

## Isoprostan Urin Sebagai Biomarka Keracunan Etanol dan Upaya Detoksikasinya dengan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis

(URINE ISOPROSTANE AS TOXIC BIOMARKER OF ETHANOL AND DETOXICATION EFFORTS BY USING ETHANOL EXTRACT OF SKIN MANGOSTEEN)

Ni Made Suaniti, Manuntun Manurung

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, dan Laboratorium Bersama  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana  
Kampus Unud Bukit Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia.  
Telpon 0361 703137; Email: madesuaniti@unud.ac.id

### ABSTRAK

Isoprostan sebagai salah satu marka stres oksidatif yang merupakan metabolit toksik dari *fatty acid*, dapat terbentuk setelah mengalami peroksidasi lemak akibat etanol. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis isoprostan dalam urin tikus Wistar yang diberikan etanol secara sub akut, sebagai biomarker untuk mendeteksi toksik etanol serta Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (EEKBM) untuk perbaikan. Metode pendeteksian yang digunakan adalah *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), karena teknik ini dapat mendeteksi kandungan zat-zat tertentu walaupun dalam jumlah yang renik. Deteksi Isoprostan dalam urin tikus Wistar setelah konsumsi etanol 20% v/v secara sub akut adalah  $(0,8837 \pm 0,0625)$  ng/mL dan menjadi  $(0,4500 \pm 0,0625)$  ng/mL setelah pemberian EEKMB 20% b/v. Isoprostan dapat digunakan sebagai biomarka toksik akibat etanol dan terjadi penurunan kadar setelah diberikan EEKBM.

Kata-kata kunci: isoprostan; etanol, kulit buah manggis; *Garcia mangostana* L.

### ABSTRACT

Isoprostane as a marker of oxidative stress which is a toxic metabolite of fatty acids, can be formed after experiencing lipid peroxidation due to ethanol. The aim of this study was to analyze the isoprostane as early detection biomarker in urine of Wistar rats after ethanol consumption in sub-acute, followed by administration of ethanol extract of rind of mangosteen fruit (EERMF). ELISA was used in this study for diagnostic method as it can analyze the content of biological fluids even in small amount. Detection of isoprostane compounds in the urine Wistar rats after ingestion of ethanol 20% v/v in sub acute was  $(0.8837 \pm 0.0625)$  ng/mL decrease levels  $(0.4500 \pm 0.0625)$  ng/mL after administration EERMF 20% w/v. Isoprostane can be used as biomarker ethanol toxic and decreased level after giving EERMF.

Keywords: isoprostane; ethanol; rind of mangosteen fruit; *Garcia mangostana* L.

### PENDAHULUAN

Etanol merupakan salah satu zat adiktif selain nikotin dan kafein yang merupakan bagian dari golongan narkotika. Menurut surat edaran Badan Narkotika Nasional (BNN) No. SE/03/IV/2002 disebut juga NARKotika, PsiKOtropika, dan Zat Adiktif (NAPZA). Konsumsi etanol secara berlebihan dan terus menerus dapat merugikan individu maupun

masyarakat luas karena menimbulkan penyakit alkohol kronis.

Penyakit alkoholik dapat dideteksi melalui senyawa toksik, *fatty acid ethyl ester* (FAEE) sebagai marka biologis untuk mendiagnosis *alcohol abuse*. Hasil baik secara kuantitatif adalah berupa palmitat dan miristat etil ester (Giovanni *et al.*, 2007). Validasi dan analisis FAEE pada konsumsi etanol secara akut, lebih baik menggunakan uji secara non parametrik

(Suaniati *et al.*, 2012). Deteksi FAEE, karena etanol dalam proses biotransformasi mengalami reaksi non enzimatis secara *in vivo* melalui peroksidasi asam arakhidonat oleh suatu inisiasi mekanisme radikal bebas membentuk isoprostan (IsoPs). Oleh karena itu diperlukan upaya pencegahannya dengan pemberian antioksidan yang cukup sehingga tubuh mampu menetralsirnya.

Kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) diduga mengandung antioksidan terutama antosianin, *xanthone*, tannin dan asam fenolat yang berguna sebagai antidiabetes, antiradang, hepatoprotektif, meningkatkan kekebalan tubuh, aromatase inhibitor, antibakteri, antifungi, antiplasmodial, dan memiliki aktivitas sitotoksik. Kandungan *xanthones* dalam kulit manggis berpotensi sebagai antikanker yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  mangostin dapat menghambat pertumbuhan sel pada konsentrasi 5-20  $\mu\text{M}$  dalam kanker usus manusia (Akao *et al.*, 2008). Ekstrak etanol kulit buah manggis juga dapat menurunkan kadar malondialdehid (MDA) pada darah tikus Wistar yang mengkonsumsi etanol dengan dosis 50-100 mg/kg BB (WidyaAstuti *et al.*, 2014).

Pengukuran isoprostan bebas dalam urin karena peroksidasi lemak secara non enzimatis dapat dihubungkan dengan stres oksidatif (Pilacik *et al.*, 2002). Pengembangan identifikasi isoprostan secara kuantitatif selektif dan akurat dalam urin dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Untuk uji diagnostik umumnya digunakan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) yang diterapkan dalam sampel urin sebelum dan setelah pemberian ekstrak etanol kulit manggis pada tikus yang mengalami *alcohol abuse*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi isoprostan sebagai biomarker toksik akibat etanol sebagai salah satu sumber radikal bebas. Sebagai upaya pencegahan stres oksidatif diberikan antioksidan ekstrak etanol kulit buah manggis.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Urin Tikus Wistar

Sampel urin tikus Wistar kontrol dan perlakuan 5 dan 20% v/v etanol berturut-turut sebanyak enam ekor, pada 6 dan 24 jam setelah pemberian akuades sebagai kontrol dan etanol sebagai perlakuan setiap hari selama 15 hari (subakut). Masing-masing sampel ditampung

ke dalam botol vial. Selanjutnya tikus pada deteksi kadar isoprostan lebih tinggi diberikan ekstrak etanol kulit buah manggis 20% b/v.

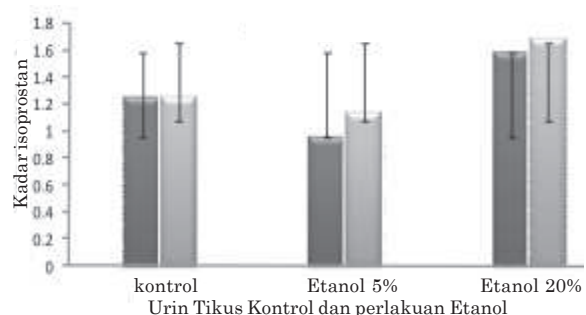
### Analisis $F_2$ -Isoprostan

Analisis  $F_2$ -Isoprostan dalam urin tikus Wistar dilakukan dengan metode *Enzyme linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan Urinary Isoprostane EIA Kit EA85, yaitu masing-masing sampel urin tikus Wistar 24 jam sebelum dan sesudah diberikan ekstrak etanol kulit buah manggis dicampur dengan larutan penyangga untuk menghilangkan ikatan non spesifik. Setelah preparasi selesai dilanjutkan pengukuran secara spektrometri.

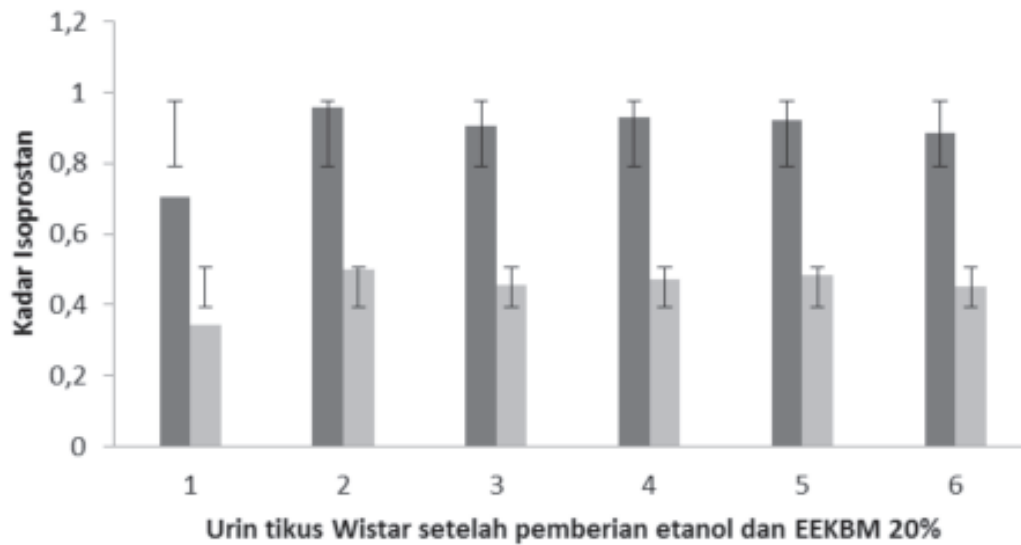
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Isoprostan sebagai suatu marka etanol dideteksi dengan ELISA menunjukkan terjadi peningkatan kadar isoprostan dalam urin 24 jam setelah pemberian etanol 20% secara sub akut dibandingkan dengan pemberian etanol 5% dan kontrol. Hasil pengamatan disajikan pada Gambar 1.

Kadar isoprostan tersebut diperoleh secara kuantitatif berdasarkan kurva standar isoprostan yaitu  $y = 8x^2 - 31x + 31$  dengan koefisien korelasi ( $r^2$ ) adalah 0,9916. Selanjutnya diperoleh kadar isoprostan dalam urin setelah pemberian ekstrak etanol kulit buah manggis (EEKBM) 20% b/v seperti disajikan pada Gambar 2. Kadar isoprostan terdeteksi dalam urin baik setelah konsumsi etanol maupun setelah dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit manggis sebagai salah satu sumber antioksidan. Analisis



Gambar 1. Kadar Isoprostan (ng/mL) dalam urin tikus Wistar kontrol, etanol 5% dan 20% secara subakut  
■ 6 jam; ■ 24 jam



Gambar 2. Kadar isoprostan (ng/mL) dalam urin tikus Wistar setelah pemberian etanol 20% v/v dan ekstrak etanol kulit buah manggis (EEKBM) 20% b/v ■ Etanol; ■ EEKBM

isoprostan yang rendah dalam cairan biologis dapat dikerjakan secara pendekatan analitik dengan metode imunologi dan spektrometri massa dalam *exhaled breath condensate* (EBC) dengan diawali proses ekstraksi dan pemurnian (Janicka *et al.*, 2010).

Kadar isoprostan dalam urin tikus Wistar yang diberikan etanol 20% v/v adalah  $(0,8837 \pm 0,0625)$  ng/mL selanjutnya turun menjadi  $(0,4500 \pm 0,0625)$  ng/mL setelah pemberian EEKBM 20% b/v artinya terjadi penurunan kadar isoprostan 49% setelah pemberian ekstrak etanol kulit manggis. Ini menandakan bahwa ekstrak etanol kulit manggis mampu bertindak sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan ini sesuai dengan pendapat Dungir *et al.* (2012) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dalam ekstrak metanol kulit manggis kering dan basah berkisar dari 44,49- 54,95 mg/L. Kerusakan oksidatif akibat terbentuknya radikal melalui peroksidasi lipid sehingga radikal bereaksi kembali dengan lipid membentuk senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan dengan protein membentuk *Nitrogen Oxygen Species* (NOS) melalui NADPH/xanthine oksidase (Haorah *et al.*, 2008). Senyawa ROS atau NOS adalah bentuk radikal bebas, memicu timbulnya penyakit kronis antara lain kerusakan hati, serangan jantung, kanker, dan katarak serta menurunnya fungsi ginjal.

Pengukuran  $F_2$ -isoprostan bebas dalam urin kemungkinan dapat terbentuknya isoprostan dalam ginjal, namun penentuan molekul isoprostan secara kuantitatif telah diperoleh hasil dengan kepekaan dan keakuratan yang baik dengan *mass spectrometry assay* (Liu *et al.*, 2009). Telah dipublikasikan pula bahwa senyawa isoprostan sebagai mediator dan marka stres oksidatif, karena pengukurannya dapat dalam materi biologis yang digunakan untuk tujuan klinis (Montuschi *et al.*, 2004).

Pengukuran  $F_2$ -isoprostan bebas dalam urin akibat stres oksidatif dapat sebagai kontribusi produksi isoprostan karena peroksidasi lemak secara non enzimatis membentuk ROS dalam tubuh manusia secara fisiologi dan patofisiologi. Pengukuran isoprostan dan metabolitnya sebagai marka Senyawa dalam proses vivoprooksidatif bahwa biomarker isoprostan mudah dideteksi dari peroksidasi lipid.  $F_2$ -Isoprostan telah ditemukan bervariasi pada sindrom-sindrom patologi yang dihubungkan dengan stres oksidatif (Pilacik *et al.*, 2002).

## SIMPULAN

Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) mampu bertindak sebagai antioksidan dengan terdeteksi isoprostan sebagai hasil peroksidasi lemak akibat *etanol abuse*.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai analisis kandungan ekstrak kulit manggis dengan cara perebusan untuk penerapan sehari-hari sebagai usaha pencegahan dini penyalahgunaan zat kimia. Selanjutnya perlu pengembangan metode analisis secara kromatografi spektrometri massa untuk melihat senyawa volatile lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi, Ketua LPPM, dan Rektor Universitas Udayana atas penugasan pelaksanaan penelitian Desentralisasi (Hibah Bersaing) dengan kontrak No.:311-35/UN14.2/PNL.01.03.00/2015.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akao Y, Nakagawa Y, Linuma M, Nozawa Y. 2008. Anti-Cancer Effects of Xanthenes from Pericarps of mangosteen. *International Journal of Molecular Sciences* 9: 355-370.
- Dungir SD, Katja DG, Kamu VS. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) *Jurnal MIPA Unsrad* 1(1): 11-15.
- Giovanni ND, Donadio G, Charotti M. 2007. The reliability of Fatty Acid Ethyl Ester (FAEE) as Biological Markers for the Diagnosis of Alcohol Abuse. *Journal of Analytical Toxicology* 31: 93-97.
- Haorah J, Ramirez SH, Floreani N, Gorantia S, Morsey B, Persidsky Y. 2008. Mechanism of Alcohol-induced Oxidative Stress and Neuronal Injury. *Free Radic Biol Med* 45(11): 1542-1550.
- Janicka M, Wasik AK, Kot J, Namiesnik J. 2010. Isoprostanes-Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis. *International Journal of Molecular Sciences* 11: 4631-4659.
- Liu W, Morrow JD, Yin H. 2009. Quantification of F2-isoprostanes as a reliable index of oxidative stress in vivo using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method. *Journal Free Radical Biology & Medicine*. 47: 1101-1107.
- Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ., 2004. Isoprostanes: markers and Mediators of Oxidative Stress. *The FASEB Journal Review* 18: 1791-1800.
- Pilacik B, Nofer TW, Wasowicz W. 2002. F2-Isoprostanes Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluation of Oxidative Stress Induced by Toxic Agents. Review Papers, *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 15(1): 19-27.
- Suaniti NM, Djelantik AAGD, Suastika K, Astawa INM. 2012. Validation of Analysis Fatty Acid Ethyl Esters as biomarkers of ethanol administration, *Journal of Medicine and Medical Sciences* 3(5): 330-33.
- WidyaAstuti NP, Suaniti NM, Manurung M. 2014. Potensi Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam menurunkan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Tikus Wistar yang mengkonsumsi Etanol. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)* 2(2): 20-24.