

**PENGARUH (+)-2,2'-Episitokirin A  
DALAM MENURUNKAN PERADANGAN HATI MENCIT  
(*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Staphylococcus aureus***

**THE EFFECT OF (+)-2,2'-EPICYTOSKYRIN A  
IN DECREASING LIVER INFLAMMATION INDUCED BY  
*Staphylococcus aureus* IN MICE (*Mus musculus*)**

N. L. P. Rischa Phadmacanty, Dewi Wulansari, Kartika D. Palupi, Andria Agusta

Pusat Penelitian LIPI, Jl. Raya Jakarta Bogor Km.46, Cibinong 16911  
e-mail: rischa\_phadmacanty@yahoo.co.id

(diterima Maret 2016, direvisi September 2016, disetujui November 2016)

**ABSTRAK**

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi baik hewan, tumbuhan, maupun mikroorganisme. *Diaporthe* sp. merupakan jamur endofit yang hidup pada tumbuhan gambir. Jamur ini dapat memproduksi metabolit sekunder yang bernama (+)-2,2'-Epicytoskyrin A. Senyawa tersebut memiliki kemampuan sebagai antimikrobia terutama terhadap *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi terbesar di dunia. Asia merupakan benua dengan kejadian methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) tertinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari (+)-2,2'-Epicytoskyrin A terhadap hati mencit yang terinfeksi *S. aureus*. Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit jantan. Mencit dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Perlakuan pertama merupakan kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kedua sebagai kontrol positif (perlakuan *S. aureus*) kelompok ketiga diinjeksi *S. aureus* dan dicekok (+)-2,2'-Epicytoskyrin A dosis 50 mg/kg BB (P1), kelompok keempat diinjeksi *S. aureus* dan dicekok (+)-2,2'-Epicytoskyrin A dosis 100 mg/kg BB (P2) dan kelompok kelima diinjeksi dengan *S. aureus* kemudian dicekok (+)-2,2'-Epicytoskyrin A dosis 200 mg/kg BB (P3). Hewan uji dinekropsi dan dikoleksi hatinya untuk histologi. Hasil pemeriksaan histopatologis memperlihatkan adanya peradangan pada hati semua perlakuan kecuali kontrol negatif. Dosis efektif (+)-2,2'-Epicytoskyrin A yang dapat mengurangi tingkat peradangan akibat infeksi *S. aureus* adalah 50 mg/kg BB.

**Kata kunci:** (+)-2,2'-Epicytoskyrin A, *Staphylococcus aureus*, hati mencit, peradangan

**ABSTRACT**

Indonesia has high biodiversity of animal, plant and also microorganism. *Diaporthe* sp. is an endophytic fungus that lives in gambier plant. This fungus can produce secondary metabolites names (+)-2,2'-Episitokirin A. This metabolite has an ability as antimicrobes especially for *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* is one of bacteria that cause the largest infection case in the world. Asia is the highest continent that has insident methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). Our present study was aimed on knowing the effect of (+)-2,2'-Episitokirin A for mice liver that infected by *S. aureus*. Thirty male mice were used in this study and divided in to 6 groups of 6 treatments. First group was the negatif control (no treatment), second group as a positif control (treated by *S. aureus*), third group as a P1 treated by *S. aureus* and (+)-2,2'-Episitokirin A dosage 50 mg/kg bw, fourth group as a P2 treated by *S. aureus* and (+)-2,2'-Episitokirin A dosage 100 mg/kg bw dan fifth group treated by *S. aureus* and (+)-2,2'-Episitokirin A dosage 200 mg/kg bw. Sacrificed and the liver were collected for histopathological examination. Result of this study demonstrated that liver inflammation found in all treatment group. Effective dose of (+)-2,2'-Episitokirin A for reducing liver inflammation is 50 mg/kg BB.

**Keywords:** (+)-2,2'-Episitokirin A, *Staphylococcus aureus*, mice liver, inflammation

**PENDAHULUAN**

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi, salah satunya adalah tumbuhan gambir. Tumbuhan gambir ditumbuhi oleh suatu jamur endofit bernama *Diaporthe* sp. Jamur *Diaporthe* sp.

dapat menghasilkan suatu metabolit sekunder, salah satunya yaitu (+)-2,2'-Episitokirin A (Agusta *et al.* 2006). Senyawa ini memiliki sifat sitotoksik terhadap sel KB dengan nilai IC<sub>50</sub> 0,5 ug/ml Senyawa (+)-2,2'-Episitokirin A juga memiliki kemampuan menghambat

aktivitas bakteri Gram positif dan Gram negatif, salah satunya aktif terhadap *S. aureus* dengan nilai konsentrasi hambat minimum 0,06 ug/mL (Agusta *et al.* 2011).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab kasus infeksi terbesar di dunia, baik pada suatu komunitas umum maupun pada fasilitas kesehatan. Asia merupakan benua dengan insiden methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) tertinggi, dimana pada kejadian ini antibiotik methisilin tidak dapat mengobati penyakit karena infeksi *S. aureus*. Studi epidemiologi mengenai MRSA di Indonesia menunjukkan bahwa tingkat MRSA di Indonesia melalui program *Regional Resistance Surveillance* (RSS) pada tahun 2011 mencapai 28% (Chen & Huang 2014).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri utama penyebab infeksi nosokomial yang terjadi di rumah sakit ataupun di fasilitas kesehatan lainnya. Infeksi pada kulit biasanya terjadi karena adanya kontak langsung, sedangkan infeksi pada organ dalam dapat terjadi karena ketidaksterilan alat operasi (Gladwin & Trattler 2011). Sifat pathogen *S. aureus* pada kelinci diketahui dapat menimbulkan peradangan pada kulit dan jaringan dibawah kulit yang kemudian dapat berkembang ke jaringan internal seperti jantung, ginjal, paru-paru, limpa dan testis (Richard 1997).

Mencit merupakan salah satu jenis hewan uji yang banyak digunakan untuk penelitian obat. Penelitian mencit sebagai model penyakit infeksi *S.aureus* telah dilakukan dan menunjukkan bahwa mencit memberikan respon serupa dengan manusia yang terinfeksi

bakteri tersebut (Kim *et al.* 2014). Pengembangan senyawa (+)-2,2'-Episitokirin A sebagai kandidat antibiotik guna mengatasi permasalahan akibat infeksi *S. aureus* secara *invivo* perlu dikembangkan. Berdasarkan hal tersebut diatas perlu dilakukan observasi untuk mengetahui potensi senyawa (+)-2,2'-Episitokirin A dalam mengurangi tingkat peradangan akibat infeksi *S. aureus* secara histopatologis dengan menggunakan mencit sebagai hewan uji.

## METODE

Pada penelitian ini digunakan 30 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) strain DDY yang diperoleh dari Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) Gunung Sindur, Bogor. Hewan uji dibagi menjadi enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol yang hanya diinjeksi fosfat buffer salin (K), injeksi *S. aureus* intra peritonium (i.p.). (K+), injeksi *S. aureus* i.p. dan pemberian (+)-2,2'-Episitokirin A dosis 50 mg/kg BB per oral (p.o.) (P1), injeksi *S. aureus* i.p. dan (+)-2,2'-Episitokirin A dosis 100 mg/kg BB p.o.(P2), injeksi *S. aureus* i.p. dan (+)-2,2'-Episitokirin A dosis 200 mg/kg BB p.o. (P3). Pakan yang diberikan merupakan pakan mencit produksi Balai Besar Pengujian Makanan dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) Gunung Sindur dan air minum diberikan *ad libitum*. Semua hewan uji diaklimatisasi untuk proses adaptasi selama 2 minggu.

Pada hari pengujian, (+)-2,2'-Episitokirin A diberikan pada hewan uji di kelompok P1, P2, dan P3 secara sub kutan pada tengkuk mencit. Empat jam kemudian, suspensi

bakteri *S. aureus* dalam *phosphat buffer saline* ( $10^5$  cfu) diinjeksikan secara intra peritonium di bagian abdomen mencit, kecuali untuk kelompok K. Pada hari keempat belas, hewan uji dietanasi dengan ether *overdose* dan diambil organ hatinya untuk kemudian dibuat preparat histologi dan diwarnai dengan hematoksilin eosin. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari komisi etik Kementerian Kesehatan No. LB.02.01/15.2/KE.001/2014.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian menunjukkan bahwa peradangan pada hati terjadi pada semua perlakuan kecuali kontrol negatif (tanpa infeksi bakteri). Peradangan terberat ditemukan pada mencit diinfeksi *S. aureus* yang diberi perlakuan (+)-2,2'-Episitoskirin A dosis 150 mg/kg BB, sedangkan peradangan teringan terjadi pada mencit yang diinfeksi *S. aureus* yang diberi perlakuan (+)-2,2'-Episitoskirin A dosis 50 mg/kg BB. Mencit yang diinfeksi *S. aureus* tanpa perlakuan (+)-2,2'-Episitoskirin A (kontrol positif) menunjukkan tingkat peradangan yang sama dengan mencit terinfeksi *S. aureus* dengan perlakuan (+)-2,2'-Episitoskirin A dosis 100 mg/kg BB.

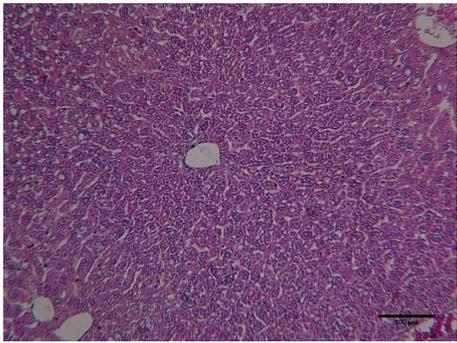
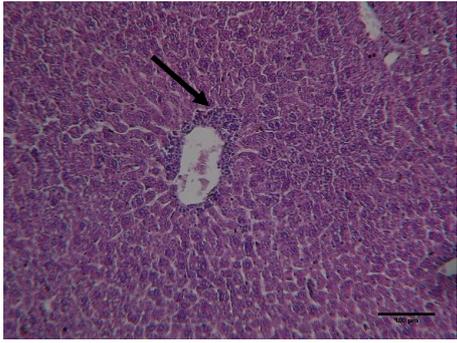
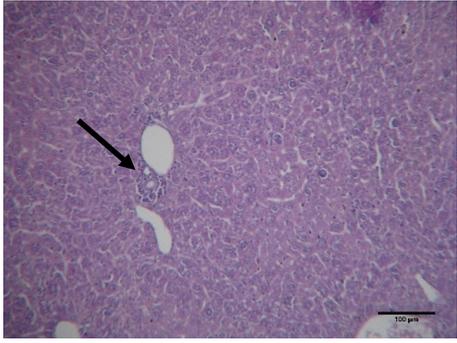
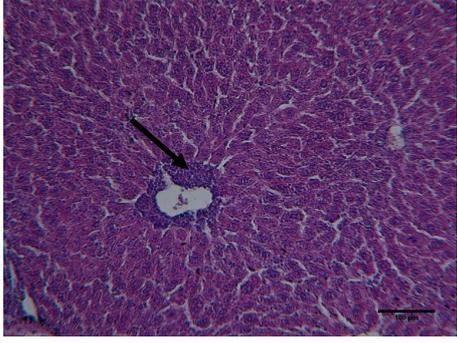
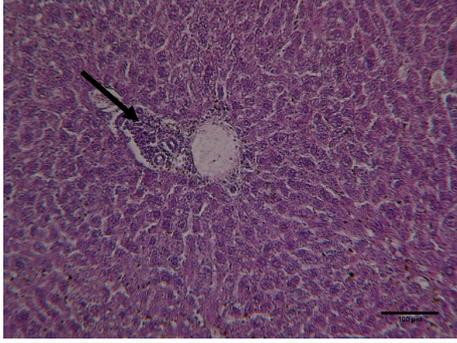
Peradangan merupakan respon dasar tubuh terhadap infeksi, iritasi atau cedera lainnya yang ditandai dengan kemerahan, hangat, bengkak dan nyeri. Inflamasi dapat terjadi karena berbagai hal, misalnya tekanan mekanik, benda asing (bakteri atau bahan kimia), getaran, ataupun tekanan kronis dengan intensitas rendah (Stankov 2012). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang diketahui memiliki eksotoksin, dimana toksin

tersebut dapat menyebabkan peradangan bila diinjeksikan pada kulit kelinci yang berakibat pada pelebaran pembuluh darah, kemotaksis dan infiltrasi sel leukosit morfonuklear yang berakibat pada karioreksis sel dan nekrosis jaringan (Siqueira *et al.* 1997). Penelitian Sutrisno & Purwandari (2004) terhadap ikan nila yang diinjeksi *S. aureus* secara intraperitoneal juga menunjukkan adanya peradangan dan tingkat kematian yang lebih tinggi dibandingkan dengan injeksi intramuskuler.

Hasil penelitian menunjukkan adanya peradangan yang didominasi oleh sel polimorfonuklear dan limfosit. Hasil ini sesuai dengan laporan Wagner (2005) yang menunjukkan bahwa *S. aureus* menyebabkan adanya infiltrasi sel-sel leukosit pada bagian yang terinfeksi. Peradangan yang terjadi akibat bakteri ini berbeda dengan peradangan yang terjadi akibat bakteri lain yang mana ditandai dengan komposisi sel radang berupa sel polimorfonuklear yang dominan dan disertai adanya limfosit T dan B. Respon imun terhadap *S. aureus* melompati tahapan fagositosis dikarenakan bakteri ini mampu membentuk biofilm yang dapat melindungi bakteri tersebut dari sistem imun. Sel fagosit akan mengirim sinyal pada sel polimorfonuklear untuk menginduksi apoptosis sel yang terinfeksi. Kegagalan dalam apoptosis dapat mengakibatkan peradangan akut hingga kronis (Wagner 2005).

Senyawa (+)-2,2'-Episitoskirin A sendiri diketahui memiliki efek toksik berupa degenerasi hidrofik dan degenerasi lemak terhadap hati mencit yang diberi (+)-2,2'-

**Tabel 1.** Perubahan histopatologi organ hati mencit berbagai perlakuan.

Perlakuan	Tingkat peradangan	Gambar
K (tanpa perlakuan)	-	
K+ ( <i>S. aureus</i> )	++	
P1 ( <i>S. aureus</i> + Epi 50 mg/kg BB)	+	
P2 ( <i>S. aureus</i> + Epi 100 mg/kg BB)	++	
P3 ( <i>S. aureus</i> + Epi 150 mg/kg BB)	+++	

Episitokirin A selama 90 hari berturut-turut (Phadmacanty 2015). Penelitian Hardisty & Brix (2005) mengenai efek toksik suatu senyawa terhadap perubahan histologis jaringan menunjukkan adanya gejala seperti degenerasi lemak, nekrosis sentrolobularis, fibrosis, hipertrofi sentrolobuler dan hepatosit multinukleus, namun tidak menunjukkan adanya peradangan. Cedera jaringan akibat toksisitas episitokirin berbeda dengan gejala yang ditunjukkan akibat infeksi *S. aureus*, dimana pada infeksi *S. aureus* peradangan terjadi dan didominasi oleh sel polimorfonuklear, sedangkan karena toksisitas episitokirin tidak menunjukkan adanya reaksi radang.

Pada penelitian ini diketahui bahwa (+)-2,2'-Episitokirin A dosis 50 mg/kg BB menunjukkan penurunan tingkat peradangan dibandingkan dengan kontrol positif. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *S. aureus* sehingga menghindarkan terjadinya pelepasan eksotoksin oleh *S. aureus* yang berakibat pada terjadinya peradangan pada hati mencit. (+)-2,2'-Episitokirin A diketahui memiliki aktivitas antimikrobia cukup baik terhadap kultur *S. aureus* secara *in vitro*. Senyawa ini menyebabkan *alterasi* membran sel *S. aureus* dengan meningkatkan *effluk* kation tanpa menyebabkan keluarnya isi sel.

Selain itu senyawa ini juga dapat menyebabkan pembentukan lubang kecil pada bakteri tersebut dengan mekanisme tersebut diatas. Melalui mekanisme tersebut, peradangan akibat *S. aureus* dapat dikurangi (Agusta *et al.* 2015).

Pemberian (+)-2,2'-Episitokirin A dengan dosis tinggi justru menunjukkan tingkat peradangan yang lebih tinggi pada hati. Ontario Medical Association (2013) menyatakan bahwa antibiotik akan berhenti bekerja atau kehilangan kemampuan dalam melawan bakteri pada dosis tertentu tanpa memberikan efek patologis pada pasien yang berarti bahwa senyawa (+)-2,2'-Episitokirin A akan kehilangan kemampuannya sebagai antibakteri sehingga tidak mampu menurunkan peradangan yang disebabkan oleh *S. aureus* pada dosis diatas 50 mg/kg BB. Perlakuan (+)-2,2'-Episitokirin A dosis 150 mg/kg BB juga menunjukkan tingkat peradangan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan injeksi *S. aureus* tanpa perlakuan (+)-2,2'-Episitokirin A (kontrol positif). Selain itu perlakuan (+)-2,2'-Episitokirin A dosis 100 mg/kg BB juga memiliki tingkat peradangan yang sama dengan kontrol positif. (+)-2,2'-Episitokirin A dalam dosis tinggi diketahui dapat meningkatkan terjadinya kerusakan sel hati berupa degenerasi lemak sehingga mengurangi kemampuan

regenerasi sel hati dalam mengatasi peradangan akibat *S. aureus* (Phadmacanty, 2015). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa (+)-2,2'-Episitoskirin A dosis 50 mg/kg BB efektif untuk mengurangi peradangan hati mencit akibat infeksi *S. aureus* secara intraperitoneal.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada proyek kompetitif LIPI yang telah membiayai penelitian ini. Bapak Lukman Hafid selaku teknisi Laboratorium Kimia Bahan Alam Bidang Botani, Vevie Rismayasari yang membantu dalam pemeliharaan hewan uji, serta Yulianto selaku teknisi Laboratorium Reproduksi idang Zoologi yang telah membantu dalam pembuatan preparat histologi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Gwad, A. M., Abdel-Rahman, A. A. & Ali, M. M. (2004). Significance of *Staphylococcus aureus* in rabbit in Assiut governate. *Assiut University Bulletin of Environmental Researches*. 7(1), 77-84.
- Agusta, A., Ohashi, A. & Shibuya, A. (2006). Bisanthraquinon metabolites produced by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. *Chememical and Pharmaceutical Bulletin*. 54 (4).. 579-582.
- Agusta, A., Jamal, Y., Praptiwi, Nurkanto, A. & Fathoni, A. (2011). *Senyawa (+)-2,2'-Episitoskirin A sebagai bahan obat antibakteri dan antikanker*. No. Pendaftaran Paten P00201100625.
- Agusta, A., Wulansari, D., Jamal, Y., Nurkanto, A., Praptiwi, & Fathoni, A. (2015). Antibacterial activity and mode of action of (+)-2,2'-Episitoskirin A. *Microbiology Indonesia*. 9 (1). 35-43.
- Chen, C. J. & Huang, Y. C. (2014). New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*. 20 (7). 605-623.
- Gladwin, M. & Trattler, B. (2003). *Clinical microbiology made ridiculously simple* (pp. 31-33). US: MedMaster.
- Hardisty, J. F. & Brix, A. E. (2005). Comparative hepatic toxicity: prechronic/chronic liver toxicity in rodent. *Toxicology Pathology*. 33. 35-40.
- Kim, H. K., Missiakas, D. & Schneewind, O. (2014). Mouse models for infectious disease cause by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Immunological Methods*. 410. 88-99
- Ontario Medical Assosiation. (2013). *When antibiotic stop working* (pp. 27-43). Ontario: Ontario Medical Review.
- Phadmacanty, N. L. P. R. (2015). *Toksisitas subkronis (+)-2,2'-Episitoskirin A dari jamur endofit Diaporthe sp. tumbuhan gambir (Uncaria gambir Robx. ada mencit (Mus musculus L.)*. (Tesis). Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Siqueira, J. A., Speeg-schatz, C., Freitas, F. I. S., Sahel, J. H., Montell, H. & Prevost, G. (1997). Channel-forming leucotoxins from *Staphylococcus aureus* cause severe inflammatory reactions in rabbit eye model. *Journal of Medical Microbiology*. 46. 486-494.
- Stankov, S. V. (2012). Definition of inflammation, causes of inflammation and possible anti-

- inflammatory strategies. *The inflammation journal*. 5. 1-9.
- Sutrisno, B. & Purwandari, Y. (2004). Lesi patologic organ dan jaringan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus* sp. *Jurnal Sain Veteriner*. XXII(1). 18-26.
- Wegner, C., Iking-Konert, C., Hug, F., Stegmaler, S., Heppert, V., Wentzensen, A. & Hansch, G.M. (2005). Cellular inflammatory response to persistent localized *Staphylococcus aureus* infection: phenotypical and functional characterization of polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Clinical experimental immunology*. 143. 70-77.