

Efek Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Murine Sepsis Score (MSS) Mencit Sepsis yang Diinduksi *Shigella dysenteriae*

Effect of Mangosteen Peel Extract (Garcinia mangostana) on Murine Sepsis Score (MSS) in Sepsis Mice Induced with Shigella dysenteriae

Pradipta Reza Syahrana¹, Arifa Mustika^{2*}, Muhammad Faizi³

¹Program Studi Kedokteran, ²Departemen Farmakologi dan Terapi, ³Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga

*Corresponding author: arifa-m@fk.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini untuk mengetahui efek terapi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap sepsis yang diinduksi *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan 30 mencit dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing mencit diinjeksi *S. dysenteriae* secara intraperitoneal. Perlakuan hari pertama post injeksi kontrol positif diberi Azithromycin 246 mg/kgBB, kontrol negatif diberi akuades, kelompok perlakuan diberi ekstrak kulit manggis dengan dosis sebagai berikut: K1= 100 mg/kgBB, K2= 200 mg/kgBB, dan K3= 400 mg/kgBB. Perlakuan hari kedua post injeksi sesuai masa inkubasi bakteri skor MSS tiap mencit dihitung. Terdapat korelasi antara pemberian ekstrak kulit manggis dengan skor MSS mencit ($p < 0.05$), tidak terdapat perbedaan signifikan antara pemberian ekstrak 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dengan Azithromycin.

Kata kunci: kulit manggis, *Garcinia mangostana*, *Shigella dysenteriae*, Murine Sepsis Score

Abstract

This study aimed to determine the effect of mangosteen peel extract (*Garcinia mangostana*) on Murine Sepsis Score (MSS) in sepsis mice induced by *Shigella dysenteriae* infection. This study was an experimental study, 30 mice were divided into 5 groups. Each mouse was injected by *S. dysenteriae* intraperitoneally. On the first day post injection positive control was given Azithromycin 246 mg/kgBW, negative control was given distilled water, the treatment group was given extra mangosteen peels with the following doses: K1= 100 mg/kg body weight, K2= 200 mg/kg body weight, and K3= 400 mg/kg body weight. On the second day post injection according to the bacterial incubation period MSS score for each mouse was calculated. There was a correlation between the administration of mangosteen peel extract with MSS score of mice ($p < 0.05$). There was no significant difference between administration of extracts of 200 mg/kg and 400 mg/kg with Azithromycin.

Key words: mangosteen peel, *Garcinia mangostana*, *Shigella dysenteriae*, Murine Sepsis Score

Received: 24 November 2019

Revised: 1 Desember 2019

Accepted: 27 Desember 2019

PENDAHULUAN

Sepsis adalah disfungsi organ yang mengancam jiwa disebabkan oleh respons imun yang tidak teregulasi terhadap suatu infeksi (Singer dkk., 2016). Sepsis terjadi ketika mediator kimia yang dilepaskan ke dalam aliran darah untuk melawan infeksi memicu perubahan cascade dapat merusak beberapa sistem organ (Mayo Clinic, 2018). Sebagian besar bakteri

yang dapat menyebabkan sepsis adalah bakteri gram negatif (Dewi, 2011). Bakteri gram negatif yang dapat mengakibatkan sepsis adalah *Shigella dysenteriae*. *S. dysenteriae* memiliki lapisan Lipopolisakarida (LPS) pada dinding sel. LPS bertindak sebagai endotoksin yang memicu sekresi sitokin pro-inflamasi yang dapat mengakibatkan sepsis (Kumar dkk., 2007).

Tanaman manggis (*Garcinia mangostana*) diyakini secara turun-temurun memiliki efek

antimikroba dan antiinflamasi. Berdasarkan penelitian Widowati dkk (2016) ekstrak kulit manggis memiliki aktivitas menghambat produksi molekul-molekul yang terlibat dalam reaksi inflamasi, diantaranya COX-2, IL-6, IL-1 β , dan NO, selain itu, penelitian dari Lee dkk., (2013) mengungkapkan bahwa kulit manggis dan senyawanya dapat menghambat produksi TNF- α dan IL-6 pada tikus yang dirangsang oleh LPS. Penelitian yang dilakukan Anindya (2012) juga telah membuktikan bahwa ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) memiliki efek hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* pada uji in vitro.

Metode untuk menilai derajat keparahan (*severity*) sepsis pada model hewan coba adalah dengan *Murine Sepsis Score* (MSS). Skor MSS dikembangkan oleh Shrum dkk., 2014. Skor ini mengevaluasi gejala klinis yang dialami hewan coba, seperti : derajat ereksi rambut, tingkat kesadaran, aktivitas spontan, respons terhadap rangsangan, kondisi mata, frekuensi napas, dan kualitas napas. Skor = 3, telah dinyatakan sebagai *cut-off point* untuk mencit yang mengidap severe sepsis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak kulit manggis terhadap MSS pada model mencit sepsis studi *in vivo* dan perbedaannya terhadap Azithomycin.

METODE PENELITIAN

Etik Hewan Coba

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dengan metode eksperimen. Penelitian dilaksanakan dengan dasar sertifikat etik (*ethical clearance*) Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikat 159/EC/KEPK/FKUA/2019.

Persiapan Ekstrak Kulit Manggis

Kulit manggis yang telah didapat dilakukan identifikasi terlebih dahulu. Kulit manggis dikeringkan lalu dihaluskan, selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24

jam yang kemudian dipisahkan dengan *rotary evaporator*, dan dibuat suspensinya dengan (*Carboxyl Methyl Cellulose*) CMC Na 1% sebagai suspensator.

Pembuatan Model Hewan Coba

Hewan coba berupa mencit (*Mus musculus*) berusia \pm 8-12 minggu yang ekuivalen dengan manusia usia 30-40 tahun (Flurkey dkk., 2007) dengan berat \pm 25 gram, diinfeksi dengan suspensi bakteri lewat jalur transmisi intraperitoneal sesuai untuk infeksi *S. dysenteriae* pada mencit (Sharma dkk., 2017).

Perlakuan

Sebanyak 30 mencit dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing mencit diinjeksi *S. dysenteriae* secara intraperitoneal. Perlakuan hari pertama post injeksi kontrol positif diberi Azithromycin 246 mg/kgBB, kontrol negatif diberi akuades, kelompok perlakuan diberi ekstrak kulit manggis dengan dosis sebagai berikut : k1 = 100mg/kgBB, k2 = 200mg/kgBB, dan k3 = 400mg/kgBB. Perlakuan hari kedua post injeksi sesuai masa inkubasi bakteri skor MSS tiap mencit dihitung dengan menjumlah semua skor dalam 7 variabel (Tabel 1).

Analisis Data

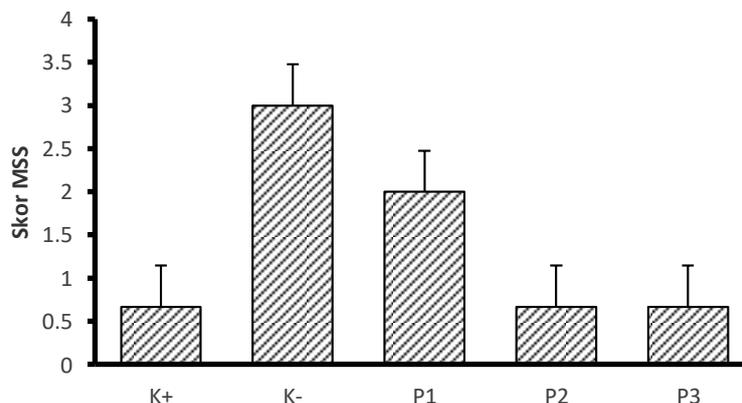
Data dianalisis menggunakan SPSS versi 16 meliputi uji *Kruskal-Wallis* untuk menilai adanya pengaruh variabel bebas dan terikat secara umum. Kemudian data diuji lanjut dengan *Mann-Whitney* untuk membandingkan hasil antar kelompok ($p < 0.05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rata-rata skor MSS pada kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3 adalah 0,6667, tetapi terdapat beberapa perbedaan pada variabel penyusun skor MSS dari ketiga kelompok perlakuan tersebut. Kelompok kontrol positif, skor 1 tidak didapatkan pada variabel respons terhadap rangsang, kondisi mata, frekuensi napas, dan kualitas napas (Gambar 1), hal ini diduga karena terdapat perbedaan mekanisme

Tabel 1. Skor *Murine Sepsis Score* (MSS)

Variabel	Skor dan deskripsi
Penampilan	0: terlihat tenang 1: sebagian rambut piloereksi 2: mayoritas rambut punggung piloereksi 3: piloereksi dapat ada atau tidak, mencit tampak “puffy” 4: piloereksi dapat ada atau tidak, mencit tampak terlihat kurus kering
Kesadaran	0: aktif 1: aktif tetapi menghindari berdiri tegak 2: aktivitas melambat, tetapi masih bergerak 3: aktivitas terganggu, hanya bergerak bila diprovokasi dan muncul tremor 4: aktivitas sangat terganggu, tidak merespons rangsang dan kemungkinan tremor
Aktivitas	0: aktivitas makan, minum, memanjat (kandang), berlari, dll normal 1: aktivitas sedikit berkurang, hanya memutar kandang 2: aktivitas berkurang, hanya diam dengan sesekali memperhatikan pergerakan 3: tanpa aktivitas, diam 4: tanpa aktivitas, terdapat tremor di kaki belakang
Respons terhadap stimulus	0: respons segera terhadap rangsang suara atau sentuh 1: lambat tanpa respons terhadap rangsang suara, respons kuat terhadap sentuhan 2: tanpa respons terhadap rangsang suara, respons sedang terhadap sentuhan 3: tanpa respons terhadap rangsang suara, respons lemah terhadap sentuhan 4: tanpa respons terhadap rangsang suara, sedikit atau tidak merespons terhadap sentuhan (tidak berpindah), tidak dapat berdiri tegak bila didorong
Mata	0: terbuka 1: tidak terbuka sempurna, mungkin terdapat kotoran 2: tertutup separuh, mungkin terdapat kotoran 3: tertutup lebih dari separuh, mungkin terdapat kotoran 4: tertutup keseluruhan atau berwarna putih (<i>milky</i>)
Frekuensi Napas	0: normal, pernapasan mencit cepat 1: sedikit melambat (tidak terhitung dengan melihat) 2: cukup melambat (kisaran atas dapat terhitung dengan melihat) 3: sangat lambat (mudah dihitung dengan melihat, jarak antar napas 0,5 detik) 4: melambat secara ekstrem (> 1 detik tiap napas)
Kualitas Napas	0: normal 1: sedikit bernapas keras/ <i>laboured breathing</i> 2: bernapas keras/ <i>laboured breathing</i> , tanpa <i>gasping</i> 3: bernapas keras/ <i>laboured breathing</i> dengan sedikit <i>gasping</i> 4: <i>gasping</i>



Gambar 1. Rata-rata skor MSS tiap kelompok perlakuan

kerja antara Azithromycin dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*). Individu pada kelompok perlakuan 1 memiliki skor MSS 3, hal ini menunjukkan bahwa individu tersebut mengalami sepsis berat, karena menurut Shrum dkk, (2014) skor 3 digunakan sebagai *cut-off* untuk mencit yang mengarah pada sepsis berat (*severe sepsis*), meski demikian rata-rata skor MSS pada kelompok perlakuan 1 masih lebih baik daripada kelompok kontrol negatif *aquadest* yang memiliki rata-rata skor MSS paling besar, selain itu, pada kelompok perlakuan 1 didapatkan pula beberapa individu yang memiliki skor MSS <3 yang berarti individu tersebut tidak mengalami sepsis berat (Gambar 1).

Hasil Skor MSS pada seluruh perlakuan didapatkan bahwa dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tidak memiliki beda yang signifikan dengan terapi Azithromycin, tetapi ketiga dosis (100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB) memiliki beda signifikan dengan kelompok kontrol negatif (hanya diberi *aquadest*). Perbedaan paling signifikan ditemukan pada dosis 200 mg/kgBB dan 400mg/kgBB.

Uji *Kruskal-Wallis* digunakan untuk menilai adanya pengaruh variabel bebas dan terikat secara umum, didapatkan nilai $p < 0.05$ yang berarti ada korelasi secara umum antara ekstrak kulit manggis dan skor MSS.

Uji *Mann Whitney* memberikan hasil bahwa kontrol positif (Azithromycin 246 mg/kgBB) dan kontrol negatif memiliki perbedaan signifikan ($p < 0.05$). Kelompok ekstrak kulit manggis 100 mg/kgBB memiliki perbedaan signifikan terhadap kontrol positif ($p < 0.05$), perbedaan ini bila dihubungkan dengan rata-rata skor MSS menunjukkan bahwa efek terapi dengan dosis 100 mg/kgBB masih kurang baik dibandingkan dengan Azithromycin, namun, kelompok perlakuan 1 memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0.05$).

Kelompok ekstrak kulit manggis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB masing-masing tidak memiliki perbedaan pengaruh dengan kontrol positif dengan ($p > 0.05$), hal ini menunjukkan bahwa terapi dengan ekstrak kulit

manggis 200 mg/kgBB memiliki efek yang sama dengan Azithromycin. Kelompok perlakuan 2 dan 3 masing-masing memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol negatif (*aquadest*) ($p < 0.05$).

Beberapa hasil di atas menunjukkan bahwa pada dosis 100 mg/kgBB, ekstrak kulit manggis telah memiliki efek terapi tetapi masih belum optimal, selain itu, hasil Skor MSS pada seluruh perlakuan didapatkan bahwa dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tidak memiliki beda yang signifikan dengan terapi Azithromycin, sehingga efektivitas paling baik terdapat pada rentang kedua dosis tersebut.

Rata-rata skor MSS pada kelompok Azithromycin memiliki nilai yang sama dengan kelompok ekstrak kulit manggis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Pada ketiga kelompok perlakuan ini, mayoritas mencit memiliki skor MSS 0 yang berarti tidak terdapat tanda dan gejala sepsis, hal ini sesuai dengan penelitian Sitti dkk., (2018); Hidayati dan Wardani, (2016); dan Anindya (2012) bahwa ekstrak kulit manggis mampu menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*. Penelitian lain oleh Jacob dkk., (2019) dan Asifa (2014), diketahui bahwa ekstrak kulit manggis juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif lain yaitu *E. coli* dan *S. flexneri*.

Perbedaan yang paling mencolok antara Azithromycin dan ekstrak kulit manggis adalah adanya efek antiinflamasi pada ekstrak kulit manggis, sedangkan Azithromycin hanya memiliki sifat antibakteri (Rothermel, 2003). Azithromycin merupakan antibiotik golongan *macrolide* yang memiliki sifat bakteristatik dengan menghambat sintesis protein dan translasi pada bakteri, selain itu, Azithromycin dapat berakumulasi di berbagai jenis sel dan jaringan. Kemampuan Azithromycin untuk penetrasi dan terkonsentrasi di sel berperan dalam farmakokinetik zat ini yaitu memiliki waktu paruh yang lama dan terkonsentrasi dalam jumlah besar di jaringan (Rothermel, 2003).

Efek terapi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) terdiri dari efek antibakteri dan efek antiinflamasi dari senyawa xanthone. Senyawa xanthone yang terdapat dalam ekstrak

kulit manggis mampu menghambat produksi molekul-molekul yang terlibat dalam reaksi inflamasi, diantaranya COX-2, IL-6, IL-1 β , dan NO. Penelitian oleh Bumrungpert dkk., (2010) menunjukkan bahwa senyawa xanthone mampu menghambat ekspresi gen inflamasi yang diinduksi Lipopolisakarida (LPS), penelitian Kumar dan Chowdury, (2015) juga mengemukakan bahwa adanya efek ekstrak kulit manggis dalam mengurangi produksi NO pada inflamasi yang diinduksi LPS. Senyawa xanthone yang terdapat di ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) juga berperan menghambat produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) intrasel dan juga memiliki sifat antioksidan berupa kemampuan memberi atom hidrogen dengan cara memutus rantai radikal bebas.

KESIMPULAN

Ekstrak kulit manggis dosis 200 mg/kgBB signifikan memberikan efek terapi pada mencit sepsis yang diinduksi infeksi *S. dysenteriae* yang diukur dari MSS. Rata-rata MSS pada dosis 200 mg/kgBB juga tidak menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan Azithromycin 246 mg/kgBB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga di Surabaya yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anindya, D. 2012. Efek Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Asifa, U.S. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Frakti n-Heksana Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap
- Pertumbuhan *Shigella flexneri* Secara In Vitro. Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran Untan, 1(1), 1-17.
- Bumrungpert, A., Kalpravidh, R.W., Chuang, C., Overman, A., Martinez, K., Kennedy, A., Mcintosh, M. 2018. Xanthones from Mangosteen Inhibit Inflammation in Human Macrophages and in Human Adipocytes Exposed to Macrophage-Conditioned Media. *J. Nutr.*, 140(6), 4-9.
- Dewi, R. 2011. Sepsis pada Anak: Pola Kuman dan Uji Kepekaan. *Maj. Ked. Indones.*, 61(3), 104.
- Flurkey, K., Currer, J.M., Harrison, D.E. 2007. The Mouse in Aging Research. In Fox, J.G., Barthold, S.W., Davisson, M.T., Newcomer, C.E., Quimby, F.W., Smith, A.L. *The Mouse in Biomedical Research* (2). Massachusetts: Elsevier, p637-672.
- Hidayahati, N., Wardani, D.E. 2015. Daya Hambat Rebusan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* dan *Shigella dysenteriae*. *J. Sains*, 5(10).
- Jacob, D., Viganini, N., Iyer, P. R. 2016. Antibacterial Activity Of Mangosteen (*Garcinia Mangostana*) Pericarp. *World J. Pharm. Res.*, 5(9), 1797-1802.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. 2007. Robbins Basic Pathology. 8th edition. Saunders, Elsevier.
- Kumar, S., Chowdhury, S. 2015. Anti-Inflammatory Effect Of An Ethyl Acetate Extract Of *Garcinia mangostana L.* By Downregulation Of Nitric Oxide Production In RAW 264.7 Cell Line. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, 5(2), 229-233.
- Kusuma, S.A.F., Wardhani, P., Febrina, E. 2017. Stool Form Scale As An Indicator Of Klutuk Banana (*Musa Balbisiana Colla*) Fruit

- Extracts Inhibition Effect Against Shigella Dysenteriae ATCC 13313. *As. J. Pharm. Clin. Res.*, 10(12), 18-20.
- Lee, L.T., Tsai, Y.F., Hu, N.Y., Wang, C.W., Huang, K.K., Hsiao, J.K., Shih, Y.C., Munekazu, I. 2013. Anti-arthritis effect of mangostins from *G. Mangostana*. *Biomed. Prev. Nutr.*, 3(3), 227-232.
- Mayo Clinic. 2018. Sepsis - Symptoms and causes. [online] Available at: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/sepsis/symptoms-causes/syc-20351214> [Accessed 28 Apr. 2018].
- Rothermel, C.D. 2003. Single Dose Azithromycin for Acute Otitis Media: A Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Rationale. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.*, 64(1), 4-15.
- Sharma, D., Yagnik, B., Baksi, R., Desai, N., Padh, H., Desai, P. 2017. Shigellosis murine model established by intraperitoneal and intranasal route of administration: A comparative comprehension overview. *Microb. Infection*, 19(1), 47-54.
- Shrum, B., Anantha, R.V., Xu, S.X., Donnelly, M., Haeryfar, S.M.M., McCormick, J.K., Mele, T. 2014. A robust scoring system to evaluate sepsis severity in an animal model. *BMC Research Notes*, 7(1), 1-11.
- Sitti, R., Sugita, P., Ambarsari, L., Rahayu, D. 2018. Antibacterial Mangosteen (*Garcinia mangostana Linn.*) peel extract encapsulated in Chitosan. *J. Physics: Conf. Series*, 1116(4), 042037.
- Singer, M., Deutschman, C.S., Seymour, C.W. 2016. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315(8), 801-810.
- Widowati, W., Darsono, L., Suherman, J., Fauziah, N. 2016. Anti-inflammatory Effect of Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) Peel Extract and its Compounds in LPS-induced RAW264.7 Cells. *Nat. Prod. Sci.*, 22(3), 147-153.
