suksamrarn et al. (2003)   |
| Mangostenone A   | Suksamrarn et al. (2002, 2003)   |
| Mangostenone B   | Suksamrarn et al. (2002)   |
| Mangostinone   | Asai et al. (1995), Suksamrarn et al. (2002, 2003) and Matsumoto et al. (2003)   |
| Gartanin   | Govindachari et al. (1971), Mahabusarakam et al. (1987) and Asai et al. (1995)   |
| 8-Deoxygartanin  | Gopalakrishnan et al. (1997), Govindachari et al. (1971) and Huang et al. (2001) |
| Garcinone A  | Sen et al. (1980b, 1982).  |
| Garcinone B  | Sen et al. (1980b, 1982), Huang et al. (2001) and Suksamrarn et al. (2002, 2003) |
| Garcinone C  | Sen et al. (1980b, 1982)   |
| Garcinone D  | Sen et al. (1986), Gopalakrishnan et al. (1997) and Huang et al. (2001)          |
| Garcinone E  | Dutta et al. (1987), Sakai et al. (1993) and Asai et al. (1995)                  |
| Garcimangosone A   | Huang et al. (2001)  |
| Garcimangosone B   | Jung et al. (2006) and Huang et al. (2001)                                       |
| Garcimangosone C   | Huang et al. (2001)  |
| Garcimangosone D   | Huang et al. (2001)  |
| Tovophyllin A  | Huang et al. (2001), Ho et al. (2002) and Jung et al. (2006)                     |
| Tovophyllin B  | Huang et al. (2001) and Suksamrarn et al. (2002, 2003)                           |
| 1,5-dihydroxy-2-isoprenyl-3-methoxyxanthone  | Asai et al. (1995), Linuma et al. (1996) and Huang et al. (2001)                 |
| Mangostingone [7-methoxy-2-(3-isoprenyl)-8-(3-methyl-2-oxo-3-butenyl)-1,3,6-trihydroxyxanthone | Jung et al. (2006)   |
| 5,9-Dihydroxy-2,2-dimethyl-8-methoxy-7-isoprenyl-2H,6H-pyrano [3,2-b] xanthen-6-one            | Sen et al. (1980b), Huang et al. (2001) and Chairungrilerd (1996a)               |
| 2-( $\gamma$ , $\gamma$ -Dimethylallyl)-1,7-dihydroxy-3-methoxyxanthone                        | Mahabusarakam et al. (1987)  |
| 2,8-Bis( $\gamma$ , $\gamma$ -dimethylallyl)-1,3,7-trihydroxyxanthone                          | Mahabusarakam et al. (1987)  |
| 1,3,7-Trihydroxy-2,8-di-(3-methylbut-2-enyl) xanthone  | Mahabusarakam et al. (1987)  |
| 1,7-Dihydroxy-2-isoprenyl-3-methoxyxanthone  | Asai et al. (1995), Linuma et al. (1996) and Huang et al. (2001)                 |
| 2,7-Diisoprenyl-1,3,8-trihydroxy-4-methylxanthone  | Gopalakrishnan and Balaganesan (2000)  |
| 2,8-Diisoprenyl-7-carboxy-1,3 dihydroxyxanthone  | Gopalakrishnan and Balaganesan (2000)  |
| 2-Isoprenyl-1,7-dihydroxy-3-methoxyxanthone  | Matsumoto et al. (2003)  |
| 1,3,6,7-Tetrahydroxy-8-(3-methyl-2-butenyl)-9H-xanthon-9-one                                   | Huang et al. (2001)  |



Mekanisme kerja *Garciana mangostana* terhadap inflamasi akut adalah dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX) di jalur *arachidonic acid* yang mengakibatkan tanda-tanda peradangan. Target lain penghambatan inflamasi oleh xanthones adalah pada kaskade pensinyalan NF- $\kappa$ B. Penghambatan ini disebabkan oleh adanya *cyclase cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) dan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) dalam sel endotel pembuluh darah yang tidak diaktifkan oleh karena tidak ada produksi prostanoid. Sehingga reaksi inflamasi dapat dihambat. Adapun pada sebuah studi yang menyatakan bahwa komponen mangosteen samadengan nonsteroidal anti-inflammatory drugs yaitu suatu agen antiinflamasi yang menargetkan enzim COX. (Marzaimi and Aizat 2019)





Gambar 6. Aktivitas *xanthones* memblok inflamasi (Marzaimi and Aizat 2019)

Nakatani K, dkk (2002), melaporkan efektifitas  $\alpha$ - dan  $\gamma$ -mangostin menghambat pelepasan histamin dan induksi PGE2 terhadap penelitian in vivo. Pada penelitian in vitro sebelumnya juga menunjukkan bahwa *Garciana mangostana L.* dapat menghambat aktivitas COX-1 dan COX-2. (Nakatani, Atsumi et al. 2002)

Shih, dkk (2010), melaporkan efektifitas  $\alpha$ -mangostin sebagai agen antimetastatik melawan ekspresi TPA-induced *matrix metalloproteinase-2* (MMP-2) dan MMP-9 pada sel adenokarsinoma paru A549. Data menunjukkan



$\alpha$ -mangostin dapat menghambat aktivasi integrin  $\alpha\beta_3$ , *focal adhesion kinase* (FAK), *extracellular signal-regulated kinase 1/2* (ERK 1/2) yang terlibat dalam aktivitas downregulasi aktivitas enzim dan NF $\kappa$ B.(Shih, Chien et al. 2010)

Fu Yanxia, dkk (2014) menilai efek isogarcinol (mangosteen) secara in vivo terhadap inflamasi akut pada model hewan, dimana telinga mencit di induksi menjadi edema dengan menggunakan xylene. Hasilnya terjadi reduksi edema telinga mencit. Pemberian isogarcinol oral 100mg/kg memiliki efek yang menyerupai aspirin pada edema telinga yang di induksi xylene. Sedangkan penelitian in vitro menunjukkan bahwa isogarcinol menghambat ekspresi COX-2 mRNA dan iNOS. Isogarcinol juga mensupresi produksi NO pada supernatant sel RAW 264,7. Peneliti menyimpulkan bahwa isogarcinol secara signifikan mereduksi level serum IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-17. (Fu, Zhou et al. 2014)

Ratchadawan Aukkanimart, dkk (2015) mempelajari efek antiinflamasi *Garcinia mangostana* pada hamster yang menderita opisthorchiasis. Berdasarkan pemeriksaan menggunakan *thin-layer chromatography* menunjukkan level yang tinggi dari  $\alpha$ -mangostin dari ekstrak GM menyebabkan penurunan sel inflamasi dari infeksi *O.Viverrini* secara pemeriksaan histopatologi pada duktus bilier hepatic mencit hari ke 45 setelah terjadi inflamasi.(Aukkanimart, Boonmars et al. 2015)

Catorce Miryam, dkk (2015) melaporkan bahwa  $\alpha$ -mangostin menghambat interleukin-6, COX-2, dan *18-kDa translocator protein (TSPO)*



dengan neuroinflamasi perifer pada otak hewan coba.(Catorce, Acero et al. 2016)

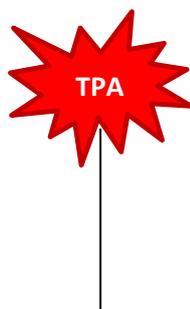
Ibrahim, dkk (2016) melaporkan efek signifikan dari  $\alpha$ -mangostin dalam menghambat produksi dan sitotoksitas lipopolisakarida pada tikus yang terstimulasi leukemia monocyte macrophage cell line (RAW 264,7 sel). Pada 3 hingga 25  $\mu$ M  $\alpha$ -mangostin, jumlah produksi NO diukur secara kontinyu dan nilai IC50 adalah 12,4. Produksi PGE2 yang diaktifkan lipopolisakarida dalam sel RAW 264.7 juga signifikan direduksi oleh  $\alpha$ -mangostin, dengan nilai IC50 11,08  $\mu$ M. Konsentrasi  $\alpha$ -mangostin ditemukan dapat mengurangi induksi iNOS. 1  $\mu$ g / mL lipopolisakarida digunakan untuk mengaktifkan sel RAW 264,7 selama 12 jam, aktivitas iNOS pada makrofag yang diaktifkan terhambat setelah pengobatan dengan 5  $\mu$ g / mL  $\alpha$ -mangostin dalam 24 jam. Edema yang diinduksi karagenan pada tikus digunakan untuk mengevaluasi efek anti-inflamasi dari  $\alpha$ -mangostin, dimana menunjukkan penghambatan kuat pada 3 jam setelah pengobatan. (Ibrahim, Hashim et al. 2016, Widowati, Darsono et al. 2016)

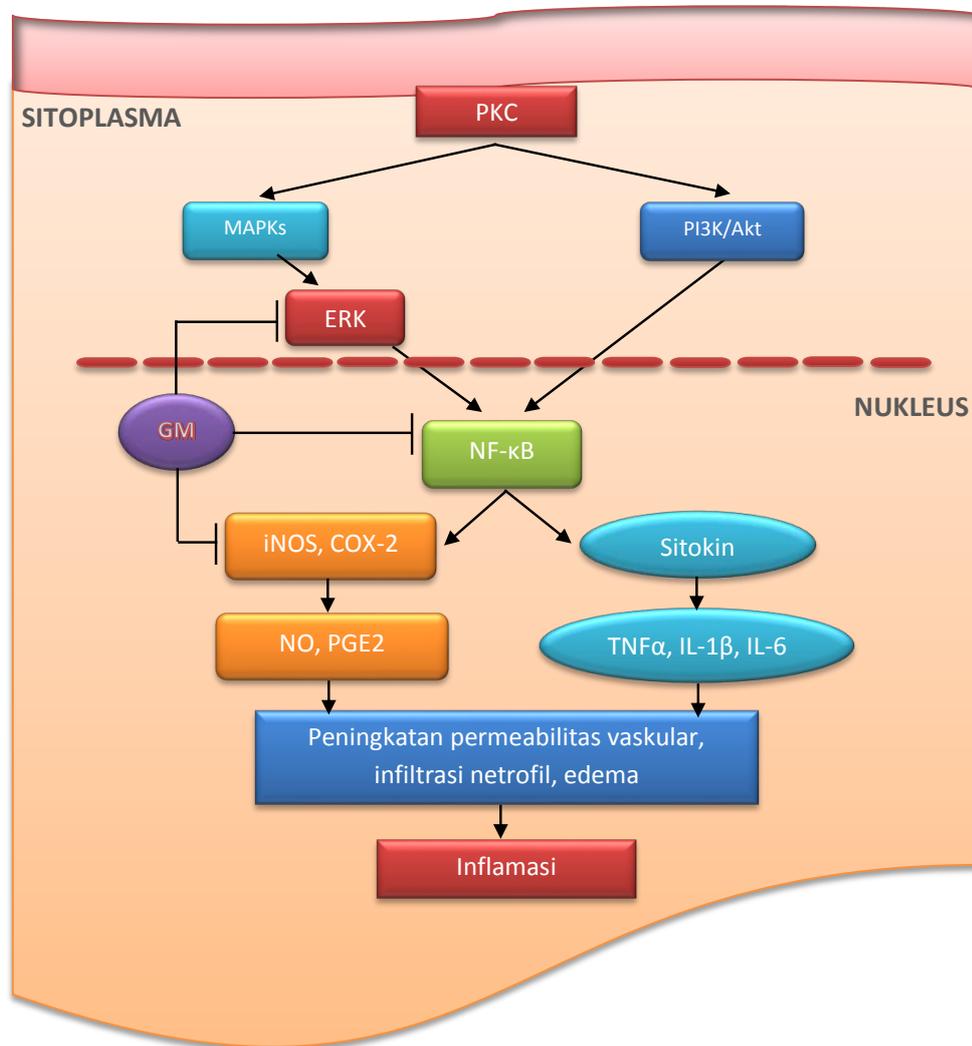
Wahyu Widowati, dkk (2016) melaporkan bahwa ekstrak kulit manggis *garciana mangostana*,  $\alpha$ -mangostin, dan  $\gamma$ -mangostin memiliki potensial antiinflamasi melalui penghambatan COX-2, IL-6, IL-1 $\beta$  dan NO. Penelitian ini dilakukan melalui sel makrofag murine yang diberikan ekstrak kulit *garciana mangostana*.(Widowati, Darsono et al. 2016)



Wei dkk menunjukkan pada efek immunosupresan dan anti-inflamasi dan berpotensi dari isogarcinol yang bermanfaat sebagai terapi arthritis, psoriasis, dan lupus eritematous sistemik. Pada mencit, isogarcinol mereduksi kadar serum IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-17 serta menghambat ekspresi NF $\kappa$ B pada sel Jurkat. (Ovalle-Magallanes, Eugenio-Pérez et al. 2017)

## 2.6 KERANGKA TEORI





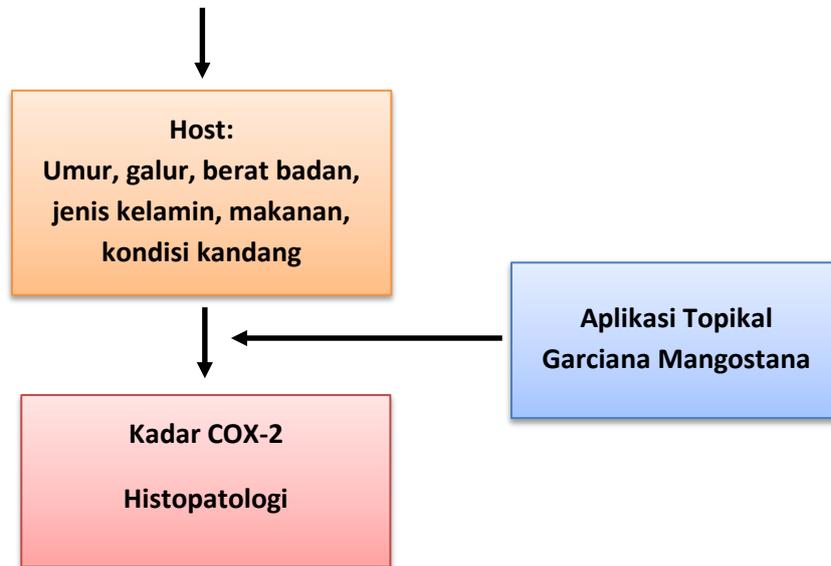
Gambar 7. Kerangka Teori Penelitian

## 2.7 KERANGKA KONSEP



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

Aplikasi TPA



Keterangan:

Variabel Independen



Variabel Kontrol



Variabel Dependen



### BAB III

### METODE PENELITIAN

