Influenceof Giving Ethanol Extractof MangosteenPeel (Garcinia mangostana Linn.) to ALT Enzyme Activityin White MaleRat (Rattus novergicus) StrainSpraguedawley Induced Rifampicin

Saraswati I, Basuki W, Soleha TU Faculty of Medicine Lampung University

Abstract

Rifampicinis one of thedrugs usedin TB treatment, but these drugs have side effects hepatotoxicity. Mangosteen peel contains a fairly high antioxidant compounds uch as xanthones and anthocyanins. To prove this, it will be conducted to influence of giving ethanol extract of mangosteen peel to ALT enzyme activity on white male rats strain *Sprague dawley* inducedrifampicin. This research is an experimental by *post only control group design* with sample of 25 male rats rats (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague dawley* aged 10-16 weeks for 14 days. The results showed significant yield differences (p <0.05) in group K1-K2, K1-K3, K1-K4, K2-K3, K2-K4,K2-K5, K3-K4, K3-K5, K4-K5. The conclusion of this study, the ethanol extract of mangosteen rind has benefits in preventing an increase in ALT enzyme activity of white rats *Sprague dawley* strain.

Keywords: hepatotoxic, mangosteen rind, rifampicin.

Pengaruh Pemberian EkstrakEtanol Kulit Manggis (Garcinia mangostana Linn.) Terhadap Aktivitas Enzim ALT Tikus Putih Jantan(Rattus norvegicus) GalurSprague dawleyyang DiinduksiRifampisin

Abstrak

Rifampisin merupakan salah satu obat yang digunakan dalam pengobatan TB tetapi obat ini memiliki efek sampingyaitu hepatotoksisitas.Kulit manggis mengandung senyawaantioksidan yang cukup tinggiseperti xanthone dan antosianin.Untuk membuktikan hal ini, maka akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis terhadap aktivitas enzim*Alanin Aminotransferase* (ALT) pada tikus putih galur *Sprague dawley* yang diinduksi *rifampisin*.Penelitian ini bersifat eksperimental dengan *post only control group design* dengan sampel 25 tikus putih(*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10-16 minggu selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan hasil perbedaan bermakna (p<0,05)pada kelompok K1-K2, K1-K3, K1-K4, K2-K3, K2-K4,K2-K5, K3-K4, K3-K5, K4-K5, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit manggis memiliki manfaat dalam mencegah peningkatan aktivitas enzim ALT tikus putih galur *Sprague dawley*.

Kata kunci:hepatotoksik, kulit manggis, rifampisin.

Pendahuluan

Rifampisin (RFP) dan isoniazid (INH) merupakan obat lini pertama untuk terapi anti tuberkulosis (TB), tetapi hepatotoksisitas yang dihasilkan dari penggunaan obat ini tetap menjadi masalah yang signifikan untuk pengobatan klinis. Rifampisin adalah makrosiklik antibiotik kompleks yang menghambat sintesis asam ribonukleat dalam berbagai mikroba patogen. Rifampisin memiliki efek bakterisida dan efek sterilisasi efektif melawan basil *Mycobacterium tuberculosis*baik intraseluler dan ekstraseluler (Zhao, 2013).

Indonesia merupakan negara pertama diantara High Burden Country (HBC) diwilayah WHO South-East Asian yang mampu mencapai target global TB untuk deteksi kasus dan keberhasilan pengobatan pada tahun 2006. Pada tahun 2009, tercatat sejumlah 294.732 kasus TB telah ditemukan dan diobati (data awal Mei 2010) dan lebih dari 169.213 kasus diantaranya terdeteksi BTA+.Dengan demikian, Case Notification Rate untuk TB BTA+ adalah 73 per 100.000 kasus (Case Detection Rate 73%). Rerata pencapaian angka keberhasilan pengobatan selama 4 tahun terakhir adalah sekitar 90% dan pada studikohort tahun 2008 mencapai 91%. Pencapaian target global tersebut merupakan tonggak pencapaian TB utama (Pedoman program pengendalian Nasional yang Nasional Penanggulangan Tuberkulosis, 2011).

Seiring dengan angka keberhasilan dari pengobatan TB, salah satu efek samping penggunaan *rifampisin* adalah hepatotoksisitas.Efek hepatotoksik dipengaruhi oleh dosis yang digunakan dan proses metabolisme obat.Penanda dini dari hepatotoksik adalahpeningkatan enzim-enzim transaminase dalam serumyang terdiri dari *aspartate aminotransferase/serum glutamate oxaloacetate transaminase* (AST/SGOT) yangdisekresikan secara paralel dengan *alanine aminotransferase/serum glutamate pyruvate transaminase* (ALT/SGPT) yang merupakan penanda yang lebih spesifikuntuk mendeteksi adanya kerusakan hepar(Prihatni *et al.*, 2005).

Penulis tertarik untuk meneliti *Garcinia mangostana* Linnyang merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional.Manggis mengandung senyawa antioksidan yang cukup tinggi.Berbeda dengan buah-

buahan lainnya, keunggulan buah manggis terletak pada kulit buahnya.Berbagai penelitian menunjukkan, senyawa xanthone yang terdapat didalam kulit buah manggis memiliki sifat sebagai antiperadangan, antioksidan, danantihistamin telah dibuktikan oleh seorang peneliti di Jepang.Xanthone dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel pankreas akibat radikal bebas (Jung *et al.*, 2006).

Penelitian juga telah dilakukan oleh Nakatani *et al.* pada tahun 2002 terhadap mekanisme ekstrak kulit buah manggis dengan etanol 100%, 70% dan 40% diuji terhadap sintesa prostaglandin E₂, pelepasan histamin serta peroksidase lipid. Ekstrak etanol 40% menunjukkan efek paling poten dalam menghambat peroksidase lipid, pelepasan histamin dan sintesa PGE₂-siklooksigenase (COX).

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode acak terkontrol dengan pola *post test–only control group design*. Menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10 sampai 16 minggu yang dipilih secara *random* yang dibagi menjadi 5 kelompok, dengan pengulangan sebanyak 5 kali, digunakan sebagai subjek penelitian.

Bahan penelitian yang digunakan yaitu *rifampisin* dengan dosis 100 mg/100gBB tikus dan ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) dengan dosis20 mg/100gBB,40mg/100gBB, dan 80 mg/100gBB. Kelompok I sebagai kontrol normal, hanyayang diberi aquadest.Kelompok II sebagai kontrol patologis, diberikan rifampisin dengan dosis 100 mg/100gBB.Kelompok III, IV dan V adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian induksi rifampisin sebesar 100 mg/100gBB. Kemudian selang 2 jam kelompok III diberi ekstrak kulit manggis dosis I sebanyak 20 mg/100gBB, kelompok IV diberidosis II ekstrak kulit manggis sebanyak 40 mg/100gBB, dan kelompok V dengan dosis III ekstrak kulit manggis sebanyak 80 mg/100gBB. Masing-masing diberikan secara peroral selama 14 hari (Dhuley, 1998).

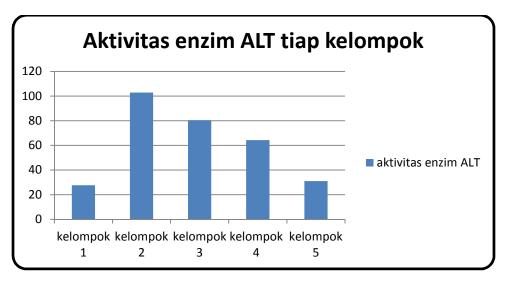
Setelah 14 hari, perlakuan diberhentikan. Tikus dikeluarkan dari kandang dan ditempat terpisah dengan tikus lainnya kemudian ditunggu beberapa saat untuk mengurangi penderitaan pada tikus.Setelah itu, tikusdianestesi dengan Ketamine-xylazine 75-100 mg/kg+5-10 mg/kg secara IP kemudian tikus di *euthanasia* berdasarkan *Institusional Animal Care and Use Committee* (IACUC) menggunakan metode *cervical dislocation* (AVMA, 2013). Setelah tikus dipastikan mati, darah di ambil melalui jantung dengan menggunakan alat suntik sebanyak ±2 cc, kemudian langsung dimasukkan ke dalam *vacutainer* dan dipusingkan selama 10-20 menit dengan kecepatan 4000 rpm, kemudian serum diambil dengan mikropipet 200 μL dan ditampung dalam *capp* sampel untuk dilakukan pemeriksaan denganalat *Chemistry Autoanalyzer Diagnostic*COBAS INTEGRA 400 plus dengan metode kinetik-IFCC (IFCC, 2004).

Hasil

Dari hasil penelitian terhadap aktivitas enzim ALT pada tikus yangdiberi ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) dengan induksi *rifampisin*didapatkan hasil pada masing-masing kelompok terdapat dalam Tabel 1.

Tabel 1.Hasil pengukuran aktivitas enzim ALT

No.	Kelompok perlakuan	Aktivitas enzim ALT (U/L)					Mean	Std. Deviasi
		A	В	С	D	Е	_	
1	K1	32,00	28,00	29,00	25,00	24,00	27,60	3,20
2	K2	114,00	100,00	104,00	108,00	88,00	102,80	9,75
3	K3	77,00	90,00	88,00	75,00	72,00	80,40	8,08
4	K4	51,00	80,00	56,00	69,00	65,00	64,20	11,34
5	K5	32,00	24,00	39,00	31,00	29,00	31,00	5,43



Gambar 1.Grafik aktivitas enzim ALT tiap kelompok

Data ini diolah dengan program komputer.Pada tahap awal, seluruh data pada tiap kelompok diuji normalitasnya dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan 50 (Dahlan, 2011).Berdasarkan hasil uji ini diketahui bahwa seluruh data pada tiap kelompok memiliki distribusi normal dan varians data sama dengan p>0,05 sehingga uji analisis yang digunakan untuk data penelitian ini adalah uji *One WayANOVA*.

Setelah dilakukan uji *One Way ANOVA*, diperoleh nilai p pada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis terhadap aktivitas enzim ALT tikus putih jantan galur *Sprague dawley* adalah p<0,05 dengan p=0,001, hal ini terdapat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji One Way ANOVA pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis

No.	Kelompok perlakuan	Mean±S.D	p
1	K1	27,60±3,20	0,001
2	K2	$102,80\pm 9,75$	
3	К3	$80,40\pm8,08$	
4	K4	64,20±11,34	
5	K5	31,00±5,43	

Berdasarkan data hasil penelitian, pada uji statistik *One WayANOVA*diperoleh hasil perbedaan bermakna aktivitas enzim ALT pada hampir seluruh kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *Post Hoc*LSD didapatkan hasil perbedaan bermakna (p<0,05) antara K1 dan K2 (p=0,001),K1 dan K3 (p=0,001),K1 dan K4 (p=0,001),K2 dan K3 (p=0,001),K2 dan K4 (p=0,001), K2 dan K5 (p=0,001), K3 dan K4 (p=0,005), K3 dan K5 (p=0,001) serta K4 dan K5 (p=0,001). Hasil perbedaan tidak bermakna (p>0,05) diantara K1 dan K5 (p=0,515).

Pembahasan

Metabolisme utama *rifampisin* adalah asetilasi oleh enzim sitokrom P-450 dan *cytochrome* P-450 2E1 (CYP 2E1) dengan menghasilkan *hepatotoksik*.Rifampisin dapat menginduksi mediator inflamasi dan meningkatkan produksi sitokin yang diinduksi *nitric oxide* (NO) dan *interleukin-* 8 (L-8) dalam epitel sel hati.Berbagai bentuk sitokrom, seperti CYP1A1, CYP1A2 dan CYP2E1, terlibat dalam generasi radikal bebas dan *rifampisin* sebagai mediator generasi radikal bebas dapat berhubungan dengan perubahan dalam ekspresi CYPs (Zhao, 2013).

Radikal bebas yang terbentuk ini akan berikatan dengan makromolekul hepar yang akan menyebabkan kerusakan hepatosit yang nantinya bisa menyebabkan sampel jaringan hati mengalami kerusakan yang dinilai melalui peningkatan aktivitas enzim ALT (Gaze, 2007). Peningkatan aktivitas enzim ALT ini menjadi petunjuk yang spesifik terhadap kerusakan hati, karena sangat sedikit kondisi selain hati yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim ini dalam serum (Prihatni *et al.*, 2005).

Penurunan aktivitas enzim ALT terjadi pada kelompok K3, K4 dan kelompok K5. Akan tetapi penurunan ini belum mencapai keadaan normal. Terbukti dengan hasil uji statistik antara kelompok K3 dengan kelompok K1, kelompok K4 dengan kelompok K1 menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit manggis dosis 20 mg/100gBB dan 40 mg/100gBB memperlihatkan efek sebagai *hepatoprotektif* yaitu dapat melindungi

hepatosit dari kerusakan akibat induksi rifampisin, namun efeknya belum optimal. Sedangkan hasil uji statistik antara kelompok K5 dan K1 menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna (p=0,515) yang dapat diartikan bahwa dengan pemberian ekstrak etanol kulit manggis dosis 80 mg/100gBB jauh lebih baik dalam mencegah peningkatan aktivitas enzim ALT. Tidak terjadinya peningkatan aktivitas enzim ALT merupakan salah satu indikasi terjadinya perlindungan hati dari kerusakan yang diakibatkan oleh *rifampisin* setelah pemberian ekstrak etanol kulit manggis. Hal ini disebabkan kulit manggis mengandung kelompok senyawa xanthone yang menunjukkan aktivitas antioksidatif melalui pengikatan radikal bebas. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa dosis ekstrak etanol kulit manggis sebesar 80 mg/100gBB tikus dapat mencegah peningkatan aktivitas enzim ALT dibandingkan dengan dua dosis yang lainnya.

Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) terhadap aktivitas enzim ALT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi *rifampisin* yaitu dapat mencegah peningkatan aktivitas enzim ALT.

Daftar pustaka

- American Veterinary Medical Association. 2013. Guidelines for Euthanasia of Animals. pp. 30, 38, 48. [Diakses 15 Desember 2013]. https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf.
- Dahlan S. 2011. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan.Jakarta:PenerbitSalemba Medika. Hlm. 1-15.
- Dhuley JN, Naik SR. 1998. Modulation of rifampicin toxicity by 6 MFA, aninterferon inducer obtained from fungus Aspergillus ochraceus. Department of Pharmacology and Toxicology. India: Research Centre. pp. 149-152.
- Gaze DC. 2007. The role of existing and novel cardiac biomarkers forcardioprotection.Curr. Opin. Invest. Drugs. 8(9):711-7.
- International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). 2004. Photometric UV-testfor Determination of Alanin Aminotransferase (GPT/ALAT) and AspartatAminotransferase (GOT/ASAT). Jakarta:Rajawali Nusindo. hlm. 88-89.
- Jung AH, Su BN, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. 2006. Clinical Validation of Mangosteen. Includes Scientific Papers, Research Papers, University Studies & Articles. J. Nature. 2(1):1-6.
- Nakatani K, Nakahata N, Arakawa T, Yasuda H, Ohizumi Y. 2002. Inhibitionof cyclooxygenase and prostaglandin E2 synthesis by gamma-mangostin, axanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. J. Biochem Pharmacol. 63(1):73-79.

- Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis. 2011. Kementerian Kesehatan RI Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. [Diakses tanggal 25 Oktober 2013]. www.tbindonesia.or.id/pdf/buku_pedoman_nasional.pdf.
- PrihatniD, Ida P, Idaningroem S, Coriejati R. 2005. Efek hepatotoksiktuberculosisterhadap kadar aspatate aminotransferase dan alaninaminotransferase serum penderita tuberculosis paru. J. Clinical Pathologyand Medical Laboratory. 12(1):1-15.
- Zhao J. 2013. Protective Effects of Metallothionein on Isoniazid andRifampicin-Induced Hepatotoxicity in Mice.J. PLoSONE. 8(8):720-58.