

Efek Antioksidan Larutan Kosolven Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada Tikus dengan Parameter MDA dan SOD

(Antioxidant Effect of Cosolvent Solution of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Rind Extract in Rats by Using MDA and SOD Parameter)

ROS SUMARNY*, LILIEK NURHIDAYATI, SITI SOFIAH, YATI SUMIYATI,
FRANSISKA DIANA SANTI

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640.

Diterima 7 Januari 2015, Disetujui 10 Maret 2015

Abstrak: Ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam bentuk kapsul telah dipasarkan. Telah diketahui bahwa α -mangostin, senyawa aktif dari *G. mangostana* memiliki kelarutan dalam air yang sangat rendah. Tujuan penelitian ini adalah mengukur dan membandingkan efek antioksidan α -mangostin dalam bentuk sediaan larutan kosolven terhadap bentuk sediaan ekstrak. 25 ekor tikus dibagi ke dalam 5 kelompok: kontrol negatif (I), kontrol positif (II), larutan kosolven (III), ekstrak (IV) dan ekstrak[®] (V). Sediaan uji diberikan selama 14 hari dan diinduksi menggunakan CCl_4 . MDA dianalisis menggunakan metode *thiobarbituric acid*, sedangkan SOD dianalisis menggunakan *adenochrome assay*. Didapatkan kadar MDA $1,0 \pm 0,19$; $0,3 \pm 0,05$; $0,4 \pm 0,04$; $0,6 \pm 0,04$ dan $0,5 \pm 0,00$ nmol/ μL sedangkan aktivitas SOD $17 \pm 0,0$; $123 \pm 25,3$; $107 \pm 19,0$; $73 \pm 18,9$ dan $97 \pm 27,0$ U/mL untuk kelompok I, II, III, IV dan V. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan adanya perbedaan kadar MDA yang bermakna antara kelompok III dengan IV dan V ($P > 0,05$), menunjukkan kemampuan penurunan MDA kosolven lebih tinggi dibandingkan kedua kelompok ekstrak. Terdapat perbedaan SOD yang bermakna antara kelompok III dan IV ($p > 0,05$) menunjukkan peningkatan SOD kosolven lebih tinggi dibandingkan ekstrak. Penelitian menunjukkan kosolven memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dengan potensi penghambatan pembentukan MDA sebesar 70% dan potensi peningkatan aktivitas SOD sebesar 623%.

Kata kunci: α -mangostin, *Garcinia mangostana* L., antioksidan, MDA, SOD.

Abstract: Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rinds extract in capsule form has been marketed. α -mangostin, the active compound of *G. mangostana* had been known has low solubility in water. This study was aimed to measure and compare antioxidant effect of α -mangostin as cosolvent solution to extracts suspensions. 25 rats were divided into 5 groups: negative (I) and positive (II) control, cosolvent solution (III), extract (IV) and extract[®] (V). Treatment were given for 14 days, free radicals were induced by CCl_4 . MDA were analyzed using thiobarbituric acid method while SOD by using adenochrome assay. Results showed MDA level were: 1.0 ± 0.19 ; 0.3 ± 0.05 ; 0.4 ± 0.04 ; 0.6 ± 0.04 and 0.5 ± 0.00 nmol/mL, whereas SOD activity were: 17 ± 0.0 ; 123 ± 25.3 ; 107 ± 19.0 ; 73 ± 18.9 and 97 ± 27.0 U/mL for group I, II, III, IV and V, respectively. Kruskal Wallis test showed a significant difference in MDA between group III with IV and V ($p > 0.05$), showing cosolvent has higher ability to decrease MDA than the extracts suspension. There were significant differences of SOD between group III and IV ($p > 0.05$), meaning cosolvent has higher ability to increase SOD activity compare to the extracts. Research showed cosolvent has a higher antioxidant effect with potential to inhibit MDA formation by 70% and increase SOD activity by 623%.

Keywords: α -mangostin, *Garcinia mangostana* L., antioxidant, MDA, SOD.

* Penulis korespondensi, Hp. 081318463091
e-mail: rosaries15@yahoo.com

PENDAHULUAN

MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) merupakan salah satu buah daerah tropis yang kulit buahnya belum optimal dimanfaatkan. Pemanfaatan kulit buah manggis hanya sebatas untuk penyamakan kulit, obat tradisional, bahan anti-karat serta pewarna tekstil. Penelitian menunjukkan bahwa kulit buah mengandung antosianin, tanin, senyawa fenol/polifenol, epikatekin, dan xanton, senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan. Lebih dari 50 xanton telah diisolasi dari kulit buah manggis termasuk α -, β -, γ -mangostin. α -mangostin merupakan komponen terbesar dan dianggap sebagai penanda analisis untuk kontrol kualitas produk⁽¹⁾. Efek antioksidan dari ekstrak kulit buah manggis menunjukkan α -mangostin memiliki potensi antioksidan dengan IC_{50} 1,0 bpj menggunakan metode *Mouse Mammary Organ Culture Assay* (MMOC)⁽²⁾.

Ekstrak kulit buah manggis telah dipasarkan dalam bentuk sediaan kapsul. Telah diketahui bahwa kelarutan mangostin di dalam air sangat rendah (1:>10.000)., sementara efek positif yang optimal akan didapatkan apabila kelarutan zat aktif cukup tinggi. Penelitian untuk meningkatkan kelarutan α -mangostin telah dilakukan yang memformulasikan larutan oral ekstrak kulit buah manggis sebagai antioksidan menggunakan teknik kosolvensi dengan komposisi PEG 400, gliserin, sorbitol 70% dan air demineralisasi sebagai kosolven. Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan kosolven memenuhi syarat berdasarkan evaluasi organoleptik, pH, bobot jenis dan kejernihan. Formula tersebut memberikan efek antioksidan pada uji *in vitro* dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat aktif dengan nilai IC_{50} 2,4809 bpj menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)⁽³⁾.

Penelitian ini dilakukan untuk mengukur efek antioksidan larutan kosolven ekstrak kulit buah manggis *in vivo* dan membandingkannya terhadap suspensi ekstrak kulit buah manggis. Suspensi ekstrak pembanding dibuat dengan menggunakan *carboxy methyl cellulose* (CMC). Ekstrak yang digunakan untuk pengujian adalah ekstrak yang sama dengan larutan kosolven (selanjutnya disebut ekstrak) dan ekstrak yang telah beredar dipasaran dalam bentuk sediaan kapsul (selanjutnya disebut ekstrak[®]). Kadar α -mangostin dalam kapsul dan ekstrak yang telah diformulasi menjadi larutan kosolven disamakan yaitu 33,1 mg/kg BB⁽⁴⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Ekstrak kulit buah manggis dibuat

larutan dengan kadar α -mangostin 8,94%. Bahan lain adalah kapsul ekstrak kulit buah manggis yang beredar di pasaran (memiliki izin edar) dengan kadar α -mangostin 15,32%, vitamin C, larutan kloroform-etanol (3:5), larutan epinefrin 0,01 M, alkohol 70%, alkohol 96%, dapar karbonat 0,0518 M, etilen diamin tetra asetat (EDTA), air suling, NaCl 0,9%, sorbitol 70%, PEG 400, gliserin, aqua demineralisasi, HCl 0,01 N, malondialdehid (MDA) standard (SIGMA), karbon tetraklorida (CCl_4), minyak zaitun, asam trikloroasetat (TCA) 20%, asam tiobarbiturat (TBA) (Merck) 0,067%. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novergicus* L.) galur Sprague-Dawley (SD) berjenis kelamin jantan, berat badan 200-250 g, sehat, berumur 2-3 bulan yang diperoleh dari Fakultas Peternakan Hewan Institut Pertanian Bogor. Sebelum penelitian, tikus dipelihara selama satu minggu untuk penyesuaian lingkungan, penyeragaman makanan serta pengawasan kesehatan dan berat badan.

Alat. Sonde oral, timbangan hewan, alat suntik, tabung Eppendorf, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UVmini-1240), mikropipet, timbangan analitik (AND GR 200), alat-alat bedah, mikrosentrifuga (PLC-03), penangas air.

METODE. Pembuatan Ekstrak Kental Kulit Buah Manggis dan Persiapan Sediaan Uji. Ekstrak etanol dibuat dengan cara: 1 kg serbuk kulit buah manggis diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70% (1:4) selama 3 x 24 jam dengan pengadukan. Filtrat dievaporasi pada suhu 400C dan tekanan 120 mBar kemudian diuapkan pada penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Persiapan sediaan uji dilakukan dengan membuat larutan ekstrak kulit buah manggis menggunakan teknik kosolvensi serta suspensi ekstrak dan ekstrak[®] menggunakan CMC.

Pengujian Sediaan Uji. Sebanyak 25 ekor tikus diadaptasikan dalam lingkungan laboratorium selama 1 minggu, kemudian dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu kelompok I (kontrol negatif) diberi pelarut kosolven, kelompok II (kontrol positif) diberi vitamin C, kelompok III (sediaan uji larutan kosolven ekstrak buah manggis), kelompok IV (sediaan uji suspensi ekstrak) dan kelompok V (sediaan uji suspensi ekstrak[®]). Perlakuan diberikan setiap hari selama 14 hari. CCl_4 dengan dosis 1 mL/kg bb tikus diberikan pada hari ke-14, dua jam setelah pemberian sediaan uji terakhir. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-16.

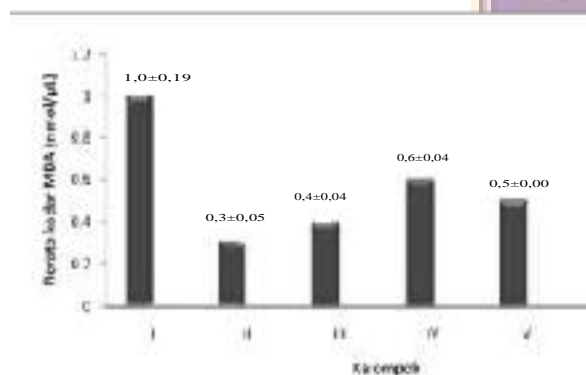
Pengukuran Kadar MDA. Sebanyak 200 μ L plasma EDTA ditambahkan 1 mL TCA 20% dan 2 mL TBA 0,067%. Larutan dicampur homogen dengan dipanaskan di atas tangas air selama 10 menit. Setelah dingin disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang berwarna merah muda diukur serapannya

pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar MDA dihitung menggunakan kurva baku MDA⁽⁵⁾.

Pengukuran Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD). Sebanyak 250 μL hemolisat sel darah merah ditambahkan 400 μL campuran larutan kloroform-etanol (3:5), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang berwarna kuning muda jernih diambil 10 μL kemudian ditambahkan 90 μL air suling dan ditambahkan 2775 μL dapar karbonat 0,0518 M dan 125 μL larutan epinefrin 0,01M. Campuran dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur serapannya setelah menit ke 1, 2, 3 dan 4 pada panjang gelombang 480 nm, suhu 30 °C. Dengan cara yang sama dilakukan juga untuk air suling (blangko) dengan pembacaan serapan setelah menit ke 1, 2, 3 dan 4 dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Rata-rata serapan per menit pada blangko kurang dari 0,025/menit⁽⁶⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

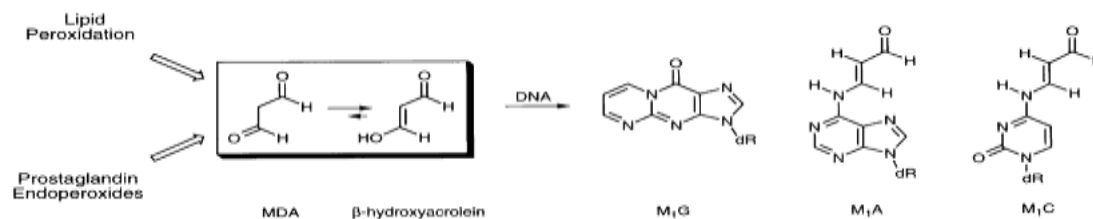
Hasil pengukuran kadar MDA plasma pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) dilakukan untuk mengetahui kadar MDA plasma pada tikus sebelum perlakuan



Gambar 1. Rerata kadar MDA (nmol/ μL) pada hari ke-16.

Keterangan:

I: Kelompok kontrol negatif, diberi kosolven dan CCl_4 dosis 1 mL/kg bb, II: kelompok kontrol positif, diberi vitamin C 8,57 mg/kg bb dan diberi 1 mL/kg bb CCl_4 , III: kelompok larutan kosolven, dosis α -mangostin 33,1 mg/kg bb dan diberi CCl_4 , IV: kelompok suspensi ekstrak, dosis α -mangostin 33,1 mg/kg bb dan diberi CCl_4 , V: kelompok suspensi ekstrak[®], dosis α -mangostin 33,1 mg/kg bb dan diberi CCl_4 .



Gambar 2. Sintesis MDA dan reaksi dengan basa DNA.

apapun pada seluruh sampel kelompok uji. Dari pengukuran ini didapatkan rerata kadar MDA berada pada kisaran 0,3-0,4 nmol/ μL (data tidak ditunjukkan). Rerata kadar MDA pada hari ke-16 ditunjukkan pada Gambar 1. Dengan menggunakan uji statistik Kruskal Wallis, didapatkan perbedaan kadar MDA antar kelompok sehingga dilanjutkan dengan uji statistik Mann Whitney untuk melihat perbedaan antar dua kelompok.

Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok I dengan kelompok II, III, IV dan V ($p < 0,05$) dimana kadar MDA tertinggi ditemukan pada kelompok I. Tingginya kadar MDA tersebut disebabkan pemberian CCl_4 dengan dosis 1 mL/kg bb, sementara pada kelompok I hewan coba tidak diberikan proteksi. Umumnya, produk peroksidasi lipid ini ditentukan melalui pengukuran kadar MDA. CCl_4 dimetabolisme oleh sistem sitokrom P450 di retikulum endoplasma dan mitokondria hepatosit membentuk radikal bebas $\text{CCl}_3\cdot$ (triklorometil), yang kemudian berinteraksi dengan molekul oksigen untuk membentuk radikal $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ (triklorometil peroksi). Interaksi spesies oksigen reaktif ini mengarah pada pengembangan kondisi patologis yang sering ditandai oleh adanya gangguan integritas membran dan sistem transportasi seluler. Peroksidasi lipid menyebabkan serangkaian reaksi yang dapat merusak membran lipid dan menghasilkan racun endogen yang dapat dengan mudah bereaksi dengan molekul yang berdekatan seperti protein membran atau menyebar ke molekul yang lebih jauh seperti DNA sehingga menyebabkan anomali dan komplikasi fungsional pada hati. Produk akhir MDA bereaksi dengan deoksiadenosin dan deoksiguanosin dalam DNA, membentuk reaksi adisi, terutama M₁G (pirimidol [1,2-a] purin-10(3H)-on). Tingginya produk MDA merupakan bukti rendahnya status antioksidan. Sintesis MDA dan reaksinya dengan basa DNA dapat dilihat pada Gambar 2⁽⁷⁾.

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok II, III, IV dan V mampu menghambat pembentukan MDA. Hasil uji Mann Whitney terhadap kadar MDA didapatkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok II dengan kelompok III yang menunjukkan bahwa sediaan uji larutan kosolven mampu menghambat pembentukan MDA

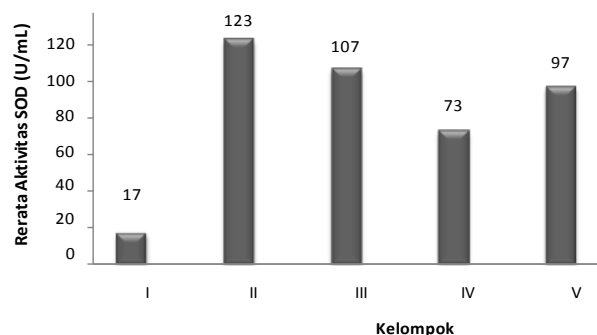
sama baiknya dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Pemberian vitamin C pada kelompok II menunjukkan konsentrasi MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok I. Hal tersebut terjadi karena vitamin C sebagai antioksidan memiliki gugus pendonor elektron yang dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid sehingga radikal bebas tidak berkembang menjadi radikal bebas yang baru. Hasil ini didukung oleh penelitian Ismiyati bahwa pemberian vitamin C dapat mengeliminasi radikal bebas yang ditunjukkan dengan menurunnya kadar MDA plasma⁽⁸⁾.

Kadar MDA pada kelompok III, IV dan V lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok I, artinya larutan kosolven dan suspensi ekstrak kulit buah manggis dapat mencegah peroksidasi lipid sehingga mampu menghambat pembentukan MDA. Ekstrak kulit buah manggis yang mengandung α -mangostin memiliki efek antioksidan seperti yang dilaporkan dalam penelitian Jung Hyun AH⁽²⁾. Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian Arsana, dkk. yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis mampu menghambat pembentukan MDA pada tikus yang diberikan aktivitas fisik maksimal⁽⁹⁾.

Potensi penghambatan pembentukan MDA terhadap kontrol negatif pada kelompok II sebesar 70% dan kelompok III sebesar 60%, kemampuan penghambatan pada kedua kelompok tersebut tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Kelompok IV mampu menghambat pembentukan MDA sebesar 40% dan kelompok V sebesar 50%, keduanya lebih rendah dibandingkan dengan sediaan uji larutan kosolven. Perbedaan kemampuan penghambatan pembentukan MDA antara kelompok sediaan uji tersebut dapat terjadi karena perbedaan bentuk sediaan yang digunakan. Larutan kosolven mampu menurunkan kadar MDA lebih tinggi dibandingkan suspensi ekstrak kulit buah manggis karena kelarutan α -mangostin telah ditingkatkan dengan metode kosolvensi. Sistem kosolven bekerja dengan mengurangi tegangan antar muka antara larutan dan zat terlarut hidrofobik. Kosolven memiliki gugus pemberi dan atau penerima ikatan hidrogen serta daerah hidrokarbon yang kecil. Daerah ikatan hidrofilik hidrogen memastikan kelarutan air, sementara daerah hidrofobik hidrokarbon mengganggu ikatan hidrogen air, mengurangi daya tarik antarmolekul keseluruhan air. Kosolven dapat mengganggu ikatan antar molekul pada air sehingga meningkatkan kelarutan senyawa hidrofobik.

Hasil Pengukuran Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD). Hasil pengukuran aktivitas SOD pada hari ke-0 didapatkan rerata aktivitas SOD berada pada kisaran 26-37 U/mL (data tidak ditunjukkan).

Rerata aktivitas SOD pada hari ke-16 ditunjukkan pada Gambar 3. Dengan menggunakan uji statistik Kruskal Wallis, didapatkan perbedaan aktivitas SOD antar kelompok sehingga dilanjutkan dengan uji statistik Mann Whitney untuk melihat perbedaan antar dua kelompok.



Gambar 3. Rerata aktivitas SOD (U/mL) pada hari ke-16.

Keterangan:

I: Kelompok kontrol negatif, diberi kosolven dan CCl_4 dosis 1 mL/kg bb, II: kelompok kontrol positif, diberi vitamin C 8,57 mg/kg bb dan diberi 1 mL/kg bb CCl_4 , III: kelompok larutan kosolven, dosis α -mangostin 33,1 mg/kg bb dan diberi CCl_4 , IV: kelompok suspensi ekstrak, dosis α -mangostin 33,1 mg/kg bb dan diberi CCl_4 , V: kelompok suspensi ekstrak[®], dosis α -mangostin 33,1 mg/kg bb dan diberi CCl_4 .

Kelompok II, III, IV, V memiliki rata-rata aktivitas SOD lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok I (kontrol negatif), yang membuktikan bahwa pemberian vitamin C dan sediaan ekstrak kulit buah manggis memiliki efek antioksidan dengan meningkatkan aktivitas SOD. Tidak adanya perbedaan aktivitas SOD yang bermakna pada kelompok II dengan kelompok III dan IV ($p > 0,05$), menunjukkan aktivitas SOD pada kelompok III dan IV sama baiknya dengan kontrol positif vitamin C.

Potensi peningkatan aktivitas SOD sel darah merah terhadap kontrol negatif pada kelompok II sebesar 623%, kelompok III sebesar 529%, kelompok IV sebesar 329% dan kelompok V sebesar 470%. Potensi peningkatan aktivitas SOD sel darah merah ketiga kelompok sediaan uji lebih rendah dibandingkan vitamin C sebesar 86%. Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan aktivitas SOD sel darah merah setelah pemberian sediaan uji larutan kosolven dan suspensi ekstrak termasuk ekstrak kulit buah manggis di pasaran (ekstrak[®]). SOD merupakan antioksidan enzimatis yang merupakan pertahanan terhadap kondisi stres oksidatif dengan melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Tingginya aktivitas SOD akan tergambarkan oleh rendahnya produk oksidasi lipid⁽¹⁰⁾. Penelitian yang dilakukan oleh Bub, *et al* membuktikan bahwa antioksidan enzimatis sangat dipengaruhi oleh asupan antioksidan

non-enzimatis, dimana terjadi peningkatan aktivitas SOD pada kaum pria yang diberi jus tomat selama seminggu sebesar 145 U/g Hb⁽¹¹⁾.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan kadar MDA larutan kosolven lebih rendah dibandingkan dengan kedua suspensi ekstrak ($p > 0,05$). Potensi penghambatan pembentukan MDA larutan kosolven sebesar 60%, lebih tinggi bila dibandingkan dengan kedua suspensi ekstrak (40% dan 50%). Larutan kosolven memiliki aktivitas SOD yang lebih tinggi dibandingkan suspensi ekstrak ($p > 0,05$). Potensi peningkatan aktivitas SOD larutan kosolven sebesar 529%, lebih tinggi bila dibandingkan dengan suspensi ekstrak (329%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditlitabmas Ditjend DIKTI untuk pendanaan Penelitian Hibah Bersaing DIPA Kopertis Wilayah III No. 023.04.189705/2014.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aisha AFA, Abu-Salah KM, Ismail Z, Majid AMSA. Determination of total xanthenes in *Garcinia mangostana* fruit rind extracts by ultraviolet (UV) spectrophotometry. *J Med Plants Res.* 2013.7(1):29.
2. Jung AH, Su BN, Keller, Mehta RG, Kinghorn AD. Antioxidant xanthenes from the pericarps of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J Agric Food Chem.* 2006.54:2077-82.
3. Fatimah. Formulasi larutan oral ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai antioksidan dengan teknik kosolvensi [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2013. 24-32.
4. Caesar K. Optimasi dan validasi metode penetapan kadar α -mangostin dalam larutan oral ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) secara KCKT [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2013. 42.
5. Snell K, Mullocl B. *Biochemical toxicology*. Ed 5. Washington DC: IRL press Oxford; 1987.138.
6. Misra and Fridovich. The role of superoxide dismutase anion in auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972. 247(10):3170-5.
7. Panjaitan RGP, Handharyani E, Chairul, Masriani, Zakiah Z. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makara Kesehatan.* 2007.11(1):11-6.
8. Muhammad I. Efek antioksidan vitamin C terhadap tikus (*Rattus norvegicus* L) jantan akibat pemaparan asap rokok [tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor; 2009. 3,19-20.
9. Arsana IN, Adiputra, N, Pangkahila, JA, Putra-Manuaba IB. *Garcinia mangostana* L. rind extract and physical training reduce oxidative stress in wistar rats during maximal physical activity. *J Bio Sci.* 2013. 7(2):63-8.
10. Winarsi H. Antioksidan alami & radikal bebas: Potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Yogyakarta: Kanisius; 2007.15, 11-22, 56-7, 77-81, 86-96, 141.
11. Bub A, Bernhard W, Abrahamse L, et al. Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J Nutr.* 2000. 130:2200-6.