

Potency of Xanthone Oxidant and Antioxidant Status in Atherosclerosis Rats

Dwi Laksono Adiputro¹, M. Aris Widodo², Rochmad Romdoni³, Djanggan Sargowo⁴

¹Department of Cardiology and Vascular Medicine, Ulin General Hospital, Faculty of Medicine, University of Lambung Mangkurat, Banjarmasin, South Kalimantan.

²Department of Pharmacology, Faculty of Medicine University of Brawijaya, Malang, East Java.

³Department of Cardiology and Vascular Medicine, Dr. Soetomo General Hospital, Faculty of Medicine, University of Airlangga, Surabaya, East Java.

⁴Department of Cardiology and Vascular Medicine, Saiful Anwar General Hospital, Faculty of Medicine, University of Brawijaya, Malang, East Java.

Introduction. Xanthones, which have potent antioxidative and antiinflammatory, and various other bioactivities, are rich in a tropical fruit tree, mangosteen, *Garcinia mangostana*. The effect of xanthone oxidant level and antioxidant activity in hypercholesterolemic rats is still unknown.

Objectives. To clarify an effect of xanthone oxidant level and antioxidant activity in hypercholesterolemic rats.

Methods. A total of 32 Wistar rats were divided into four groups (n=8), include control, hypercholesterolemic diet groups, hypercholesterolemic diet + xanthone dose 35; 70; and 140 mg/kg body weight. Control group receive standart diet for 60 days. Hypercholesterolemic diet group receive standart diet plus yellow egg, sheep oil, cholic acid, and pig oil for 60 days per oral. Analysis of blood hydrogen peroxide level, aorta glutathione peroxidase activity, and aorta catalase activity, were done using spectrophotometric. The ANOVA test were used to analyze the different levels of hydrogen peroxide, glutathione peroxidase activity, and catalase activity.

Result. Hypercholesterolemic diet increase blood hydrogen peroxide level significantly compared to control group ($p < 0.05$). Xanthone decrease blood hydrogen peroxide level significantly at all dose compared to control group ($p < 0.05$). There is no significant difference of aorta glutathione peroxidase activity in all groups ($p > 0.05$). Xanthone modulate an activity of catalase in aorta at dose 140 mg/kg body weight.

Conclusion. Xanthone has potency to decrease blood oxidant level and modulate aorta catalase activity.

(J Kardiol Indones. 2012;33:209-14)

Keywords: xanthone; oxidant; antioxidant; hypercholesterol diet

Potensi Xanton Terhadap Status Oksidan dan Antioksidan pada Tikus Model Aterosklerosis

Dwi Laksono Adiputro¹, M. Aris Widodo², Rochmad Romdoni³, Djanggan Sargowo⁴

Latar belakang. Xanton, yang berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi, serta berbagai bioaktivitas, banyak terkandung pada buah tropis, manggis. Efek xanton terhadap kadar oksidan dan aktivitas antioksidan pada tikus hiperkolesterol belum diketahui.

Tujuan. Untuk mengklarifikasi efek xanton terhadap kadar oksidan dan aktivitas antioksidan pada tikus hiperkolesterol.

Hasil. Tiga puluh dua ekor tikus yang terbagi dalam empat kelompok (n=8), meliputi kontrol; kelompok diet hiperkolesterol; kelompok diet hiperkolesterol + xanton dosis 35; 70; dan 140 mg/kgBB. Kelompok diet tinggi lemak mendapat diet standar ditambah kuning telur, minyak kambing, asam kolat, dan minyak babi selama 60 hari. Analisis kadar hidrogen peroksida darah, aktivitas glutatone peroksidase aorta, dan aktivitas katalase aorta dilakukan secara spektrofotometrik. Uji ANOVA dilakukan untuk menganalisa perbedaan kadar hidrogen peroksida, aktivitas glutatone peroksidase, dan aktivitas katalase.

Hasil. Diet hiperkolesterol meningkatkan kadar hidrogen peroksida darah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p<0.05$). Xanton menurunkan kadar hidrogen peroksida darah secara bermakna pada semua dosis dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol ($p<0.05$). Tidak didapatkan perbedaan bermakna aktivitas glutatone peroksidase aorta pada berbagai kelompok perlakuan ($p<0.05$). Xanton dapat memodulasi aktivitas katalase aorta pada dosis 140 mg/kgBB.

Kesimpulan. Xanton berpotensi untuk menurunkan kadar hidrogen peroksida darah dan memodulasi aktivitas katalase aorta.

(J Kardiol Indones. 2012;33:209-14)

Kata kunci: xanthone, oksidan, antioksidan, diet hiperkolesterol

Latar belakang

Tanaman memproduksi berbagai metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas farmakologis yang dapat

menjadi sumber bahan farmakologis aktif. Buah manggis dikenal sebagai ratu buah disebabkan oleh rasa lezat dan aroma menyenangkan. Tanaman ini berasal dari Asia Tenggara dan terdistribusi di Thailand, India, Sri Lanka, Myanmar, Malaysia, Filipina, China, Indonesia dan berbagai negara tropis lain.¹ Di Amerika Serikat, produk manggis saat ini telah tersedia secara luas akibat persepsi masyarakat, sebagai suplemen yang dapat meningkatkan kesehatan. Jus buah manggis menjadi suplemen makanan produk pertanian utama, yang menduduki peringkat teratas dalam penjualan tahun.²

Corresponding Address:

Dwi Laksono Adiputro, dr., SpJP, Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskuler, Rumah Sakit Umum Ulin, Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A. Yani Km 2 No. 43 Banjarmasin, Kalimantan Selatan. Email: d_adiputro@yahoo.com

Kulit buah manggis telah digunakan sebagai obat tradisional di Asia Tenggara selama bertahun-tahun, untuk menyembuhkan diare, disentri, infeksi kulit, luka kronik, supurasi, leukorea, dan gonorea.^{1,3} Berbagai penelitian telah mengungkap potensi bahan aktif dari kulit buah manggis, antara lain sebagai antioksidan,⁴ antibakteri, antifungal, antimalaria, antiinflamasi,⁵ sitotoksik dan inhibitor aktivitas human immunodeficiency virus (HIV), inhibitor aromatase dan penginduksi aktivitas quinon reduktase.⁶

Di bidang kardiovaskuler, telah mengungkap potensi manggis sebagai penghambat oksidasi low density lipoprotein (LDL). α -mangostin menurunkan oksidasi LDL manusia yang diinduksi oleh cupper dan radikal peroksil. α -mangostin mampu memperpanjang *lag time* pembentukan diena terkonjugasi berdasarkan dosis, menurunkan produksi thiobarbiturate acid reactive substance (TBARS), dan menurunkan konsumsi α -tokoferol yang diinduksi oleh oksidasi LDL.⁷ α -mangostin dan derivat sintetisnya mampu mencegah penurunan konsumsi α -tokoferol yang diinduksi oleh oksidasi LDL.⁸ Selain itu, α -mangostin mempunyai efek perlindungan cedera reperfusi jantung berupa perbaikan kerja mekanik jantung, penurunan area infark, mencegah penurunan ATP dan fosfokeratin pada miokardium. Efek protektif ini disebabkan oleh sifat antioksidan dalam mencegah oksidasi protein, peroksidasi lipid, dan penurunan glutation.⁹

Buah manggis merupakan sumber fenolik yang melimpah. Berbagai fenolik pada manggis meliputi xanton, tanin, dan anthocyanin. Dari berbagai fenolik ini hanya xanton yang paling kerap untuk diteliti.¹⁰ Senyawa xanton larut dalam alkohol, eter, aseton, kloroform, dan etil asetat, sedangkan senyawa flavonoid dan polifenol larut dalam air dan pelarut polar yang lain.^{1,3}

Inti xanton diketahui sebagai 9-xanthenone atau dibenzo- π -pyrone yang bersifat simetrik. Xanton diklasifikasikan dalam lima kelompok: (a) xanton teroksigenasi sederhana; (b) xanton glikosida; (c) xanton prenilasi; (d) xantonolignoids dan (e) xanton yang lainnya. Aktivitas biologis dari xanton berhubungan dengan trisiklik akan tetapi bervariasi bergantung kepada posisi berbagai substituen.¹¹

Berbagai penelitian di atas belum ada yang mengungkap peranan xanton terhadap status oksidan dan antioksidan pada tikus model aterosklerosis. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dianalisa peranan xanton terhadap kadar H_2O_2 dan glutation

peroksidase (GPx) dan katalase (CAT) pada tikus model aterosklerosis. Hipotesa penelitian ini bahwa ekstrak etanol kulit buah manggis dapat menurunkan kadar H_2O_2 dan meningkatkan aktivitas GPx dan CAT.

Metode

Subyek

Subyek penelitian adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tikus yang digunakan adalah tikus jantan, berumur 6-8 minggu, berat badan 100-150 gram, dan dipelihara dalam kandang dengan ventilasi terbuka. Sebelum perlakuan, dilakukan aklimatisasi selama 2 minggu. Tikus dipelihara dalam kandang sistem tunggal, setiap kandang berisi 1 ekor tikus. Kandang berupa bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan tutup kandang terbuat dari anyaman kawat. Alas kandang adalah sekam padi yang diganti setiap tiga hari. Penelitian ini telah lolos kaji etik di Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.

Pakan dan suplementasi xanton

Pakan yang diberikan setiap hari adalah makanan tikus dewasa dengan komposisi comfeed PAR-S, tepung terigu tinggi protein, dan air. Komposisi ini adalah komposisi pakan untuk diet standar. Berat pakan yang diberikan per ekor tikus adalah \pm 40 gram per hari dan diganti setiap hari. Untuk diet hiperkolesterol, komposisi bahan pakan terdiri atas comfeed PAR-S, terigu, kuning telur, minyak kambing, asam cholat dan minyak babi. Xanton yang digunakan adalah isolat xanton produk Nacalai Tesque.

Kelompok

Kelompok penelitian terdiri atas kelompok tikus yang mendapat diet standar, kelompok tikus yang mendapat diet tinggi lemak, serta kelompok tikus yang mendapat diet diet tinggi lemak + xanton (35, 70, dan 140 mg/kg berat badan). Perlakuan dilaksanakan selama 60 hari. Setiap kelompok perlakuan terdiri atas 8 tikus sehingga total tikus dari semua kelompok adalah 32 ekor tikus.

Pengambilan sampel

Sampel penelitian ini adalah darah yang diambil dari jantung setelah 60 hari perlakuan. Prosedur pengambilannya, tikus dimasukkan ke dalam toples yang telah berisi kapas yang dibasahi eter untuk anestesi inhalasi. Apabila tikus telah teranestesi, dilakukan pembedahan dengan membuka bagian abdomen sampai thorax. Setelah terlihat jelas bagian jantung, mulailah dilakukan proses pengambilan darah dengan spuit 5 mL pada bagian ventrikel secara perlahan sampai didapatkan darah maksimal (5-6 mL). Sampel darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung ependorf tanpa EDTA. Tabung kemudian diberi label kode dan dibawa ke Laboratorium Biomedik untuk analisa kadar hidrogen peroksida. Selain itu juga diambil aorta untuk dilakukan analisa aktivitas GPx dan aktivitas CAT.

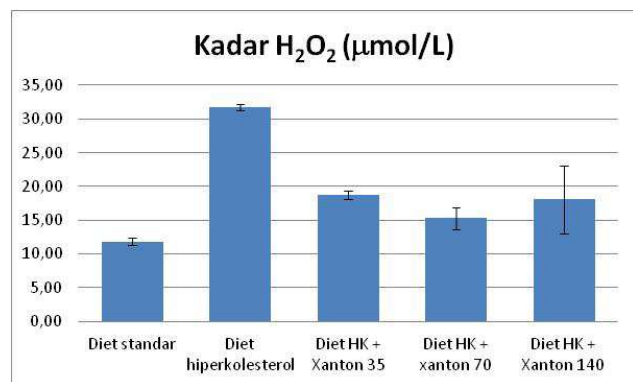
Hasil

Analisa kadar H_2O_2 pada berbagai kelompok perlakuan pemberian isolat xanton dengan uji Kruskal-Wallis didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,001$). Uji Mann Whitney didapatkan peningkatan bermakna kadar H_2O_2 antara kelompok diet standar dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol ($p=0,009$); antara kelompok diet standar dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 35 mg/kg BB ($p=0,009$); antara kelompok diet standar dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 70 mg/kg BB ($p=0,009$); antara kelompok diet standar dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 140 mg/kg BB ($p=0,009$). Uji Mann Whitney didapatkan penurunan kadar H_2O_2 bermakna antara antara kelompok diet kolesterol dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 35 mg/kg BB ($p=0,009$); antara kelompok diet kolesterol dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 70 mg/kg BB ($p=0,009$); antara kelompok diet kolesterol dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 140 mg/kg BB ($p=0,009$); kelompok diet kolesterol + isolat xanton 35 mg/kg BB dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 70 mg/kg BB ($p=0,009$).

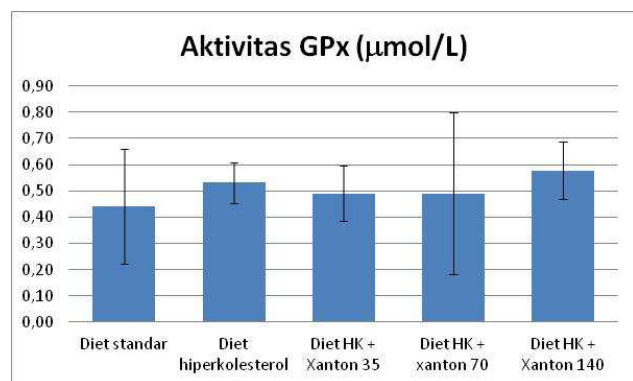
Uji Mann Whitney tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok diet kolesterol + isolat xanton 35 mg/kg BB dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 140 mg/kg BB

($p=0,009$), dan antara kelompok diet kolesterol + isolat xanton 70 mg/kg BB dibandingkan kelompok diet hiperkolesterol + isolat xanton 140 mg/kgBB ($p=0,009$).

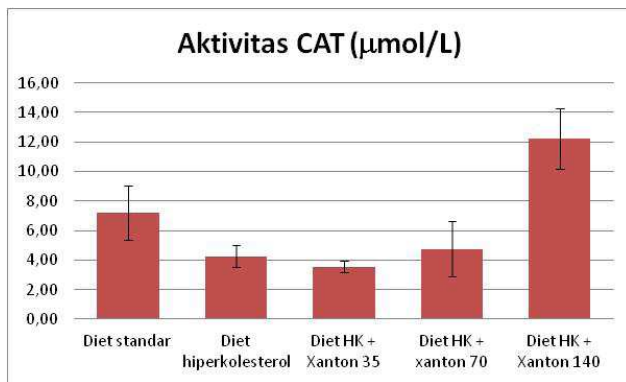
Analisa aktivitas GPx pada berbagai kelompok perlakuan dengan uji Kruskal-Wallis tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,623$). Analisa aktivitas CAT, pemberian diet kolesterol cenderung menurunkan aktivitas CAT meskipun belum didapatkan perbedaan secara bermakna dibandingkan diet standar ($p=0,052$). Pemberian isolat xanton dapat meningkatkan aktivitas katalase melebihi aktivitas pada diet pada dosis 140 mg/kgBB.



Gambar 1. Kadar hidrogen peroksida pada tikus hiperkolesterol yang diberikan xanton berbagai dosis. Keterangan HK: hiperkolesterol; dosis xanton dalam mg/kg berat badan.



Gambar 2. Aktivitas glutathione peroksidase pada tikus hiperkolesterol yang diberikan xanton berbagai dosis. Keterangan HK: hiperkolesterol; $\mu\text{mol/liter}$: mikromol/liter; dosis xanton dalam mg/kg berat badan.



Gambar 3. Aktivitas katalase pada tikus hiperkolesterol yang diberikan xanton berbagai dosis. Keterangan HK: hiperkolesterol; µmol/liter: mikromol/liter; dosis xanton dalam mg/kg berat badan.

Pembahasan

Hidrogen peroksida merupakan molekul oksidan yang mampu melintasi membran sel dengan mudah dan menimbulkan efek cedera jaringan melalui sejumlah mekanisme, antara lain gangguan homeostasis kalsium, penurunan ATP intraseluler, menginduksi kerusakan DNA, dan menginduksi apoptosis.¹² Untuk meredam reaktivitas hidrogen peroksida, tubuh menyediakan mekanisme pertahanan antioksidan enzimatis, yakni enzim glutathion peroksidase dan katalase.

Pemberian diet hiperkolesterol meningkatkan kadar H_2O_2 secara bermakna dibandingkan kontrol. Peningkatan kadar H_2O_2 disebabkan oleh peningkatan aktivitas NADPH oxidase sebagai sumber utama pembentukan radikal superoksida.¹³⁻¹⁶ Selain NADPH oxidase, xanthin oxidase juga menghasilkan radikal superoksida melalui katalisis hipoxanthin dan xanthin menjadi asam urat. Xanthin oxidase terdapat di plasma dan sel endothelial, akan tetapi tidak ditemukan pada sel otot polos. Selain NADPH oxidase dan xanthin oxidase, lipooxygenase merupakan sumber penting produksi senyawa oksigen reaktif yang lain pada dinding vaskuler. Dioksidase non-heme ini akan mengoksidasi asam lemak tak jenuh ganda menjadi derivat asam lemak hidroperoksida.¹⁵ Selanjutnya radikal superoksida akan didismutasi spontan oleh superoksida dismutase membentuk hidrogen peroksida.

Penelitian ini membuktikan bahwa isolat xanton mampu menurunkan kadar H_2O_2 bermakna mulai dosis 35 mg/kg BB. Pemberian diet kolesterol dan xanton

tidak menyebabkan perubahan aktivitas glutathion peroksidase vaskuler dibandingkan kontrol ($p > 0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa penurunan kadar H_2O_2 tidak disebabkan oleh peningkatan aktivitas glutathion peroksida. Penurunan ini disebabkan oleh penurunan berbagai aktivitas enzim yang memicu pembentukan senyawa oksigen reaktif, antara lain NADPH oxidase, xanthin oxidase, dan lipooxygenase.¹⁵ Selain itu, penurunan H_2O_2 juga dapat disebabkan kemampuan antioksidan, melalui mekanisme *scavenging* hidrogen peroksida oleh xanton.¹²

Dalam hal kemampuan modulasi aktivitas CAT, dibuktikan kemampuan xanton berupa modulasi yang mencapai aktivitas pada diet standar pada dosis ketiga (140 mg/kgBB). Kemampuan isolat xanton dalam memodulasi CAT disebabkan oleh aktivitas *scavenging* H_2O_2 maupun mekanisme modulasi gen antioksidan Nrf-2. Pada penelitian Weecharangsan *et al.*,¹² yang melihat kemampuan xanton dalam ekstrak air dan etanol manggis pada cell line neuroblastoma yang dipapar hidrogen peroksida didapatkan bahwa kedua ekstrak menunjukkan aktivitas neuroprotektif melalui *scavenging* hidrogen peroksida.

Kesimpulan

Xanton berpotensi untuk menurunkan kadar hidrogen peroksida darah dan memodulasi aktivitas katalase aorta.

Daftar Pustaka

1. Pothitirat W, Chonmawang MT, Gritsanapan W. 2010. Anti-acne-inducing bacterial activity of mangosteen fruit rind extracts. *Med Princ Pract*; 19:281-286.
2. Chin YW, Jung HA, Chai H, Keller WJ, Kinghorn AD. 2008. Xanthones with quinone reductase-inducing activity from the fruits of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Phytochemistry*; 69:754-758.
3. Kaomongkolgit R, Jamdee K, Chaisomboon N. 2009. Antifungal activity of alpha mangostin against *Candida albicans*. *J Oral Sci*; 51(3):401-406.
4. Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. 2007. Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia*; 78: 401-408.
5. Chen LG, Yang LL, Wang CC. 2008. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. *Food Chem Toxicol*; 46:688-693.

6. Han A, Kim J, Lantvit DD, Kardono LBS, Riswan S, Chai H, Blando EJC, Farnsworth NR, Swanson SM, Kinghorn AD. 2009. Cytotoxic xanthone constituents of the stem bark of *Garcinia mangostana* (mangosteen). *J Nat Prod*; 72(11):2028-2031.
7. Williams P, Ongsakul M, Proudfoot J, Croft, K, Beilin L. 1995. Mangostin inhibits the oxidative modification of human low density lipoprotein. *Free Rad Res*; 23:175-184.
8. Mahabusarakam W, Proudfoot J, Taylor W, Croft K. 2000. Inhibition of lipoprotein oxidation by prenylated xanthenes derived from mangostin. *Free Rad Res*; 33: 643-659.
9. Buelna-Chontal M, Correa F, Hernandez-Resendiz S, Zazueta C, Pedraza-Chaverri J. 2011. Protective effect of α -mangostin on cardiac reperfusion damage by attenuation on oxidative stress. *J Med Food*; 14(11):1370-1374.
10. Zadernowski R, Czaplicki S, Naczki M. 2009. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chem*; 112:685-689.
11. Pedraza-Chaccerri J, Cardenas-Rodriguez N, Orozco-Ibarra M, Perez-Rojas JM. 2008. Medicine properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food Chem Toxicol*; 46 :3227-3239.
12. Weecharansan W, Opanasopit P, Sukma M, Ngawhirunpat T, Sotanaphun U, Siripong, P. 2006. Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Med Princ Practice*; 15:281-287.
13. Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*; 82:47-95.
14. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper EM. 2008. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*; 57:1446-1554.
15. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. 2004. Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biology*; 25:29-38.
16. Pe' rez-Rojas JM, Cruz C, Garcia-Lopez P, Sanchez-Gonzalez DJ, Martinez-Martinez CM, Ceballos G, Espinosa M, Melendez-Zajgla J, Pedraza-Chaverri J. 2009. Renoprotection by α -mangostin is related to the attenuation in renal oxidative/nitrosative stress induced by cisplatin nephrotoxicity. *Free Radic Res*; 43:1122-1132.