

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA *IN VIVO* DARI BEBERAPA
FRAKSI EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana*
Linn) PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI
DENGAN *Plasmodium berghei***

*Muhammad Iqbal*¹⁾, *Zulham Effendi*¹⁾, *Yaum Aamruna*¹⁾, *Suryawati*²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala
Email: Ibalz_91@yahoo.com, ich.liebe.dich.unii@gmail.com, ayaum@yahoo.com

²⁾ Bagian Ilmu Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala
Email: suryawatie@gmail.com

Abstract

Malaria disease is still one public health problem in the world and affect the infant mortality rate, under five and pregnant women. The purpose of this study was to recognize in vivo antimalarial activity from hexane fraction, ethyl acetate, and methanol extracts of mangosteen peel and the most active fraction as antimalarial. Laboratory experimental research with a post-test only with control group design and total random sampling design consists of 1 negative control group and 4 treatment groups. 75 Swiss strains which are male mice, healthy, 1.5-2.5 months of age and 20-30 gr body weight were selected randomly to examine 3 fraction was prepared with levelized fractionated and macerated method. Each treatment group received 0.2 ml dose of drug test suspension 10; 30; 90 and 270 mg/kgBW/day orally, whereas the control group was given arabic gum suspension 0.1% on day 2 to day 4. The parameter was the percentage of parasitemia which was calculated on day 2 to 5. Statistical analysis used was one way Analysis of Variance with a 95% significance level. Parasite growth inhibition percentage data was used to determine the 50% effective dose (ED₅₀) of each drug test dosage by probit regression analysis through SPSS for Windows version 17. The result proves that the fraction of hexane, ethyl acetate and methanol extracts of mangosteen peel has antimalarial activity. Ethyl acetate fraction have better antimalarial activity with the value of ED₅₀ 63, 272 mg/KgBW among hexane and methanol fraction (ED₅₀ 1930,021 mg/KgBW; 217.616 mg/KgBW).

Keywords: *Antimalarial, Garcinia mangostana, Plasmodium berghei, in vivo*

1. PENDAHULUAN

Malaria masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat di dunia termasuk Indonesia. Penyakit ini mempengaruhi tingginya angka kematian bayi, balita dan ibu hamil. Pada tahun 2010, terdapat 216 juta kasus malaria yang terjadi di seluruh dunia dan sekitar 655.000 orang meninggal dunia, sebagian besar (91%) dari wilayah Afrika (CDC, 2010). Data WHO menyebutkan tahun 2008 terdapat 544.470 kasus malaria positif di Indonesia, sedangkan pada tahun 2009 terdapat 1.100.000 kasus malaria klinis, dan pada tahun 2010 meningkat lagi menjadi 1.800.000 kasus malaria klinis dan telah mendapatkan

pengobatan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

Resistensi parasit terhadap antimalaria yang lazim digunakan terus dilaporkan dari berbagai belahan dunia dari tahun 1973 hingga saat ini. WHO telah menginstruksikan penghentian semua penggunaan obat sebagai monoterapi dan menerapkan metode pengobatan dengan *Artemisinin Combination Therapy (ACT)* untuk mengatasi masalah resistensi serta menurunkan angka morbiditas dan mortalitas akibat penyakit malaria (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2006).

Dalam peraturan perundangan di bidang kesehatan yaitu undang-undang RI No.23 tahun 1992 tentang Kesehatan dikemukakan bahwa obat tradisional perlu diteliti dan dikembangkan untuk dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya. Pengujian ilmiah tentang khasiat dan keamanannya merupakan syarat yang harus dipenuhi untuk dapat dipakai pada pelayanan kesehatan formal (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) merupakan tumbuhan yang hidup di daerah tropis, buahnya memiliki rasa, aroma dan kaya akan nutrisi. Tumbuhan ini berasal dari Asia Tenggara yaitu Indonesia dan Malaysia kemudian penyebarannya hingga Myanmar, Kamboja, Thailand, dan Filipina (Sunarjono, 2008).

Penelitian terhadap buah manggis, kulit batang, daun maupun kulit buahnya dilaporkan memiliki khasiat antioksidan, antimalaria, antialergi, antitumor, antiviral, antibakteri (Chaverri, et al., 2008), anti inflamasi (Chen, et al., 2007) dan anti jamur (Setyani, 2010). Kulit buah manggis di Thailand dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati diare dan infeksi kulit (Nakatani, et al., 2002). Senyawa xanton seperti α -mangostin memiliki aktivitas biologi sebagai antibakteri terhadap *Helicobacter pylori* (Likubo, et al., 2002). Chen *et al.* (1996) dan Vlietinck *et al.* (1998) menyatakan bahwa γ -mangostin dapat digunakan sebagai antivirus termasuk virus HIV (*human immunodeficiency virus*).

Kumar (2012) menyatakan ekstrak kulit buah manggis mengandung 95% xanton, isoflavan, tannin dan flavonoid. Xanton, α dan γ -mangostin merupakan senyawa yang paling banyak terdapat di dalam kulit buah manggis (Jinsart, et al., 1992). Turunan xanton α dan β -mangostin yang diisolasi dari kulit buah manggis memiliki aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* dengan nilai IC_{50} 5,1 dan 7 μ M, sedangkan xanton-glukosid yaitu mangiferine memiliki IC_{50} 50 μ M

(Riscoe, et al., 2005). Mahabusarakam *et al.* (2006) menyatakan bahwa α -mangostin memiliki nilai IC_{50} 17 μ M terhadap *P. falciparum*.

Meskipun secara *in vitro* turunan xanton dari ekstrak kulit buah manggis telah terbukti berkhasiat sebagai antimalaria, namun penelitian secara *in vivo* dari beberapa fraksi ekstrak kulit buah manggis dengan menggunakan pelarut non polar (heksan), semipolar (etilasetat) dan polar (metanol) sepanjang pengetahuan penulis belum pernah dilakukan. Penelitian ini penting dilakukan dalam upaya mendapatkan antimalaria yang efektif melalui fraksinasi bertingkat dengan menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya.

2. METODOLOGI

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorik dengan *post test only with control group design* dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) ini terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif dan 4 kelompok perlakuan.

Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak kulit buah manggis dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Penelitian dimulai dari bulan Februari hingga Juni 2013 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah *P. berghei* strain ANKA dan mencit (*Mus musculus*) galur Swiss, jenis kelamin jantan, sehat, berat badan antara 20-30 gram, umur 1,5-2,5 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Jumlah mencit yang digunakan untuk masing-masing fraksi adalah 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompoknya terdiri atas 5 ekor. Jumlah mencit yang dibutuhkan 75 ekor untuk

menguji ke tiga fraksi (heksan, etil asetat, dan metanol) ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.).

Instrumen Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.), media tumbuh *P. berghei*/RPMI-1640, sodium carbonat, hepes, alkohol 70%, heksan, etilasetat, metanol, metanol absolut, giemsa, DMSO, gom arab, akua destilata, EDTA, Pakan ternak/Pellet.

Alat-alat yang digunakan adalah Mikroskop cahaya, timbangan listrik, penyaring buchner, kertas saring, *object glass*, *cover glass*, spuit injeksi 1 ml dan 3 ml, *handscoen*, masker, lemari pendingin, kapas, *conical tube*, rak tabung, *mortir*, *stamfer*, kandang mencit, oral sonde, spatula logam, vakum evaporasi berputar (*rotary vacuum evaporator*) dan pompa, kertas aluminium, wadah kaca, wadah ekstrak, gelas ukur, eppendorf, hemositometer, gunting, dan pipet tetes.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak kulit buah manggis

Buah manggis yang diperoleh dari kawasan pasar buah kota Banda Aceh dilakukan uji herbarium (determinasi) di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah Kuala. Setelah dibersihkan dan dikeringkan, kulitnya dibuat menjadi serbuk (mesh 60). Sebanyak 2,250 kg serbuk kulit buah manggis difraksinasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Filtrat dari masing-masing pelarut kemudian dimaserasi dengan vakum evaporasi berputar (*rotary vacuum evaporator*) pada temperatur 40°C sampai diperoleh ekstrak yang pekat. Ekstrak yang didapat ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam wadah bermulut lebar, berwarna gelap yang dilapisi kertas aluminium dan disimpan di lemari pendingin.

Preparasi mencit (*Mus musculus*)

Hewan coba diaklimatisasi selama 1 minggu sebelum penelitian dilakukan dengan cara dipelihara dikandang berukuran 50 x 30 x 50 cm yang diberi alas sekam padi. Tiap kandang berisi 5 ekor mencit jantan yang ditempatkan di dalam ruangan bersih dengan siklus cahaya 12 jam terang dan 12 jam gelap. Makanannya berupa pellet, sedangkan minumannya diberikan air secukupnya.

Sebelum perlakuan mencit dipuaskan selama 12 jam tetapi air tetap diberikan, selanjutnya diadaptasi di ruang penelitian. Makanan hewan coba diberikan kembali 6 jam setelah pemberian sediaan obat uji.

Preparasi sediaan dan dosis obat uji

Sediaan obat uji adalah fraksi heksan (A), fraksi etilasetat (B) dan fraksi metanol (C) ekstrak kulit buah manggis. Dosis obat uji dimulai dari 10; 30; 90; dan 270 mg/kg BB.

Cara inokulasi *Plasmodium berghei* pada hewan coba

Mencit yang terinfeksi *P. berghei* diambil darahnya melalui ekor dan ditentukan persentase parasitemianya. Setelah diketahui, mencit sumber infeksi diambil semua darahnya melalui punksi jantung dengan menggunakan spuit 3 ml yang telah diberi antikoagulan, lalu diencerkan dengan media RPMI-1640 sampai konsentrasinya 1×10^7 . Larutan ini digunakan untuk menginfeksi hewan coba secara injeksi intraperitoneal sebanyak 0,2 ml.

Uji aktivitas antimalaria secara *In Vivo*

Pada hari pertama uji aktivitas antimalaria (H_0), mencit diinfeksi dengan *P. berghei*. Kemudian diberi sediaan obat uji sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Darah mencit diambil pada hari ke-2 sampai ke 5 (H_1 s/d H_4) dengan cara dipotong ujung ekornya (dekapitasi) untuk diperiksa parasitemianya. Preparat sediaan apus darah tipis dibuat menggunakan metode Markell *et al.* (1986) dengan pewarnaan Giemsa 30%.

Parameter penelitian

Parameter yang diukur adalah persentase parasitemia H_4 dari sediaan darah yang diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran kuat (lensa okuler 10x dan lensa objektif 100x) menggunakan minyak immersi. Pemeriksaan ini dilakukan untuk setiap 1000 eritrosit.

Analisa Data

Persentase parasitemia dihitung berdasarkan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei* per 1000 sel darah merah dengan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah parasit}}{1000 \text{ eritrosit}} \times 100\%$$

Persentase penghambatan pertumbuhan parasit malaria dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{\% \text{ parasitemia kelompok kontrol} - \% \text{ parasitemia kelompok perlakuan}}{\% \text{ parasitemia kelompok kontrol}} \times 100\%$$

Perbedaan antar kelompok perlakuan ditentukan dengan Analisis Varians satu jalan (*ANOVA one-way*) dengan taraf signifikan 95%. Data persentase penghambatan pertumbuhan parasit digunakan untuk mengetahui dosis efektif 50% (ED_{50}) dari masing-masing fraksi sediaan obat uji dengan analisa regresi probit melalui program SPSS *versi 17 for Windows*. Nilai ED_{50} merupakan ukuran aktivitas antimalaria yaitu dosis sediaan obat uji yang mampu menghambat pertumbuhan parasit malaria hingga 50%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Serbuk Kulit Buah Manggis

Hasil rendemen yang diperoleh fraksi heksan, etilasetat dan fraksi metanol secara berturut-turut adalah 2,22%; 15,33% dan 12%.

Dosis (mg/Kg BB)	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV
0	2,73 ± 1,24	6,23 ± 0,72	8,14 ± 1,64	8,60 ± 1,44
	3,27 ± 1,30	5,19 ± 0,86	5,85 ± 0,80	7,32 ± 2,11
10	2,72 ± 0,99	4,75 ± 1,07	5,80 ± 1,50	6,31 ± 2,26
	3,17 ± 1,14	3,70 ± 1,62	4,31 ± 0,43	6,26 ± 0,69
30	3,06 ± 1,30	3,03 ± 0,48	3,91 ± 1,43	5,83 ± 2,67
	Fraksi Etil Asetat Ekstrak Kulit Buah Manggis			
0	3,33 ± 1,21	6,54 ± 0,32	8,90 ± 1,92	10,29 ± 2,12
	2,94 ± 0,78	5,35 ± 0,90	6,54 ± 2,21	9,59 ± 4,82
10	3,30 ± 1,23	4,28 ± 0,78	4,56 ± 0,59	6,96 ± 0,62
	3,33 ± 0,58	3,52 ± 0,50	3,89 ± 0,61	6,15 ± 1,48
30	3,04 ± 0,61	1,97 ± 0,49	2,92 ± 0,73	3,50 ± 0,74
	Fraksi Metanol Ekstrak Kulit Buah Manggis			
0	3,06 ± 0,54	5,53 ± 0,91	7,37 ± 1,73	8,94 ± 1,73
	3,69 ± 0,49	4,68 ± 0,32	5,62 ± 1,29	7,75 ± 3,09
10	3,16 ± 0,77	4,18 ± 0,36	4,79 ± 1,19	7,65 ± 3,64
	3,41 ± 0,95	3,86 ± 1,24	4,62 ± 0,70	6,05 ± 4,42
30	3,17 ± 0,57	2,96 ± 0,52	3,12 ± 0,75	3,82 ± 1,25

Tabel 1. Persentase Parasitemia Fraksi Heksan Ekstrak Kulit Buah Manggis

Tabel 2. Persentase Penghambatan Pertumbuhan *Plasmodium berghei*

Fraksi Heksan Ekstrak Kulit Buah Manggis			
Dosis (mg/Kg BB)	Hari II	Hari III	Hari IV
10	15,52 ± 17,41	27,05 ± 10,89	8,75 ± 47,45
	23,68 ± 15,54	29,39 ± 4,55	20,65 ± 48,14
90	38,84 ± 31,52	45,10 ± 13,43	25,79 ± 13,08
	51,00 ± 7,89	50,62 ± 21,41	30,25 ± 33,66

Fraksi Etil Asetat Ekstrak Kulit Buah Manggis			
Dosis (mg/Kg BB)	Hari II	Hari III	Hari IV
10	17,56 ± 16,41	22,49 ± 36,73	3,48 ± 55,59
	34,55 ± 11,17	47,54 ± 9,34	30,33 ± 14,14
90	46,01 ± 8,39	54,91 ± 10,24	39,43 ± 14,99
	69,64 ± 8,30	65,78 ± 12,31	65,55 ± 7,39

Fraksi Metanol Ekstrak Kulit Buah Manggis			
Dosis (mg/Kg BB)	Hari II	Hari III	Hari IV
10	14,31 ± 9,98	18,37 ± 31,94	12,22 ± 30,67
	23,03 ± 12,35	30,65 ± 28,95	15,13 ± 36,62
90	27,79 ± 27,03	36,12 ± 8,86	35,75 ± 35,30
	46,33 ± 4,98	54,77 ± 17,37	55,14 ± 18,42

Tabel 3. Nilai ED₅₀

Ekstrak Kulit Buah Manggis	Nilai ED ₅₀ (mg/Kg BB)
Fraksi Heksan	1930,021
Fraksi Etilasetat	63,272
Fraksi Metanol	217,616

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kulit buah manggis memiliki aktivitas antimalaria *in vivo* pada mencit paling kuat dengan nilai ED₅₀ 63,272 mg/Kg BB dibandingkan dengan fraksi heksan dan fraksi metanol kulit buah manggis dengan nilai ED₅₀ 1930,021 mg/Kg BB dan 217,616 mg/Kg BB.

Untuk mengetahui potensi dari ketiga fraksi ekstrak kulit buah manggis telah dikategorikan bahwa aktivitas antimalaria *in vivo* pada mencit paling baik jika pada dosis 100 mg/KgBB/hari memiliki persentase penghambatan pertumbuhan parasit malaria sama dengan atau lebih besar dari 50%, aktivitas antimalaria baik jika pada dosis

250 mg/KgBB/hari memiliki persentase penghambatan sama dengan atau lebih besar dari 50%, sedangkan aktivitas sedang jika pada dosis 500 mg/KgBB/hari memiliki persentase penghambatan pertumbuhan parasit sama dengan atau lebih besar dari 50% (Munoz, et al., 1999). Dengan demikian fraksi etil asetat ekstrak kulit buah manggis memiliki potensi paling baik sebagai antimalaria dibandingkan dengan fraksi heksan dan metanol ekstrak kulit buah manggis.

4. KESIMPULAN

- 1) Fraksi heksan, etil asetat dan metanol ekstrak kulit buah manggis yang diberikan secara oral memiliki aktivitas antimalaria pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
- 2) Fraksi etil asetat ekstrak kulit buah manggis mempunyai potensi paling baik sebagai antimalaria dengan ED₅₀ 63,272 mg/Kg BB dibandingkan fraksi heksan dan metanol ekstrak kulit buah manggis dengan nilai ED₅₀ 1930,021 mg/Kg BB; 217,616 mg/Kg BB secara oral.

5. REFERENSI

- 1) CDC, 2010. *Center for Disease Control and Prevention*. [Online] Available at: <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html> [Diakses 8 Juli 2012].
- 2) Chaverri, J. P., Rodriguez, N. C., Ibarra, M. O. & Rojas, J. M. P., 2008. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Elsevier*, Volume 46, pp. 3232-3237.
- 3) Chen, L. G., Yang, L. L. & Wang, C. C., 2007. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. *Elsevier*, pp. 1-5.
- 4) Chen, S. X., Wan, M. & Loh, B. N., 1996. Active constituents against HIV-1 protease from *Garcinia mangostana*. *Planta Med*, Volume 62, pp. 381-382.

- 5) Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional: Tata Laksana Uji Praliniik, Tata Laksana Teknologi Farmasi, Tata Laksana Uji Klinik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- 6) Hanafiah, K. A., 2011. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Palembang: PT Raja Grafindo Persada.
- 7) Jinsart, W., Ternai, B., Buddhasukh, D. & Polya, G. M., 1992. Inhibition of wheat embryo calcium-dependent protein kinase and other kinases by mangostin and γ -mangostin. *Phytochemistry*, Volume 31, pp. 3711-3713.
- 8) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2006. (3 Februari 2006) *Penghentian Monoterapi Artemisinin Mencegah Penyebarluasan Resistensi*. [Online] Available at: <http://depkes.go.id/index.php/berita/press-release/951-penghentian-monoterapi-artemisinin-mencegah-penyebarluasan-resistensi.html> [Diakses 30 Juni 2012].
- 9) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011. (25 April 2011) *Pengendalian Malaria Masih Hadapi Tantangan*. [Online] Available at: <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1488-pengendalian-malaria-masih-hadapi-tantangan.html> [Diakses 16 Januari 2013].
- 10) Kumar, A., 2012. A Review on Hepatoprotective Herbal Drugs. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 2(1), p. 94.
- 11) Likubo, K. et al., 2002. The first direct synthesis of α -mangostin, a potent inhibitor of the acidic sphingomyelinase. *Tetrahedron Lett*, Volume 43, pp. 291-293.
- 12) Mahabusarakam, W., Kuaha, K., Wilairat, P. & Taylor, W. C., 2006. Prenylated xanthenes as potential antiplasmodial substances. *Planta Med*, Volume 72, pp. 912-916.
- 13) Markell, E. K., Voge, M. & John, D. T., 1986. *Medical Parasitology*. 6th penyunt. London: W.B. Saunders Company.
- 14) Munoz, V. et al., 1999. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part. I Evaluation of the antimalarial activity of plant used by the Chacobo Indians. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 6-7.
- 15) Nakatani, K. et al., 2002. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E2 Synthesis by γ -mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. *Biochem. Pharmacol*, Volume 63, pp. 73-79.
- 16) Riscoe, M., Kelly, J. X. & Winter, R., 2005. Xanthone as antimalarial agents: discovery, mode of action, and optimization. *Curr. Med. Chem*, Volume 12, pp. 2539-2549.
- 17) Setyani, A., 2010. *Uji Aktivitas Antijamur α -mangostin Hasil Isolasi Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L) Terhadap Massaezia sp*, Surakarta: s.n.
- 18) Sunarjono, H., 2008. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- 19) Vlietinck, A. J., Bruyne, T. D., Apers, S. & Pieters, L. A., 1998. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Planta Med*, Volume 64, pp. 97-109.