

Research Article

**The Effect of Ethanol Extract from Mangosteen Pericarps
towards Parasitemia in Plasmodium berghei-Inoculated Mice**

Debora R. Marito*, Susy Tjahjani, Khie Khiong*****

**Faculty of Medicine Maranatha Christian University*

***Department of Parasitology Faculty of Medicine Maranatha Christian University*

**** Department of Biology Faculty of Medicine Maranatha Christian University*

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: deborarumintang@gmail.com

Abstract

Mangosteen pericarps contains fenolic antioxidant, such as xanthone that acts as free radical scavenging substances and preventing heme polymerization. In this research we evaluated the effect of ethanolic extract of mangosteen pericarps on the parasitemia in Plasmodium berghei-inoculated mice and compared its antimalarial activity with artemisinin monotherapy in reducing the parasitemia in Plasmodium berghei-inoculated mice. Deutschland Denken Yoken (DDY) mice were randomly divided into 5 groups and inoculated by Plasmodium berghei and given 0.1 mL aquadest (KN), 0.1 mg of artemisinin (KP), 2.5 mg (E1), 0.5 mg (E2) and 0,1 mg (E3) of ethanolic extract from mangosteen pericarps in 0.1 mL aquadest in 3 days. The parasitemia was observed on one day before the treatment, namely on the first day and on the day after the last treatment. We found a highly significant decrease highly significant decrease of the parasitemia in each treatment group compared to the Negative Control group ($p < 0.01$), and the decrease of parasitemia level in E1 group is similar to the artemisinin monotherapy group ($p < 0.05$).

Keywords: *ethanol extract of mangosteen pericarps, artemisinin, Plasmodium berghei, malaria*

Research Article

Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Manggis terhadap Parasitemia pada Mencit yang Diinokulasi *Plasmodium berghei*

Debora R. Marito*, Susy Tjahjani**, Khie Khiong***

*Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

**Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

***Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: deborarumintang@gmail.com

Abstrak

Kulit manggis mengandung berbagai senyawa antioksidan fenolik diantaranya Xanton yang dapat memerangkap radikal bebas dan mencegah polimerisasi heme sehingga berpotensi sebagai antimalaria. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol kulit manggis dalam menurunkan parasitemia dan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol kulit manggis lebih baik dibandingkan terapi tunggal artemisinin dalam menurunkan parasitemia pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*. Mencit *Deutschland Denken Yoke* (DDY) dibagi ke dalam 5 kelompok ($n=5$) yang diinokulasi *Plasmodium berghei* kemudian diberi 0,1 mL akuades (KN), 0,1 mg artemisinin (KP), ekstrak etanol kulit manggis 2,5 mg (E1), 0,5 mg (E2) dan 0,1 mg (E3) dalam 0,1 mL akuades secara peroral selama 3 hari. Parasitemia dihitung pada hari sebelum perlakuan, hari pertama perlakuan dan hari setelah perlakuan selama 3 hari. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan penurunan parasitemia sangat signifikan antara kelompok E1, E2 dan E3 dengan kelompok KN pada hari setelah perlakuan selama tiga hari ($p < 0,01$) dan penurunan kadar parasitemia kelompok E1 sebanding dengan kelompok terapi tunggal artemisinin ($p = 0,314$).

Kata kunci: ekstrak etanol kulit manggis, artemisinin, *Plasmodium berghei*, malaria

Research Article

Pendahuluan

Malaria *falciparum* merupakan masalah kesehatan di wilayah Indonesia Timur. Selain tingginya angka morbiditas dan mortalitas akibat malaria di Indonesia, munculnya resistensi terhadap obat antimalaria konvensional mendorong pencarian terapi alternatif sebagai antimalaria.^{1,2} Kulit manggis yang selama ini dianggap limbah mengandung berbagai senyawa xanton yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mengatasi peningkatan radikal bebas yang terjadi akibat perjalanan penyakit malaria dan menghambat polimerisasi heme sehingga dianggap memiliki potensi sebagai antimalaria.^{3,4}

Melalui penelitian yang dilakukan sebelumnya senyawa antioksidan xanton lebih mudah terekstrak oleh etanol dibandingkan dengan pelarut air.³ Maka pada penelitian ini digunakan etanol sebagai bahan pelarut dalam pembuatan ekstrak kulit manggis.

Parasit *Plasmodium falciparum* tidak dapat menimbulkan penyakit malaria pada rodentia. Oleh sebab itu, pada penelitian ini digunakan mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* sebagai model malaria *falciparum* pada hewan coba.⁵ Berdasarkan uraian tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol kulit manggis terhadap penurunan parasitemia pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

Metode

Bahan uji yang digunakan adalah kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn) yang berasal dari Subang, Jawa Barat yang kemudian diekstraksi dan Artemisinin. Ekstraksi kulit manggis dilakukan dengan membersihkan kulit buah manggis lalu mengupas dari kulit terluar sehingga diperoleh kulit dalam kemudian kulit dalam dirajang sehingga diperoleh *pericarp*. Selanjutnya *pericarp* dikeringkan selama 7 hari dalam oven dengan temperatur 40°C sehingga diperoleh simplisia yang kemudian dihaluskan menjadi serbuk lalu diekstraksi. Ekstraksi kulit buah manggis dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Selanjutnya filtrat diuapkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan *freeze dryer*.

Pengenceran ekstrak etanol kulit manggis (EEKM) dilakukan sebagai berikut: 1) Untuk dosis 2,5 mg EEKM dalam 0,1 mL akuades dilakukan pengenceran 50 mg EEKM dilarutkan dalam 2 mL akuades. 2) Untuk dosis 0,5 mg EEKM dalam 0,1 mL akuades diambil 0,4 mL larutan EEKM dosis 2,5 mg yang dilarutkan dalam 1,6 mL akuades. 3) Untuk dosis 0,1 mg EEKM dalam 0,1 mL diambil 0,4 mL larutan EEKM dosis 0,5 mg yang dilarutkan dalam 1,6 mL akuades.

Research Article

Parasit *Plasmodium berghei* yang digunakan diperoleh dari Lembaga Eijkman Jakarta. Parasit *Plasmodium berghei* beku dibiarkan terlebih dahulu pada suhu ruangan sehingga diperoleh suhu yang sesuai sebelum diinokulasikan pada mencit. Hewan yang digunakan sebagai subjek penelitian adalah 25 ekor mencit jantan galur DDY berusia 8 minggu dengan berat 25 gram. Hewan percobaan ditempatkan di dalam wadah plastik dengan kawat sebagai penutup dan diadaptasikan di Laboratorium Biologi Universitas Kristen Maranatha selama tujuh hari sebelum penelitian dimulai. Mencit diberi makan pelet standar dan minum akuades yang dialirkan melalui botol kaca dan dilengkapi pipa aluminium kemudian diberi perlakuan.

Seluruh mencit diinokulasi *Plasmodium berghei* secara intraperitoneal kemudian ditunggu selama 7 hari sehingga derajat parasitemia mencapai 5% dan dinilai cukup untuk diberikan perlakuan. Kemudian mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit yaitu Kontrol Negatif (KN) yang diberi akuades sebanyak 0,1 mL, Kontrol Positif (KP) yang diberi artemisinin 0,1 mg/hari/ekor, Kelompok E1 diberi EEKM dosis 2,5 mg dalam 0,1 ml akuades, Kelompok E2 diberi EEKM dosis 0,5 mg dalam 0,1 ml akuades, dan Kelompok E3 diberi EEKM dosis 0,1 mg dalam 0,1 ml akuades.

Masing-masing perlakuan diberikan dalam 0,1 mL akuades/hari/ekor secara peroral selama tiga hari berturut-turut. Parasitemia diamati pada hari pertama dan keempat dengan mengambil darah perifer dengan memasukkan jarum 1 cc ke dekat mata mencit. Darah yang diperoleh dibuat sediaan apus darah tipis (SADT) pada kaca objek. Kemudian dibiarkan mengering lalu difiksasi dengan menyemprotkan metanol lalu ditunggu selama 30 detik hingga kering kembali. Apusan kemudian diwarnai dengan 20% larutan Giemsa selama 20 menit kemudian dibilas dengan air mengalir, lalu dibiarkan mengering. Preparat diberi minyak imersi kemudian diamati menggunakan menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 1.000 kali. Parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi (*Parasitized Red Blood Cell*) per 1000 eritrosit x 100%.

Analisis data dilakukan menggunakan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji beda rerata Tukey *HSD* dengan $\alpha = 0,05$. Penelitian ini telah diajukan dan disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha–Rumah Sakit Immanuel dengan SK NO: 008/KEP/III/2014. Pemanfaatan hewan percobaan dilakukan berdasarkan prinsip 3R yaitu *Replacement, Reduction, dan Refinement*.

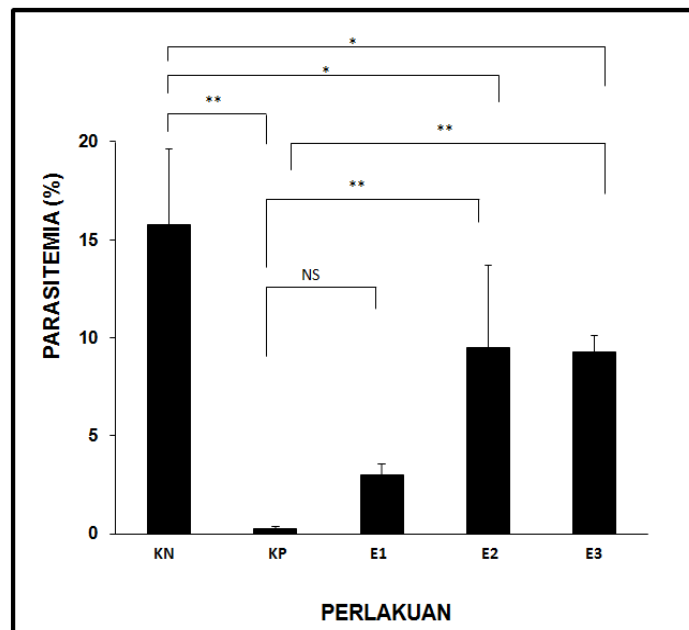
Hasil

Persentase parasitemia menurun pada kelompok yang diberi artemisinin pada hari pertama terapi yang menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ($p=0,001$) bila

Research Article

dibandingkan dengan kelompok KN. Hal ini disebabkan karena artemisinin memiliki *Onset Of Action* (OOA) yang singkat.⁶

Pada Gambar 1 terlihat penurunan parasitemia pada kelompok E1 ($p=0,000$), E2 ($p=0,003$), E3 ($p=0,002$) sangat bermakna bila dibandingkan dengan kelompok KN pada hari setelah perlakuan selama 3 hari dan didapatkan penurunan kadar parasitemia kelompok E1 sebanding dengan kelompok KP ($p = 0,314$) sehingga dapat diasumsikan bahwa kelompok E1 (2,5 mg) memiliki khasiat perlakuan yang sebanding dengan kelompok KP.



Gambar 1 Rerata Parasitemia pada Hari Setelah Perlakuan Selama Tiga Hari

Keterangan:

*signifikan

** sangat signifikan

NS non signifikan

KN: kelompok Kontrol Negatif yang diberi akuades sebanyak 0,1 mL

KP: kelompok Kontrol Positif yang diberi artemisinin 0,1 mg/hari/ekor

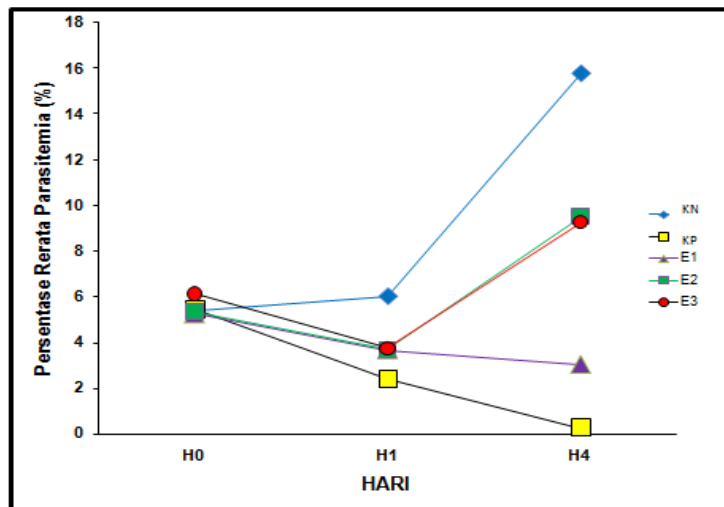
E1: kelompok yang diberi EEKM dosis 2,5 mg dalam 0,1 mL akuades

E2: kelompok yang diberi EEKM dosis 0,5 mg dalam 0,1 mL akuades

E3: kelompok yang diberi EEKM dosis 0,1 mg dalam 0,1 mL akuades

Perbandingan persentase parasitemia pada setiap kelompok mencit pada hari sebelum perlakuan, hari pertama perlakuan dan hari setelah diberikan perlakuan selama tiga hari dapat dilihat pada Gambar 2 yang menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (KN) parasitemia terus meningkat signifikan. Pada kelompok E2 dan E3 parasitemianya tidak setinggi kelompok KN, sedangkan pada kelompok E1 parasitemianya turun sebanding dengan terapi artemisinin 0,1 mg (KP).

Research Article



Gambar 3 Perbandingan Parasitemia pada Hari Sebelum Perlakuan (H0), Hari Pertama Perlakuan dan Hari Setelah Perlakuan 3 Hari (H4)

Keterangan:

- KN: kelompok Kontrol Negatif yang diberi akuades sebanyak 0,1 mL
- KP: kelompok Kontrol Positif yang diberi artemisinin 0,1 mg/hari/ekor
- E1: kelompok yang diberi EEKM dosis 2,5 mg dalam 0,1 mL akuades
- E2: kelompok yang diberi EEKM dosis 0,5 mg dalam 0,1 mL akuades
- E3: kelompok yang diberi EEKM dosis 0,1 mg dalam 0,1 mL akuades

Diskusi

Penurunan parasitemia setelah pemberian EEKM disebabkan karena kulit manggis memiliki senyawa antioksidan fenolik xanton yang dapat memerangkap radikal bebas yang terbentuk selama perjalanan penyakit malaria dan mampu menghambat polimerisasi heme secara *in vitro* yang dapat mencegah degenerasi heme bebas yang bersifat toksik bagi parasit menjadi kristal hemozoin yang bersifat tidak toksik bagi parasit. Dengan kata lain, penghambatan polimerisasi heme oleh antioksidan xanton akan menyebabkan terjadinya akumulasi heme bebas dalam sel terinfeksi (pRBC) dan menyebabkan parasit mati yang akan menyebabkan terjadinya penurunan parasitemia.⁷⁻⁹

Penelitian ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Tjahjani dan Widowati pada tahun 2013 yang mana xanton dapat memerangkap radikal bebas DPPH secara *in vitro*. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan yaitu xanton.⁴ Penelitian sebelumnya oleh Amanatie *et al* menunjukkan bahwa *Garcinia dulcis* mengandung xanton yang berperan menghambat polimerisasi heme sehingga terjadi akumulasi heme bebas dalam sel terinfeksi (pRBC) dan menyebabkan parasit mati sehingga menyebabkan terjadinya penurunan parasitemia.¹⁰

Research Article

Simpulan

Ekstrak Etanol Kulit Manggis 2,5 mg menurunkan parasitemia pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

Daftar Pustaka

1. Bozdech Z, Ginsburg H. Antioxidant defense in *Plasmodium falciparum*- data mining of the transcriptome. Malar J.2004;4:32.
2. Dondorp AM. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. The New Eng Journ of Med.2009. 361:455–67.
3. Nugroho AE. Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Dari kulit buah terbuang hingga menjadi kandidat suatu obat. J Pharm and Pharmacol.2012;1(1):1-8.
4. Tjahjani S, Widowati W. Potensi Beberapa Senyawa Xanthone sebagai Antioksidan dan Anti-malaria serta Sinergisme dengan Artemisinin in Vitro. Journal of Indonesian Medical Association.2013;63:95-9.
5. Sun G, Chang LW, Li J, Berney SM, Kimpel D, Heyde H. Inhibition of Platelet Adherence to Brain microvasculature Protects against Severe *Plasmodium berghei* Malaria. Infect Immune.2003;71(11): 6553–61.
6. Mohanty S, Patel D, Pati S, Mishra S. Adjuvant therapy in cerebral malaria. Indian Journal of Medical Research.2006;124:245-60.
7. Aini N, Soebaktiningsih, Fitri LE, Kalsum U, Sumarno. Pengaruh Ekstrak Biji Nimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Penurunan Derajat Parasit dan Jumlah Hemozoin pada Kultur *Plasmodium falciparum*. Jurnal Kedokteran Brawijaya.2004;20(3):115-24.
8. Muller S. Redox and Antioxidant Systems of The Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. Molecular Microbiology.2004;53(5):1291.
9. Dungir SG, Katja DG, Vanda S. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurnal MIPA Unsrat Online.2012;1(1):11-5.
10. Amanatie, Jumina, Mustofa, Hanafi, Armunanto. Study of Xanthone Derivatives as Anti Plasmodial Agents. Indones J Chem.2010;10:357-62.