

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)**



**KULIT MANGGIS (*Gracinia mangostana L*) SEBAGAI GROWTH FACTOR
STEM SEL UNTUK TERAPI PERIODONTITIS**

TAHUN KE – 2 DARI RENCANA 2 TAHUN

Dr. Ira Arundina, drg, MSi	0028107102
Ketut Suardita, drg, Sp KG, Ph.D	0026116803
Dr. Indeswati Diyatri, drg, MS	0015036204

**DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)**



KKA
KK
UP 40/19
Aru
K

**KULIT MANGGIS (*Gracinia mangostana L*) SEBAGAI GROWTH FACTOR
STEM SEL UNTUK TERAPI PERIODONTITIS**

TAHUN KE – 2 DARI RENCANA 2 TAHUN

Dr. Ira Arundina, drg, MSi	0028107102
Ketut Suardita, drg, Sp KG, Ph.D	0026116803
Dr. Indeswati Diyatri, drg, MS	0015036204

**DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

1



HALAMAN PENGESAHAN

Judul : KULIT MANGGIS (Gracinia mangostanaL)SEBAGAI GROWTH FACTOR STEM SEL UNTUK TERAPI PERIODONTITIS

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. drg IRA ARUNDINA, S.K.G, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 0028107102
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Kedokteran Gigi
Nomor HP : 081553768080
Alamat surel (e-mail) : ira-a@fkg.unair.ac.id

Anggota (1)
Nama Lengkap : KETUT SUARDITA
NIDN : 0026116803
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)
Nama Lengkap : Dr INDESWATI DIYATRI
NIDN : 0015036204
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 100,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 199,770,000

Mengetahui,
Dekan FKG UNAIR



(Dr. R. Darmawan Setijanto, drg, MKes)
NIP/NIK 196110051988031003

Kota Surabaya, 9 - 11 - 2018
Ketua,

(Dr. drg IRA ARUNDINA, S.K.G, M.Si)
NIP/NIK 197110281997022002

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi UNAIR

(Prof. Hery Purnobasuki, Drs., M.Si., Ph.D)
NIP/NIK 196705071991021001

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

RINGKASAN

Stem sel memberi harapan baru untuk mempercepat penyembuhan dan dapat dimanfaatkan untuk terapi berbagai penyakit degeneratif termasuk periodontitis karena masih belum ditemukan suatu bahan yang dapat mencekatkan kembali gigi goyah secara sempurna. Namun jumlah stem sel terbatas sehingga diperlukan *growth factor* untuk meningkatkan proliferasi stem sel. *Growth factor* yang selama ini digunakan masih mahal harganya dan sulit didapat. Karena didapatkan banyak kendala, maka perlu dikembangkan alternatif penggunaan *growth factor* dari bahan alam yang berpotensi mempercepat penyembuhan luka. Kulit manggis (*Gracinia mangostana L*) dapat meningkatkan proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka sehingga diharapkan dapat berfungsi sebagai *growth factor*.

Berdasarkan hal tersebut diatas maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan sampai seberapa jauh potensi ekstrak kulit manggis (*Gracinia mangostana L*) sebagai *growth factor* stem sel dalam penyembuhan periodontitis. Metode menggunakan isolasi *mesenchymal stem cell* (MSC) dari tulang femur tikus kemudian dilakukan ekstraksi kulit manggis (*Gracinia mangostana L*). Dilanjutkan Uji mekanisme kerja kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* pada tikus periodontitis. Hasil menunjukkan bahwa terdapat peningkatan jumlah sel fibroblast, ekspresi BMP 2, Kolagen tipe I serta penurunan sel makrofag dan limfosit pada hari ke 7 dan 14 setelah pemberian kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* pada model tikus periodontitis. Pada hari ke 3 setelah pemberian kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* pada model tikus periodontitis didapatkan peningkatan jumlah sel makrofag dan limfosit serta penurunan jumlah sel fibroblast, ekspresi BMP 2 dan Kolagen tipe 1.

Kesimpulan: kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* dapat mempercepat penyembuhan periodontitis.

Key words : KULIT MANGGIS , GROWTH FACTOR, STEM SEL, PERIODONTITIS

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmatNYA sehingga penelitian yang berjudul '**KULIT MANGGIS (*Gracinia mangostanaL*)SEBAGAI GROWTH FACTORSTEM SELUNTUK TERAPI PERIODONTITIS**' ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan yang sama peneliti mengucapkan terima kasih kepada :

1. Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga, yang telah memberi kesempatan dan fasilitas penelitian
3. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang telah memberi kesempatan dan fasilitas penelitian
4. Ketua Lembaga Penyakit Tropis Unair yang telah memberi kesempatan dan fasilitas penelitian
5. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhamadiyah Malang, yang telah memberi kesempatan dan fasilitas penelitian
6. Semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian.

Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat.

Surabaya, November 2018

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGESAHAN LAPORAN AKHIR	2
RINGKASAN	3
PRAKATA	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR TABEL	7
DAFTAR GAMBAR	8
DAFTAR LAMPIRAN	9
BAB 1. PENDAHULUAN	10
1.1 Latar Belakang Masalah	10
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1. Stem sel	12
2.2 Kulit manggis	14
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	16
3.1 Tujuan	16
3.2 Manfaat	16
BAB 4. METODE PENELITIAN	20
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	20
4.2 Persiapan <i>mesenchymal stem cell</i> (MSC)	20
4.3 Persiapan Pembuatan <i>bovine tooth graft</i> sebagai <i>scaffold</i>	20
4.4 Uji Pembenihan MSC kombinasi ekstrak kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.) pada <i>scaffold</i>	21
4.5 Uji mekanisme kerja kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai <i>growth factor</i> stem sel dan <i>scaffold</i> tikus periodontitis	21

BAB 5.	HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	22
5.1	HASIL YANG DICAPAI	22
5.2	Luaran yang dicapai	32
BAB 6.	KESIMPULAN DAN SARAN	33
7.1	Kesimpulan	33
7.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA	34
	LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 . Hasil Statistik	23
Tabel 5.2 . Analisis ANOVA dan LSD	23
Tabel 5.3 . Analisis Kruskal Wallis dan Mann Whitney	24
Tabel 5.4 Kelompok perlakuan pada hari ke 3, 7 dan 14	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar2.1 Kulit Manggis.	15
Gambar5.1 kontrol	26
Gambar5.2 Perlakuan	26
Gambar5.3 kolagen tipe 1	27
Gambar5.4 BMP-2	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Statistik	35
Lampiran 2. Dipresentasikan sebagai makalah poster pada seminar Internasional : 40th Asia Pacific Dental Congress 7 - 11 May 2018 ManilaPhilippine	48
Lampiran 3. Artikel	52

BAB I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Periodontitis merupakan penyakit pada jaringan periodontal gigi yang menyebabkan kerusakan pada jaringan penyangga gigi yaitu gingiva, sementum, tulang alveolar dan ligamen periodontal dalam waktu yang cepat sehingga menyebabkan hilangnya perlekatan jaringan gigi. Periodontitis mengakibatkan gigi goyah dan tanggal sebelum waktunya. Hal tersebut merupakan masalah besar di bidang Kedokteran gigi. Saat ini prevalensi penyakit periodontitis di Indonesia cukup tinggi dan masih belum menunjukkan penurunan. Sampai saat ini proses penyembuhan yang sempurna yaitu terjadinya regenerasi jaringan periodontal masih belum menunjukkan hasil yang maksimal karena pasien datang ke klinik dalam keadaan sudah parah sehingga gigi tidak dapat dipertahankan. Usaha penanggulangan terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan, baik dengan cara operasi maupun non operasi masih belum menunjukkan hasil yang sempurna. Masalah yang dihadapi hingga saat ini masih belum ditemukan suatu bahan yang dapat mencekatkan kembali gigi goyah secara sempurna. Oleh karena itu besar harapan bahwa penelitian stem cell dapat mengatasi masalah tersebut.

Stem sel memberi harapan baru untuk mempercepat penyembuhan dan dapat dimanfaatkan untuk terapi berbagai penyakit degeneratif termasuk periodontitis. Penemuan terapi *stem cells* pada tahun 1981 pada embrio mencit seakan menjadi harapan baru di bidang kedokteran. Terlebih setelah 20 tahun kemudian dikembangkan terapi pengobatan dengan *stem cells* pada manusia, yang diharapkan dapat mengatasi penyakit-penyakit berat yang belum ada obatnya. *Stem cells* atau sel induk atau sel punca adalah sel yang pada masa perkembangan embrio manusia menjadi sel awal yang akan tumbuh menjadi organ penyusun tubuh manusia. Sel stem yaitu *unspecialized cell*, memiliki 2 komponen yaitu mampu berdiferensiasi menjadi berbagai sel dan mampu beregenerasi. *Stem cells* berdasarkan sumbernya dibagi menjadi 2 yaitu: *stem cells* embrionik dan *stem cells* dewasa. Penggunaan stem sel embrionik masih dilarang diberbagai negara seperti AS, Jerman dan Prancis. Untuk mencegah kontroversi maka akhir-akhir ini digunakan stem sel dewasa yaitu dari sumsum tulang. Namun yang menjadi **urgensi/keutamaan** dari penelitian ini adalah jumlah stem sel terbatas sehingga diperlukan growth factor untuk meningkatkan proliferasi stem sel. Growth factor yang selama ini digunakan masih mahal harganya dan sulit didapat. Karena didapatkan banyak kendala, maka perlu dikembangkan alternatif penggunaan growth factor dari bahan alam yang berpotensi mempercepat penyembuhan luka. Kulit manggis (*Gracinia mangostana L*) dapat meningkatkan proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka sehingga diharapkan dapat berfungsi sebagai growth factor alami bagi pertumbuhan stem sel. Berdasarkan hal tersebut diatas maka

perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan sampai seberapa jauh potensi ekstrak kulit manggis (*Gracinia mangostana L*) sebagai *growth factor* stem sel dalam penyembuhan periodontitis.

Tujuan khusus membuktikan mekanisme kerja kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* dengan marker *Bone Morphogenetic Protein* (BMP-2), kolagen tipe 1, sel fibroblast, makrofag dan limfosit pada tikus periodontitis.

Temuan yang ditargetkan pada tahun kedua yaitu mendapatkan kombinasi ekstrak kulit manggis (*Gracinia mangostana L*) sebagai *growth factor* untuk *mesenchymal stem cell* (MSC) dan *scaffold* pada tikus dengan membuat model terapi periodontitis.

Pengembangan stem cell kombinasi ekstrak kulit manggis (*Gracinia mangostana L*), selain untuk terapi periodontitis diharapkan juga dapat digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit degeneratif sehingga perawatan dengan teknologi stem sel dapat meningkatkan angka harapan hidup dan kualitas masyarakat Indonesia.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

1. STEMCELLS

Stem cells adalah sel yang mempunyai kemampuan untuk berproliferasi secara terus-menerus dalam kultur optimal dan dalam keadaan tertentu mampu berdeferensiasi menjadi berbagai tipe sel jaringan seperti otot polos, kardiomyosit, neuron, sel beta pankreas, kondrosit dan sebagainya. Karena sifat inilah maka *Stem cells* dapat dipakai untuk mengobati penyakit degeneratif. Beberapa jenis *Stem cells* antara lain:

1. *Embryonic Stem cells* berasal dari kumpulan sel bernama inner cell mass yang merupakan bagian dari embrio fase awal (4-5 hari) yang disebut blastosit.
2. *Embryonic germ cell* berasal dari jaringan fetus, diisolasi dari primordial *Stem cells* yang diambil dari jaringan gonad saat fetus berusia 5-10 minggu.
3. *Adult Stem cells* berasal dari sel yang belum berdeferensiasi pada sel orang dewasa, tetapi memiliki sifat-sifat menyerupai *Stem cells* (Stewart, 2004).

Berdasarkan karakteristik diatas, maka *stem cell* dapat berupa *stem cell* embrional dan *stem cells* dewasa. *Stem cells* embrional memiliki karakteristik totipoten dan pluripoten, sedangkan *stem cell* dewasa memiliki karakteristik unipoten dan didapat dari organ tertentu. *Stem cells* dewasa merupakan progenitor atau prekursor sel yang akan berkembang menjadi sel mature dengan bentuk dan karakteristik yang khas. *Stem cells* dewasa meskipun sulit untuk diisolasi dan diidentifikasi, sel ini yang diharapkan berperan dalam dunia terapi (Bluteau *et al*, 2008).

Stem cells dewasa mempunyai perangkat stem sel yang penting antara lain perbaikan diri, multipotensi dan mengekspresikan marker *mesenchymal stem cell* antara lain CD105, CD166 dan STRO1 pada permukaan sel. Secara *in vitro*, dapat berdeferensiasi menjadi fenotip adipogenik, osteogenik, dan chondrogenik (Gay *et al*, 2007). Dengan menggunakan pengecatan *imunohistochemical* dan *western blot analysis* menunjukkan bahwa kultur *mesenchymal stem cell* mengekspresikan sejumlah marker cementoblastik/osteoblastik antara lain alkaline phosphatase, bone sialoprotein, osteocalcin, dan TGF β receptor (Seo *et al*, 2004). Keberadaan komponen tersebut mengindikasikan adanya progenitor cell yang mempunyai peranan dalam mengatur homeostasis jaringan dan regenerasi jaringan periodontal (Murakami *et al*, 2003). STRO1 cell merupakan *colony-forming osteogenic precursor* yang nampak dari isolasi sumsum tulang. Terekspresinya STRO1 pada permukaan stem sel mengindikasikan terdapat prekursor osteogenik yang dapat berdeferensiasi menjadi osteoblast. Tahapan dalam pembentukan

osteoblast melibatkan ekspresi sejumlah gen spesifik dan pada tiap tahapan tersebut nampak ciri fenotip. Ekspresi dari faktor transkripsi menjadi kunci yang menentukan diferensiasi sel (Hughes *et al*, 2006). Pembentukan osteoblast dibagi menjadi 4 tahapan antara lain bi-dan tripoten mesenchymal stem cell, committed osteoprogenitor cell, pre-osteoblast, osteoblast dan terakhir osteosit. Pada tahapan bi-dan tripoten mesenchymal stem cell, berdiferensiasi menjadi adiposit, kondrosit dan osteosit dan pada tahapan ini ciri fenotip yang nampak antara lain sel renewing-cell, ekspresi STRO-1, ALP, dan kolagen tipe I, III, V. Pada tahapan *committed osteoprogenitor cell* gen MSX-2 bertugas untuk menentukan faktor transkripsi yang berhubungan dengan diferensiasi osteogenik yaitu RUNX-2. Fungsi dari gen MSX-2 adalah untuk menstimulasi biomineralisasi dan bertindak sebagai mekanisme pertahanan molekular untuk mencegah osifikasi pada ligament periodontal. MSX-2 bersama dengan RUNX-2 mengatur transkripsi osteocalcin. Pada tahap ketiga dari pembentukan osteoblast adalah pembentukan pre-osteoblast yang diperantarai oleh gen RUNX-2 dan DLX-5. Kedua gen ini merupakan protagonis dalam diferensiasi osteogenik dan penting dalam pengaturan aktivitas osteocalcin. Pada tahap pre-osteoblast TGF β berperan untuk merekrut dan menstimulasi proliferasi sel osteoprogenitor. Ciri fenotip yang nampak pada tahap ini antara lain proliferasi sel, ALP, kolagen tipe I, BSP, dan PTH-related protein reseptor dan dengan menggunakan pengecatan imunohistochemical dan western blot analysis ciri fenotip tersebut nampak pada kultur sel. Tahap yang ke-4 adalah pembentukan osteoblast yang diperantarai oleh gen RUNX-2 dan DLX-5. pada tahap akhir dari pembentukan osteoblast, TGF β akan menghentikan diferensiasi dan mineralisasi sehingga sel tidak berproliferasi secara terus-menerus. Pada tahap ini ciri fenotip yang nampak antara lain ALP, BSP, kolagen tipe I, osteopontin, osteocalcin, dan PTH-related protein reseptor (Silverio *et al*, 2008).

Maturasi adalah perubahan kuantitatif pada fenotipe seluler yang memiliki kemampuan fungsional. Secara prinsip, derajat maturasi, diukur dengan skala kuantitatif jumlah protein pada setiap sel. Kematangan diferensiasi sel dipengaruhi oleh *passage* atau kurun waktu tertentu yang dibutuhkan sehingga sel kompeten menjadi suatu jaringan tertentu. *Passage* tersebut dipengaruhi oleh tempat dan waktu yang pada prinsipnya dapat digunakan untuk mengukur dan mengamati jalur perubahan sel. Proliferasi adalah proses yang melibatkan pola perubahan ekspresi gen secara fisik pada sel (Bluteau *et al*, 2008).

Scaffold (biomaterial) adalah rangka yang digunakan dalam transplantasi stem sel mesenkimal. *Scaffold* yang banyak digunakan adalah *Hydroxyapatite* (HA) baik berasal dari alami atau dari sintesis merupakan zat bioaktif dan biokonduktif yang menguntungkan, karena membentuk ikatan yang kuat dengan jaringan tulang inang. Salah satu bahan yang mempunyai sifat antibiotik yang mudah didapatkan dan terjangkau adalah chitosan. Chitosan merupakan biopolimer yang kini banyak digunakan dalam dunia kedokteran. Biopolimer ini merupakan turunan dari senyawa polisakarida yang bisa didapat

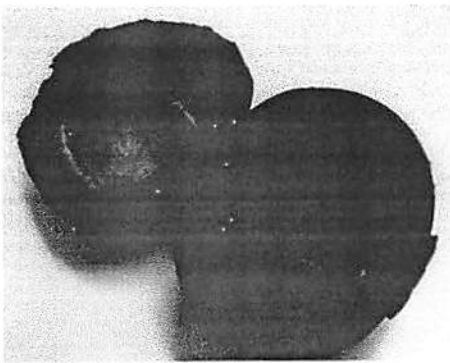
dari kulit udang dan kepiting. Chitosan memiliki sifat *biokompatibel*, *bioadhesif*, *bakteriostatik*, *antitrombogenik* dan juga memiliki sifat *osteokonduktif*. Penggunaan chitosan sebagai kerangka (*scaffold*) banyak dikembangkan akhir akhir ini. Chitosan dapat terdegradasi oleh *lysozyme*. Chitosan juga ditoleransi dengan baik oleh jaringan tubuh (Hunter and Ma,2013).MAPK pathway adalah rangkaian protein di dalam sel yang menghubungkan signal dari reseptor pada permukaan sel dengan DNA di dalam inti sel. Signal dimulai ketika growth factor berikatan dengan reseptor pada permukaan sel dan berakhir ketika DNA di dalam inti sel sudah mengekspresikan suatu protein dan menghasilkan perubahan di dalam sel, seperti misalnya, pembelahan sel. Pada akhirnya akan mempengaruhi faktor transkripsi gen dari mRNA yang berperan dalam proses proliferasi pertumbuhan sel (Ikawati, 2008). Kolagen I dapat ditemukan pada kulit, gigi, tulang, ligamen dan tendon, Kolagen memiliki fungsi penting untuk tulang. Struktur tulang terdiri dari berbagai macam bahan salah satunya adalah gabungan dari kolagen dan mineral yang dinamakan hydroxyapatite. Kedua substansi ini bekerja untuk membuat struktur, fleksibilitas dan kekuatan dari tulang. *Bonemorphogenetic Proteins* (BMP) merupakan protein anggota keluarga *transforming growth factorbeta* yang berperan penting dalam peristiwa osteogenesis. Ekspresi BMP-2 meningkat pada awal fase laten, kemungkinan untuk membantu proses differensiasi sel prekursor menjadi sel kondrogenik atau osteogenik Protein protein tersebut berperan penting sebagai inisiator, pembentuk model morfogenesis dan differensiasi sel (Al-Aql *et al.*, 2008).

2. Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*L)

Manggis merupakan tanaman asli daerah tropis kawasan Asia Tenggara. Sebagian literatur memastikan daerah asal tanaman manggis adalah Kepulauan Sunda Besar dan Semenanjung Malaya. Selain itu juga disebutkan terdapat di hutan-hutan belantara di Kalimantan Timur dan Kalimantan Tengah. Tumbuh hingga mencapai 7 sampai 25 meter. Tumbuhan ini dapat tumbuh di Jawa pada ketinggian 1-1000 dari permukaan laut, pada berbagai tipe tanah (pada tanah liat dan lempung yang kaya bahan organik) (Bunyapraphatsara *and* Valkenburg, 2002).

Menurut (Bunyapraphatsara and Valkenburg, 2002), kedudukan taksonomi dari Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) yaitu :

Kingdom : Plantae
Divisi :Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas :Dicotyledonae
Ordo :Guttiferanales
Famili :Guttiferae
Genus :*Garcinia*
Spesies : *Garcinia mangostana*Linn.



Kulit manggis segar



Sudah dikeringkan

Gambar 2.1 Kulit Manggis (Padua,2000).

Kandungan Kulit Buah Manggis

Menurut Obolskiy (2009), senyawa *xanthone*, *mangostin*, *garsinone*, *flavonoid* dan *tannin* di buah manggis merupakan senyawa bioaktif fenolik. Senyawa-senyawa ini diduga berperan dalam menentukan jumlah antioksidan di manggis. Kulit buah manggis yang mengandung senyawa *xanthone* memiliki fungsi antioksidan tinggi sehingga dapat menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang memicu munculnya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, arthritis, katarak, dan *diabetes mellitus*. *Xanthone* merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa *polyphenolic*. *Xanthone* sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh sebagai antioksidan, antiproliferatif, antiinflamasi dan antimikroba. Beberapa senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang dilaporkan bertanggungjawab atas beberapa aktivitas farmakologi adalah golongan xanton. Senyawa xanton yang telah teridentifikasi, diantaranya adalah 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on and 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on. Keduanya lebih dikenal dengan nama alfa mangostin dan gamma-mangostin. Alfa mangostin merupakan jenis xanton yang dapat ditemukan pada tanaman manggis, terutama di kulit buahnya. Xanton ialah pigmen fenol kuning yang reaksi warnanya dan gerakan distribusinya serupa dengan flavanoid, akan tetapi secara kimia xanton berbeda dengan flavanoid dan mudah dibedakan dari flavanoid berdasar sifat spektrumnya yang khas. Xanton mempunyai struktur kimia yang khusus, yang dinamakan sistem cincin aromatic trisiklik yang biasanya disubstitusi dengan isoprene, fenol, dan metoksi sehingga memberikan banyak kemungkinan struktur. Senyawa xanton tidak dapat larut dalam air, tapi dapat larut pada beberapa pelarut yang lain yang jarak kepolarannya dari metanol sampai heksana (Mardiana, 2011). Alfa mangostin merupakan serbuk amorfus berwarna kuning yang mempunyai titik leleh 180-182°C dan dapat dilihat pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang maksimum 215, 243, 317. Mangostin dapat diperoleh dari kulit buah manggis yang direbus, tannin dipisahkan dengan alkohol dan kemudian dievaporasi, sehingga akan menghasilkan produk berupa mangostin dan resin. Teknik isolasi alfa mangostin yang dilakukan oleh Walker yaitu dengan merendam kulit buah manggis dengan pelarut heksana, kemudian dievaporasi dengan rotatory evaporator. Ekstrak dilarutkan dalam metanol hangat dan direkristalisasi dengan menambahkan aquades dengan perbandingan 20:1 dari metanol dan dilanjutkan dengan pendinginan. 200 jenis xantones alami yang sejauh ini telah diidentifikasi. Sekitar 40 jenis diantaranya telah ditemukan dalam buah manggis. *Xanthone* dan turunannya telah terbukti memiliki beberapa manfaat, termasuk anti-inflamasi dan anti-alergi. *Xanthone* ini memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi, bahkan kandungan antioksidan dalam zat *xanthone* lebih tinggi di bandingkan dengan antioksidan yang ada dalam vitamin C dan E (Obolskiy, 2009). Alfa-mangostin adalah senyawa yang sangat berkhasiat dalam menekan pembentukan senyawa

karsinogen pada kolon. Selain alfamangostin, senyawa xanthone juga mengandung gamma-mangostin yang juga memiliki banyak manfaat dalam memberikan proteksi atau melakukan upaya pencegahan terhadap serangan penyakit (Padua, 2000). Tanin adalah senyawa lain yang terkandung dalam kulit buah Manggis, memiliki aktifitas anti-oksidan (Padua, 2000). Antosianin memiliki kemampuan sebagai anti-oksidan yang baik dan memiliki peranan yang cukup penting dalam mencegah beberapa penyakit seperti kanker, diabetes, kardiovaskuler dan neuronal. Antosianin merupakan kelompok pigmen yang terdapat dalam tanaman dan biasanya banyak ditemukan dalam bunga, sayuran maupun buah-buahan seperti Manggis, Strawberry, Raspberry, Apel, dan lainnya (Versteegh, 2006). Kulit manggis memiliki banyak sekali kandungan zat-zat yang sangat bermanfaat untuk kesehatan, di antaranya adalah vitamin B1, B2, C, kalsium, potassium, sodium, dan zat besi serta antioksidan yang sangat tinggi (zat xanthone). Ada juga komponen lain dari buah manggis yang memiliki kualitas obat, termasuk polisakarida, sterol, proanthocyanidins dan catechin, sehingga baik dikonsumsi untuk menjaga kesehatan fungsi tubuh (Dalimartha, 2005).

Khasiat Kulit manggis

Berdasarkan hasil penelitian yang pernah dilakukan di berbagai negara, diketahui bahwa kulit manggis mampu membantu mengatasi asma, alzheimer, jerawat, disentri, diare, sariawan, bronchitis, pneumonia, parkinson, bisul, osteoporosis, HIV, asam urat, menurunkan kadar kolesterol, menurunkan tekanan darah tinggi, dan anti-depresi, kanker, dan lain-lain. Kulit buah manggis juga mampu membantu mencegah dan mengatasi penyakit kanker, mencegah beberapa penyakit mematikan seperti diabetes, kanker, arthritis, jantung, mampu mengurangi rasa sakit, mampu melawan, menangkal sekaligus menghancurkan radikal bebas dan penyakit lainnya. Kandungan antioksidan yang sangat tinggi menjadikan zat xanthone mampu membantu mengatasi berbagai jenis penyakit, dan menangkal sekaligus menghancurkan radikal bebas penyebab penyakit kronis seperti gagal ginjal, jantung koroner dan kanker. Anti-oksidan yang terdapat dalam kulit buah Manggis dengan kadar yang tinggi memiliki sifat yang baik dan bermanfaat bagi tubuh, seperti anti-peradangan, anti-diabetes, anti-kanker, anti-bakteri, antijamur, anti-plasmodial dan mampu meningkatkan kekebalan tubuh serta berkhasiat hepatoprotektif (Mardiana, 2011). Pengobatan herbal menggunakan ekstrak kulit manggis dapat dijadikan sebagai alternatif dalam penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Dalam ekstrak kulit manggis terdapat kandungan xanthone sebagai anti oksidan, gamma-mangosteen sebagai anti inflamasi, serta alfa-mangosteen, flavonoid dan tannin sebagai anti bakteri. Anti oksidan, anti inflamasi dan anti bakteri ini berfungsi dapat meningkatkan proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Ekstrak kulit manggis dapat meningkatkan proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar (Permatasari dkk, 2014). Ekstrak Kulit Manggis (*Garciniamangostana L.*) juga dapat mempercepat

proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka traumatik akut pada mukosa mulut tikus wistar (Asri dkk, 2012). Proses penyembuhan periodontitis ditandai dengan peningkatan jumlah sel fibroblas dan serabut kolagen. Kulit manggis mempunyai bahan aktif xantone yang mempunyai efek antiinflamasi dengan menghambat sintesis prostaglandin melalui penghambatan kerja enzim siklooksigenase. Ekstrak kulit manggis mampu meningkatkan jumlah sel fibroblas gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri periodontitis (Prasetya, 2014)

BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan

3.1.1 Tujuan umum

Membuktikan efek kulit buah Manggis (*Garcinia mangostana*L) sebagai *growth factor* alami pada *mesenchymal stem cell* dari *bone marrow* tulang tikus Wistar sehingga dapat digunakan sebagai terapi periodontitis

3.1.2 Tujuan khusus

membuktikan mekanisme kerja kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* dengan marker *Bone Morphogenetic Protein* (BMP-2), kolagen tipe 1, sel fibroblast, makrofag dan limfosit pada tikus periodontitis.

3.2 Manfaat Penelitian

3.2.1 Manfaat teoritis

Memberikan informasi ilmiah tentang peran ekstrak kulit buah Manggis (*Garcinia mangostana*L) sebagai *growth factor* alami pada *mesenchymal stem cell* (MSC).

2 Manfaat praktis

Sebagai dasar pengembangan terapi periodontitis menggunakan ekstrak kulit buah Manggis (*Garcinia mangostana*L) sebagai *growth factor* alami pada *mesenchymal stem cell* (MSC)



BAB IV METODE PENELITIAN

TAHUN II

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang dipergunakan adalah rancangan *post test only control group design*.

4.2 Persiapan *mesenchymal stem cell* (MSC)

1. MSC dibiakkan dalam 6 *well plate* (Corning Inc., Corning, NY) dengan menggunakan medium DME yang ditambahkan 10% *Fetal Bovine Serum* (Hyclone, Logan, Utah) dan antibiotik (100 units/ml penicillin G dan 100 ug/ml streptomycin).
2. Setelah 3 hari dilakukan pembuangan medium untuk menghilangkan bagian sel yang tidak melekat pada dish dan dilakukan pemberian medium baru. Penggantian medium selanjutnya dilakukan 3 hari.
3. Setelah sel dalam keadaan *confluent* dilakukan *passage* dengan menggunakan 0.05% trypsin-EDTA dan setelah itu sel dicuci dan dibiakkan lagi dalam 60- atau 100-mm *tissue culturedishes* (Corning).
4. Setelah sel *confluent* dilakukan *passage* kembali dan sel bisa digunakan untuk penelitian selanjutnya. Bila sel tidak segera digunakan, sel disimpan dalam N2 cair (Freshney, 2000).

4.3 Persiapan Pembuatan *bovine tooth graft* sebagai *scaffold*

Gigi sapi dikumpulkan dari tempat pemotongan hewan, kemudian sampel gigi sapi dibersihkan dengan cara direbus untuk menghilangkan kolagen dan zat organik. Hal ini dilakukan untuk menghindari pembentukan jelaga pada material gigi selama proses kalsinasi. Selanjutnya kotoran yang melekat pada gigi dibersihkan termasuk jaringan pulpa dan ligament periodontal, lalu di irigasi dengan aquades steril sambil disikat hingga bersih. Setelah bersih, gigi sapi direbus pada air mendidih selama 30 menit. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali sampai gigi sapi terlihat putih dan bersih. Kemudian gigi sapi dikeringkan pada suhu 100 °C. Selanjutnya di kalsinasi dalam oven pada suhu 735 °C selama 1 jam dan setelah selesai dibiarkan hingga dingin. Setelah itu sampel disintering lagi hingga mencapai suhu 1150 °C selama 1 jam. Proses sintering ini dilakukan untuk memastikan bahwa bahan ini aman dan juga untuk menghindari kontaminasi dengan mikroba. Selanjutnya gigi di giling hingga halus dan diayak dengan menggunakan *sifting machine* dan didapatkan serbuk gigi sapi kurang lebih berukuran 155 µm-350 µm. Pada studi secara *in vivo* ditemukan terjadi peningkatan kemampuan osteoinduksi pada *graft* berukuran

kecil. Hal ini disebabkan oleh karena lebih banyak permukaan *graft* yang terpapar dengan lingkungan biologisnya (Calixto *et al*, 2007).

4.4 Uji Pembenuhan MSC kombinasi ekstrak kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada *scaffold*

Bubuk *scaffold* 1200 mg dicampur dengan CH₃COOH 0,5 M 30 ml dan NaOH 0,1 M 90 ml akan terbentuk gel. Sebelum dilakukan pembenuhan sel, *scaffold* disterilisasi menggunakan sinar UV selama 15 menit untuk tiap permukaan. *Scaffold* yang telah steril, direndam dalam medium DMEM/F12 selama 1 hari. *Scaffold* yang sudah direndam dimasukkan ke dalam 24-well-culture (M24) kemudian ditambahkan suspensi medium yang berisikan MSC-ekstrak kulit manggis sebanyak 2×10^6 (200 μ l/well) dan diinkubasi dilakukan selama 1 jam pada suhu 37°C dengan kelembaban inkubator CO₂ 5%. Tabung digoyang secara periodik untuk meratakan distribusi MSC-ekstrak kulit manggis dalam *scaffold* dan suspensi. Pembenuhan sel dipanen pada hari ke 1 dan 7 (Kamadajaja, 2015).

4.5 Uji mekanisme kerja kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* pada hewan coba

1. Tikus strain Wistar umur 2-3 bulan, berat 100-200 gr diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* penyebab periodontitis pada celah gusi-gigi insisif depan.
2. Diberikan transplantasi diaplikasikan stem cell kombinasi ekstrak kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai *growth factor mesenchymal stem cell* dari ligamen periodontal dan *scaffold*, pada jaringan tulang alveol gigi insisif depan tikus yang rusak akibat periodontitis, selama 3, 7 dan 14 hari .
3. Tikus dikorbankan, bagian yang diaplikasi di biopsi, difiksasi dengan paraformaldehid 4%, di dekalsifikasi dengan EDTA (pH 8) ditanam dalam parafin. Setelah dilakukan pemotongan dengan microtom dilakukan pewarnaan dengan HE untuk melihat fibroblast, makrofag dan limfosit serta imunohistokimia untuk melihat ekspresi BMP dan Kolagen tipe 1, kemudian diamati dan dibandingkan dengan tikus kelompok kontrol yang tidak diberiperlakukan.
4. Pada pewarnaan HE tampak rangsangan regenerasi jaringan periodontal, pada kelompok yang diberi transplantasi kombinasi Kulit Manggis sebagai *growth factor* dan *scaffold*, dibandingkan dengan kelompok kontrol (Freshney, 2000).

Bagan Alur Penelitian Tahun II

Tikus strain Wistar umur 2-3 bulan, berat 100-200 gr diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* penyebab periodontitis pada celah gusi-gigi insisif depan.



Aplikasi *mesenchymal stem cell* dan ekstrak kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada *scaffold* di jaringan tulang alveol gigi insisif depan tikus yang rusak akibat periodontitis, selama 3, 7 dan 14 hari



Akhir hari ke 14 semua tikus dimatikan, biopsi jar tulang alveol



Pemeriksaan dengan Imunohistokimia melihat ekspresi BMP 2 dan Kolagen tipe 1 dilakukan pewarnaan dengan HE untuk melihat fibroblast, makrofag dan limfosit

BAB V HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Hasil Statistik

Tabel 5. 1. Uji statistik kelompok perlakuan dan kelompok kontrol masing-masing hari pengamatan

Variabel	Hari	X ± SD	
		Kontrol	perlakuan
Fibroblas	3	2.5+0.41	3.27+0.99
Limfosit		11.27+1.18	24.07+4.63
Makrofag		12.7+1.52	23.53+2.71
Kolagen tipe 1		2.63+0.64	3.5+0.58
BMP2		2.3+0.41	4.5+0.5
Fibroblas	7	9.97+0.49	24.43+0.9
Limfosit		9.53+1.27	15.5+2.19
Makrofag		6.53+1.29	10.8+1.72
Kolagen tipe 1		8.93+0.84	25.2+0.87
BMP2		9.1+0.75	24.1+1.29
Fibroblas	14	9.03+0.53	24.57+1.07
Limfosit		8.07+1.12	11.07+2.51
Makrofag		6.6+1.07	8.7+1.32
Kolagen tipe 1		9.03+0.58	25.57+1.57
BMP2		8.93+0.59	24.12+0.79

Dari tabel 5.1 menunjukkan bahwa masing-masing kelompok perlakuan hari ke-3 menunjukkan jumlah sel fibroblas, limfosit, makrofag, ekspresi kolagen tipe 1 dan ekspresi BMP-2 signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0.05$). Masing-masing kelompok perlakuan hari ke-7 menunjukkan jumlah sel fibroblas, limfosit, makrofag, ekspresi kolagen tipe 1 dan ekspresi BMP-2 signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0.05$). Masing-masing kelompok perlakuan hari ke-14 menunjukkan jumlah sel fibroblas, limfosit, makrofag, ekspresi kolagen tipe 1 dan ekspresi BMP-2 signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0.05$).

Dilakukan uji homogenitas dengan *Levene's test* pada variabel limfosit dan makrofag yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$), artinya data memenuhi asumsi homogenitas dan hasil uji memenuhi syarat uji asumsi untuk Anova. Sedangkan variabel fibroblas, ekspresi BMP2 dan ekspresi kolagen tipe 1 mempunyai nilai $p < 0.05$ sehingga dilakukan uji Kruskal Wallis dan Mannwhitney untuk mengetahui masing-masing perbedaan.

Tabel 5. 2 Analisis ANOVA dan LSD

Variabel	X ± SD			p	a	b	
	Hari ke-3	Hari ke-7	Hari ke-14				
Limfosit	24.07+4.63a	15.5+2.19a	11.07+2.51a	0.000	0.000		
Makrofag	23.53+2.71a,b	10.8+1.72a	8.7+1.32a,b	0.000	0.000	0.000	0.09

*huruf yang sama pada masing-masing variable menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$)



Dari tabel 5.2 menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan menunjukkan jumlah sel limfosit yang berbeda pada masing-masing hari pengamatan. Jumlah sel limfosit pada hari ke-3 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-7 ($p=0.00$) dan hari ke-14 ($p=0.00$)($p<0.05$). sedangkan jumlah sel limfosit pada hari ke-7 ($p=0.00$) menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-14 ($p=0.00$)($p<0.05$).

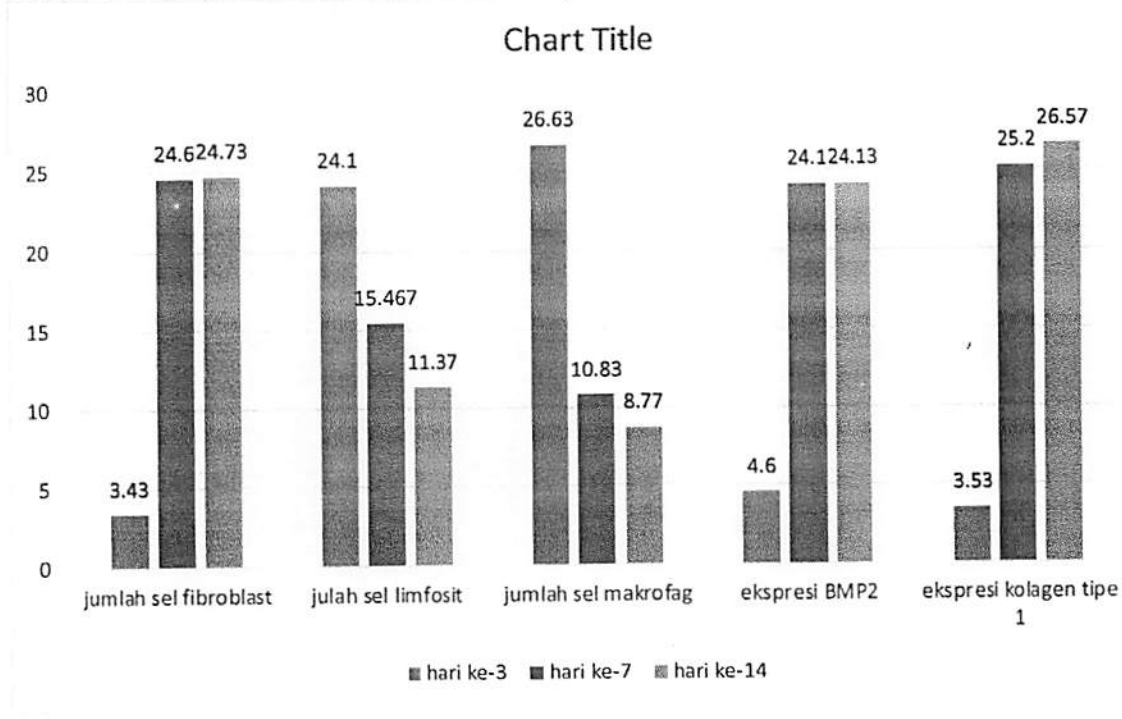
Perlakuan yang diberikan menunjukkan jumlah sel makrofag yang berbeda pada masing-masing hari pengamatan. Jumlah sel makrofag pada hari ke-3 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-7 ($p=0.00$)($p<0.05$) dan hari ke-14 ($p=0.00$)($p<0.05$). sedangkan jumlah sel makrofag pada hari ke-3 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-14 ($p=0.00$)($p<0.05$). Jumlah sel makrofag pengamatan hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pengamatan hari ke-14 ($p=0.09$) ($p>0.05$).

Tabel 5.3 Analisis Kruskal Wallis dan Mann Whitney

Variabel	X + SD			p	POSTHOC		
	Hari ke-3	Hari ke-7	Hari ke-14		a	b	c
Fibroblas	3.27+0.99 ^{a,b}	24.43+0.9 ^{a,c}	24.57+1.07 ^{b,c}	0.003	0.004	0.004	0.872
Kolagen tipe 1	3.5+0.58 ^{a,b}	25.2+0.87 ^{a,c}	25.57+1.57 ^{b,c}	0.002	0.004	0.004	0.086
BMP2	4.5+0.5 ^{a,b}	24.1+1.29 ^{a,c}	24.12+0.79 ^{b,c}	0.003	0.004	0.004	0.805

*huruf yang sama pada masing-masing variabel menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0.05$)

Tabel 5.4 Kelompok perlakuan pada hari ke 3, 7 dan 14

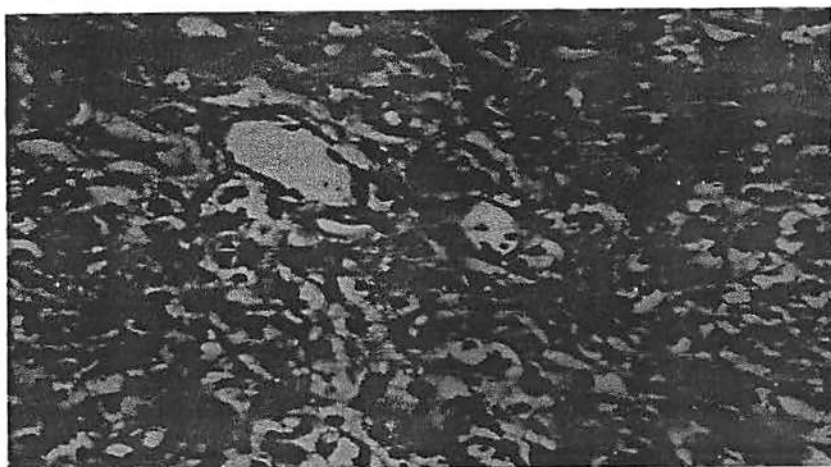


Dari tabel 5.3 dan 5.4 terlihat bahwa perlakuan yang diberikan menunjukkan jumlah sel fibroblas pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-3 ($p=0.004$) ($p<0.05$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan jumlah sel fibroblas pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-3 ($p=0.004$) ($p<0.05$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan jumlah sel fibroblas pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan jika dibandingkan hari ke-7 ($p=0.872$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan ekspresi kolagen tipe-1 pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-3 ($p=0.004$) ($p<0.05$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan ekspresi kolagen tipe-1 pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-3 ($p=0.004$) ($p<0.05$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan ekspresi kolagen tipe-1 pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan jika dibandingkan hari ke-7 ($p=0.086$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan ekspresi BMP-2 pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-3 ($p=0.004$) ($p<0.05$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan ekspresi BMP-2 pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan hari ke-3 ($p=0.004$) ($p<0.05$). Perlakuan yang diberikan menunjukkan ekspresi BMP-2 pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan jika dibandingkan hari ke-7 ($p=0.805$).

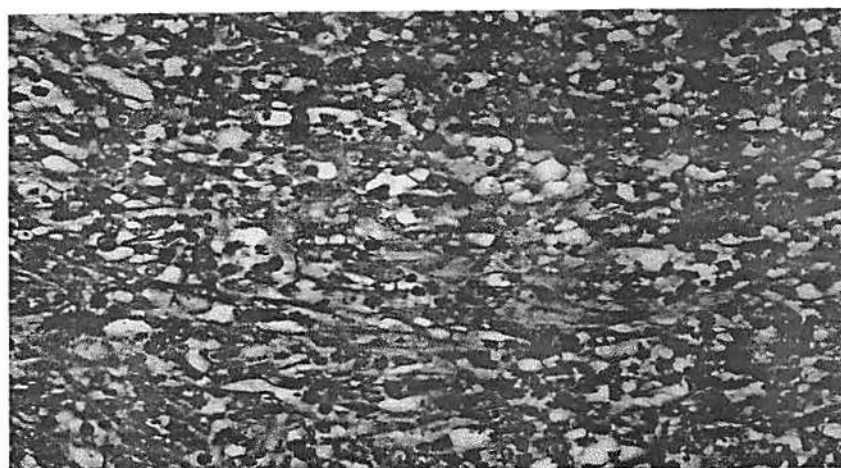
5.2 Hasil Pemeriksaan Hematoxylin Eosin dan Imunohistokimia

5.2.1 Hasil pemeriksaan Hematoxylin Eosin

Pada gambar 5.1 dan 5.2 dapat dilihat hasil pemeriksaan Hematoxylin Eosin biopsi jaringan periodontal mukosa rongga mulut untuk menghitung jumlah sel limfosit, makrofag dan fibroblas. Pemeriksaan dilakukan pada pembesaran 100x, kemudian dikonfirmasi secara lebih mendetail pada pembesaran 400x. Seluruh pemeriksaan ini menggunakan mikroskop cahaya *Nikon H600L* yang dilengkapi dengan digital camera *DS Fi2 300* megapixel dan software pengolah gambar *Nikon Imaging System*.



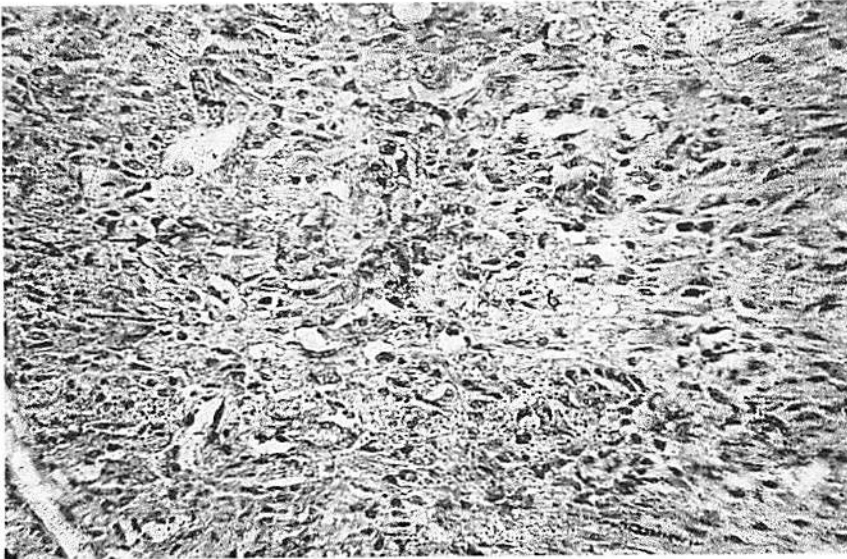
Gambar 5.1 kontrol



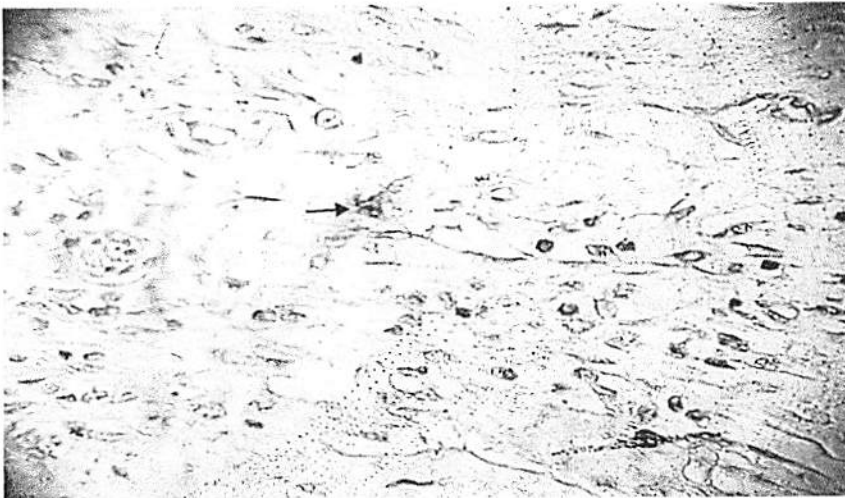
Gambar 5.2 Perlakuan

5.2.2 Hasil pemeriksaan Imunohistokimia

Pada gambar 5.3 dan 5.4 dapat dilihat hasil pemeriksaan Imunohistokimia biopsi jaringan periodontal mukosa rongga mulut untuk deteksi ekspresi kolagen tipe 1 dan BMP-2, dimana tanda panah menunjukkan hasil positif dengan terdapat bercak coklat. Pemeriksaan dilakukan pada pembesaran 100x, dimana jenis lesi tersebut kemudian dikonfirmasi secara lebih mendetail pada pembesaran 400x. Seluruh pemeriksaan ini menggunakan mikroskop cahaya *Nikon H600L* yang dilengkapi dengan digital camera *DS Fi2 300* megapixel dan software pengolah gambar *Nikon Imaging System*.



Gambar 5.3 kolagen tipe 1



Gambar 5.4 BMP-2

5.3 Pembahasan

Kulit manggis (*Garcinia mangostana*) mengandung senyawa bioaktif seperti xanthone, flavonoid, triterpenoid dan benzophenone. Senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang dapat mempunyai efek anti oksidan, anti aging dan anti inflamasi adalah golongan xanthone. Xanthone yang merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa flavonoid, umumnya ditemukan pada tumbuhan yang berwarna merah, ungu, biru, atau kuning. Klasifikasi xanthone yaitu oxygenated xanthone, xanthone glycoside, prenylated xanthone, xanthonolignoid, dan miscellaneous xanthone. Kandungan dalam xanthone yang terpenting yaitu Alfa-mangostin (Putri, 2015). *Garcinia mangostana* memiliki kandungan xanthone terbanyak dengan lebih dari 50 senyawa xanthone diantaranya adalah α -, β -, γ - mangostin, *Garcinone E*, 8-deoxygartanin, dan Gartanin. Kulit manggis memiliki kadar xanthone paling tinggi dibandingkan bagian manggis lainnya (Rameshet *al*, 2017).

Kulit buah manggis mengandung metabolit sekunder utama yaitu xanthone. Xanthone merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa polifenol. Kulit buah manggis memiliki derivat xanthone seperti *garcinon E*, *gartanin*, *mangostanon*, β -*mangostin*, γ -*mangostin*, α -*mangostin*. Senyawa α -*mangostin* merupakan senyawa yang paling banyak terdapat pada kulit buah manggis. Kulit buah manggis juga mengandung tanin, steroid/triterpenoid, kuinon, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, fenolin serta unsur natrium, kalium, magnesium, kalsium, zat besi, zink dan tembaga (Chaivisuthangkura *et al*, 2009).

Ekstrak kulit manggis mengandung xanthone, saponin, tannin dan flavonoid yang menurut beberapa penelitian mempunyai aktivitas antiinflamasi dan antibakteri. Xanthone merupakan substansi kimiawi yang tergolong senyawa polifenol. Polifenol sebagai antioksidan bekerja dengan menghambat radikal bebas yang berperan penting dalam patogenesis inflamasi akut maupun kronis. Tannin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu bertindak sebagai antibakteri. Flavonoid berfungsi sebagai antimikrobia dengan menghambat lipid peroxidation, yang akan meningkatkan viabilitas kolagen dengan menambah kekuatan serabut kolagen dengan mencegah kerusakan sel. Flavonoid juga menghambat degranulasi neutrofil sehingga akan menghambat pelepasan sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan. Saponin merupakan zat aktif yang apabila berinteraksi dengan sel bakteri atau sel jamur, maka bakteri tersebut akan rusak atau lisis (Poebengan dan Praptiwi, 2010).

Kulit manggis memiliki kandungan xanthone yang dapat melindungi kerusakan oksidatif akibat hidroksil DNA secara efektif. Salah satu teknik xanthone untuk melindungi terhadap kerusakan oksidatif DNA yang disebabkan oleh hidroksil adalah melalui penurunan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang dapat diperantarai melalui *logam-chelating* dan pengambilan radikal secara langsung, melalui pemberian

atom hidrogen (H) dan elektron (e). Keduanya memberikan atom hidrogen (H) dan elektron (e) yang dapat menghasilkan oksidasi *xanthone* menjadi bentuk kuinon yang stabil (Manimekalai *et al*, 2016).

Terdapat senyawa fenolik seperti tanin, flavonoid, and *xanthone* pada ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*). Kandungan Tanin pada ekstrak kulit manggis memiliki kemampuan antioksidan yang dapat menghambat peroksidasi lipid serta menghambat inisiasi dari susunan radikal bebas. Flavonoid dan *xanthone* memiliki kemampuan antioksidan yang dapat menurunkan kadar ROS (*reactive oxygen species*) (Yun *et al*. 2010).

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) mempunyai kandungan kimia berupa saponin, tanin, flavonoid, steroid dan kuinon serta unsur natrium, kalium, magnesium, kalsium, besi, zink dan tembaga. Kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mengandung beberapa senyawa aktif yaitu, grup dari *xanthone* dengan turunannya alpha-mangostin, beta-mangostin, gamma-mangostin, garcinone, mangostanol, dan gartinin (ICUC. 2003).

Zat aktif dalam *xanthone* yang berperan sebagai antiinflamasi yaitu α -Mangostin dan γ -mangostin. Penelitian aktivitas antiinflamasi *in vitro* -mangostin terhadap PGE2 dan siklooksigenase (COX) dalam sel tikus glioma C6. γ -mangostin menghambat pelepasan PGE2 pada sel glioma tikus C6 yang diinduksi Ca^{2+} ionophore A23187. γ -mangostin menghambat perubahan asam arakidonat menjadi PGE2 dalam mikrosomal, ini ada kemungkinan penghambatan dalam jalur siklooksigenase. γ -mangostin secara langsung dapat menghambat aktivitas enzim Ikappa B kinase untuk kemudian mencegah proses transkripsi gen COX-2 (gen target NFkappaB), menurunkan produksi PGE2 dalam proses inflamasi pada sel glioma tikus C6 (Nakatani *et al*, 2004).

Kandungan α -mangostin pada kulit manggis menghambat pelepasan inflammatory marker TNF- α dan IL-4 pada macrophage-like cells U937. Senyawa α -mangostin dapat merangsang pelepasan mediator kemotaktis fibroblas, yaitu TGF- β yang berperan dalam proliferasi fibroblast. Senyawa α -mangostin dan γ -mangostin dalam kulit manggis juga memiliki sifat antiinflamasi dengan menghambat jalur siklooksigenase dan pelepasan PGE2. Ekstrak kulit manggis mempunyai kandungan anti inflamasi dan anti oksidan yang dapat menstimulasi FGF-2 (Aisha *et al*, 2012).

Kulit manggis juga mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid berperan dalam menginduksi pelepasan TGF- β yang berfungsi memacu proliferasi dan migrasi fibroblas ke daerah luka dan sintesis matriks ekstraseluler (Simandjuntak *et al*, 2014). *Xanthone* merupakan senyawa flavonoid yang mampu mengaktifasi jalur phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/Akt, protein kinase C and mitogen-activated protein kinase. Alfa mangostin secara signifikan menghambat produksi nitrit oksida (NO), Prostaglandin E2 (PGE2), *tumor necrosis factor*(TNF)- α dan *inducible NOS* (iNOS) pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida. Gamma mangostin mampu menghambat pelepasan PGE2 dengan menghambat ekspresi

COX-2 dan mRNA pada sel glioma tikus C6 yang diinduksi Ca^{2+} ionophore A23187 (*in vitro*) (Chen et al, 2006).

Pemberian oral dan intraperito-neal (50 mg/kg) γ -mangostin, 1-isomangostin dan mangostin triasetat menunjukkan aktivitas antiinflamasi pada tikus yang dites dengan menginduksi edema kaki belakang. Secara *in vivo* juga dibuktikan bahwa γ -mangostin dapat menghambat udem tikus akibat inflamasi. Senyawa α -Mangostin dan γ -mangostin menghambat produksi NO (Nitrik Oxide) terstimulasi liposakarida dan sitotoksik terhadap sel RAW 264.7. Senyawa α -mangostin dan γ -mangostin secara signifikan juga mempunyai potensi sebagai antiinflamasi dengan menurunkan produksi PGE2 pada sel RAW 264.7 teraktivasi liposakarida (Chin et al, 2008).

Pada penurunan jumlah sel limfosit membuktikan bahwa ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) memiliki efek antiinflamasi. Pada respon antiinflamasi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap jumlah sel limfosit pada gingiva tikus putih wistar jantan pasca diinduksi oleh *Porphyromonas gingivalis* menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dapat menurunkan jumlah sel limfosit pada gingiva tikus wistar jantan pasca diinduksi oleh *P.gingivalis* (Nina, 2013)

Ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) mengandung saponin, tanin, flavonoid, steroid, kuinon, unsur natrium, kalium, magnesium, kalsium, besi, zink, tembaga, beberapa senyawa aktif yaitu xanthone dengan turunannya alpha-mangostin, betamangostin, gamma-mangostin, gartinone, mangostanol dan gartinin yang berfungsi sebagai antilipid, antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa flavonoid dalam ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan fitokimia yang berperan dalam mempercepat pengaktifan sel limfosit. Sehingga sel limfosit T yang teraktivasi dapat menghasilkan berbagai mediator termasuk $\text{INF-}\gamma$ yaitu sitokin perangsang utama untuk mengaktifasi monosit dan makrofag. Makrofag yang teraktivasi selanjutnya melepaskan sitokin yaitu IL-1 dan TNF kemudian akan mengaktifasi sel limfosit T dan B. Sel limfosit T berkembang menjadi sel T CD4^+ dan sel T CD8^+ . Sel T CD4^+ dan sel T CD8^+ hanya mengenali antigen yang telah diproses dan disajikan dalam hubungan dengan antigen self yang unik pada permukaan sel yang disebut MHC (*Major Histocompatibility Complex*). Sel T CD8^+ yang mengenali antigen target, akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel T-sitotoksik CD8^+ dan akan membunuh antigen target dengan mengaktifkan sitokin berdosisi letal ke dalam membran sel yang akan membentuk lubang dalam membran, menyebabkan bagian dalam sel terbuka dan mematikan sel yang telah terinfeksi. Setelah sel yang telah terinfeksi mati, terjadi penurunan serangan oleh sistem imun dan terjadi penurunan jumlah sel limfosit (Hayyu et al, 2013).

Senyawa alpha-mangostin dan gamma mangostin secara signifikan mempunyai potensi sebagai antiinflamasi dengan menurunkan produksi PGE2. Gamma-mangostin menghambat perubahan asam

arakidonat menjadi PGE2 dalam mikrosomal, hal ini menyebabkan penghambatan pada jalur siklooksigenase. Peningkatan jumlah sel limfosit menandakan telah terjadi fase inflamasi. Pada fase inflamasi dimulai dengan respon vaskular kemudian muncul sel radang akut PMN terutama neutrofil yang menuju ke daerah luka dan meningkat jumlahnya dalam 24 hingga 48jam. Makrofag akan menggantikan peran neutrophil pada hari ke-2 setelah terjadinya jejas yang akan memfagositosis debris dan jaringan yang rusak. Setelah makrofag kemudian akan muncul sel limfosit. Sel Limfosit bermigrasi ke daerah peradangan setelah hari pertama dan dapat mencapai jumlah maksimum pada hari ketiga sampai hari keenam, kemudian selanjutnya akan menurun jumlahnya secara gradual (Middleton et al, 2000).

Pada tabel 5.4 juga dapat dilihat bahwa hari ke-3 terjadi peningkatan jumlah sel limfosit disebabkan pada hari ke-3 sudah memasuki fase inflamasi kronis. Fase ini ditandai dengan meningkatnya jumlah makrofag dan sel limfosit. Makrofag yang teraktivasi akan melepaskan sitokin, yaitu IL-1 dan TNF yang mengaktivasi sel limfosit. Sel limfosit teraktivasi kemudian akan menghasilkan IFN- γ yang akan merangsang monosit ke jaringan (Kumar et al. 2009).

Pada tabel 5.4 terlihat peningkatan jumlah rata-rata sel limfosit mencapai puncak pada hari ke-5. Hal ini disebabkan pada hari ke-5 sel limfosit teraktivasi dan membentuk limfokin, interferon dan interleukin. Interleukin yang dilepaskan oleh sel limfosit digunakan untuk mengaktivasi makrofag untuk memfagosit lebih baik. Tabel 5.4 juga menunjukkan bahwa jumlah sel limfosit menurun pada hari ke-7. Menurunnya jumlah sel limfosit pada hari ke-7 menunjukkan pada kelompok ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) antigen sudah tidak ada lagi, fase inflamasi sudah berakhir dan mulai memasuki fase proliferasi.

Pada kelompok kontrol di hari ke-7 mengalami kenaikan jumlah sel limfosit. Hal ini disebabkan kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan sehingga tidak ada pengaruh terhadap pola infiltrasi limfosit dan kemungkinan antigen yang terdapat pada luka lebih banyak pada kelompok ini. Penurunan jumlah sel limfosit menandakan bahwa penyembuhan masuk ke tahap berikutnya, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan inflamasi (Kumar et al. 2009).

Penelitian yang dilakukan, menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada *mesenchymal stem cell* (MSC) dan *scaffold* pada model tikus periodontitis dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast, ekspresi BMP 2, Kolagen tipe 1 serta penurunan sel makrofag dan limfosit pada hari ke 7 dan 14. Pada hari ke 3 didapatkan peningkatan jumlah sel makrofag dan limfosit serta penurunan jumlah sel fibroblast, ekspresi BMP 2 dan Kolagen tipe 1.

5.5 Luaran yang dicapai

1. **Dipresentasikan sebagai makalah poster pada seminar Internasional :**

40th Asia Pacific Dental Congress pada 7 - 11 May 2018 Manila Philippine

2. **Submitted dan Accepted pada jurnal internasional Scopus Q3 :**

Journal of International Dental and Medical Research

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

Pemberian kombinasi ekstrak kulit Manggis sebagai *growth factor* stem sel dan *scaffold* dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast, ekspresi BMP 2, Kolagen tipe 1 serta menurunkan sel makrofag dan limfosit pada hari ke 7 dan 14 pada model terapi tikus periodontitis.

7.2 SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan perlunya penelitian lebih lanjut mengenai

kemampuan Kulit manggis sebagai *growth factor* MSC dikombinasi dengan scaffold sehingga bisa di uji klinis untuk terapi periodontitis



DAFTAR PUSTAKA

- Aisha AFA, Abu-Salah KM, Ismail Z, Majid AMSA. 2012. In Vitro and In Vivo Anti-Colon Cancer Effects of Garcinia Mangostana Xanthenes Extract. *BMC Complement Altern Med.* 12(104): 1-10.
- Al-Aql, Z.S., Alagi, A.S., Graves, A.T., Gerstenfeld, L.C., and Einhorn, T.A. 2008. Molecular Mechanisms Controlling Bone Formation during Fracture Healing and Distraction Osteogenesis. *J. Dent. Res.*, Feb ; 87(2): 107-118.
- Asri DP, Jusri M, Endah A. 2012. Efektifitas ekstrak kulit manggis terhadap percepatan proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka traumatik akut mukosa mulut tikus wistar. *Journal Media Oral Medicine Dental Journal.* 4 (1) : 15-20
- Bluteau G, HU Luder, C. Debari, TA. Mitsiadis. 2008. Stem cell for tooth engineering. *Eur cell and material.* 16 : 1-9
- Bunyapraphatsara N and Valkenburg JLCHV. 2002. Plant Resources of South East Asia. Medical and poisonous plants. Prosea Foundation Bogor. Indonesia. Jilid 2. Hal 370-390.
- Calixto RFE, Teo' filo JM, Brentegani LG and Carvalho TLL, 2007. Grafting of Tooth Extraction Socket With Inorganic Bovine Bone or Bioactive Glass Particles: Comparative Histometric Study in Rats. *IMPLANT DENTISTRY.* 16 (3) : 260-268.
- Chaivisuthangkura, A., Malaikaew, Y., Chaovanalikit, A., Jaratrungtawee, A., Panseeta, P., Ratananukul, P., Suksamrarn, S. 2009. Prenylated Xanthone Composition of Garcinia mangostana (Mangosteen) Fruit Hull. *Chromatographia* 69:315-318
- Chen LG, Yang LL, Wang CC. Anti inflammatory activity of mangostins from garcinia mangostana. *J Food Chem Toxicol* 2006; 10: 1016.
- Chin Y.W dan Kinghorn A. D, 2008. Jung HA, Su BN, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. Antioxidant xanthenes from the pericarp of Garcinia mangostana (Mangosteen). *J Agric Food Chem.* 54(6):2077-2082.
- Dalimartha S. 2005. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Jilid 4. Trubus agriwidya. Jakarta. P 10-40.
- Freshney RI. 2000. Culture of Animal Cells a Manual of Basic Technique. 4 ed. Wiley Liss. Pp 329-343.
- Gay I, Chen S, Macdougall M. 2007. isolation and Characterization of Multipotent Human periodontal Ligament Stem Cell. *Orthod Craniofac Res.* 10: 149-160
- Hayyu N, Endah A, Djamhari M. 2013. Uji sitotoksitas ekstrak kulit Garcinia mangostana Linn terhadap sel fibroblast gingiva manusia. *Oral Medicine Dental Journal*; 4(1):10-16.
- Hughes Franchis J, Wendy T, Georgious B, Gianlucca M. 2006. Effect of Growth facotr and Cytokines on Osteoblast differentiation. *Periodontology* 2000. 41:51-54.
- Hunter KT and Ma T. 2013. In Vitro Evaluation of Hydroxyapatite-Chitosan-Gelatin Composite Membrance in Guided Tissue Regeneration. *Journal of Biomedical Material Research Part A.* 4 : 1016-1025
- Ibrahim MY, Hashim NM, Mariod AA, Mohan S, Abdulla MA, Abdelwahab SI, Arbab IA. 2016. α - Mangostin from Garcinia mangostana Linn: An Updated Review Of Its Pharmacological Properties. *Arabian J Chem.* 9: 317-29
- ICUC. 2003. Fruit to the Future Mangosteen, Fatetsheet, No 8, International Center for Underutilized Crops.
- Ikawati, Z. 2008. Pengantar Farmakologi Molekuler. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Kamadjaja DB. 2015. Rekonstruksi Critical Size Defect pada Mandibula dengan Rekayasa Jaringan Tulang Menggunakan Bovine Bone Mineral Scaffold yang Dibenahi Human Amniotic Membrane Mesenchymal Stem Cell (hAMSC). Disertasi. Universitas Airlangga. Hal: 74-76
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. 2009. Robbin dan Cotran dasar patologis penyakit edisi 7. Jakarta.



- Liu Q, Li D, Wang A, Dong Z, Yin S, Zhang Q, Ye Y, Li L, Lin L. 2016. Nitric Oxide Inhibitory Xanthones From The Pericarps of *Garcinia Mangostana*. *Phytochemistry*.131: 115-23.
- Manimekalai I, Sivakumari K, Ashok K, Rajesh S. 2016. Antioxidant and Anticancer Potential of Mangosteen Fruit, *Garcinia Mangostana* Against Hepatocellular Carcinoma (HePG-2) Cell Line. *World J PharmPharmaceutical Sci*.5: 253-93.
- Mardiana L. 2011. Ramuan dan khasiat Kulit Manggis. Penebar Swadaya. Hal 10-30.
- Middleton, Elliot Jr., Kandaswami, Chitan and Theoharides C.T. 2000. The Effect Of Plants Flavanoid On Mamalia Cell: Implication for Inflammation, Heart Diseases, and Cancer, *Pharmacological Review*; 52(4): 673-714.
- Murakami Y, Kozima T, Nagasawa T, Kobayashi H, Ishikawa I. 2003. Novel isolation of Alkaline Phosphatase positive Subpopulatoim from Periodontal Ligament Fibroblast to Ligament Periodontal. 74:780-786.
- Nakatani K, Yamakuni T, Kondo N, Arakawa T, Oosawa K, Shimura S, Inoue H, Ohizumi Y. 2004. Gamma mangostin inhibitor KB kinase activity and decreases lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 gen expression in C6 rat glioma cells. *J Mol Pharmacol*. 662- 67.
- Nina, A. 2013. Respons Antiinflamasi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Gingiva Tikus Putih Wistar Jantan Pasca Diinduksi Oleh *Porphyromonas Gingivalis*. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Obolskiy D, Pischel I, Siriwatanametanon N, Heinrich M. 2009. *Garcinia mangostana* L. A Phytochemical and Pharmacological Review. *Phytoterapy Research*. 23(8):1047-1065.
- Padua LS, Bunyapraphatsara N, Lemmens RHMJ. 2000. Plant Resources of South East Asia. Medicinal and Poisonous Plant Jilid 1. Bogor Indonesia. Pp 139-148.
- Permatasari D, Soesanto R, Simandjuntak RM. 2014. Pengaruh pemberian kulit manggis terhadap proliferasi fibroblas pada penyembuhan luka pencabutan gigi tikus. *Journal Media Oral and Maxillofacial Surgery*. 3 (1)
- Poeloengan, M, Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan* Vol.XX No 2. Hal 65-69
- Prasetya RC. 2014. Efek pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap jumlah sel fibroblas gingiva pada tikus wistar jantan dengan periodontitis. *Proceeding Ikatan Periodonsia Indonesia* Surabaya.
- Putri IP. 2015. Effectivity of Xanthone of Mangosteen(*Garcinia mangostana*L.) Rind As Anticancer. *Med J Lampung University*. 4(1): 33-8.
- Ramesh S, Priya MK, Prabhu S. 2017. Isolation of Garcinone E from *Garcinia Mangostana* Linn and Its Cytotoxic Effect on Sp2/O Cell Lines. *JPharmacogPhytochem*. 6 (5): 67-68.
- Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Bartouli S, Ibrahim J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. 2004. Investigation of Multipotent Postnatal Stem Cell from Human Periodontal ligament. *Lancet*. 364: 149-155.
- Silverio KG. 2008. Stem cells: Potensial therapeutic for periodonta regeneration. *Stem Cell Rev* 4: 13-19
- Simandjuntak RM, Soesanto R, Permatasari D. 2014. The Effect of Mangosteen Rind on Fibroblasts Proliferation in Wound Healing Process Post Tooth Extraction of Rat. *Oral Maxillofac Surg J*. 3(1): 23-31.
- Stewart S. 2004. *Stem Cell Hand Book*. USA: Humana Press p20-25
- Versteegh JK. 2006. *Tanaman berkhasiat Indonesia*. Volume 1. IPB Press. Bogor. P 20-23.
- Yun YR, Won JE, Jeon E, Lee S, Kang W, Jo H, Jang JH, Shin US, Kim HW. 2010. Fibroblast Growth Factors: Biology, Function, and Application for Tissue Regeneration. *J Tissue Eng*. 1-18

Lampiran 1. Statistik

Uji Kolmogoriv smirnov

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jumlah sel fibroblas	18	17,422	10,3419	2,0	26,2
jumlah sel limfosit	18	16,878	6,3558	9,0	28,6
jumlah sel makrofag	18	14,344	7,0021	7,0	27,4
ekspresi kolagen tipe 1	18	18,422	10,9204	3,0	28,8
ekspresi BMP2 perlakuan	18	17,578	9,5545	4,0	26,0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah sel fibroblas	jumlah sel limfosit	jumlah sel makrofag	ekspresi kolagen tipe 1	ekspresi BMP2 perlakuan
N		18	18	18	18	18
Normal Parameters ^{ab}	Mean	17,422	16,878	14,344	18,422	17,578
	Std. Deviation	10,3419	6,3558	7,0021	10,9204	9,5545
Most Extreme Differences	Absolute	,372	,159	,276	,362	,381
	Positive	,236	,159	,276	,234	,236
	Negative	-,372	-,122	-,147	-,362	-,381
Kolmogorov-Smirnov Z		1,578	,674	1,171	1,535	1,618
Asymp. Sig. (2-tailed)		,014	,753	,129	,018	,011

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji MANOVA

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
kelompok pengamatan 1	Pengamatan hari ke-3	6
2	Pengamatan hari ke-7	6
3	Pengamatan hari ke-14	6



Descriptive Statistics

kelompok pengamatan		Mean	Std. Deviation	N
jumlah sel limfosit	Pengamatan hari ke-3	24,067	4,6280	6
	Pengamatan hari ke-7	15,500	2,1936	6
	Pengamatan hari ke-14	11,067	2,5097	6
	Total	16,878	6,3558	18
jumlah sel makrofag	Pengamatan hari ke-3	23,533	2,7119	6
	Pengamatan hari ke-7	10,800	1,7205	6
	Pengamatan hari ke-14	8,700	1,3251	6
	Total	14,344	7,0021	18

**Box's Test of Equality
of Covariance****Matrices^a**

Box's M	9,052
F	1,216
df1	6
df2	5607,692
Sig.	,294

Tests the null hypothesis
that the observed
covariance matrices of
the dependent variables
are equal across groups.

a. Design: + kelompok

Multivariate Tests^d

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Pillai's Trace	,988	600,983 ^a	2,000	14,000	,000	1201,966	1,000
Wilks' Lambda	,012	600,983 ^a	2,000	14,000	,000	1201,966	1,000
Hotelling's Trace	85,855	600,983 ^a	2,000	14,000	,000	1201,966	1,000
Roy's Largest Root	85,855	600,983 ^a	2,000	14,000	,000	1201,966	1,000
Kelompok							
Pillai's Trace	1,046	8,223	4,000	30,000	,000	32,894	,995
Wilks' Lambda	,056	22,592 ^a	4,000	28,000	,000	90,367	1,000
Hotelling's Trace	15,049	48,908	4,000	26,000	,000	195,633	1,000
Roy's Largest Root	14,927	111,949 ^c	2,000	15,000	,000	223,899	1,000

a. Exact statistic

b. Computed using alpha = ,05

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: + kelompok

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
jumlah sel limfosit	3,082	2	15	,076
jumlah sel makrofag	1,327	2	15	,295

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: + kelompok

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b	
Corrected Model	jumlah sel limfosit	524,084 ^a	2	262,042	24,167	,000	48,333	1,000
	jumlah sel makrofag	773,151 ^c	2	386,576	96,078	,000	192,156	1,000
	jumlah sel limfosit	5127,469	1	5127,469	472,878	,000	472,878	1,000
	jumlah sel makrofag	3703,736	1	3703,736	920,513	,000	920,513	1,000
Kelompok	jumlah sel limfosit	524,084	2	262,042	24,167	,000	48,333	1,000
	jumlah sel makrofag	773,151	2	386,576	96,078	,000	192,156	1,000
Error	jumlah sel limfosit	162,647	15	10,843				
	jumlah sel makrofag	60,353	15	4,024				
Total	jumlah sel limfosit	5814,200	18					
	jumlah sel makrofag	4537,240	18					
Corrected Total	jumlah sel limfosit	686,731	17					
	jumlah sel makrofag	833,504	17					

a. R Squared = ,763 (Adjusted R Squared = ,732)

b. Computed using alpha = ,05

c. R Squared = ,928 (Adjusted R Squared = ,918)

Estimated Marginal Means**kelompok pengamatan**

Dependent Variable	kelompok pengamatan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				LowerBound	UpperBound
jumlah sel limfosit	Pengamatan hari ke-3	24,067	1,344	21,201	26,932
	Pengamatan hari ke-7	15,500	1,344	12,635	18,365
	Pengamatan hari ke-14	11,067	1,344	8,201	13,932
jumlah sel makrofag	Pengamatan hari ke-3	23,533	,819	21,788	25,279
	Pengamatan hari ke-7	10,800	,819	9,055	12,545
	Pengamatan hari ke-14	8,700	,819	6,955	10,445

Post Hoc Tests

kelompok pengamatan

Multiple Comparisons

SD

Dependent Variable	(I) kelompok pengamatan	(J) kelompok pengamatan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
jumlah sel limfosit	Pengamatan hari ke-3	Pengamatan hari ke-7	8,567 [*]	1,9011	,000	4,514	12,619	
		Pengamatan hari ke-14	13,000 [*]	1,9011	,000	8,948	17,052	
	Pengamatan hari ke-7	Pengamatan hari ke-3	-8,567 [*]	1,9011	,000	-12,619	-4,514	
		Pengamatan hari ke-14	4,433 [*]	1,9011	,034	,381	8,486	
	Pengamatan hari ke-14	Pengamatan hari ke-3	-13,000 [*]	1,9011	,000	-17,052	-8,948	
		Pengamatan hari ke-7	-4,433 [*]	1,9011	,034	-8,486	-,381	
	jumlah sel makrofag	Pengamatan hari ke-3	Pengamatan hari ke-7	12,733 [*]	1,1581	,000	10,265	15,202
			Pengamatan hari ke-14	14,833 [*]	1,1581	,000	12,365	17,302
Pengamatan hari ke-7		Pengamatan hari ke-3	-12,733 [*]	1,1581	,000	-15,202	-10,265	
		Pengamatan hari ke-14	2,100	1,1581	,090	-,368	4,568	
Pengamatan hari ke-14		Pengamatan hari ke-3	-14,833 [*]	1,1581	,000	-17,302	-12,365	
		Pengamatan hari ke-7	-2,100	1,1581	,090	-4,568	,368	

based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 4,024.

. The mean difference is significant at the ,05 level.

Uji Kruskal Wallis

Ranks		N	Mean Rank
jumlah sel fibroblas	kelompok pengamatan		
	Pengamatan hari ke-3	6	3,50
	Pengamatan hari ke-7	6	12,33
	Pengamatan hari ke-14	6	12,67
	Total	18	
ekspresi kolagen tipe 1	Pengamatan hari ke-3	6	3,50
	Pengamatan hari ke-7	6	10,75
	Pengamatan hari ke-14	6	14,25
	Total	18	
ekspresi BMP2	Pengamatan hari ke-3	6	3,50
	Pengamatan hari ke-7	6	12,25
	Pengamatan hari ke-14	6	12,75
	Total	18	

Test Statistics^{a,b}

	jumlah sel fibroblas	ekspresi kolagen tipe 1	ekspresi BMP2
Chi-square	11,487	12,817	11,586
df	2	2	2
Asymp. Sig.	,003	,002	,003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Uji Man-whitney jumlah sel fibroblas

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah sel fibroblas	Pengamatan hari ke-3	6	3,50	21,00
	Pengamatan hari ke-7	6	9,50	57,00
	Total	12		

Test Statistics^b

	jumlah sel fibroblas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,908
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah sel fibroblas	Pengamatan hari ke-3	6	3,50	21,00
	Pengamatan hari ke-14	6	9,50	57,00
	Total	12		

Test Statistics^b

	jumlah sel fibroblas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,908
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah sel fibroblas Pengamatan hari ke-7	6	6,33	38,00
Pengamatan hari ke-14	6	6,67	40,00
Total	12		

Test Statistics^b

	jumlah sel fibroblas
Mann-Whitney U	17,000
Wilcoxon W	38,000
Z	-,161
Asymp. Sig. (2-tailed)	,872
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,937 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Uji Man-whitney ekspresi kolagen tipe 1

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ekspresi kolagen tipe 1	. Pengamatan hari ke-3	6	3,50	21,00
	. Pengamatan hari ke-7	6	9,50	57,00
	. Total	12		
	.			
	.			
	.			
	.			
	.			

Test Statistics^b

	ekspresi kolagen tipe 1
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,892
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ekspresi kolagen tipe 1	Pengamatan hari ke-3	6	3,50	21,00
	Pengamatan hari ke-14	6	9,50	57,00
	Total	12		

Test Statistics^b

	ekspresi kolagen tipe 1
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,892
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ekspresi kolagen tipe 1	Pengamatan hari ke-7	4,75	28,50
	Pengamatan hari ke-14	8,25	49,50
	Total	12	

Test Statistics^b

	ekspresi kolagen tipe 1
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	28,500
Z	-1,715
Asymp. Sig. (2-tailed)	,086
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,093 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Uji Man-whitney ekspresi BMP-2

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ekspresi BMP2 . Pengamatan hari ke-3	6	3,50	21,00
. Pengamatan hari ke-7	6	9,50	57,00
. Total	12		
.			
.			
.			
.			
.			

Test Statistics^b

	ekspresi BMP2
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,913
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [Z*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ekspresi BMP2 Pengamatan hari ke-3	6	3,50	21,00
Pengamatan hari ke-14	6	9,50	57,00
Total	12		

Test Statistics^b

	ekspresi BMP2
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,898
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Mann-Whitney Test

Ranks

kelompok pengamatan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ekspresi BMP2 Pengamatan hari ke-7	6	6,25	37,50
Pengamatan hari ke-14	6	6,75	40,50
Total	12		

Test Statistics^b

	ekspresi BMP2
Mann-Whitney U	16,500
Wilcoxon W	37,500
Z	-,246
Asymp. Sig. (2-tailed)	,805
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,818 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok pengamatan

Lampiran 2 :Dipresentasikan sebagai makalah poster pada seminar Internasional :

PP072

Oral Medicine / Oral Pathology / Oral Cancer

MANGOSTEEN SKIN (GRACINIAMANGOSTANA L) AS STEM CELL GROWTH FACTOR

Ira Arundina¹, Indeswati Diyatri¹, Theresia Indah Budhy²

¹Department of Oral Biology, Faculty of Dental Medicine, Universitas Airlangga Surabaya – Indonesia

²Department of oral Patology and maxilofasial, Faculty of Dental Medicine, Universitas Airlangga Surabaya – Indonesia

INTRODUCTION: Stem cells gave a new way to accelerate healing progress because the stem cells can be utilized for the treatment of various degenerative diseases including periodontitis. The number of stem cells is limited; therefore a growth factor is needed to increase stem cell proliferation. Growth factor that has been used is still expensive and difficult to obtain so it is necessary to develop an alternative use of growth factors from natural materials that potentially accelerate wound healing. Mangosteen (*Graciniamangostana L*) contains xanthenes which are flavonoid compounds that can activate kinase protein, as growth factor stem cells.

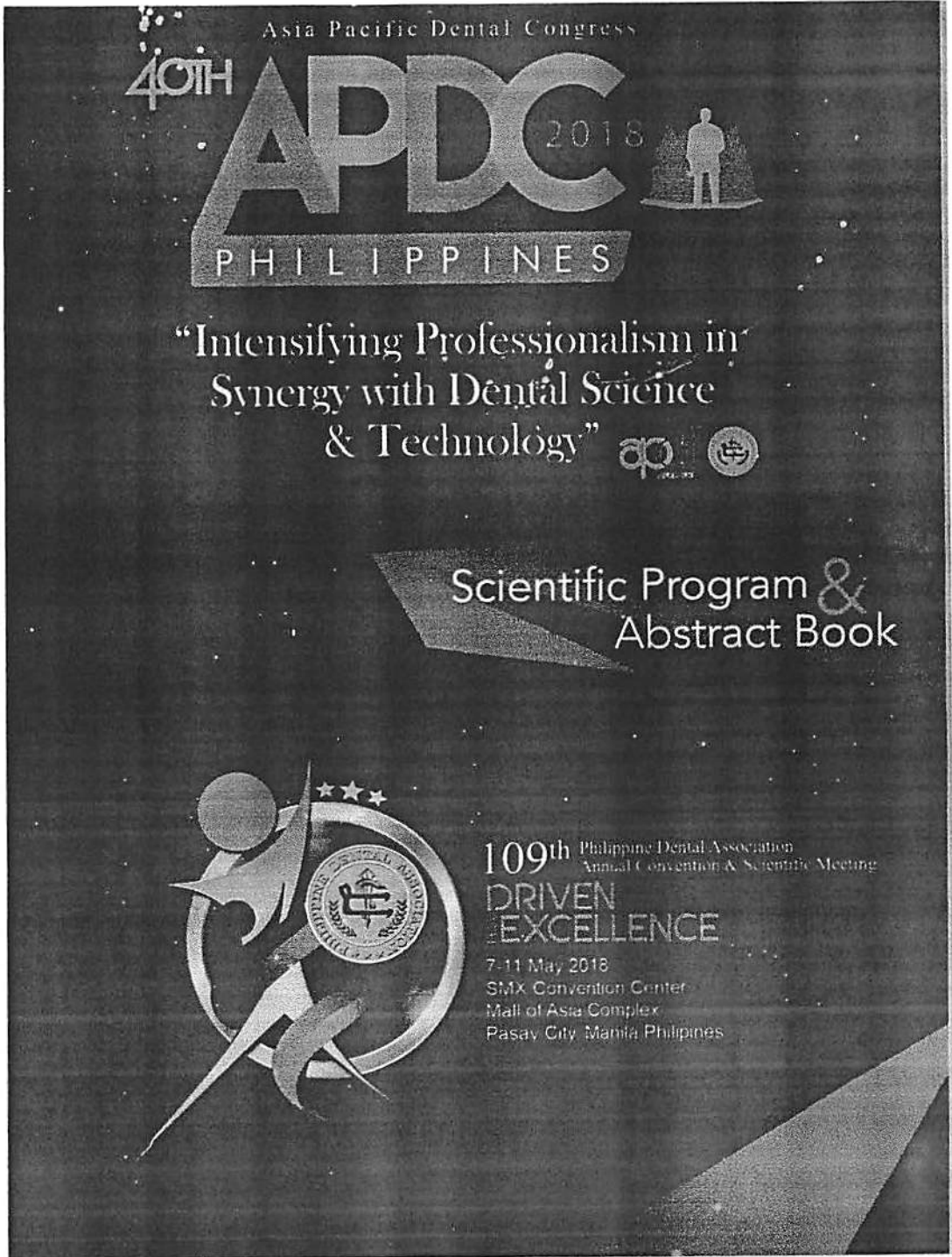
METHODS: Test of mangosteen skin (*Gracinia mangostana L*) and mesenchymal stem cell with scaffold. Immunohistochemical test to check Bone Morphogenetic Protein (BMP) and collagen type 1, and HE test to count fibroblasts, macrophages and lymphocytes in mouse experiments by modeling periodontitis therapy.

RESULTS: There is an increased Bone Morphogenetic Protein (BMP), fibroblasts, collagen type 1 and decreased macrophages and lymphocytes

CONCLUSIONS and ACKNOWLEDGEMENTS: The potential effect of mangosteen skin extract (*Graciniamangostana L*) as growth factor of stem cells for periodontitis therapy.

Keywords: Mangosteen Skin Extract, Growth Factor, Stem Cell

		dentistry	
PP057	Other	Necrotizing fasciitis of the head and neck caused by non-odontogenic origin: a case report	Min Su Kim
PP058	Other	A Descriptive Study on Simulation and Educational Practices: Its Effects on Satisfaction and Confidence in Learning of Dentistry Students	Rachelle Ungos Sobrevinas
PP059	Other	Combined delivery of two different bioactive factors incorporated hydroxyapatite microcarrier for bone regeneration	Hyonseok Jang
PP060	Other	Faculty Members' Organizational Citizenship Behavior and Dentistry Graduates' Board Performance In A Selected Dental Institution	Belinda Mutya Arias
PP061	Other	Mentoring Scheme of the Aruga Program: A Tool to Enhance the Academic Performance of Dentistry Students	Arlene Pimentel Pajanostan
PP062	Community Dentistry	A Study on Evaluation of Effect of Mitigating Dentin Hypersensitivity of Dentifrice Containing Potassium Nitrate (KNO ₃ :101.10) and Aluminum Lactate (C ₉ H ₁₅ AlO ₉ :294.19)	Hyun Jun Yoo
PP063	Community Dentistry	Long-Term Pain-relieving Effects of Toothpaste Containing Potassium Nitrate and Aluminum Lactate for Dentin Hypersensitivity	Yong Duk Park
PP064	Community Dentistry	The effect of new dentifrice on inhibition of the decrease in enamel mineral density	Ja Won Cho
PP065	Community Dentistry	Dental Students' Community Rotation in Preschool Daycare Centers	Rose Anne Q Rosanes
PP067	Dental Materials	Evaluation of the cytotoxicity of high molecular-weight hyaluronic acid in human dental pulp cells	Elif Bahar Tuna
PP068	Dental Materials	Flexural Strength Properties of Light Cured Composite Resin and Zirconia Reinforced Glass Ionomer	Filipina Bautista Ng
PP069	Dental Materials	NIR Upconversion to Enhance Resin Cement Polymerization under Zirconia Ceramics	Shu Fen Chuang
PP070	Dental Materials	Optical properties of different translucency zirconia crowns	Chia Ling Li
PP071	Neuroscience / TMD	Evaluating the effectiveness of various management techniques for Bruxism	Sachin Kulkarni
PP072	Oral Medicine / Oral Pathology / Oral Cancer	MANGOSTEEN SKIN(Graciniamangostana L)AS STEM CELL GROWTH FACTOR	Ira Arundina
PP074	Oral Medicine / Oral Pathology / Oral Cancer	58.220 kDa and 48,645 kDa specific protein of oral squamous cell carcinoma In Indonesia Theresia Indah Budhy1, Ira Arundina2, Istiati 3 Sri Kunarti 4 Prastyo Agung Masyuda5 1,3 Oral Pathology and Maxilofacial., 2 Oral Biology,4 Endodontis,5 Student	Theresia Indah Budhy
PP075	Oral Medicine / Oral Pathology / Oral Cancer	Mandibular ameloblastoma: A case report	Yasin Yasa
PP076	Oral Radiology	Optimization of System Layout for Single-grating Phase Contrast X-ray Imaging	Hyosung Cho
PP077	Oral Surgery	Case Study: Bichatectomy as an alternative cosmetic facial contouring procedure	Ryan Soriano
PP080	Oral Surgery	A Case of Mandibular Condyle Ankylosis Surgically Treated with Gap Arthroplasty	Cassiopeia G. Agbayani






CERTIFICATE OF PARTICIPATION

is hereby presented to

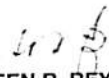
Ira Arundina

for actively participating in the
E-POSTER PRESENTATIONS OF THE SCIENTIFIC PROGRAM
held on May 7-10, 2018.

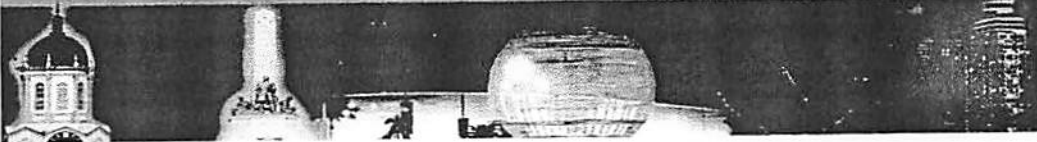
Given this 10th day of May, 2018
at the SMX Convention Center, Pasay, Manila, Philippines


DR. FERNANDO M. FERNANDEZ
General Chairman, 40th Asia Pacific Dental Congress
President, Asia Pacific Dental Federation /
Asia Pacific Regional Organization FDI


DR. GISELLE YUMUL
Chair
Scientific Program Committee


DR. ARLEEN R. REYES
General Chair, 109th PDA Annual Convention
& Scientific Sessions
President-elect, Philippine Dental Association

Provider Accreditation No. 2016-013 Program Accreditation No. 2009-001-863



Lampiran 3. Artikel Accepted jurnal Internasional

MANGOSTEEN SKIN (*Gracinia mangostana* L) AS STEM CELL GROWTH FACTOR

Ira Arundina¹, Ketut Suardita², Indeswati Diyatri¹, Meircurius Dwi C.S³

¹Department of Oral Biology

²Department of Conservative Dentistry

³Master Program in Dental Health Science

Faculty of Dental Medicine,
Universitas Airlangga Surabaya – Indonesia

Abstract

Background: Stem cells gave a new way to accelerate healing progress because the stem cells can be utilized for the treatment of various degenerative diseases including periodontitis. The number of stem cells is limited; therefore, a growth factor is needed to increase stem cell proliferation. Growth factor that has been used is still expensive and difficult to obtain so it is necessary to develop an alternative use of growth factors from natural materials that potentially accelerate wound healing. Mangosteen (*Gracinia mangostana* L) contains xanthenes which are flavonoid compounds that can activate kinase protein, as growth factor stem cells. **Purpose:** to discover the potential effect of mangosteen skin extract (*Gracinia mangostana* L) as growth factor of stem cells. **Methods:** proliferative ability test of mangosteen skin (*Gracinia mangostana* L) as a growth factor for mesenchymal stem cell (MSC) using MTT assay with FGF comparator. Test of osteogenic differentiation using Alizarin Red coloring. **Results:** Viability cells in MSC combined with higher mangosteen skin compared with MSC combined with FGF. After stem cells and mangosteen skin extracts were added the osteogenic induction medium, a presence of mineralization indicating differentiation into osteoblasts. **Conclusion:** The addition of mangosteen skin extract on MSC can increase the ability of proliferation and differentiation into osteoblasts from MSC.

Keywords : Mangosteen skin extract, Growth factor, Stem cell

Correspondences: Ira Arundina, c/o: Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jln. Prof. Dr. Moestopo No. 47 Surabaya 60132, Indonesia.
Email: arundinafkg@yahoo.com

Introduction

Repair of periodontal tissue damage can be done through various surgical procedures, namely the use of grafting material and growth factors. In dentistry, the use of mesenchymal stem cells (MSC) has shown satisfactory results that can be used as a new strategy for regenerative periodontal therapy. But, this is constrained by the number of stem cells is limited so that required growth factor to increase stem cell proliferation. Growth

factor that has been used such as Fibroblast Growth Factor (FGF) is still expensive and difficult to obtain¹. Therefore, an alternative is needed to developed use of growth factor from natural materials

The skin of the mangosteen fruit (*Garcinia mangostana* L) contains alkaloids, saponins, triterpenoids, tannins, phenols, flavonoids, glycosides, steroids, benzophenone and xanthenes which are the main classes of phenols in plants². Xanthenes contain compounds including mangostin, mangostenol, mangostinone A, mangostenon B, trapezifolixanthone, tovophyllin B, α -mangostin, β -mangostin, garcinon B, mangostanol, flavonoid epicatechin and gartanin. The main compound or phytochemical of Mangosteen's skin (*Garcinia mangostana* L.) is α -mangostin³. α -mangostin is a natural xanthone found as a dominant compound on the skin of the mangosteen fruit⁴.

The Xanthone has very high antioxidant content, even the antioxidant content in xanthone substances is higher in comparison with the existing antioxidants in vitamin C and E.² The mangosteen skin is expected to increase the ability of stem cell proliferation so it is expected to function as a natural growth factor for stem cell growth. This study aims to determine the ability of mangosteen skin extract as a natural growth factor for stem cells.

Materials and methods

The material for the research is Mangosteen Skin (*Garcinia mangostana* L.) obtained and determined in Purwodadi Botanical Garden, Pasuruan conservation hall, Indonesia. The skin is cleaned from other plants and dirt and then dried in the open air without direct sunlight exposure. The dried material is smoothed with a grinding machine and sifted with a powder sieve. The obtained powder is stored in a sealed container. The powder is then given a solvent to make it easier to contact the plant's active ingredients so that the extraction is more perfect⁵.

The preparation of extracts from Mangosteen skin (*Garcinia mangostana* L.) is made by maceration, soaking the powder of Mangosteen skin (*Garcinia mangostana* L.) in a methanol solvent for 24 hours in a closed vessel left at room temperature while stirring frequently. The Mangosteen skin is then filtered with a Buchner filter and the filtrate obtained is accommodated. The obtained pellet is macerated again with new solvent. The maceration is discontinued if the xanton content seen using Thin Layer Chromatography (TLC) using the methanol mobile phase (eluent) with AICB marker does not show a brownish red color on the TLC plate. The result of maceration is collected, evaporated by

rotary evaporator at low pressure (rotary evaporator) until it cannot evaporate again to obtain the mass of viscous extract. The residual solvent in the viscous extract evaporated in the resulting acid cabinet is called dry methanol extract⁶.

Isolation of Mesenchymal Stem Cells (MSC) derived from Wistar rats' femur bone marrow. The proliferative ability test of MSC was performed by MTT assay method. In this study, the stem cells were divided into three groups: MSC group given mangosteen skin, MSC group given FGF and control group. Cells were cultured in 96/well plates in medium DME. The addition of mangosteen skin was done as much as 1 µg/ml and the addition of FGF was given as much as 1 µg/ml then cells were cultured for 4 days. MTT test results are read with Elisa reader at wavelength 550 nm⁷.

Osteogenic differentiation ability test is done by using Alizarin Red coloring. The test was divided into three groups: control group, MSC group and MSC group given mangosteen skin extract. The MSC group was bred for 28 days in DME medium with 10 mM beta-glycerophosphate, 100 nM dexamethasone, and 50 µg/ml ascorbic acid-2-phosphates (medium osteogenic). The control group was not given an osteogenic medium but was bred only in DME medium. Then, a coloring is done with Alizarin red staining⁷.

Results

The visible fibroblastic MSC appears to be attached to the bottom of the dish. Substitution of culture media is done every three days. On microscopic examination, the number of MSCs seen is increasing (Figure 1).

In the microscopic examination results, MSC group proliferation combined with mangosteen skin (Fig. 1C) was higher when compared with MSC proliferation combined with FGF (Fig. 1B). The cell vitality (%) was the amount of MSC present in the media. MTT test results can be seen in Table 5.1.

Table 5.1 shows that the viability cell of 189.39% in MSC combined with higher moss skin preparation when compared with MSC combined with FGF of 129.48%. The data were then tested using Levene test and T-Test test.

The statistical test using Levene test shows that the data is homogeneous data $p = 0.071$ ($p > 0.05$). Different test using independent t-test showed a significant difference of viability cell between MSC combined with mangosteen skin with MSC combined with FGF $p = 0.019$ ($p < 0.05$) (Table 2). The MSC group and mangosteen skin extracts are grown on osteogenic induction mediums have seen mineralization showing differentiation to osteoblasts (Figure

Discussion

MSC can be found in a variety of adult tissues, such as adipose tissue, periosteum, synovial membrane, muscle, dermis, pericyte, blood, trabecular bone and bone marrow. Bone marrow is the largest and most accessible source of MSC. The number of MSCs in the bone marrow is only 0.01 to 0.0001% of the total nucleated cell bone marrow ⁹. Growth factor plays an important role in increasing the number of MSC. A growth factor is a material that can help the process of proliferation and differentiation of stem cell. A sufficient number of stem cells can be obtained from outside the body then the cells can be applied in the body by using the appropriate scaffold. An attempt to increase the number of stem cells should not eliminate the ability of these cells to differentiate ¹⁰. In MSC, several growth factors were found. Growth factor in stem cells has several roles to secrete VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast growth factor), TGF (transforming growth factor) - β , hepatocyte growth factor IL-10 and 13, and cytokines and other growth factors (paracrine signal), which helps remodeling the extracellular and neovascular matrices ¹¹. In addition to attempting to multiply the number of cells, attempts to regulate the MSC differentiation process can also be performed. In-vitroally, the MSC can be directed to differentiate according to our purpose e.g. to differentiate into osteoblasts, MSC should be cultured in osteogenic medium containing beta-glycerophosphate, ascorbic acid, and dexamethasone.

Mangosteen's skin (*Garcinia mangostana*) contains bioactive compounds such as xanthenes, flavonoids, triterpenoids and benzophenone. The main compounds of the skin content of mangosteen fruit that can have an anti-oxidant effects, antiaging and anti-inflammatory is the xanthone group. Xanthenes are natural chemical substances belonging to flavonoid compounds, commonly found in plants that are red, purple, blue, or yellow. The xanthone classification is oxygenated xanthone, xanthone glycoside, prenylated xanthone, xanthonolignoid, and miscellaneous xanthone. The most important xanthone content is Alfa-mangostin¹². *Garcinia mangostana* has the highest xanthone content with more than 50 xanthone compounds such as α -, β -, γ - mangostin, Garcinone E, 8-deoxygartanin, and Gartanin. The mangosteen skin has the highest xanthone content compared to the other mangosteen parts¹³.

Mangosteen skin contains xanthenes that can effectively protect oxidative damage from hydroxyl DNA. One of the techniques of xanthone to protect against oxidative damage of DNA caused by hydroxyl is through the reduction of ROS (Reactive Oxygen Species) which can be mediated through metal-chelating, and direct radical retrieval, through the administration of hydrogen atoms (H) and electrons (e). Both provide a hydrogen atom (H) and an electron (e) that can produce xanthone oxidation into a stable quinone form ¹⁴.

The α -mangostin content of mangosteen skin inhibits the release of TNF- α and IL-4 inflammatory markers in macrophage-like cells U937. The α -mangostin compound may stimulate the release of fibroblast chemotactic mediators, i.e. TGF- β which play a role in the proliferation of fibroblasts. The α -mangostin and γ -mangostin compounds in the mangosteen skin also have an anti-inflammatory property by inhibiting the cyclooxygenase pathway and the release of PGE2. Mangosteen skin also contains flavonoid compounds. Flavonoids play a role in inducing the release of TGF- β which serves to promote proliferation and migration of fibroblasts to the wound and synthesis of extracellular matrix ¹⁵. Xanthone is a flavonoid compound capable of activating phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) / Akt, protein kinase C and mitogen-activated protein kinase ¹⁶.

Research conducted, showed that the addition of Mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.) on MSC can increase MSC proliferation when compared with the addition of fibroblast growth factor (FGF). The process of cell proliferation and differentiation involves activation of MAPK / ERK signaling pathways. FGF is also involved in the process of cell proliferation. The role of FGF in the proliferation process begins through the binding and activation of fibroblast growth factor receptor (FGFR) that activates the RAS / MAP kinase pathway. FGF stimulates the phosphorylation of fibroblast growth factor receptor substrate (FRS), followed by forming the GRB2-SHP2-GAB-1 complex which ultimately results in activation of the RAS-MAPK kinase pathway, resulting in a proliferation process ¹⁷. Increased MSC proliferation after addition of Mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.) is related to the ability of α -mangostin and xanthone to increase the signaling activity of MAPK / ERK transcription factor. Increased signaling activity of transcription factor MAPK / ERK, resulting in increased proliferation and differentiation of MSC ¹⁸. Mangosteen skin extract has anti-inflammatory and anti oxidant properties that can stimulate FGF-2¹⁹.

Mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.) also able to increase MSC differentiation into osteoblasts as there are phenolic compounds such as tannins, flavonoids, and xanthones in mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.). Tanin content in mangosteen skin extract has antioxidant ability that can inhibit lipid peroxidation and inhibit the initiation of free radical arrangement. Flavonoids and xanthones have antioxidant ability that can decrease ROS (reactive oxygen species). The activity of xanthones, flavonoids, and tannins as antioxidants can improve the performance of growth factor as a trigger to the differentiation and proliferation of stem cells so as to function as a growth factor stem scl²⁰. Based on the results of this study it can be concluded that the addition of Mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.) on MSC can improve the proliferation ability of MSC and is

proportional to FGF. In addition, the addition of mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana* L.) may increase the ability of MSC to differentiate into osteoblasts.

References

1. Pejčić A, Kojović D, Mirković D, Minić I. Stem Cell For Periodontal Regeneration. *Balkan J Med Genet*. 2013; 7-12.
2. Gutierrez-Orozco F, Failla ML. Biological Activities and Bioavailability of Mangosteen Xanthones: A Critical Review of the Current Evidence. *Nutrients*. 2013; 5: 1-21.
3. Ovalle-Magallanes B, Eugenio-Pérez D, Pedraza-Chaverri J. Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.): A Comprehensive Update. *Food Chem Toxicol*. 2017; 109: 102-122.
4. Jindarat S. Xanthones from Mangosteen (*Garcinia mangostana*): Multi-Targeting Pharmacological Properties. *J Med Assoc Thai*. 2014; 97: S196-201
5. Padua LS, Bunyapraphatsara N, Lemmens RHMJ. *Plant Resources of South East Asia. Medicinal and Poisonous Plant*. 1st ed. Bogor Indonesia; 2000: 139-148.
6. Hendiani I, Hadidjah D, Susanto A, Pribadi IMS. The Effectiveness of Mangosteen Rind Extract as Additional Therapy on Chronic Periodontitis (Clinical trials). *Padjadjaran J Dent*. 2017; 29(1): 64-70.
7. Freshney RI. *Culture of Animal Cells a Manual of Basic Technique*. 4 ed. Canada: Wiley-Blackwell; 2000: p329-43.
8. Caplan AI, Bruder SP. Mesenchymal Stem Cells: Building Blocks for Molecular Medicine in The 21st Century. *Trends Mol Med*. 2001; 7: 259-64.
9. Barthold PM, Shi S, Gronthos S. Stem Cell and Periodontal Regeneration. *Periodontol*. 2000. 2006; 40: 164-72.
10. Tuan RS, Boland G, Tuli R. Adult Mesenchymal Stem Cells and Cell-Based Tissue Engineering. *Arthritis Res Ther*. 2003; 5: 32-45.
11. Kara K, Tomar PC. Stem Cell: Basics, Classification and Application. *American J Phytomedicine Clin Ther*. 2014; 2(7): 919-30.
12. Putri IP. Effectivity of Xanthone of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Rind As Anticancer. *Med J Lampung University*. 2015; 4(1): 33-8.
13. Ramesh S, Priya MK, Prabhu S. Isolation of Garcinone E from *Garcinia mangostana* Linn and Its Cytotoxic Effect on Sp2/0 Cell Lines. *J Pharmacog Phytochem*. 2017; 6(5): 67-68.
14. Manimekalai I, Sivakumari K, Ashok K, Rajesh S. Antioxidant and Anticancer Potential of Mangosteen Fruit, *Garcinia mangostana* Against Hepatocellular Carcinoma (HePG-2) Cell Line. *World J Pharm Pharmaceutical Sci*. 2016; 5: 253-93.
15. Ekuni D, Battino M, Tomofuji T, Putnins EE. *Studies on Periodontal Disease Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*. London: Springer Science & Business Media; 2014: 42.
16. Liu Q, Li D, Wang A, Dong Z, Yin S, Zhang Q, Ye Y, Li L, Lin L. Nitric Oxide Inhibitory Xanthones From The Pericarps of *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*. 2016; 131: 115-23.
17. Yun YR, Won JE, Jeon E, Lee S, Kang W, Jo H, Jang JH, Shin US, Kim HW. Fibroblast Growth Factors: Biology, Function, and Application for Tissue Regeneration. *J Tissue Eng*. 2010; 2010: 1-18.

18. Aisha AFA, Abu-Salah KM, Ismail Z, Majid AMSA. In Vitro and In Vivo Anti-Colon Cancer Effects of Garcinia Mangostana Xanthones Extract. *BMC Complement Altern Med.* 2012; 12(104): 1-10.
19. Simandjuntak RM, Soesanto R, Permatasari D. The Effect of Mangosteen Rind on Fibroblasts Proliferation in Wound Healing Process Post Tooth Extraction of Rat. *Oral Maxillofac Surg J.* 2014; 3(1): 23-31.
20. Ibrahim MY, Hashim NM, Mariod AA, Mohan S, Abdulla MA, Abdelwahab SI, Arbab IA. α -Mangostin from *Garcinia mangostana* Linn: An Updated Review Of Its Pharmacological Properties. *Arabian J Chem.* 2016; 9: 317-29

Figure Legend

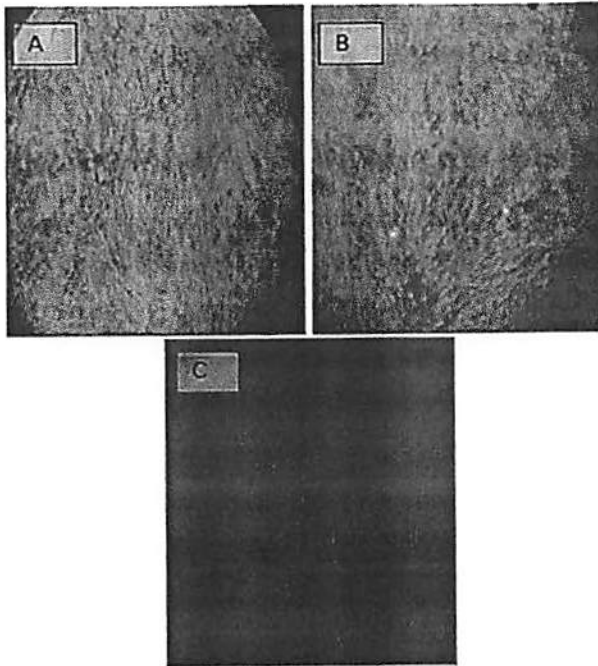


Figure 1: A description of MSC fibroblastic proliferation in the media. (A) control group. (B) MSC + FGF. (C) MSC + mangosteen skin extract

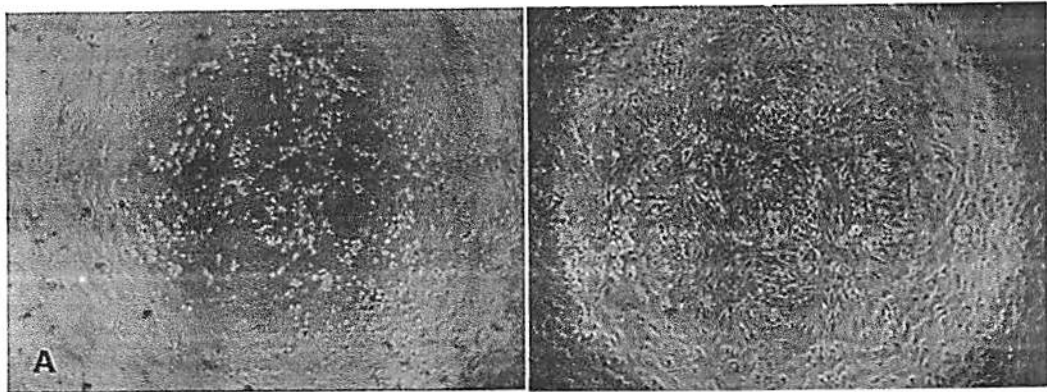


Figure 2 : Differentiation of osteoblasts in MSC cultures combined with mangosteen skin (A) and MSC cultures (B).

Table Legend

Table 1: Result of MTT assay

No	OD media	OD Cell control	OD MSC+FGF	OD MSC+mangosteen skin extract	Viability cell MSC+FGF (%)	Viability cell MSC+mangosteen skin extract s (%)
1	0.07	0.356	0.448	0.634	132.17	197.20
2	0.074	0.352	0.444	0.634	133.09	201.44
3	0.074	0.376	0.446	0.586	123.17	169.54
Average					129.48	189.39

OD : optical density

Table 2: Test results of Levene test and independent t test viability cell

	N	X	SD	Levene test (sig)	Independent t test (sig)
MSC + FGF	3	129.48	0.055	0.071	0.019
MSC + mangosteen skin extract	3	189.39	0.173		



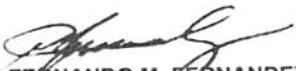
CERTIFICATE OF PARTICIPATION

is hereby presented to

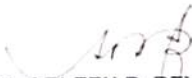
Ira Arundina

for actively participating in the
E-POSTER PRESENTATIONS OF THE SCIENTIFIC PROGRAM
held on May 7-10, 2018.

Given this 10th day of May, 2018
at the SMX Convention Center, Pasay, Manila, Philippines


DR. FERNANDO M. FERNANDEZ
General Chairman, 40th Asia Pacific Dental Congress
President, Asia Pacific Dental Federation /
Asia Pacific Regional Organization FDI


DR. GISELLE YUMUL
Chair
Scientific Program Committee


DR. ARLEEN R. REYES
General Chair, 109th PDA Annual Convention
& Scientific Sessions
President-elect, Philippine Dental Association



FORMULIR EVALUASI ATAS CAPAIAN LUARAN KEGIATAN

Ketua : Dr. drg IRA ARUNDINA S.K.G, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
Judul : KULIT MANGGIS (*Gracinia mangostana*L)SEBAGAI GROWTH FACTOR
STEM SEL UNTUK TERAPI PERIODONTITIS
Skema : Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi
Waktu Kegiatan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun

LUARAN YANG DIRENCANAKAN DAN JUMLAH CAPAIAN

No	Luaran yang Direncanakan	Jumlah Capaian
1	Publikasi ilmiah	2
2	Artikel ilmiah dimuat di prosiding (Pemakalah)	1

CAPAIAN DISERTAI DENGAN LAMPIRAN BUKTI-BUKTI LUARAN KEGIATAN**1. PUBLIKASI ILMIAH**

	Keterangan
Artikel jurnal ke-1.	
Nama jurnal yang dituju	Journal of International Dental and Medical Research
Klasifikasi jurnal	Internasional
Impact factor jurnal	1
Judul artikel	MANGOSTEEN SKIN (<i>Gracinia mangostana</i> L) AS STEM CELL GROWTH FACTOR
Status naskah	Sudah diterima
Artikel jurnal ke-2.	
Nama jurnal yang dituju	Journal of International Dental and Medical Research
Klasifikasi jurnal	Internasional
Impact factor jurnal	1
Judul artikel	MANGOSTEEN SKIN(<i>Gracinia mangostana</i> L)AS STEM CELLGROWTH FACTOR FOR PERIODONTITIS THERAPY IN MICE
Status naskah	Draf artikel

2. BUKU AJAR

	Keterangan
--	------------

3. PEMBICARA PADA PERTEMUAN ILMIAH (SEMINAR/SIMPOSIUM)

	Keterangan
Pertemuan Ilmiah ke-1.	
Judul Makalah	MANGOSTEEN SKIN(Gracinia mangostana L)AS STEM CELLGROWTH FACTOR
Nama Pertemuan Ilmiah	40th Asia Pacific Dental Congress
Tempat Pelaksanaan	Manila Philippine
Waktu Pelaksanaan	5/7/2018 12:00:00 AM
Jenis Pertemuan	Internasional
Status naskah	Sudah dilaksanakan

4. SEBAGAI INVITED SPEAKER

	Keterangan
--	------------

5. UNDANGAN SEBAGAI VISITING SCIENTIST PADA PERGURUAN TINGGI LAIN

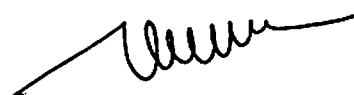
	Keterangan
--	------------

6. CAPAIAN LUARAN LAINNYA

Capaian	Uraian

, 15 - 11 - 2018

Ketua,


(Dr. drg IRA ARUNDINA S.K.G, M.Si)

