

## Jumlah sel makrofag gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi periodontitis setelah pemberian ekstrak etanolik kulit manggis

*Amount of macrophages cells in periodontitis-induced wistar rats after mangosteen rind etanolic extract administration*

**Rendra Chriestedy Prasetya**

Bagian Biomedis

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jember, Indonesia

### ABSTRACT

*Periodontitis is characterized with macrophages infiltration that is used to fagocyt bacteria which infiltrated at gingiva. Mangosteen rind contains xantone, an anti-inflammatory substance which inhibits the synthesis of PGE2 and therefore reduce inflammatory cells infiltration. This research aimed to study macrophages cells infiltration in periodontitis-induced wistar rats after administration of mangosteen rind etanolic extract. Forty eight male wistar rats were induced periodontitis for 7 days. After the ligation was taken out, the rats were divided into 4 groups, and treated orally with mangosteen rind extract 60 mg/kg BB, 30 mg/kg BB, ibuprofen and saline. The rats were sacrificed on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup>, and 7<sup>th</sup> day after the treatment. Their anterior lower jaws were processed histologically and stained with hematoxylin eosin. Two-way anova test showed a significant difference among groups ( $p < 0.05$ ). It was concluded that mangosteen rind etanolic extract reduced the number of macrophages cells gingiva in periodontitis male wistar rats.*

**Key word:** macrophages, periodontitis, mangosteen rind etanolic extract

### ABSTRAK

Periodontitis ditandai dengan peningkatan infiltrasi makrofag yang berfungsi untuk memfagositosis bakteri yang menginfiltrasi jaringan gingiva. Kulit manggis mempunyai bahan aktif *xantone* yang mempunyai efek anti-inflamasi dengan jalan menghambat sintesis PGE2 sehingga menurunkan infiltrasi sel inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah sel makrofag gingiva pada tikus wistar jantan yang diinduksi periodontitis setelah pemberian ekstrak etanolik kulit manggis. Empat puluh delapan ekor tikus wistar diinduksi periodontitis selama 7 hari. Setelah hari ke-7, ikatan dilepas, selanjutnya tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB dan 60 mg/kg BB, ibuprofen dan salin. Tikus didekapitasi pada hari ke-1, 3, 5 dan 7 setelah perlakuan. Selanjutnya gingiva anterior rahang bawah dibuat sediaan histologi untuk pengecatan *hematoxylin eosin*. Hasil uji *two way anova* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna rerata sel makrofag antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Ekstrak etanolik kulit manggis disimpulkan mampu menurunkan jumlah makrofag gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi periodontitis.

**Kata kunci:** makrofag, periodontitis, ekstrak etanolik kulit manggis

**Koresponden:** Rendra Chriestedy Prasetya, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jl. Kalimantan no.37 Jember. *E-mail:* rendrachriestedy@gmail.com

### PENDAHULUAN

Makrofag merupakan sel fagosit mononuklear utama di jaringan yang untuk proses fagositosis mikroba dan molekul asing lainnya. Makrofag berasal dari sel prekursor dari sumsum tulang dan akan membelah menghasilkan monosit. Monosit akan berkembang menjadi makrofag apabila berada dalam jaringan. Saat terjadi inflamasi, infiltrasi makrofag meningkat terutama pada hari ke-3 sampai ke-5.<sup>1</sup> Hasil penelitian Bezerra dkk<sup>2</sup> menunjukkan bahwa pada pasien dengan periodontitis dijumpai adanya infiltrasi sel inflamasi terutama makrofag.

Periodontitis merupakan inflamasi pada jaringan penyangga gigi yang ditandai dengan infiltrasi sel inflamasi.<sup>3</sup> Inflamasi ini disebabkan oleh adanya produk toksin dari bakteri sehingga menghancurkan epitel dan struktur jaringan periodontal, yaitu bakteri

*P. gingivalis*.<sup>4</sup> Inflamasi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri penyebab penyakit periodontal terutama *P. gingivalis* bertujuan untuk mengeliminasi bakteri patogen, namun apabila reaksi inflamasi yang terjadi berlebihan, akan menimbulkan kerusakan jaringan periodontal sehingga diperlukan anti-inflamasi.<sup>1</sup> Kulit buah manggis mengandung senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi, misalnya antibakteri, anti-inflamasi, antijamur, dan antikanker. Senyawa utama kulit manggis yang memiliki senyawa farmakologi adalah golongan *xanthone*.<sup>5</sup> Saat ini ditemukan lebih dari 40 jenis *xanthone*, diantaranya *alfa* dan *gamma mangostin*. Kedua jenis *xanthone* ini berperan untuk menghentikan inflamasi atau radang dengan cara menghambat sintesis prostaglandin (PG), dengan cara penghambatan enzim siklooksigenase yang menyebabkan inflamasi.<sup>6</sup> Suatu hasil penelitian<sup>7</sup>

menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis mampu menurunkan aktivasi sitokin proinflamasi, yaitu IL-1 dan TNF- $\alpha$ . Penurunan aktivasi IL-1 dan TNF- $\alpha$  berpengaruh pada proses *rolling* dan adesi leukosit, terutama makrofag untuk keluar dari pembuluh darah dan menuju tempat terjadinya inflamasi.

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui jumlah sel makrofag gingiva pada tikus yang diinduksi periodontitis setelah pemberian ekstrak etanolik kulit manggis.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di LPPT unit I dan laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Buah manggis yang digunakan adalah kulit buah yang buahnya sudah masak. Kulit buah terkumpul dibersihkan dari kotoran, kemudian dirajang kecil-kecil, dikeringkan dengan suhu 45°C selama 48 jam, setelah itu digiling hingga menjadi serbuk simplisia. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode perkolasi menggunakan pelarut etanol.

Pada penelitian ini digunakan 48 ekor tikus wistar jantan umur 2 bulan, berat badan 175-200 g yang telah beradaptasi 1 minggu di Laboratorium Farmakologi. Sebelum diinduksi periodontitis, tikus dianestesi dengan injeksi ketamine HCl i.m pada otot paha belakang dengan dosis 0,2 ml/200 gram BB. Induksi periodontitis dilakukan dengan mengikat benang dari sutra ukuran 3,0 pada daerah subgingiva di sekeliling gigi insisivus anterior rahang bawah.

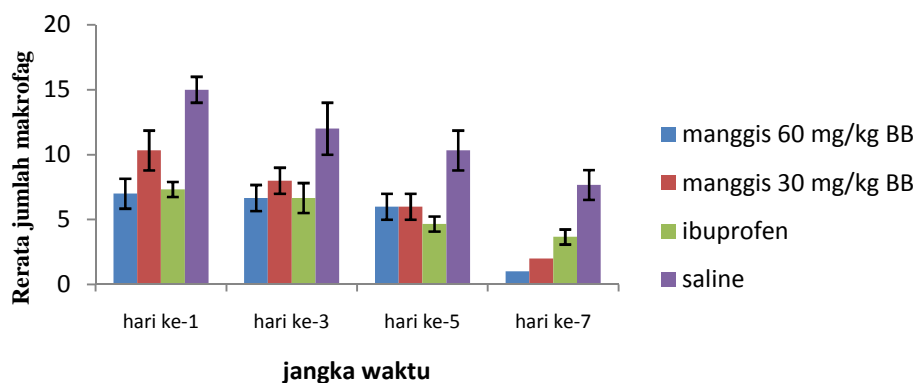
Pada hari ke-7 ikatan dilepas, kemudian sampel dibagi menjadi 4 jenis perlakuan, yaitu kelompok ekstrak kulit manggis dosis 60 mg/kg BB, kelompok ekstrak kulit manggis dosis 30 mg/kg BB, kelompok kontrol positif diberi ibuprofen 9 mg/kg BB dan kelompok kontrol negatif yang diberi salin 0,5 ml. Pemberian perlakuan secara peroral sehari 3 kali menggunakan *oral gavage* pada masing-masing kelompok tikus. Pada hari ke-1, 3, 5, dan 7 setelah perlakuan, hewan dikorbankan dengan cara dekapitasi. Rahang bawah pada bagian gigi anterior yang telah diberi perlakuan diambil dan difiksasi dengan *buffered* formalin 10% selama 24 jam kemudian didekalsifikasi dengan EDTA 10% pH 7,4 pada suhu 4°C. Setelah lunak, spesimen ditanam dalam parafin, dan dipotong serial dengan ketebalan 5  $\mu$ m untuk dilakukan pengecatan hematoksilin eosin. Sel makrofag dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Data diuji dengan *two-way anova* dan uji LSD.

## HASIL

Pengamatan histologis terhadap jumlah sel makrofag pada kelompok ekstrak kulit manggis 60 dan 30 mg/kg BB, ibuprofen dan salin pada hari pengamatan ke-1, 3, 5 dan 7 mendapatkan hasil seperti tampak pada tabel 1. Gambar 1 lebih nyata memperlihatkan adanya penurunan rerata jumlah makrofag pada semua kelompok tikus periodontitis yang diberi ekstrak kulit manggis 60 dan 30 mg/kg BB, ibuprofen serta salin seiring bertambahnya hari pengamatan.

**Tabel 1** Rerata dan simpangan baku jumlah makrofag berdasarkan kelompok perlakuan dan waktu dekapitasi

Kelompok perlakuan	Rerata $\pm$ SB			
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7
Manggis 60 mg/kg BB	7,00 $\pm$ 1,15	6,67 $\pm$ 1,00	6,00 $\pm$ 1,00	1,00 $\pm$ 0,00
Manggis 30 mg/kg BB	10,33 $\pm$ 1,53	8,00 $\pm$ 1,00	6,00 $\pm$ 1,00	2,00 $\pm$ 0,00
Ibuprofen	7,33 $\pm$ 0,58	6,67 $\pm$ 1,15	4,67 $\pm$ 0,58	3,67 $\pm$ 0,58
Saline	15,00 $\pm$ 1,00	12,00 $\pm$ 2,00	10,33 $\pm$ 1,53	7,67 $\pm$ 1,15



**Gambar 1** Grafik batang yang menunjukkan rerata jumlah makrofag pada kelompok tikus periodontitis yang diberi perlakuan

Data penelitian diuji normalitas dan homogenitas yang menunjukkan data yang diuji mempunyai nilai signifikansi 0,14 ( $p > 0,05$ ), yang berarti data terdistribusi secara normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik dengan menggunakan uji *two-way anova* (Tabel 2). Tampak perbedaan bermakna antar jumlah makrofag pada masing-masing hari pengamatan, kelompok perlakuan dan interaksi antara hari pengamatan dan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti hari pengamatan, kelompok perlakuan, dan interaksi antara hari pengamatan dengan kelompok perlakuan berpengaruh signifikan terhadap jumlah infiltrasi sel makrofag.

**Tabel 2** Rangkuman uji *two-way anova* jumlah makrofag

Source	F	Sig
Hari	80,64	0,00*
Kelompok	74,35	0,00*
Kelompok-hari	3,26	0,01*

- : menunjukkan interaksi; F: nilai  $F_{hitung}$ ;

\* = berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

**Tabel 3.** Rangkuman hasil uji LSD jumlah makrofag

Hari	Kelompok	Nilai LSD
ke-1	Manggis 60 mg-manggis 30 mg	0,00*
	Manggis 60 mg-ibuprofen	0,46
	Manggis 60 mg-salin	0,00*
	Manggis 30 mg-ibuprofen	0,00*
	Manggis 30 mg-salin	0,00*
	Ibuprofen-salin	0,00*
ke-3	Manggis 60 mg-manggis 30 mg	0,27
	Manggis 60 mg-ibuprofen	0,71
	Manggis 60 mg-salin	0,00*
	Manggis 30 mg-ibuprofen	0,14
	Manggis 30 mg-salin	0,00*
	Ibuprofen-salin	0,00*
ke-5	Manggis 60 mg-manggis 30 mg	1,00
	Manggis 60 mg-ibuprofen	0,14
	Manggis 60 mg-salin	0,00*
	Manggis 30 mg-ibuprofen	0,14
	Manggis 30 mg-salin	0,00*
	Ibuprofen-salin	0,00*
ke-7	Manggis 60 mg-manggis 30 mg	0,00*
	Manggis 60 mg-ibuprofen	0,00*
	Manggis 60 mg-salin	0,00*
	Manggis 30 mg-ibuprofen	0,07
	Manggis 30 mg-salin	0,00*
	Ibuprofen-salin	0,00*

\*=berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Uji LSD dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah makrofag antara masing-masing kelompok pada waktu dekapitasi hari ke-1 sampai hari ke-7 (Tabel 3). Tampak bahwa ada beda yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kelompok tikus yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB dibandingkan dengan

kelompok sampel yang diberi salin pada semua hari perlakuan. Terdapat perbedaan bermakna jumlah makrofag pada kelompok tikus yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB hari ke-1 dan ke-7 serta dengan kelompok yang diberi ibuprofen hari ke-7 ( $p < 0,05$ ). Jumlah makrofag pada kelompok tikus periodontitis yang diberi ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB berbeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok sampel yang diberi ibuprofen hari ke-1, sedangkan jumlah makrofag kelompok yang diberi ibuprofen berbeda bermakna dengan kelompok salin pada semua hari perlakuan.

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini diketahui bahwa jumlah sel makrofag pada kelompok ekstrak kulit manggis 60 dan 30 mg/kg BB lebih baik dibandingkan kelompok salin. Hal ini terlihat dari penurunan infiltrasi sel makrofag yang lebih banyak pada kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis dibandingkan dengan kelompok salin. Infiltrasi sel makrofag pada sampel kelompok ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB lebih baik dibandingkan kelompok ibuprofen sedangkan antar kelompok ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB dengan kelompok ibuprofen tidak ada perbedaan bermakna jumlah sel makrofag.

Hasil penelitian yang mendukung efek anti-inflamasi dari kulit buah manggis adalah penelitian Natani dkk,<sup>8</sup> yang menunjukkan secara *in vitro* kandungan kulit buah manggis, *gamma mangostin*, mampu menghambat proses sintesis PGE2 dan siklooksigenase pada sel glioma tikus. Selain itu, potensi ekstrak kulit manggis mampu menurunkan infiltrasi sel makrofag yang mungkin disebabkan kerja dari kulit buah manggis yang menghambat sintesis IL-1 dan TNF- $\alpha$ ,<sup>7</sup> sehingga menghambat metabolisme pada asam arakidonat, menghambat peningkatan permeabilitas endotelium serta migrasi leukosit. Mekanisme kerja ibuprofen menghambat kerja COX-2 yang menyebabkan sintesis PG terutama PGE2, namun ibuprofen tidak menghambat sintesis IL-1 dan TNF- $\alpha$  sehingga kemungkinan masih terjadi peningkatan permeabilitas endotelium dan migrasi leukosit ke jaringan.<sup>9</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan infiltrasi sel makrofag pada kelompok ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB lebih rendah dibandingkan ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB. Hal tersebut menunjukkan bahwa efek anti-inflamasi kelompok ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB lebih baik dibandingkan kelompok ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB. Hal ini mungkin disebabkan semakin besar dosis yang digunakan semakin besar senyawa kimia dalam kulit

manggis yang bekerja sehingga memperkuat efek anti-inflamasinya.<sup>9</sup>Kandungan senyawa kimia dalam kulit manggis, antara lain xanton, vitamin B1, zat besi, dan triterpenoid kalsium.<sup>10</sup>

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanolik kulit manggis mampu menurunkan jumlah sel makrofag gingiva tikus yang diinduksi periodontitis.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar V, Abbas A, Fausto N. Pathologic basis of disease. 8<sup>th</sup> Ed. New York: Elsevier; 2006.p.30-6.
2. Bezerra, De Lima, Alencar. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 2000; 71: 57-63.
3. Carranza F, Henry H, Newman, Michael, G. Clinical periodontology. 10<sup>th</sup> Edition. New York: WB Saunders; 2006.
4. Kimura, Takeda, Narikuwa, Enomoto, Ichida, Endou. Human organic anion transporters mediate renal transport of prostaglandins. *J Pharmacol Experiment Therapeut* 2002; 301(1): 293-8.
5. Shabella R. Terapi kulit manggis. Klaten: Galmas Publisher; 2011.
6. Nakatani K, Yamakuni T, Kondo N, Arakawa T, Oosawa K, Shimura S, dkk. Gamma mangostin inhibitor kB kinase activity and decreases lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 gen expression in C6 rat glioma cells. *J Mol Pharmacol* 2004: 662-7.
7. Sargowo D, Senorita A, Widodo A. Peranan ekstrak kulit manggis dalam penurunan kadar TNF- dan IL-1 pada dislipidemia. Malang: Universitas Brawijaya Press; 2010.
8. Nakatani K, Nakahata K, Arakawa T, Yasuda H, Ohizumi Y. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E-2 synthesis by gamma mangostin, a xanthone derivate in mangosteen in C6 rat glioma cells. *Biochem Pharmacol* 2002: 73-9.
9. Wijaya A, Santoningsih D, Setyawati S. Pengaruh ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn) terhadap penurunan jumlah foam cell pada aorta tikus (*Rattus novergicus*) model aterogenik. [Tesis]. Universitas Brawijaya; 2011.
10. Chin YW, Jung HA, Chai H, Keller WJ, Kinghorn AD. Xanthones with quinone reductase-inducing activity from the fruits of *garcinia mangostana* (mangosteen). *Phytochem* 2008; 69:754-8.