

Efek Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis terhadap Lama Perdarahan Mencit Putih Jantan

(*The Effect of Arumanis Mango (*Mangifera indica* L.) Peel Extract on the Bleeding Time of White Male Mice*)

Komang Dewi Fridayanti, Cicik Komariah, Jauhar Firdaus

Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail: fridayantikomangdewi@gmail.com

Abstract

The inhibition of cyclooxygenase 1 (COX-1) enzyme leads to the decrease of tromboxane A2 (TXA2) and decrease the activity of platelet aggregation that marked by the lengthening of bleeding time. This mechanism is important to prevent the occurrence of pathology that can lead to thrombosis. Flavonoid, polyphenol present in the mango peel, is known to have activity for blocking the COX-1 enzyme. The aim of this research was to know the effect of Arumanis mango peel extract for lengthening the bleeding time on white male mice. The research was true experimental. The sampel was treated for seven days and the bleeding time was measured on the seventh day. The result of analyses Kruskal Wallis shows that there are significant difference intern-treatment group with significance (p) 0.033. The Mann Whitney analyses test shows significant difference between treatment group 2 (P2), treatment group 4 (P4), treatment group 5 (P5) and negative control group (K-). So, it can be concluded that arumanis mango peel extract can lengthening the bleeding time of white male mice. The dosis of 16,8 mg.grBB of mango peel extract gives the longest mean bleeding time and it exceeds the mean of positive control group.

Keywords: *bleeding time, mango, flavonoid*

Abstrak

Penghambatan pada enzim siklooksigenase 1 (COX-1) menyebabkan terjadinya penurunan pelepasan tromboksan A2 sehingga menurunkan aktivitas agregasi platelet dan ditandai dengan pemanjangan lama perdarahan (*bleeding time*). Mekanisme ini penting untuk mencegah terjadinya proses patologis yang dapat menyebabkan terbentuknya trombus. Flavonoid, salah satu polifenol pada kulit mangga, diketahui memiliki aktivitas dalam penghambatan pada enzim COX-1. Penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan adanya efek pada pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dalam meningkatkan lama perdarahan mencit putih jantan. Jenis penelitian ini adalah *true experimental*. Sampel diberi perlakuan selama tujuh hari dan dilakukan pemeriksaan lama perdarahan pada hari ketujuh. Hasil uji analisis *Kruskal Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan dengan signifikansi 0.033. Uji analisis *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 4 (P4), kelompok perlakuan 5 (P5) dengan kelompok kontrol negatif (K-). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit mangga arumanis dapat meningkatkan perdarahan pada mencit putih jantan. Pemberian ekstrak dengan dosis 16.8 mg/grBB mencit menunjukkan rata-rata lama perdarahan terpanjang dengan rata-rata lama perdarahan melebihi kelompok kontrol positif.

Kata kunci: lama perdarahan, mangga, flavonoid

Pendahuluan

Tubuh memiliki mekanisme dalam menghentikan perdarahan yang disebut hemostasis [1]. Mekanisme ini meliputi pelepasan tromboksan A2 (TXA2) dengan bantuan enzim siklooksigenase 1 (COX-1) sehingga menyebabkan terjadinya agregasi platelet dan menghentikan perdarahan [2]. Penghambatan pada enzim COX-1 menyebabkan penurunan pelepasan TXA2 sehingga menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas agregasi platelet yang ditandai dengan terjadinya peningkatan lama perdarahan (*bleeding time*) [3].

Meskipun merupakan respons fisiologis tapi proses tidak terkontrol dari hemostasis dapat menyebabkan pembentukan trombus [4]. Terapi antiplatelet dibutuhkan untuk mengurangi risiko kematian akibat keadaan patologi ini [5]. Aspirin adalah obat antiplatelet yang bekerja dengan cara menghambat secara ireversibel enzim COX-1 dan merupakan salah satu pilihan obat anti agregasi platelet [6]. Namun penggunaan aspirin menimbulkan efek samping seperti perdarahan gaster, nyeri epigastrium, mual dan muntah [7]. Karena efek samping dari obat antiplatelet tersebut, dikembangkanlah terapi antiplatelet yang berasal dari produk alami [8].

Mangga (*Mangifera indica* L.) adalah buah tropikal dengan nilai nutrisi dan nilai medis yang tinggi [9]. Penelitian menunjukkan bahwa kulit mangga yang pada awalnya hanya menjadi bahan buangan setelah diteliti ternyata mengandung senyawa aktif penting seperti mangiferin, flavonoid, asam fenol, karotenoid, *dietary fibre*, dan beberapa enzim aktif [10]. Berdasarkan penelitian, kulit mangga menunjukkan jumlah flavonoid sebanyak tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan daging buah mangga [11].

Penelitian mengenai fungsi flavonoid dalam bidang medis telah banyak dilakukan, salah satunya fungsi kuersetin dan katekin, isolat flavonoid, yang mampu bekerja menghambat TXA2 melalui penghambatan enzim COX-1 [12]. Penelitian lain juga menunjukkan genistein dan apigenin, salah satu isolat dari flavonoid, mampu menyebabkan penurunan agregasi platelet dengan cara menghambat asam arakidonat dan menghambat reseptor TXA2 [12][13].

Penelitian ini diharapkan mampu menunjukkan adanya efek ekstrak kulit mangga

arumanis terhadap lama perdarahan mencit putih jantan.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan *post tes only control group design*. Variabel yang terdapat pada penelitian ini adalah variabel bebas yaitu dosis ekstrak kulit mangga dan variabel terikat yaitu lama perdarahan pada mencit putih jantan.

Mangga yang digunakan pada penelitian ini adalah buah mangga (*Mangifera indica* L.) varietas arumanis yang telah diidentifikasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. Kulit mangga dipilih dari buah mangga mentah yang berasal dari Kabupaten Jember. Buah mangga yang telah disiapkan dikupas dan dipisahkan antara kulit buah dengan daging buah mangga. Sampel kulit buah mangga dikeringkan, kemudian dihaluskan, dan dimaserasi menggunakan etanol 80%. Ekstrak cair kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental kulit mangga.

Sampel pada penelitian ini adalah 28 ekor mencit (*Mus musculus*) putih jantan seberat 25-30 gram dan berusia 2-3 bulan. Sampel penelitian dikelompokkan menggunakan *simple random sampling* sehingga sampel terbagi dalam 7 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+) yang diberikan aspirin, kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kulit mangga dengan dosis 1.05 mg/grBB mencit (P1), 2.10 mg/grBB mencit (P2), 4.20 mg/grBB mencit (P3), 8.40 mg/grBB mencit (P4), dan 16.80 mg/grBB mencit (P5) selama 7 hari.

Pada hari ketujuh dilakukan pemeriksaan lama perdarahan dengan cara memotong ekor mencit 10 mm dari ujung ekor. Bagian ujung ekor yang telah dipotong dimasukkan ke dalam tabung berisi normal saline yang telah dihangatkan (37⁰ C). Lama perdarahan dihitung menggunakan *stopwatch* mulai timbulnya tetes darah dari pembuluh darah yang luka sampai darah berhenti mengalir keluar dari pembuluh darah [14]. Penilaian waktu perdarahan ditunggu hingga 30 menit untuk melihat adanya *re-bleeding* sesuai dengan hasil penelitian pendahuluan.

Data yang diperoleh dari pemeriksaan lama perdarahan, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan parameter *Shapiro-Wilk*. Selanjutnya data dianalisis menggunakan *Levene's Test* untuk mengetahui homogenitas

varian data. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan analisis dengan uji *One Way Anova*. Namun apabila data tidak tersebar normal atau tidak homogen, dilakukan analisis menggunakan uji Kruskal Wallis dengan *post hoc* uji beda *Mann Whitney*.

Hasil Penelitian

Hasil rata-rata lama perdarahan mencit putih jantan ditunjukkan oleh tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata lama perdarahan (BT) pada mencit putih jantan pada P1, P2, P3, P4, P5, K+, dan K-

No	Kelompok	Rata-rata Lama Perdarahan (detik)
1	P1	1181.50
2	P2	1541.75
3	P3	1607.25
4	P4	1492.00
5	P5	1789.25
6	K+	1496.00
7	K-	1080.00

Rata-rata lama perdarahan terpanjang terdapat pada kelompok perlakuan 5 (P5) yang diberikan ekstrak kulit mangga dosis tertinggi. Rata-rata lama perdarahan terpanjang selanjutnya adalah kelompok perlakuan 3 (P3) dan kelompok perlakuan 2 (P2) yang masing-masing dengan rata-rata lama perdarahan lebih panjang dibandingkan kelompok kontrol positif (K+). Kelompok kontrol negatif menunjukkan rata-rata lama perdarahan terpendek. Tabel 1 juga menunjukkan terjadi kecenderungan peningkatan lama perdarahan yang diberikan ekstrak kulit mangga seiring dengan peningkatan dosis ekstrak kulit mangga.

Untuk melihat adanya efek ekstrak kulit mangga terhadap lama perdarahan pada mencit putih jantan dilakukan uji analisis data. Hasil uji analisis *Kruskal Wallis* menunjukkan signifikansi (p) 0.033 ($p < 0.05$), hal ini mengindikasikan bahwa terdapat beda yang signifikan antara

masing-masing kelompok perlakuan. Uji *post hoc Mann Whitney* menunjukkan bahwa kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif (K+) adalah P2, P4, P5, dan K+. Sedangkan tidak ada kelompok perlakuan yang memiliki nilai signifikan dengan K+. Hal ini menunjukkan memang tidak terdapat beda lama perdarahan yang signifikan antara kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kulit mangga dan kelompok yang diberikan aspirin.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan lama perdarahan masing-masing kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan adanya efek pemberian ekstrak kulit mangga terhadap lama perdarahan apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Adanya efek ekstrak kulit mangga terhadap lama perdarahan disebabkan flavonoid yang terdapat pada kulit buah mangga dapat menghambat alur pelepasan asam arakidonat pada biosintesis prostaglandin dengan cara memblokir jalur siklooksigenase sehingga terjadi penekanan pada jumlah endoperoksida yang berpengaruh pula pada penekanan jumlah tromboksan A2. Terhambatnya pembentukan tromboksan A2 menyebabkan terhambatnya proses pembentukan agregasi platelet dan berpengaruh pada peningkatan lama perdarahan. Salah satu isolat dari flavonoid yang kemungkinan berpengaruh pada proses ini adalah kuersetin yang mampu bekerja dengan menghambat pembentukan tromboksan A2 melalui penghambatan jalur biosintesis prostaglandin [12]. Selain bekerja menghambat jalur COX-1, kuersetin juga bekerja pada jalur COX-2 terutama pada pembentukan prostasiklin dengan menyebabkan terjadinya peningkatan potensial prostasiklin sebagai anti-agregasi platelet sehingga meningkatkan lama perdarahan [15][16][17]. Hal ini menunjukkan kuersetin berinteraksi dengan banyak enzim sel [18] dengan mekanisme penghambatan yang lebih kompleks. Disamping penghambatan pada enzim COX, kuersetin juga dapat menghambat aktivasi platelet melalui jalur penghambatan pada ATP dan ADP [19] dan penghambatan pada trombolisis yang dimediasi kolagen [20] sehingga mengurangi respon terhadap agregasi platelet dan menyebabkan peningkatan pada lama perdarahan. Selain kuersetin, mangiferin juga memiliki kemampuan penghambatan pada sistem hemostasis, yaitu pada tahap koagulasi

dengan cara menghambat faktor X teraktivasi (FXa) [21]. Meskipun penghambatan mangiferin berada pada tempat yang berbeda dengan penghambatan oleh flavonoid (kuersetin), hal ini tidak menutup kemungkinan terdapat pengaruh dari mangiferin dalam pemanjangan lama perdarahan pada penelitian.

Pada data hasil penelitian uji beda *Mann Whitney* menunjukkan tidak ada kelompok yang memiliki beda signifikan dengan kelompok yang diberikan aspirin. Aspirin memiliki kemampuan penghambatan kuat dan ireversibel pada COX-1 sehingga menyebabkan penghambatan besar dan menetap pada sintesis TXA₂. Disamping itu pemberian dosis tunggal aspirin sehari cukup untuk menghambat enzim COX selama masa hidup trombosit [22]. Sedangkan flavonoid pada ekstrak kulit mangga menghambat tromboksan A₂ secara reversibel yang berarti pengeluaran flavonoid dari dalam tubuh sepenuhnya mampu mengembalikan kemampuan platelet untuk beragregasi [12].

Peningkatan rata-rata waktu perdarahan pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kulit mangga menunjukkan bahwa ekstrak kulit mangga mampu menyebabkan terjadinya peningkatan lama perdarahan pada mencit putih jantan. Kecenderungan terjadinya peningkatan pada rata-rata lama perdarahan masing-masing kelompok perlakuan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak kulit mangga menunjukkan adanya hubungan antara jumlah flavonoid dalam ekstrak dengan fungsinya menghambat tromboksan A₂.

Simpulan dan Saran

Ekstrak kulit mangga memiliki efek dalam peningkatan lama perdarahan pada mencit putih jantan. Peningkatan rata-rata lama perdarahan terpanjang ditunjukkan oleh dosis 16.8mg/grBB. Namun dosis penelitian yang disarankan untuk dilanjutkan adalah dosis 2.10 mg/grBB karena merupakan dosis terkecil yang mampu menyebabkan peningkatan rata-rata lama perdarahan apabila dibandingkan dengan kontrol positif.

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pemeriksaan fungsi platelet menggunakan cara lain seperti menggunakan Tes Agregasi Trombosit (TAT) sehingga diketahui tempat penghambatan ekstrak kulit mangga arumanis terhadap agregasi platelet. Selain itu juga dapat dilakukan penelitian untuk mengetahui dosis efektif dan dosis toksik dari penggunaan ekstrak kulit mangga arumanis.

Daftar Pustaka

- [1] Verhamme P, Hoylaerts MF. Last Therapeutic Developments: Hemostasis and Inflammation: Two of a Kind?. *Thromb J*. 2009; 7: 15.
- [2] Jackson SP. The Growing Complexity of Platelet Aggregation. *ASH J*. 2007; 109(12): 5087-5095.
- [3] Putri, Ulfa, Riyanti. Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.). *e-Jurnal UNEJ*. 2014; 2 (1): 111-114.
- [4] Mufidah, Manggau, Alam, Bahar, Kasim, Rusdi. Efek Antiagregasi Platelet Fraksi Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2012; 16(1): 51-54.
- [5] Ick BL, Mongan AE, Memah M. Perbandingan Nilai Agregasi Trombosit pada Pasien Hipertensi yang Diberi Aspirin dan Tidak Diberi Aspirin di RSUP Prof. dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal e-Biomed*. 2014; 2(2): 523-531.
- [6] Capodanno F. Antiplatelet therapy: new pharmacological agents and changing paradigms. *USA: J Thromb Haem*. 2013; 11 (Suppl. 1): 316-329.
- [7] Rambe A. Obat-obat Penyakit Cerebrovaskuler. Sumatera Utara: USU Digital Library. 2004.
- [8] Vilahur G, Badimon L. Review: Antiplatelet Properties of Natural Products. *Vasc Pharm*. 2013; 59: 67-75.
- [9] Aiyelaagbe OO, Osamudiamen PM. Phytochemical Screening for Active Compounds in *Mangifera indica* Leaves from Ibadan, Oyo State. *Mechwell J*. 2009; 2 (1): 11-13.
- [10] Masibo M, He Q. Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. *Compr Rev Food Science and Food Safety*. 2008; 7: 309-319.
- [11] Kim H. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Mango (*Mangifera indica* L.) Flesh and Peel. *Food Chem*. 2009; 121: 429-436.
- [12] Guerrero JA, Lozano ML, Castillo J, Garcia OB, Vincente V, Rivera J. Flavonoids Inhibit Platelet Function Through Binding to the Thromboxane A₂ Receptor. *J Thromb Haem*. 2005; 3: 369-376.
- [13] Jeong KM, Hye YCS. Anti-platelet Effect of Flavonoids and Flavonoid-glycosides from *Sophora japonica*. *Arch Pharm Res*. 2008; 31 (7): 886-890.

- [14] Liu Y, Jennings NL, Dart AM, Du XJ. Standardizing a simpler, more sensitive and accurate tail bleeding assay in mice. *W J Exp Med.* 2012; 2(2): 30-36.
- [15] Warren CA. Quercetin May Suppress Rat Aberrant Crypt Foci Formation by Suppressing Inflammatory Mediators That Influence Proliferation and Apoptosis 1–3. *J Nutrition*, 2008; [Tanpa Volume]: 101-108.
- [16] Beretz A. Role of Cyclic AMP in the Inhibition of Human Platelet Aggregation by Quercetin, a Flavonoid that Potentiates the Effect of Prostacyclin. *Biochem Pharm.* 1981; 31(22): 3597-3600.
- [17] Kobzar G, Mardla V, Samel N. Increase in antiplatelet effects of prostaglandins by alpha tocopherol and quercetin. *Proceedings of the Estonian Academy of Science, Biology and Ecology.* 2004; 54(2): 120-125.
- [18] Middleton EJR, Kandaswami C, Theoharides TC. The Effects of Plants Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharm Rev.* 2000; 52(4): 673-751.
- [19] Kaneider NC. Inhibition of thrombin-induced signaling by resveratrol and quercetin: effects on adenosine nucleotide metabolism in endothelial cells and platelet–neutrophil interactions. *Thromb R.* 2004; 144: 185-194.
- [20] Hubbard GP, Wolfram S, Lovegrove A, Gibbins JM. Ingestion of onion soup high in quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in man: a pilot study. *British J Nutri.* 2006; 96: 482-488.
- [21] Correia-da-Silva, Marta. Polysulfated Xanthenes: Multipathway Development of a New Generation of Dual Anticoagulant/Antiplatelet Agents. *J Med Chem.* 2011; 54: 5373-5384.
- [22] Wilmana PF, Gan S. 2012. *Farmakologi dan Terapi.* Jakarta: Badan Penerbit FKUI