

PENGARUH EKSTRAK KULIT MANGGIS (GARCINIA MANGOSTANA L.) TERHADAP JUMLAH KELAINAN HISTOPATOLOGI STRIA VASKULARIS KOKLEA PADA OTOTOKSISITAS (STUDI EKSPERIMENTAL PADA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI GENTAMISIN)

Mohammad Rifqi Fathoni¹, Yanuar Iman Santosa²

¹ Mahasiswa Program S-1 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu THT-KL, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang Gentamisin merupakan salah satu obat golongan aminoglikosida yang sangat luas penggunaannya. Namun, penggunaan obat gentamisin dapat menimbulkan efek samping berupa ototoksik, sehingga diperlukan upaya untuk mengurangi atau bahkan mencegah timbulnya efek samping tersebut. Salah satu upaya adalah penggunaan zat antioksidan yang terdapat dalam kulit (pericarp) manggis.

Tujuan Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap jumlah kelainan histopatologi dan indeks apoptosis sel rambut koklea pada ototoksitas gentamisin

Metode Penelitian ini menggunakan *true experimental with post-test only control group design* yang menggunakan tikus wistar sebagai subjek penelitian. Tikus wistar dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi apa – apa, kelompok kontrol positif diinduksi gentamisin secara intraperitoneal dengan dosis 120 mg/KgBB selama 25 hari dan kelompok perlakuan diinduksi gentamisin secara intraperitoneal dengan dosis 120 mg/KgBB selama 25 hari diikuti pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) secara per oral dengan dosis 100 mg/KgBB pada hari ke -12 sampai dengan hari ke - 25, kemudian diterminasi untuk dinilai jumlah kelainan histopatologi dan indeks apoptosis. Analisis data diolah menggunakan uji Chi-Square

Hasil Terdapat perbedaan jumlah kelainan histopatologi yang tidak signifikan antara kelompok yang diberikan gentamisin saja dan kelompok yang diberikan gentamisin dan ekstrak kulit manggis dengan nilai $p = 1,000$ ($p > 0,05$). Sedangkan apoptosis tidak tampak pada preperat koklea.

Kesimpulan Jumlah kelainan histopatologi koklea pada kelompok yang diinduksi gentamisin kemudian diberikan ekstrak kulit manggis lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang hanya diinduksi gentamisin namun tidak signifikan..

Kata Kunci Ekstrak Kulit Manggis, gentamisin, tikus wistar, jumlah kelainan histopatologi, indeks apoptosis.

ABSTRACT

EFFECT OF MANGOSTEEN PEEL EXTRACT TO NUMBER OF HISTOPATHOLOGIC ABNORMALITIES IN STRIA VASKULARIS OF COCHLEA ON OTOTOXICITY (EXPERIMENTAL STUDY ON WISTAR RAT INDUCED BY GENTAMICIN)

Background Gentamicin is one of the most widely used drugs of aminoglycoside. However, the use of gentamicin drugs can cause ototoxicity, so it takes effort to reduce or even prevent

the occurrence of side effects. One effort is to use the antioxidant substances contained in the peel of mangosteen.

Aim Determine the effect of mangosteen peel extract (*Garcinia mangostana* L.) on the number of histopathologic abnormalities and apoptotic index of cochleal cell cells in gentamicin ototoxicity.

Method: This study used true experimental with post-test only control group design using wistar rats as research subjects. Wistar rats divided into three group. The first group is negative control group which is not induced by anything, positive controlgroup is induced by gentamicin intraperitonally with dose of 120 mg / KgBB for 25 days and treatment group is induced by gentamicin intraperitonally with dose of 120 mg / KgBB for 25 days followed by mangosteen peel extract (*Garcinia mangostana* L.) orally with dose of 100 mg / KgBB on the 12th day up to the 25th day, then terminated to assess the number of histopathological abnormalities and apoptotic index. Data analysis was processed using Chi-Square test

Result: There was non significant difference in the number of histopathologic abnormalities between the groups given gentamycin alone and the group given gentamicin and mangosteen peel extract with $p = 1,000$ ($p > 0.05$). While apoptosis is not visible on cochlear preparations.

Conclusion: The number of cochlear histopathologic disorders in the gentamicin and mangosteen peel extract induced group was lower compared to the group induced only by gentamicin but not significant

Keyword: Mangosteen Peel Extract, Gentamicin, Wistar Rat, The Number of Cochlear Histopathologic disorder, Apoptotic Index.

PENDAHULUAN

Ototoksik merupakan efek merugikan yang disebabkan oleh beberapa golongan obat seperti aminoglikosida, kemoterapi, *Non-steroid inflammatory drugs* (NSID), *loop diuretics*, dan anti malaria. Selain itu, efek ototoksik juga telah ditemukan pada beberapa kasus penggunaan obat – obatan lain.¹

Obat – obatan ototoksik dapat mengakibatkan kerusakan dalam pengolahan suara pada berbagai tempat di telinga. Banyak penelitian yang mencoba menjelaskan penyebab dan patofisiologi dari efek ototoksik ini. Disebutkan terdapat berbagai jalur yang dapat mengakibatkan efek ototoksik tersebut muncul. Jalur

ototoksik pada obat – obatan aminoglikosida adalah pembentukan *Reactive Oxidative Species* (ROS), *Nitrite Oxyde* (NO) dan penghambatan pembentukan antioksidan alami sehingga tidak mampu untuk menetralkan ROS yang terbentuk. Selain itu, adanya ROS yang berlebih juga dapat menginduksi kematian sel yang diperantarai jalur intrinsik yaitu melalui jalur pelepasan *cytochrome c* dan aktivasi dari caspase-8,9,3 yang menginduksi terjadinya apoptosis sel rambut koklea dan komponen saraf sehingga mengakibatkan degenerasi pada sel – sel rambut dan komponen saraf terutama di daerah koklea.^{2,3}

Salah satu obat yang dapat menimbulkan efek ototoksik adalah obat – obatan golongan aminoglikosida.⁴ Gentamisin merupakan jenis obat yang paling banyak digunakan daripada obat – obatan aminoglikosida yang lain. Hal tersebut dikarenakan harga obat gentamisin yang relatif lebih murah. Namun, meskipun begitu setiap obat golongan aminoglikosida memiliki keefektifan yang relatif sama.⁵

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui senyawa alfa-mangostin memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan beberapa macam ROS seperti singlet oksigen, anion superoksida, dan anion peroksinitrit.⁶ Mekanisme antioksidan spesifik juga ditunjukkan oleh α -mangostin. Kemampuannya untuk mencegah proses peroksidasi lipid yang dipengaruhi oleh ROS semakin menguatkan potensinya dalam mencegah disfungsi pada mitokondria sel. Beberapa jenis toksin peroksida seperti: FeSO₄, asam quinolat, dan asam 3-nitropropionat telah diujikan pada hewan coba dan diteliti bagaimana peranan antioksidan yang diberikan. Terbukti bahwa α -mangostin mampu menetralkan radikal bebas tersebut dan menimbulkan efek proteksi secara luas.⁷ Sehingga dapat disimpulkan peran kulit manggis berhubungan dengan

patofisiologi terjadinya efek ototoksik pada gentamisin.

METODE

Penelitian ini merupakan bentuk penelitian *true experimental with post-test only control group design* yang menggunakan tikus wistar sebagai subjek penelitian. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang untuk perlakuan hewan coba dan pembuatan ekstrak kulit manggis. Laboratorium Teknik Pangan UNIKA Semarang untuk mengecek komposisi ekstrak dan uji aktivitas antioksidan, dan Laboratorium Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk nekropsis hewan coba dan untuk pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi koklea. Penelitian dilakukan pada April sampai Juni 2017. Kriteria inklusi penelitian ini adalah tikus wistar umur 8 minggu, berat badan 150-200 gram, dan tikus wistar sehat dan aktif. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah terdapat kelainan anatomis pada tikus wistar dan kriteria drop out Tikus wistar mati saat penelitian dan sebelum tiba waktu pengambilan hasil.

Sampel diambil dengan cara *simple random sampling* dan dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok kontrol negatif yang

tidak diinduksi gentamisin secara intraperitoneal dan tidak diberikan ekstrak kulit manggis secara per oral, kelompok kontrol positif yang diinduksi gentamisin tanpa pemberian ekstrak kulit manggis secara per oral, dan kelompok perlakuan yang diinduksi gentamisin secara intraperitoneal dan pemberian ekstrak kulit manggis secara per oral. Berdasarkan kriteria hewan coba WHO besar sampel didapatkan minimal 5 sampel tiap kelompok dengan 1 sampel cadangan pada masing – masing kelompok sehingga total terdapat enam ekor tikus wistar pada masing – masing kelompok.⁸ Kelompok kontrol negatif diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama 25 hari. Kelompok kontrol positif diinjeksi gentamisin secara intraperitoneal dengan dosis 120mg/hari setiap hari dan diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* sampai hari ke-25. Kelompok perlakuan diinjeksi gentamisin secara intraperitoneal dengan dosis 120mg/hari setiap hari dari hari ke-1 sampai hari ke-25 dan pemberian ekstrak kulit manggis dosis 100 mg/hari secara oral menggunakan sonde lambung setiap hari dari hari ke-12 sampai hari ke-25. Pada hari ke-26 dilakukan terminasi dan pengambilan sampel koklea. Kemudian dilakukan pembuatan preparat

dan pengecatan dengan HE, pada kelompok.

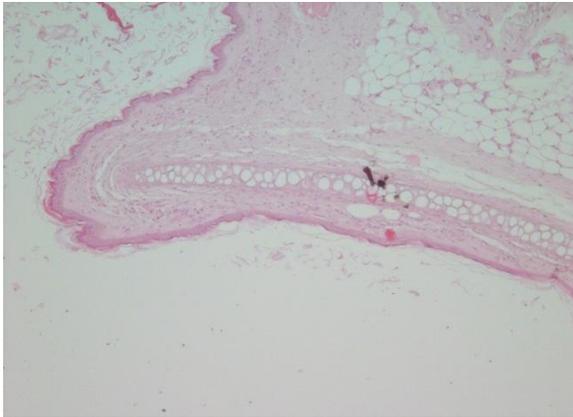
Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah jumlah kelainan histopatologi stria vaskularis koklea.

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 21.0. Pada ketiga kelompok dilakukan uji tabulasi silang dan terdapat sel yang memiliki angka frekuensi harapan < 5 sehingga uji hipotesis data nominal yakni perbedaan jumlah kelainan histopatologi stria vaskularis koklea yang terjadi pada ketiga kelompok dianalisis secara statistik menggunakan Uji *Fisher exact*.

HASIL

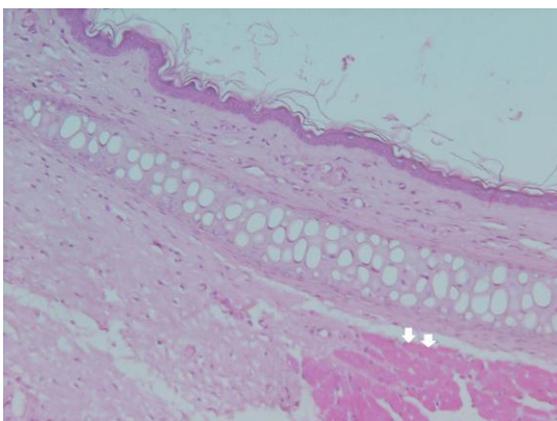
Penelitian dilakukan selama 25 hari. Selama penelitian berlangsung, terdapat satu ekor tikus wistar yang mati (*dropout*) pada kelompok perlakuan. Oleh karena itu, terdapat 17 ekor tikus wistar yang diterminasi menggunakan metode dislokasi sendi atlantooccipital, kemudian organ koklea diambil pada hari ke-26 penelitian untuk dilakukan pembuatan preparat histopatologi. Organ koklea tikus wistar yang telah dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) diamati di bawah

mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x untuk menentukan lapangan pandang yang akan diamati, perbesaran 400x dan perbesaran 1000x untuk identifikasi kelainan histopatologi. Pengamatan preparat histopatologi dilakukan oleh seorang spesialis Patologi Anatomi. Hasil pengamatan preparat dapat dilihat pada gambar berikut ini :



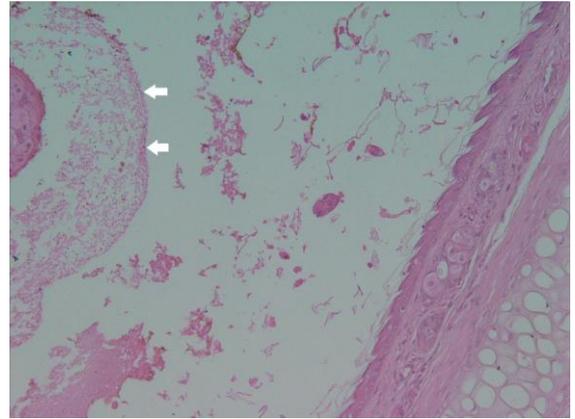
Gambar 1. Kontrol Negatif (Perbesaran 100x)

Tidak terdapat kelainan histopatologi yang bermakna



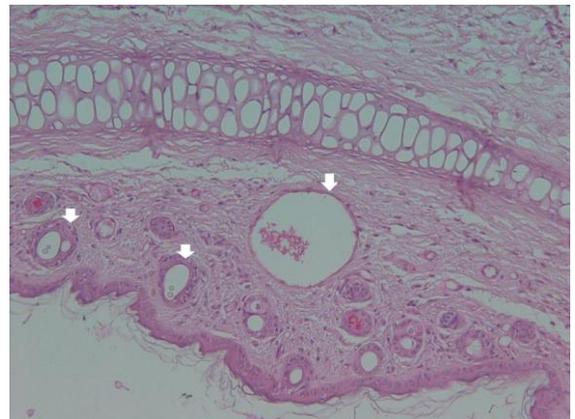
Gambar 2. Kontrol Positif (Perbesaraan 400x)

Terdapat sel radang bercampur fibrin pada lumen



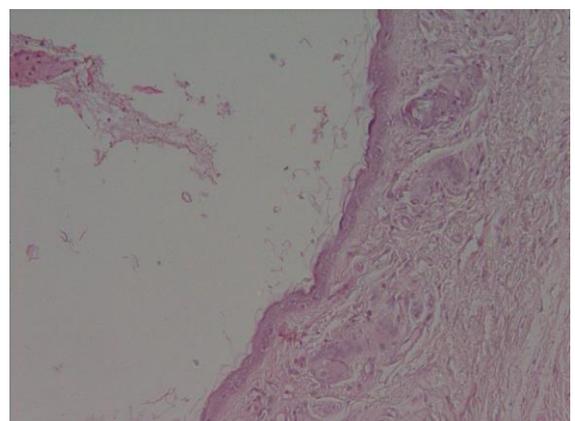
Gambar 3. Kontrol Positif (Perbesaran 400x)

Terdapat eksudat pada lumen



Gambar 4. Kontrol Positif (Perbesaran 400x)

Terdapat kista berisi eksudat pada lumen



Gambar 5. Perlakuan (Perbesaran 400x)

Terdapat perubahan histopatologi berupa sel radang bercampur fibrin di lumen

Data primer yang diperoleh dari hasil ada dan tidaknya kelainan histopatologi di koklea diolah dengan program komputer. Hasil pengolahan data ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Deskriptif

Kelompok	Histopatologi		Total
	+	-	
K (-)	0 (0%)	5 (100%)	5 (100%)
K (+)	5 (100%)	0 (0%)	5 (100%)
P	4 (80,0%)	1 (20.0%)	5 (100%)
Total	9 (60.0%)	6 (40.0%)	15 (100%)

Uji hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah uji non-parametrik *Fisher Exact*. Uji *Fisher Exact* pada ketiga kelompok didapatkan $p=0,003$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna jumlah kelainan histopatologi. Hal yang sama juga dilakukan untuk mengetahui perbedaan antarkelompok.

Tabel 2. Perbedaan Jumlah Kelainan Histopatologi Tiga Kelompok

Kelompok	Histopatologi		P
	+	-	
K (-)	0	5	0,003
K (+)	5	0	
P	4	1	

Tabel 3. Perbedaan Jumlah Kelainan Histopatologi antara K (-) dan K (+)

Kelompok	Histopatologi		P
	+	-	
K (-)	0	5	0,008
K (+)	5	0	

Tabel 4. Perbedaan Jumlah Kelainan Histopatologi antara K (-) dan P

Kelompok	Histopatologi		P
	+	-	
K (-)	0	5	0,048
P	4	1	

Tabel 5. Perbedaan Jumlah Kelainan Histopatologi antara K (+) dan P

Kelompok	Histopatologi		P
	+	-	
K (+)	5	0	1,000
P	4	1	

Tabel di atas menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara jumlah kelainan histopatologi pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,003$) dan perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p=1,000$), sedangkan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan didapatkan perbedaan yang signifikan ($p=0,048$).

PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan perbedaan jumlah kelainan histopatologi yang signifikan antara kelompok kontrol positif yang diinduksi gentamisin dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi gentamisin ($p=0,003$). Hal tersebut menunjukkan bahwa induksi gentamisin secara intraperitoneal selama 25 hari pada penelitian ini berhasil, ditandai dengan didapatkannya jumlah kelainan histopatologi koklea pada kontrol positif lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif. Bentuk kelainan histopatologi yang ditemukan pada kontrol positif antara lain terdapat sel radang bercampur fibrin di lumen, eksudat di lumen dan kista berisi eksudat.

Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dengan rute pemberian gentamisin secara intraperitoneal namun dengan dosis yang lebih rendah dan waktu pemberian lebih singkat menunjukkan sel-sel inflamasi pada kelompok yang diinduksi gentamisin lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa induksi gentamisin.⁹

Salah satu hal yang dapat memicu terjadinya inflamasi adalah kematian sel. Mekanisme ini terjadi sebagai respon

tubuh untuk membuang sel atau jaringan yang mengalami proses kematian.¹⁰

Proses kematian sel yang diakibatkan oleh induksi gentamisin dapat akibat adanya peningkatan radikal bebas yang mengaktifkan *pro-apoptotic* protein sehingga dapat menginduksi terjadinya kematian sel.¹¹

Terdapat dua jalur kematian sel pada ototoksisitas diantaranya nekrosis dan apoptosis yang berkontribusi terhadap kematian sel-sel rambut setelah ototoksisitas aminoglikosida.¹² Apoptosis merupakan bentuk dominan dari kematian sel pada kasus akut. Kedua morfologi nekrosis dan apoptosis dapat diamati pada sel-sel yang mengalami ototoksisitas aminoglikosida kronis.¹³

Salah satu teori yang banyak dipakai untuk menjelaskan terjadinya kematian sel pada reaksi ototoksisitas adalah melalui proses oksidasi yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas.^{2,3}

Salah satu upaya yang dapat digunakan untuk mengatasi jumlah radikal bebas yang berlebih akibat reaksi ototoksik adalah dengan menggunakan zat antioksidan dari luar tubuh.³

Pada ekstrak kulit *Garcinia mangostana* terdapat lebih dari 68 jenis *xanthone*, akan tetapi α -, β -, dan γ -

mangostin, garcinon E, 8-deoxygartanin dan gartanin adalah konstituen yang banyak dikembangkan.¹⁴ Diantara semua golongan *xanthone*, α -mangostin merupakan zat aktif yang kadarnya paling banyak ditemukan pada ekstrak non-polar.¹⁵

Pada penelitian sebelumnya, banyak yang membahas potensi α -mangostin sebagai agen antioksidan. Salah satunya adalah penelitian mengenai Kemampuannya untuk mencegah proses peroksidasi lipid yang dipengaruhi oleh ROS semakin menguatkan potensinya dalam mencegah disfungsi pada mitokondria sel. Beberapa jenis toksin peroksida seperti: FeSO₄, asam quinolat, dan asam 3-nitropropionat telah diujikan pada hewan coba dan diteliti bagaimana peranan antioksidan yang diberikan. Terbukti bahwa α -mangostin mampu menetralkan radikal bebas tersebut dan menimbulkan efek proteksi secara luas.⁷ Namun, belum pernah diteliti peran α -mangostin dalam mencegah reaksi oksidasi dalam ototosksisitas.

Namun, bertolak belakang dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, hasil dari penelitian ini didapatkan perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok perlakuan yang diinduksi gentamisin dengan pemberian

ekstrak kulit manggis dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi gentamisin ($p=1,000$). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dosis 100 mg/kgBB tidak terbukti dapat menurunkan reaksi ototoksitas. Hal tersebut ditandai dengan masih didapatkannya kelainan histopatologi koklea pada kelompok perlakuan yakni pada empat dari lima tikus yang tergabung dalam kelompok perlakuan. Meskipun terjadi penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif namun penurunan tersebut tidak signifikan.

Hal yang menarik adalah, setelah dilakukan pemeriksaan uji aktifitas antioksidan ekstrak kulit manggis dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenil 1-pichylhydazyl) didapatkan hasil aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit manggis dengan dosis 100 mg pada penelitian ini adalah 15,505 % *discoloration* (Lampiran 3) yang berarti ekstrak kulit manggis menghambat pewarna DPPH dalam jumlah 15,505 %. Nilai tersebut lebih tinggi dari hasil aktifitas antioksidan kulit manggis yang juga diteliti rekan saya Lucia Octaviany yakni sebesar 4,948%. Namun, meskipun memiliki nilai *discoloration* yang lebih rendah, hasil penelitian terhadap ototoksitas menunjukkan

ekstrak kunyit memiliki efek dalam menurunkan jumlah kelainan histopatologi secara signifikan. Hal ini tentunya perlu untuk diteliti lebih lanjut.

Terdapat tiga kemungkinan terkait hasil yang didapatkan pada penelitian ini. Pertama, Hal tersebut mungkin dikarenakan dosis yang diberikan (100 mg/kgBB) bukan merupakan dosis yang optimal untuk mencegah reaksi ototoksitas. Sehingga, perlu untuk dilakukan penelitian lanjutan mengenai dosis optimal terhadap reaksi ototoksik gentamisin. Kedua, pemilihan buah manggis yang tidak sesuai sehingga menyebabkan kandungan antioksidan yang terdapat dalam kulit manggis menjadi lebih sedikit. Menurut penelitian sebelumnya, kulit buah manggis yang masih berwarna hijau memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan buah manggis yang sudah matang yang berwarna kemerah – merahan.¹⁶ Sehingga perlu diperhatikan dengan teliti pemilihan buah manggis yang akan diekstrak. Ketiga, metode pemberian ekstrak kulit manggis kelompok perlakuan yakni 12 hari setelah diinduksi gentamisin merupakan metode yang kurang tepat. Pada penelitian sebelumnya, terdapat banyak metode yang dilakukan terhadap kelompok perlakuan. Salah satunya, ada yang diberikan

perlakuan (pemberian ekstrak) sejak hari pertama bersamaan dengan induksi gentamisin.¹⁷ Pada penelitian lainnya, metode pemberian perlakuan dilakukan pada saat dua hari sebelum pemberian gentamisin (pre treatment).¹⁸ Sehingga perlu dipertimbangkan untuk mencoba metode perlakuan yang lainnya untuk memperoleh hasil yang lebih baik.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian ekstrak kulit manggis berpengaruh terhadap jumlah kelainan histopatologi stria vaskularis koklea tikus wistar yang diinduksi namun tidak signifikan gentamisin secara intraperitoneal. Jumlah kelainan histopatologi stria vaskularis koklea tikus wistar pada kelompok kontrol positif yang diinduksi gentamisin secara intraperitoneal tanpa pemberian ekstrak kulit manggis secara per oral lebih tinggi dibandingkan dengan tikus wistar kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi gentamisin. Jumlah kelainan histopatologi stria vaskularis koklea tikus wistar pada kelompok perlakuan yang diinduksi gentamisin secara intraperitoneal dan diberikan ekstrak kulit manggis secara per oral lebih rendah dibandingkan dengan tikus wistar kelompok kontrol positif yang

diinduksi gentamisin secara intraperitoneal tanpa pemberian ekstrak kulit manggis secara per oral namun tidak signifikan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis ekstrak kulit manggis bertingkat untuk menilai efektifitas pemberian ekstrak kulit manggis terhadap efek samping ototoksisitas dari gentamisin. Perlu diperhatikan dalam memilih buah manggis yang akan diekstrak. Pilihlah buah manggis yang belum matang yang berwarna hijau. Perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik terhadap sel rambut koklea karena mekanisme ototoksik terutama menyerang sel rambut dan sel rambut merupakan komponen penting dalam proses mendengar. Perlu dilakukan penelitian menggunakan parameter lain selain menggunakan pengecatan HE seperti menggunakan pengecatan TUNEL dan melakukan tes pendengaran untuk memastikan tikus sudah mengalami reaksi ototoksisitas atau belum. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan gentamisin dosis bertingkat dengan variasi waktu untuk menentukan dosis gentamisin yang menimbulkan apoptosis. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme inflamasi yang disebabkan oleh gentamisin.

DAFTAR PUSTAKA

1. James E. Tisdale DAM. Drug Induced Diseases Prevention, Detection, and management. 2nd ed. bruggeman jack, editor. new york: American Society of Health System Pharmacist inc.; 2010. 1049 p.
2. Møller AR, Langguth B, De Ridder D, Kleinjung T, editors. Textbook of Tinnitus. 1st ed. New York, NY: Springer New York; 2011. 356 p.
3. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities Review. 2005;10(19):1313–5.
4. Mandell GL., Douglas B. Principles and Practice of Infectious Diseases. philadelphia: Elsevier Health sciences; 2005.
5. Santucci, R.A., Krieger JN. Gentamicin for the practicing urologist: review of efficacy, single daily dosing and “switch” therapy. J. urol, editor. 2000. 1076–1084 p.
6. Pedraza-Chaverri J, Reyes-Fermín LM, Nolasco-Amaya EG, Orozco-Ibarra M, Medina-Campos ON, González-Cuahutencos O, et al. ROS scavenging capacity and neuro protective effect of alpha-mangostin against 3-nitropropionic acid in cerebellar granule neurons. Exp Toxicol Pathol. 2009;61(5):491–501.
7. Márquez-Valadez B, Lugo-Huitrón R, Valdivia-Cerda V, Miranda-Ramírez LR P-DLC V. The natural xanthone alpha-mangostin reduces oxidative damage in rat brain tissue. Nutr Neurosci. 2009;12:35–42.
8. World Health Organization. Research Guidelines for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicines. In: Manila WHO Reg Off West Pasific. **JKD**, Vol. 7, No. 2, Mei 2018 : 1030-1040

2003. p. 35.
9. Walker P, Shah S. No Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest* 81. 1988;334–41.
 10. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Dasar Patologis Penyakit*. 7th ed. Rachman YL, editor. New York, NY: EGC; 2005.
 11. Nagy I. Early gene expression in the organ of Corti exposed to gentamicin. *HearRes*. 2004;195:1–8.
 12. Jiang H, Sha S-H, Forge A, Schacht J. Caspase-independent pathways of hair cell death induced by kanamycin in vivo. *Cell Death Differ*. 2006;13(1):20–30.
 13. Ylikoski J, Xing-Qun L, Virkkala J, Pirvola U. Blockade of c-Jun N-terminal kinase pathway attenuates gentamicin-induced cochlear and vestibular hair cell death. *Hear Res*. 2002 Apr;166(1–2):33–43.
 14. Li X. Protective Role of Hydrogen Sulfide against Noise-Induced Cochlear Damage: A Chronic Intracochlear Infusion Model. *Plosone*. 2011;6(10).
 15. Ngawhirunpat, T., Opanasopi, P., Sukma, M., Sittisombut C. Antioxidant, Free Radical-Scavenging Activity and Cytotoxicity of Different Solvent Extract and Their Phenolic Constituents from the Fruit Hull of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Pharm Biol*. 2010;48(1):55–62.
 16. Suttirak W, Manurakchinakornth S. In vitro antioxidant properties of mangosteen peel extract. *J Food Sci Technol*. 2014;51(12):3546–3558.
 17. Sagit M, Korkmaz F, Gürgen SG, Gundogdu R, Akcadag A, Ozcan I. Quercetine attenuates the gentamicin-induced ototoxicity in a rat model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015;79(12):2109–14.
 18. Yang TH, Young YH, Liu SH. EGb 761 (*Ginkgo biloba*) protects cochlear hair cells against ototoxicity induced by gentamicin via reducing reactive oxygen species and nitric oxide-related apoptosis. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2011;22(9):886–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.08.009>