

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL ASETAT KULIT MANGGIS  
TERHADAP KADAR ICAM-1 SERUM PADA MENCIT GALUR DDY YANG  
DIINOKULASI *Plasmodium berghei***

***THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT AND ASETIC ETHYL FRACTION OF  
MANGOSTEEN PERICARPS TOWARD ICAM-1SERUM LEVEL  
IN *Plasmodium berghei*-INOCULATED DDY MICE***

*Khie Khiong, dr., S.Si., M.Si.,M.Pharm.Sc., Ph.D., PA (K)<sup>1</sup>,  
Prof. Dr. Susy Tjahjani, dr., M.Kes<sup>2</sup>,  
Nathanael Denny Sugihat<sup>3</sup>,*

*<sup>1</sup>Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,*

*<sup>2</sup>Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha*

*<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha*

*Jalan Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia*

**ABSTRAK**

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang masih menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia terutama di Indonesia. Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai obat antimalaria adalah kulit manggis yang mengandung antioksidan xanton. ICAM-1 merupakan mediator inflamasi yang berperan pada patogenesis malaria.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit manggis terhadap penurunan kadar ICAM-1 serum pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium sungguhan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan mencit jantan galur DDY yang dibagi dalam 9 kelompok (n=4) secara acak. Kelompok kontrol akuades tidak diinokulasi *Plasmodium berghei* dan diberi 0,1 mL akuades sedangkan 8 kelompok lain diinokulasi *Plasmodium berghei* kemudian diberi perlakuan 0,1 mL akuades (kontrol negatif), 0,1 mg artemisinin (kontrol positif), 2,5 mg ekstrak etanol kulit manggis (E1), 0,5 mg ekstrak etanol kulit manggis (E2) dan 0,1 mg ekstrak etanol kulit manggis (E3), 2,5 mg fraksi etil asetat kulit manggis (A1), 0,5 mg fraksi etil asetat kulit manggis (A2) dan 0,1 mg fraksi etil asetat kulit manggis (A3). Setelah diberi perlakuan selama 3 hari, pada hari ke-4 kadar ICAM-1 serum masing-masing mencit diukur menggunakan metode ELISA. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji *One Way Analysis Of Variance (ANOVA)* dilanjutkan dengan uji beda rata-rata *Tukey HSD* dengan  $\alpha=0,05$  yang mana suatu perbedaan dikatakan bermakna jika  $p\leq 0,05$ .

Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar ICAM-1 yang sangat bermakna pada kelompok kontrol positif, E1, E2, E3, A1 dan A2 ( $p=0,00$ ) sedangkan penurunan kadar ICAM-1 serum tidak bermakna pada kelompok A3. Penurunan kadar ICAM-1 pada kelompok ekstrak etanol dan fraksi etil asetat sesuai dengan *dose dependent manner*. Selanjutnya penurunan kadar ICAM-1 serum pada kelompok E1 dan A1 setara dengan kelompok yang diberi artemisinin (kontrol positif).

Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit manggis dapat menurunkan kadar ICAM-1 sesuai dengan *dose dependent manner* dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Kata kunci: ICAM-1, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, xanton.

### **ABSTRACT**

*Malaria is an infectious disease which remains health problems in world including Indonesia. One of the antimalarial medicinal source is mangosteen's pericarps which contain antioxidant of xanthone. ICAM-1 is one of inflammation mediator which plays important role in malaria pathogenesis.*

*The aim of this study to explore the effect of ethanolic extract and acetic ethyl fraction of mangosteen's pericarps toward ICAM-1 serum level in Plasmodium berghei-inoculated mice. The method of this research was true experimental study with completely randomized design using DDY mice which randomly divided into 9 groups (n=4). Aquadest control group only received 0.1 mL aquadest without P. berghei inoculation, while other 8 groups were inoculated with p. berghei. Negative control only received aquadest 0.1 mL per day (KN), positive control (KP) received 0.1 mg of artemisinin per day while E1, E2 and E3 received 2.5, 0.5 and 0.1 mg/day of ethanolic extract of mangosteen's pericarps. Moreover, A1, A2 and A3 received 2.5, 0.5 and 0.1 mg/day of acetic ethyl fraction of mangosteen's pericarps. After 3 days, serum were collected from each mouse and the ICAM-1 serum level were measured using ELISA. All data were analysed using One Way Analysis Of Variance (ANOVA) and continued by post hoc analysis of Tukey HSD with  $\alpha=0,05$ .*

*Results showed ICAM-1 serum level decreased significantly in KP, E1, E2, E3, A1 and A2 groups ( $p=0,00$ ) while not significantly in A3 group. The decreasing of ICAM-1 serum level in ethanolic extract and acetic ethyl fraction groups were dose dependent manner. Moreover, E1 and A1 groups had similar effect in decreasing ICAM-1 serum level compared to artemisinin group (KP).*

*As conclusion, ethanolic extract and acetic ethyl fraction of mangosteen's pericarps could decreased ICAM-1 serum level in P. berghei-inoculated mice and this properties were dose dependent manner.*

*Key words: ICAM-1, ethanolic extract, acetic ethyl fraction, xanthone.*

### **PENDAHULUAN**

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus plasmodium yang dapat ditularkan melalui cucukan nyamuk *anopheles* betina. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia. Penduduk yang berisiko terkena malaria berjumlah sekitar 2,3 miliar atau 41% dari jumlah

penduduk. Setiap tahun sekitar 300-500 juta penduduk dunia menderita penyakit ini dan menimbulkan 1,5 - 1,7 juta kematian<sup>1</sup>.

Di Indonesia angka kejadian malaria masih merupakan masalah kesehatan yang perlu diperhatikan. Dari data WHO tahun 2012 terdapat 42 juta penduduk Indonesia tinggal di daerah yang berisiko tinggi terinfeksi malaria (>1 kasus per 1000 populasi), 109 juta di daerah yang berisiko

rendah terinfeksi malaria (0 - 1 kasus per 1000 populasi), dan 93,3 juta di daerah yang bebas dari infeksi malaria<sup>2</sup>. Terdapat 4 plasmodium yang dapat menyebabkan infeksi malaria pada manusia, yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium ovale*. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2010 spesies malaria yang paling banyak dilaporkan adalah *Plasmodium falciparum* (86,4%) sedangkan sisanya adalah *Plasmodium vivax* dan campuran antara *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*<sup>3</sup>.

*Plasmodium falciparum* memiliki potensi tinggi bermultiplikasi dan memiliki kemampuan unik untuk melekat pada kapiler dan endotel vena pada 24 jam kedua siklus kehidupan yang berlangsung selama 48 jam, proses ini disebut *cytoadherence*. Pemecahan sel darah merah karena terinfeksi *Plasmodium falciparum* menyebabkan perubahan sirkulasi aliran darah, disfungsi metabolik, dan menimbulkan manifestasi malaria falciparum yang parah. *Cytoadherence* memberikan dua keuntungan terhadap kelangsungan hidup *Plasmodium falciparum* karena lingkungan vena yang bersifat aerob lebih cocok untuk proses maturasi serta adhesi ke endotel kapiler yang memungkinkan parasit ini dapat lolos dari sistem imun.

Pada malaria terjadi peningkatan radikal bebas yang dapat menyebabkan *cytoadherence* bertambah banyak sehingga akan memicu makrofag untuk menghasilkan TNF- $\alpha$ . Peningkatan kadar TNF- $\alpha$  ini akan meningkatkan kadar oksidan yang beredar dalam tubuh dan meningkatkan ekspresi reseptor sel endotel otak seperti *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1). ICAM-1 atau CD54 adalah contoh reseptor yang berperan dalam patogenesis malaria. Selain itu, dari isolasi parasit pada pasien penderita

malaria menunjukkan kapasitas tertinggi dalam mengikat ekspresi ICAM-1<sup>4</sup>.

Radikal bebas yang diproduksi dalam proses inflamasi merupakan senyawa yang dapat menimbulkan stres oksidatif yang akhirnya dapat memperparah reaksi inflamasi itu sendiri. Senyawa antioksidan merupakan penangkal radikal bebas yang ada dalam tubuh. Sebenarnya tubuh dapat menghasilkan antioksidan endogen secara alamiah dalam upaya menghadapi senyawa radikal bebas, akan tetapi jumlahnya terbatas. Bila radikal bebas dalam tubuh berlebihan maka dibutuhkan senyawa antioksidan eksogen<sup>5,6</sup>.

Upaya penanggulangan malaria pada mulanya memberikan hasil yang cukup baik dengan pemberian obat antimalaria standar. Akan tetapi, menjadi kurang efektif karena terjadi resistensi *Plasmodium* terhadap obat antimalaria. Kasus resistensi terhadap obat antimalaria dilaporkan terjadi di berbagai tempat termasuk di Indonesia<sup>7</sup>. Sebagai konsekuensi peningkatan kasus resistensi obat antimalaria yang sebelumnya efektif dengan satu terapi obat antimalaria seperti klorokuin (CQ) dan sulfadoksin-pirimethamin (SP), WHO menyelenggarakan suatu pertemuan pada tahun 2001 yang menyetujui tentang potensi terapi kombinasi artemisinin (ACT) untuk mengatasi masalah resistensi obat antimalaria.

Buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tumbuhan yang berasal dari Asia Tenggara meliputi Indonesia, Malaysia, Thailand, dan Myanmar. Buah manggis merupakan tumbuhan fungsional yang sebagian besar dari tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai obat. Akan tetapi, banyak masyarakat yang belum mengetahui bahwa kulit manggis memiliki khasiat yang baik<sup>8</sup>. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kulit manggis mengandung senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi dan

antioksidan. Senyawa tersebut diantaranya flavonoid, tanin, dan xanthan.

Berdasarkan uraian masalah di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui peranan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit manggis terhadap kadar ICAM-1 serum pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

## BAHAN DAN CARA

Sebanyak 36 ekor mencit DDY jantan dikelompokkan menjadi 2, yaitu yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* (32 ekor) dan yang tidak diinokulasi *Plasmodium berghei* (4 ekor). Kemudian kelompok yang diinokulasi *Plasmodium berghei* dibagi lagi menjadi 8 kelompok sebagai masing-masing kelompok kontrol positif dan perlakuan sehingga didapatkan total 9 kelompok mencit dengan tiap kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Pembagian 9 kelompok mencit adalah sebagai berikut:

- Kelompok mencit yang tidak diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang selanjutnya diberikan akuades sebanyak 0,1 mL/hari sebagai perlakuan (KA) → kontrol akuades.
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberi perlakuan akuades sebanyak 0,1 mL/hari → kontrol negatif (KN).
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberikan perlakuan 0,1 mg artemisinin (0,1 ml/hari) → kontrol positif (KP).
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberikan 0,1 mL ekstrak etanol 96% kulit manggis (2,5 mg/hari) → (E1).
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang

kemudian akan diberikan 0,1 mL ekstrak etanol 96% kulit manggis (0,5 mg/hari) → (E2).

- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberikan 0,1 mL ekstrak etanol 96% kulit manggis (0,1 mg/hari) → (E3).
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberikan 0,1 mL fraksi etil asetat kulit manggis (2,5 mg/hari) → (A1).
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberikan 0,1 mL fraksi etil asetat kulit manggis (0,5 mg/hari) → (A2).
- Kelompok mencit yang diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* yang kemudian akan diberikan 0,1 mL fraksi etil asetat kulit manggis (0,1 mg/hari) → (A3).

*Plasmodium berghei* diinokulasikan pada mencit dengan cara disuntik secara intraperitoneal sebanyak 0,1 mL. Lalu perkembangan parasitemianya diamati setiap hari hingga didapat minimal parasitemia sebanyak 5%. Apabila parasitemia sudah memenuhi syarat tersebut, maka pada tiap kandang diberikan perlakuan yang sudah ditentukan. Setelah diberikan terapi selama 3 hari, dilakukan pengambilan darah pada semua mencit untuk disimpan serumnya dan dilakukan pemeriksaan kadar ICAM-1 dengan teknik ELISA.

## ANALISIS DATA

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah dengan  $\alpha = 0,05$ , dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan 95%, tingkat kemaknaan berdasarkan nilai  $p \leq 0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan secara serologis dengan metode ELISA pada tiap serum kelompok mencit yang telah diberi perlakuan artemisinin, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit manggis selama 3 hari menunjukkan kadar rerata ICAM-1 seperti pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Rerata Kadar ICAM-1 setelah diberi perlakuan selama 3 hari**

Kelompok	Kadar ICAM-1 (pg/mL) $\pm$ STDEV
Kontrol Akuades (KA)	3514,79 $\pm$ 176,84
Kontrol Negatif (KN)	21551,72 $\pm$ 854,32
Kontrol Positif (KP)	6930,85 $\pm$ 421,76
Ekstrak Etanol 1 (E1)	6947,45 $\pm$ 399,13
Ekstrak Etanol 2 (E2)	14124,98 $\pm$ 524,84
Ekstrak Etanol 3 (E3)	21017,42 $\pm$ 1196,12
Fraksi Etil Asetat 1 (A1)	7040,17 $\pm$ 313,97
Fraksi Etil Asetat 2 (A2)	14124,98 $\pm$ 524,84
Fraksi Etil Asetat 3 (A3)	21320,63 $\pm$ 1052,63

Data kadar rerata ICAM-1 tiap-tiap perlakuan menunjukkan bahwa kadar ICAM-1 serum paling rendah didapat pada kelompok kontrol akuades (KA), sedangkan kadar paling tinggi pada kelompok kontrol negatif (KN) dan kelompok kontrol positif memiliki kadar rerata kadar ICAM-1 paling rendah.

**Tabel 4.2 ANOVA Efek Ekstrak Etanol 96%, Fraksi Etil Asetat Kulit Manggis dan Artemisinin terhadap Kadar ICAM-1**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	163275114,6	8	204093,893,3	396,247	0,00
Within Groups	13906807,25	27	515066,935		
Total	164665795,85	35			

Pengujian data statistik dengan hipotesis statistik sebagai berikut:  $F_{hitung} < F_{tabel}$  dengan  $p \geq \alpha$  maka  $H_0$  gagal ditolak.  $F_{hitung} \geq F_{tabel}$  dengan  $p < \alpha$  maka  $H_0$  ditolak, terima  $H_1$ . Karena  $F_{hitung} = 396,247 > F_{tabel 0,05 (8, 27)} = 2,31$  dengan  $p = 0,00 < \alpha$ , maka  $H_0$  ditolak, terima  $H_1$  dan hal lainnya, yang artinya ada perbedaan kadar ICAM-1 serum di antara minimal 1 pasang kelompok perlakuan.

Selanjutnya, untuk menentukan di antara kelompok-kelompok mana yang berbeda, dilakukan uji *Post Hoc* dengan metode *Tukey-HSD*. Hasil analisis *Tukey HSD* dapat dilihat pada tabel 4.3. Dari hasil analisis uji *Tukey HSD* (tabel 4.3) dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan kadar ICAM-1 yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antar kelompok kontrol positif (KP), kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit manggis 0,5 mg (E2) dan 0,1 mg (E3) serta kelompok perlakuan fraksi etil asetat 0,5 mg (A2) dan 0,1 mg (A3). Selanjutnya kadar ICAM-1 juga berbeda tidak bermakna pada kelompok perlakuan E1 dan A1.

Kadar ICAM-1 memiliki perbedaan yang sangat bermakna ( $p = 0,00$ ) pada kelompok kontrol negatif (KN) dibandingkan dengan kelompok KA dan 5 kelompok perlakuan lainnya dengan masing-masing nilai  $p < 0,01$ .

**Tabel 4.3 Kadar ICAM-1 Berdasarkan Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode Tukey-HSD**

Kelo	K	K	K	E	E	E	A	A	A
mpo	A	N	P	1	2	3	1	2	3
k									
perla									
kuan									
KA		**	**	**	*	*	**	**	**
KN			**	**	*	*	**	**	N
KP				N	*	*	N	**	**
E1				S	*	*	S	**	**
E2					*	*	S		
E3						*	**	**	N
A1								**	**
A2									**
A3									

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit manggis dapat menurunkan kadar ekspresi ICAM-1 pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*. Selanjutnya kelompok E1 dan A1 dengan dosis perlakuan ekstrak etanol dan etil asetat paling tinggi memiliki efek menurunkan kadar ICAM-1 serum setara dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan baik kelompok perlakuan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki efek menurunkan kadar ICAM-1 serum dalam hal *dose dependent manner* yang mana semakin tinggi dosis yang diberikan akan semakin menurunkan kadar ICAM-1 serum. Hal ini terjadi karena kandungan xanton yang terdapat di dalam kulit buah manggis mampu menginhibisi proses degenerasi heme menjadi hemozoin. Akumulasi heme akan

membunuh parasit sehingga kadar ICAM-1 menurun.

Artemisinin memiliki efek antimalaria yang lebih baik dibandingkan dengan obat antimalaria lainnya, baik dalam membunuh parasit maupun dalam menghambat proses metabolismenya, seperti glikolisis, sintesis protein, dan asam nukleatnya. Kelebihan lain artemisinin ialah mampu membunuh parasit di berbagai stadium mulai dari stadium cincin sampai stadium trophozoit<sup>9</sup>.

Xanton yang terdapat dalam buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan kandungan utama  $\alpha$ -mangostin selain memiliki efek sitotoksik, antibakteri dan antioksidan, juga memiliki aktivitas antimalarial. Pada penelitian sebelumnya didapatkan  $\alpha$ -mangostin ini memiliki efek antimalaria yang poten dibandingkan dengan klorokuin<sup>10</sup>. Efek malaria dari  $\alpha$ -mangostin ini sebagai inhibitor pada proses degradasi hemoglobin yang terkait pada penghambatan pembentukan asam amino untuk pertumbuhan parasit malaria ini yang mengakibatkan kematian parasit.

Dalam penelitian juga didapatkan bahwa perlakuan fraksi etil asetat 0,1 mg kulit manggis (A3) tidak menurunkan kadar dari ICAM-1 serum pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

## SIMPULAN

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit manggis dapat menurunkan kadar ICAM-1 serum pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* sesuai dengan *dose dependent manner*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Malaria. World Health Organization; Geneva, Switzerland, 2011. <http://www.who.int/topics/malaria/en/>.
2. WHO. World Malaria Report 2013. World Health Organization; Washington DC, 2013. Website :[http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2013/en/](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/). (Accessed on December 11, 2013).
3. Kumar, Abbas, Fausto. 2009. Pathologic Basis of Disease. China: Elsevier.
4. Wiser MF. 2008. Malaria. <http://www.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/malaria.html>. 15 Januari 2014.
5. Khie Khiong, Hana Ratnawati, Sylvia Soeng, Shella Hudaya, Griselda. Pengaruh Buah Merah terhadap Proliferasi Limfosit dan Kadar IFN- $\gamma$  pada Mencit yang Diinokulasi dengan *Listeria monocytogenes*. Simposium Penelitian Bahan Obat Alami XIV & Muktamar XI PERHIBPA. 11-12 Agustus 2009. Jakarta.
6. Khie Khiong, Oeij Anindita Adhika, Melisa Chakravitha. Therapeutic Potential of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam). By Inhibiting NF-kB Pathway in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Jurnal Kedokteran Maranatha*. 2009. In Press.
7. Sungkar S, Pribadi W. 1992. Resistensi Plasmodium falsiparum terhadap obat malaria. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 42 :155 – 162.
8. Moongkarndi, P., Kosem, N., Kaslungka, S., Luanratana, O., Pongpan, N., dan Neungton, N. 2004. Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosit by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *J. Ethnopharmacol.* 90(1):161-166.
9. Syarif. 2007. Farmakologi dan Terapi. Jakarta : Balai Penerbit FKUI. PP 567-568.
10. Nughroho, A.E. 2011. Dari Kulit Buah yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. [http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/69Manggis\\_Agung%20Baru.pdf](http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/69Manggis_Agung%20Baru.pdf). diakses 14 Agustus 2014.