

Efek Kelasi Ekstrak Etanol Daun *Mangifera foetida* pada Feritin Serum Penderita Talasemia di RS Cipto Mangunkusumo, Tahun 2012

Anggi P.N. Pohan,¹ Erni H. Purwaningsih,² Adisti Dwijayanti²

¹ Program Studi Sarjana Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

² Departemen Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Abstrak

Pengobatan talasemia berupa transfusi darah menyebabkan penumpukan besi di organ dan kerusakan sel. Pemberian deferoksamin sebagai kelator besi banyak menimbulkan efek samping dan mahal. Oleh karena itu, diperlukan pengobatan dengan bahan yang lebih aman dan terjangkau dengan memanfaatkan bahan alami yang memiliki efek kelasi besi. Ekstrak air daun *Mangifera foetida* memiliki efek kelasi terhadap feritin serum penderita talasemia, namun belum diteliti apakah ekstrak etanol daun *M.foetida* juga menunjukkan efek kelasi terhadap feritin. Studi eksperimental ini dilakukan pada serum pasien talasemia yang dibagi ke dalam tujuh perlakuan yaitu: serum, mangiferin, mangiferin ditambah serum, ekstrak etanol 0,5 mg dan 0,75 mg, ekstrak etanol 0,5 mg dan 0,75 mg ditambah serum, namun yang akan dianalisis hanya serum, mangiferin ditambah serum, ekstrak etanol 0,5 dan 0,75 mg ditambah serum. Nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer, $\lambda = 280$ nm. Uji one way anova menunjukkan ekstrak etanol *M.foetida* dosis 0,5 mg dan 0,75 mg memiliki efek kelasi dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,001$). Uji Post hoc menunjukkan ekstrak etanol *M.foetida* dosis 0,5 mg memiliki efek kelasi yang sama dengan dosis 0,75 mg ($p = 0,133$). Ekstrak etanol daun *M.foetida* dosis 0,5 mg memiliki efek kelasi yang sama dengan mangiferin murni ($p = 0,52$), sedangkan dosis 0,75 mg memiliki efek kelasi berbeda ($p = 0,001$) yang mungkin disebabkan perbedaan dosis ekstrak etanol.

Kata kunci: talasemia, agen kelator, mangiferin, ekstrak etanol *Mangifera foetida*, feritin serum.

The Effects of Ethanol Extract from *Mangifera foetida* Leaves as a Chelating Agent on Feritin Serum of Thalassemia Patients in Cipto Mangungkusumo Hospital, 2012.

Abstract

Treatment of thalassemia with blood transfusion causing iron accumulation in the organs and damaging cells. Chelating agent, deferoxamine causes side effects and expensive. Therefore, it's needed a safer and cheaper treatment by utilizing natural ingredients which have chelating effect. Water extract of *Mangifera foetida* leaf has chelating effect on serum thalassemia patients, but there was no research the effects in the ethanol extract. The purpose of this study was to prove the effects of ethanol extract as a chelating agent. This study used an experimental study using seven serums of patients with thalassemia by ex vivo and divided into seven treatments: serum, mangiferin, mangiferin plus serum, etanol extract 0.5 mg and 0.75 mg, etanol extract 0.5 mg and 0.75 plus serum, however only four treatments will be analyzed: serum, mangiferin plus serum, etanol extract 0.5 mg and 0.75 mg plus serum. They were measured in a spectrophotometer with (λ)=280 nm. The result by One Way Anova statistical test showed that the ethanol extract of *M. foetida* leaf 0.5 mg and 0.75 mg has the chelating effect when it compared to negative control ($p < 0.001$). Post hoc test showed that the ethanol extract 0.5 mg has the same chelating effect with ethanol extract 0,75 mg ($p = 0.133$). Ethanol extract 0.5 mg has the same effect of iron chelation with the mangiferin ($p = 0.52$), while ethanol extract 0.75 mg has different effect ($p = 0.001$). The differences of chelating effect maybe caused by the differences of extract dose.

Keywords: thalassemia, chelator agent, mangiferin, etanol extract of *M. foetida*, serum ferritin.

Pendahuluan

Talasemia merupakan suatu penyakit genetik yang diturunkan menurut hukum Mendel secara autosomal resesif dari orang tua kepada anak-anaknya.¹ Penyakit ini disebabkan oleh defisiensi rantai globin α dan β yang menyusun hemoglobin.² Menurut laporan WHO pada tahun 2006, diperkirakan terdapat 7% penduduk dunia yang merupakan *carrier* talasemia dan sekitar 300 000-500 000 bayi lahir dengan kelainan talasemia.³ Di Indonesia, prevalensi *carrier* talasemia adalah sekitar 3-8 persen. Seandainya presentasi talasemia mencapai 5 persen, dengan angka 23 per 1 000 dari 240 juta penduduk, maka diperkirakan ada sekitar 3 000 bayi baru lahir yang menderita talasemia di Indonesia.⁴

Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, prevalensi nasional talasemia adalah 0,1 persen. Beberapa daerah di Indonesia mempunyai risiko tinggi untuk *carrier* gen talasemia- α , talasemia- β , dan HbE, misalnya Batak, Melayu, Cina, India dan Jawa. Prevalensi *carrier* talasemia- β dan HbE untuk masyarakat Batak sebesar 1,5% dan 0%, Melayu 5,2% dan 4,3%, Jawa 3,2% dan 4,8%.⁵ Penderita talasemia di Indonesia ibarat gunung es, dikarenakan data yang tercatat lebih rendah daripada data yang sebenarnya. Pada tahun 2008, Pusat Talasemia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo mencatat jumlah penderita talasemia dari tahun 1993-2008 sebanyak 1 412 kasus,⁶ sedangkan pada tahun 2010, tercatat 5 000 penderita talasemia dan yang rutin berobat ke Pusat Talasemia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo adalah 1 949 orang.^{7,8}

Talasemia terbagi menjadi talasemia minor, intermedia dan mayor.⁹ Talasemia mayor merupakan jenis talasemia terparah karena dapat menyebabkan anemia berat dengan hemolisis dan eritropoiesis yang tidak efektif. Eritropoiesis yang tidak efektif ini menyebabkan peningkatan eritropoiesis di sumsum tulang dan bagian ekstraseluler antara lain hati dan limpa. Peningkatan aktivitas sumsum tulang ini menyebabkan perubahan tulang, sedangkan peningkatan eritropoiesis ekstraseluler menyebabkan pembesaran hati dan limpa.¹⁰

Pasien yang menderita talasemia mayor harus menjalani transfusi darah setiap bulan untuk mempertahankan Hb sekitar 9-10 g/dL dan meningkatkan pertumbuhan, mengurangi hepatosplenomegali dan deformasi tulang.^{10,11} Namun, transfusi yang terus-menerus dapat menimbulkan efek samping yang disebabkan oleh penumpukan besi di organ-organ tubuh dan

kerusakan sel.¹² Untuk menangani penumpukan besi, diperlukan agen kelasi besi yang berfungsi sebagai pengikat besi.¹³ Agen kelator yang sering digunakan adalah *deferoxamine*, *deferaxirox* dan *deferipone*.^{11,14} *Deferoxamine* berfungsi sebagai kelasi besi yang berasal dari feritin dan hemosiderin, namun tidak dari transferin, namun penggunaan *deferoxamine* dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping berupa gangguan penglihatan, pendengaran, kardiovaskular, pencernaan, hematologi, hati, saraf dan muskuloskeletal.¹⁴ Selain itu, harga *deferoxamine* relatif mahal.¹⁵ Karena banyaknya efek samping yang ditimbulkan oleh *deferoxamine*, maka diperlukan terapi alternatif yang tidak atau sedikit menimbulkan efek samping dan murah dengan memanfaatkan bahan alami.

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah dengan menggunakan tanaman herbal. Telah dilakukan penelitian bahwa mangiferin yang ditemukan pada berbagai jenis mangga, memiliki efek kelasi terhadap besi. Mangiferin dapat ditemukan pada daun, buah, akar dan batang mangga.^{16,17} Mangiferin memiliki beberapa efek farmakologi yaitu antitumor, antibakterial, antioksidan, antiinflamasi dan aktivasi makrofag.^{16,18} Di antara berbagai kultivar mangga, ditemukan bahwa *Mangifera foetida* L. mengandung kadar mangiferin terbesar di antara kultivar yang lainnya, yaitu sebesar 2,56%.¹⁹

Mangifera foetida L. merupakan salah satu spesies buah mangga dari golongan famili *anacardiaceae* yang menyebar di wilayah Indonesia. *M. foetida* L. di Indonesia dikenal sebagai mangga bacang.²⁰ Sebelumnya, telah dilakukan penelitian dengan menggunakan ekstrak air daun *M. foetida* L. yang dilakukan oleh Riska,²¹ membuktikan bahwa ekstrak air daun *M. foetida* L. memiliki efek kelasi terhadap feritin pasien penderita talasemia. Dari uji *Post-Hoc* yang dilakukan pada penelitian tersebut, didapatkan bahwa ekstrak air 1,125 mg memiliki efek kelasi yang mendekati efek kelasi mangiferin murni ($p=0,434$).²¹ Pada penelitian ini, dilakukan uji efek kelasi mangiferin dengan menggunakan pelarut lain, yaitu dengan menggunakan etanol yang dosisnya lebih kecil dibandingkan dosis 1,125 mg, yaitu dengan menggunakan dosis 0,5 mg dan 0,75 mg. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,5 mg dan 0,75 mg memiliki efek kelasi terhadap feritin serum penderita talasemia. Melalui penelitian ini diharapkan bahwa dapat ditemukan alternatif baru agen kelator besi pada pasien talasemia yang lebih murah dan alami.

Metode

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah studi eksperimental di laboratorium untuk menguji efektivitas ekstrak etanol daun *M. foetida* L. sebagai agen kelasi besi pada serum pasien talasemia secara *ex vivo*. Pengambilan sampel dilakukan di Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI, sedangkan penelitian secara *ex vivo* dilakukan di laboratorium Departemen Ilmu Farmasi Kedokteran FKUI, dari bulan Desember 2011 sampai dengan bulan Desember 2012.

Penentuan Dosis Ekstrak

Pada penelitian Soetarno dkk., diketahui bahwa 400 g daun kering *M. foetida* L. mengandung 0,275 g mangiferin.²² Penelitian ini menggunakan 400 g daun kering *M. foetida* L. dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 85 g. Selain itu, terdapat penelitian lain yang menyatakan bahwa dosis isolat mangiferin sebesar 100 µg yang setara dengan 15 mg ekstrak kental *M. foetida* L.²³ Sebelumnya, pernah dilakukan penelitian oleh Departemen Farmasi FKUI tentang kadar ekstrak air yang bermakna klinis terhadap efek kelasi besi. Berdasarkan penelitian tersebut didapatkan kadar 0,375 mg; 0,75 mg; dan 1,125 mg yang memiliki makna klinis. Hal-hal inilah yang menjadi dasar dalam pengambilan dosis ekstrak etanol sebesar 0,5 mg dan 0,75 mg. Penentuan dosis ini didasarkan pada terbacanya puncak grafik spektrofotometer.

Persiapan Sampel

Digunakan 7 serum penderita talasemia dengan kadar feritin yang berbeda-beda sebagai sampel yang dibagi dalam tujuh kelompok perlakuan secara *ex vivo* yaitu: serum; mangiferin; mangiferin ditambah serum; ekstrak etanol 0,5 mg dan 0,75 mg; ekstrak etanol 0,5 mg dan 0,75 mg ditambah serum, namun yang akan dianalisis hanya empat kelompok yaitu: serum; mangiferin ditambah serum; ekstrak etanol 0,5 dan 0,75 mg ditambah serum.

Dilakukan pengenceran serum pasien untuk mendapatkan kadar Fe yang sama yaitu 100 µM. Lautan standar mangiferin 1 mg/ml dibuat dengan menggunakan pelarut etanol 70% pro analitik dan aquades dengan perbandingan 1:1 dan didapatkan kadar 100 µg mangiferin dalam 100 µL larutan. Serum pasien yang mengandung 100 µM dimasukkan ke dalam kuvet dan ditambahkan aquades hingga volumenya 2 ml sebagai kontrol negatif, kelompok perlakuan lainnya yang terdiri dari: 100 µL mangiferin murni sebagai kontrol positif, 200 µL ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,5

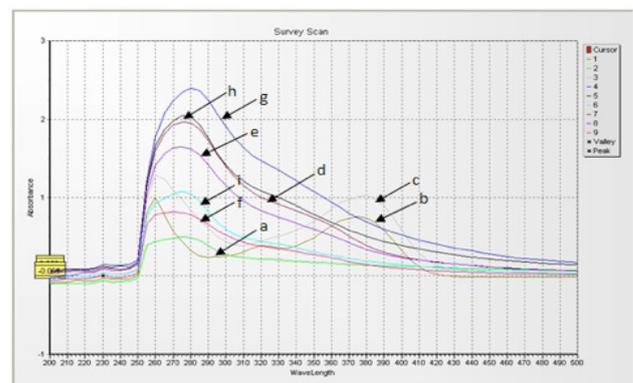
mg dan 0,75 mg. Masing-masing kelompok perlakuan ditambahkan aquades hingga volumenya 2 ml.

Perhitungan Hasil

Data yang diperoleh dalam bentuk grafik spektrofotograf UV-VIS Optima 3000 pada λ 280 nm. Grafik yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menghitung tinggi absorbansi dari *peak* untuk memperoleh nilai absorbansi tiap variabel bebas dan kontrol. Aktivitas kelasi diukur melalui perbedaan tinggi absorbansi serum dari puncak grafik ke awal grafik untuk mendapatkan nilai absorbansi tiap variabel bebas dan kontrol, lalu dilanjutkan dengan menggunakan rumus untuk mendapatkan nilai ekstrak dan mangiferin. Nilai yang didapatkan menurut rumus ini setara dengan kadar mangiferin bebas di dalam ekstrak + serum dan mangiferin + serum. Selanjutnya, data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk mengetahui sebaran data dengan menggunakan uji normalitas data Shapiro-Wilk. Apabila data tersebut terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji hipotesis dengan menggunakan uji hipotesis *One Way Anova*. Bila terdapat kelompok yang berbeda bermakna, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui lebih khusus kelompok uji mana yang menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif. Data diolah dengan program SPSS 16.0 for Windows®.

Hasil

Penelitian ini meneliti efek kelasi ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,5 mg dan 0,75 mg. Aktivitas kelasi dilihat dari gambar absorbansi spektrofotometer, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Absorban pada Salah Satu sampel. Reaksi terdiri atas (a) serum, (b) mangiferin, (c) serum dan mangiferin 100 µM, (d) ekstrak etanol 0,75 mg, (e) ekstrak etanol 0,5 mg, (f) ekstrak etanol 0,25 mg, (g) serum dan ekstrak etanol 0,75 mg, (h) serum dan ekstrak etanol 0,5 mg, (i) serum dan ekstrak etanol 0,25 mg

Dari grafik tersebut, dihitung selisih dari antara puncak grafik dan awal grafik. Nilai selisih tersebut kemudian dilanjutkan dengan perhitungan dengan

menggunakan rumus untuk mendapatkan data nilai ekstrak dan mangiferin murni. Rumus yang digunakan adalah:

$$\text{data ekstrak} = \frac{\text{absorban ekstrak \& serum} - \text{rerata ekstrak absorban serum}}{\text{absorban serum}}$$

$$\text{data mangiferin} = \frac{\text{absorban mangiferin} - \text{rerata ekstrak absorban serum}}{\text{absorban serum}}$$

Tabel 1. Hasil Analisis *One-Way Anova*

Kelompok	N	Rerata±s.d	P
Kontrol (-): serum	7	0,823±0,397	<0,001
Kontrol (+): serum dengan mangiferin	7	0,495±0,522	
Perlakuan: serum dengan ekstrak 0,5 mg	7	0,048±0,359	
Perlakuan: serum dengan ekstrak 0,75 mg	7	-0,290±0,328	

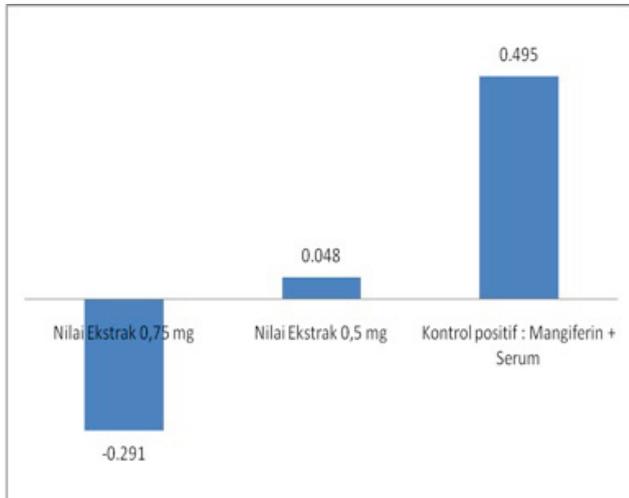
Setelah didapatkan nilai ekstrak dan mangiferin murni, maka dilanjutkan dengan uji normalitas dengan Shapiro-Wilk¹¹ dan homogenitas. Didapatkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan data homogen ($p > 0,05$). Kemudian data dianalisis dengan uji hipotesis *one way anova* untuk melihat apakah terdapat perbedaan bermakna di dalam penelitian ini.

Hasil analisis *one way anova* menunjukkan bahwa terdapat hubungan berbeda bermakna antara kelompok perlakuan ($p < 0,001$), sehingga dilanjutkan dengan uji *post-hoc* untuk mengetahui lebih khusus, apakah ekstrak etanol daun *Mangifera foetida* L. dosis 0,5 mg dan 0,75 mg memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif dan kontrol positif.

Tabel 2. Hasil Analisis *Post-hoc Least Significant Different*

	Perbedaan rerata	IK 95%		p
		Minimum	Maksimum	
Kontrol (-) vs Kontrol (+)	0,327	-0,123	0,778	0,147
Kontrol (-) vs ekstrak 0,5 mg	0,772	0,324	1,225	0,002
Kontrol (-) vs ekstrak 0,75 mg	1,113	0,663	1,563	<0,001
Kontrol (+) vs ekstrak 0,5 mg	0,447	-0,003	0,897	0,52
Kontrol (+) vs ekstrak 0,75 mg	0,786	0,3355	1,236	0,001

Data rata-rata ekstrak 0,5 mg, 0,75 mg, dan mangiferin dapat dilihat pada Gambar 2. Grafik ini menunjukkan kadar mangiferin bebas pada ekstrak etanol 0,5 mg, 0,75 mg dan mangiferin murni.



Gambar 2. Grafik Rata-rata Data Mangiferin, Ekstrak Etanol Daun *Mangifera foetida* Dosis 0,5 mg dan 0,75 mg

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan sebagai lanjutan dari penelitian sebelumnya, yaitu uji efek kelasi besi dengan menggunakan ekstrak air daun *M. foetida* L. Dari Gambar 1. dapat dilihat bahwa puncak absorban dari ekstrak etanol *M. foetida* L. dengan menggunakan pelarut etanol 70% berada pada $\lambda = 280$ nm, sedangkan pada percobaan ekstrak air *M. foetida* L. dengan menggunakan pelarut aquades didapatkan dua puncak, yaitu pada $\lambda = 280$ nm dan 260 nm karena menggunakan medium sitrat.²¹ Pada penelitian ini tidak menggunakan medium sitrat sebagai medium standar. Sitrat merupakan suatu ligan berat molekul rendah yang terdapat dalam plasma darah pada konsentrasi 0,1 mM dan mengikat sejumlah besar *Non-transferrin Bound Iron* (NTBI).²⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Andreau dkk.²⁵ dijelaskan bahwa media sitrat dapat membentuk kompleks dengan Fe^{2+} , sehingga mangiferin akan mengikat dan menstimulasi oksidasi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} yang kemudian akan membentuk kompleks mangiferin dan Fe. Sifat sitrat yang juga dapat mengikat besi menjadi faktor perancu efek kelasi ekstrak sebenarnya. Oleh karena itu, medium sitrat tidak digunakan pada penelitian ini.

Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *One-Way Anova* dikarenakan variabel bebas yang digunakan lebih dari dua dan

merupakan jenis data nominal, sedangkan variabel terikatnya merupakan data numerik. Sebelum dilakukan uji *One-Way Anova*, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan tes Shapiro-Wilk. Uji normalitas data serum ($p=0,532$), mangiferin dan serum ($p= 0,552$), ekstrak 0,5 mg ($p=0,619$) dan ekstrak 0,75 mg ($p=0,302$) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal, sehingga uji *One-Way Anova* dapat digunakan untuk analisis hipotesis. Pada uji hipotesis *One-Way Anova* pada data serum, ekstrak 0,75 mg, ekstrak 0,5 mg dan mangiferin, didapatkan nilai kemaknaan $p < 0,001$. Hal ini berarti H_0 ditolak dan menjelaskan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara serum dan kelompok perlakuan. Hasil analisis *One-Way Anova* dapat dilihat pada Tabel 1.

Setelah diketahui bahwa ekstrak etanol *M. foetida* L. memiliki efek kelasi terhadap feritin serum pasien talasemia, selanjutnya dilakukan uji *Post-Hoc* untuk mengetahui dosis ekstrak berapa yang memiliki efek kelasi yang sebanding dengan mangiferin murni. Hasil uji *Post-Hoc* menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan bermakna antara mangiferin murni dengan ekstrak etanol 0,5 mg dengan $p=0,52$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 0,5 mg memiliki efektivitas yang hampir sama dengan mangiferin murni dalam pembentukan kompleks antara feritin dan ekstrak.

Pada dosis ekstrak etanol 0,75 mg, didapatkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna terhadap mangiferin murni ($p=0,001$). Hubungan yang bermakna ini memiliki dua arti, yaitu memiliki efek kelasi yang lebih baik atau lebih buruk dari pada mangiferin. Namun, dengan uji *Post-Hoc* ini tidak bisa ditentukan apakah efek kelasi ekstrak etanol 0,75 mg lebih baik atau buruk daripada mangiferin murni. Untuk mengetahui perbandingan efek kelasi antara ekstrak etanol 0,75 mg dengan mangiferin murni, maka dapat digunakan data ekstrak dari perhitungan ekstrak berdasarkan rumus. Dengan menggunakan data ekstrak dapat diketahui konsentrasi mangiferin bebas yang ada dalam serum. Semakin rendah rata-rata ekstrak, maka semakin banyak mangiferin yang mengikat Fe dan begitupula sebaliknya, semakin tinggi rata-rata ekstrak, maka semakin banyak mangiferin bebas di dalam serum. Dapat dilihat pada Gambar 2, bahwa rata-rata ekstrak (mangiferin ditambah serum) memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol *M. foetida* L. 0,75 mg. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol *M. foetida* L. cenderung lebih baik efek kelasinya dibandingkan mangiferin murni. Analisis ini tidak sepenuhnya

benar, dikarenakan penilaian ini hanya dilakukan berdasarkan data deskriptif berupa rata-rata nilai ekstrak. Oleh karena itu, untuk mengetahui seberapa besar reaksi ikatan antara ekstrak etanol dan serum atau antara mangiferin murni dan serum, maka perlu dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan NMR Spectroscopy (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy).

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang dilakukan hampir sama dengan metode ekstraksi yang dilakukan oleh Soetarno dkk.¹⁹ hanya terdapat perbedaan pada jenis pelarut yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol, sedangkan pada penelitian Soetarno dkk.¹⁹ menggunakan aseton dan metanol. Dari 400 g daun kering didapatkan 85 g ekstrak etanol kental. Melalui metode ekstraksi yang sama, maka dapat diasumsikan bahwa ekstrak etanol *M. foetida* L. mengandung 2,56% mangiferin. Dengan demikian, ekstrak etanol daun *M. foetida* L. 0,5 mg mengandung mangiferin sebesar 2,56% x 0,5 mg = 0,0128 mg = 12,8 µg. Sedangkan pada ekstrak etanol daun *M. foetida* L. 0,75 mg mengandung mangiferin sebesar 2,56% x 0,75 mg = 0,0192 mg = 19,2 µg. Bila dibandingkan dengan mangiferin murni 100 µg, jumlah ekstrak etanol daun *M. foetida* L. mengandung mangiferin yang lebih sedikit. Namun, ekstrak etanol daun *M. foetida* L. memiliki efek yang lebih baik dalam mengikat besi daripada mangiferin murni. Hal ini menjadi analisis lebih lanjut, mengapa dengan kadar mangiferin yang kecil dalam ekstrak etanol daun *M. foetida* L. memberikan hasil yang lebih baik dalam mengikat besi daripada mangiferin murni. Pada penelitian yang dilakukan oleh Erni dkk.¹⁵ didapatkan bahwa dalam ekstrak etanol daun *M. foetida* L. terdapat kandungan flavonoid, fenol dan saponin. Kandungan saponin yang terdapat dalam daun *M. foetida* L juga memiliki efek kelasi terhadap besi.²⁶ Kandungan saponin ini bisa menjadi salah satu alasan mengapa dengan kadar mangiferin yang kecil dalam ekstrak etanol daun *M. foetida* L. memberikan hasil yang lebih baik dalam mengikat besi daripada mangiferin murni.

Berdasarkan literatur, didapatkan bahwa daun *M. foetida* L. tidak hanya mengandung mangiferin, namun juga mengandung vitamin C sama seperti buahnya, namun hal ini perlu dipelajari lebih lanjut.¹⁵ Vitamin C berfungsi untuk mencegah pembentukan *human granulocyte-colony-stimulating factor* (GM-CSF) yang dapat menginduksi pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) pada penderita talasemia. Pada suatu penelitian menyatakan bahwa vitamin C

dapat menurunkan 30% level ROS dalam sel.²³ Hal ini bersinergi dengan mangiferin yang berfungsi sebagai antioksidan dari *iron-induced oxidative damage*. Dengan demikian, mangiferin dan vitamin C yang ada di dalam daun *M. foetida* L. dapat melindungi sel-sel tubuh dari ROS yang diinduksi oleh besi.^{27,28} Vitamin C juga dapat mengoptimalkan ekskresi besi oleh *deferoxamine* pascatransfusi darah.² Brewer, dkk.²⁹ melakukan penelitian pada tikus yang mengonsumsi *deferaxirox* dan mengalami defisiensi vitamin C. Berdasarkan penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa suplementasi vitamin C dapat meningkatkan modulasi pelepasan besi dari sel retikuloendoplasma dan dapat meningkatkan efek kelasi *deferaxirox*.²⁹ Vitamin C yang terdapat dalam ekstrak etanol daun *M. foetida* L membantu optimalisasi ekskresi besi, sehingga tidak lagi diperlukan suplementasi vitamin C pada pasien talasemia. Namun perlu diuji lebih lanjut berapa kadar vitamin C sebenarnya pada ekstrak daun tersebut.

Dasar penggunaan etanol sebagai pelarut adalah sifat mangiferin yang terdapat pada *M. foetida* L. yang merupakan polifenol. Polifenol memiliki polaritas yang cukup lebar, mulai dari polar hingga non polar. Mangiferin merupakan polifenol glikosida yang memiliki sifat semipolar.^{30,31} Berdasarkan literatur dinyatakan bahwa pelarut polar akan melarutkan solut polar dan pelarut non-polar akan melarutkan solut yang non-polar.³² Dikarenakan sifatnya yang semipolar ini, polifenol hanya dapat larut dalam pelarut yang semipolar, seperti aseton, metanol dan etanol.³³ Aseton merupakan pelarut yang paling baik dalam mengekstraksi gugus fenol, namun ekstraksi tersebut menimbulkan residu aseton yang banyak.³³ Air merupakan pelarut universal, namun air memiliki polaritas yang paling besar dibandingkan pelarut lainnya.³¹ Ekstrak etanol lebih efektif pada tumbuhan yang mengandung polifenol, karena ekstrak etanol memiliki polaritas yang hampir sama dengan polifenol dibandingkan dengan ekstrak air. Selain itu, ekstrak etanol lebih efisien dalam mendegradasi dinding sel tumbuhan yang bersifat non-polar dan menyebabkan polifenol keluar dari sel. Sedangkan pada ekstrak air terjadi degradasi polifenol dikarenakan aktivitas enzim polifenol oksidase, yang mana pada ekstrak etanol enzim ini tidak aktif.³⁰ Senyawa polifenol inilah yang diduga berfungsi dalam mengikat Fe, yang mana apabila senyawa polifenol dihancurkan maka mangiferin dengan Fe tidak bisa berikatan. Metanol juga merupakan pelarut semipolar, namun bersifat lebih polar dibandingkan etanol. Metanol bersifat

sitotoksik bagi sel-sel tubuh, sehingga tidak cocok untuk pasien talasemia.³¹ Dari berbagai pelarut tersebut, dapat disimpulkan bahwa pelarut yang sesuai untuk mangiferin adalah etanol.

Dalam penelitian ini, tidak diketahui secara pasti apakah mangiferin yang terdapat dalam daun *M. foetida* L. secara langsung mengikat Fe atau tidak. Hal ini dikarenakan Fe berada di antara beberapa protein yang menyusun protein, sehingga menyebabkan mangiferin sulit untuk berikatan dengan Fe. Ada kemungkinan yang diikat oleh mangiferin bukanlah Fe, melainkan apoprotein yang berada di sekeliling Fe. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Andreu GP dkk.²⁵ sampel yang digunakan adalah Fe^{2+} maupun Fe^{3+} berasal dari larutan ion murni ferro ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot x6H_2O$) dan larutan ion murni ferri ($FeCl_3 + 10 \text{ mM HCl}$), sehingga mangiferin langsung berikatan dengan Fe. Untuk mengetahui secara pasti apakah mangiferin benar-benar mengikat Fe diperlukan pemeriksaan dengan *nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy*. Dengan menggunakan alat tersebut akan diketahui apakah ekstrak etanol *M. foetida* L. benar-benar mengikat Fe atau tidak.

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,5 mg dan 0,75 mg memiliki efek kelasi pada feritin serum pasien penderita talasemia bila dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,001$). Ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,5 mg memiliki efek kelasi yang sama dengan dosis 0,75 mg pada feritin serum pasien penderita talasemia ($p = 0,133$). Ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,5 mg memiliki efek kelasi yang sama dengan mangiferin murni ($p = 0,52$). Ekstrak etanol daun *M. foetida* L. dosis 0,75 mg memiliki efek kelasi yang tidak sama dengan mangiferin murni ($p = 0,001$).

Daftar Pustaka

- Ganie RA. Talasemia: Permasalahan dan penanganannya-makalah dalam pidato pengukuhan jabatan guru besar tetap [internet]. 2005 [Diakses 2 Juni 2012]; Diunduh dari: http://www.usu.ac.id/id/files/pidato/ppgb/2005/ppgb_2005_ratna_akbari_ganie.pdf.
- Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Essential hematology [ebook]. Australia: Blackwell Publishing Ltd; 2006. p.275-5.
- TIF 2008. Guidelines for the clinical management of thalassaemia [internet]. 2008 [Cited 2012 June 2]; Available from: <http://www.thalassaemia.org.cy>.
- Anonim. Tinggi, prevalensi talasemia di kepri [internet]. 3 Juni 2012 [Diakses 20 Juli 2012]; Diunduh dari: <http://katakabar.com/kabar-jakarta/kabar-jakarta/3842-tinggi-prevalensi-thalasemia-di-kepri>.
- Ganie RA. Distribusi pembawa sifat talasemia ($\alpha\beta$) dan hemoglobin-E pada penduduk medan. Majalah Kedokteran Nusantara. 2008;41(2):117-22.
- Yayasan talasemia Indonesia. Tentang talasemia. 2008 [Diakses 20 Juli 2012]; Diunduh dari: <http://www.thalassaemia-yti.or.id/cgi-sys/defaultwebpage.cgi>.
- Anonim. Apa itu thalassaemia? [internet]. 9 Mei 2010 [Diakses 20 Juli 2012]; Diunduh dari: <http://kesehatan.kompas.com/read/2010/05/09/13405732/Apa.Itu.Thalassaemia>.
- Rinaldo. Mari mengenal bahaya thalassaemia [internet]. 8 Mei 2010. [Diakses 20 Juli 2012]; Diunduh dari: http://kesehatan.liputan6.com/read/276019/mari_mengenal_bahaya_thalassaemia.
- Rund D, Rachmilewitz E. B-talasemia. N Eng J Med. 2005;353(11):1135-46.
- Permanasari I. Talasemia: transfusi penyambung hidup [internet]. 1 Juni 2010 [Diakses 3 Juli 2012]; Diunduh dari: <http://www.kesekolah.com/article-and-news/detail/9070-talasemia-transfusi-penyambung-hidup.html>.
- Atmakusuma D. Talasemia: manifestasi klinis, pendekatan diagnosis, dan thalasemia intermedia. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata MK, Setiati S. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid II. Ed 5. Jakarta : Interna Publishing Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam; 2009. h.1392.
- Kumar, Abbas, Fausto. Pathologic Basis of Disease [ebook]. 7th Ed. San Fransisco: Elsevier; 2004.
- Permono B. Hemoglobin abnormal: talasemia. Dalam: Permono B, Sutaryo, Ugrasena IDG, Windiastuti E, Abdulsalam M, editor. Buku ajar hematologi-onkologi anak. Edisi 3. Jakarta: Badan Penerbit IDAI; 2010. h.64-84.
- Novartis. Desferal [internet]. 2010 [cited 2012 July 30]; Available from: <http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/desferal.pdf>.
- Purwaningsih EH, Hanani E, Amalia P, Krisnamuti DGB. The chelating effect of *Mangifera foetida* water extract on serum thalassemic patient. J Indon Med Assoc. 2011;61(8): 321-5.
- Singh SK, Sinha SK, Prasad SK, Kumar R, Bithu BS, Kumar SS, et al. Synthesis and evaluation of novel analogues of mangiferin as potent antipyretic. Asian Pacific Journal of Tropical Medecine. 2011;866-9.
- Merwe JD, Joubert E, Malnley M, Beer D, Malherbe CJ, Gelderblom WC. Mangiferin aglucoronidation: Important hepatic modulation of antioxidant activity. Food and Chemical Toxicology. 2012;50(3-4):808-15.
- Kim CY, Ahn MJ, Kim J. Preparative isolation of mangiferin from *Anemarrhena asphodeloide* rhizomes by centrifugal partition chromatography. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 2006;29:869-75.
- Soetarno S, Soediro I, Padmawinata K. Isolasi dan Karakterisasi Mangiferin dari Daun Mangga Arumanis dan Perbandingan Kadarnya pada Daun Tujuh Kultivar *Mangifera Indica* L. Acta Pharmaceutica Indonesia. 1991;16:126-135.
- Anonymous. Bachan (*Mangifera foetida*) [internet]. 2010. [Cited 2012 May 6]; Available from: <http://www.our-tropical-garden.com/mangifera-foetida.htm>.
- Wahyuningtyas R. Perbandingan efek ekstrak air daun *M. foetida* L. 0,75 dan 1,125 mg pada serum penderita talasemia [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2011.

22. Niu Yucun, Li Songtao, Na Lizin, Feng Rennan, Liyan Liu, li Ying, et al. Mangiferin decreases plasma free fatty acids through promoting its catabolism in liver by activation of AMPK. *PLoS ONE*. 2012;7(1):1-7.
23. Sari DF. Uji efek kelasi ekstrak air daun *M. foetida* L. pada serum penderita talasemia secara ex vivo [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2011.
24. Andre M, Kong X, Parkin M, Cammark R, Hider R. Iron(III) citrate speciation in aqueous solution. *Dalton Trans*. 2009: 8616–8625.
25. Andreu G P, Gelgado R, Velho J A, Curti C, Vercesi A E. Iron complexing activity of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, inhibits mitochondrial lipid peroxidation induced by Fe²⁺-citrate. *European Journal of Pharmacology*. 2005;513:47-55.
26. Gupta V, Sharma M. Phytochemical analysis and evaluation of antioxidant activities of methanolic extracts of *Maytenus emarginata*. 2012; 16(5): 257-62. doi: 10.1089/omi.2011.0051.
27. Asbeck BSV, Marcelis JH, Marx JJM, Struyvenberg A, Kats JHV, Verhoef J. Inhibition of bacterial multiplication by the iron chelator deferoxamine potentiating effect of ascorbic acid. *Eur J Clin Microbiol*. 1983;2(5):426-31.
28. Andreau GLP, Baldoquin C Z, Gonzalez RA, Yamamoto ETS, Revilla A, Uyemura SA, et al. Interaction of vimang (*Mangifera indica* L. extract) with Fe (III) improves its antioxidant and sytoprotecting activity. *Pharmacological Research*. 2006;54(5):389-95.
29. Brewer C, Otto-Duessel M, Lykkesfeldt J, Nick H, Wood J. Ascorbate status modulates reticuloendothelial iron store and response to deferasirox iron chelation ascorbate deficient rats. *Exp Hematol*. 2012;40(10):820-7.
30. Padmapriya K, Abishek D, Dutta D. Microwave assisted extraction of mangiferin from *Curcuma amada*. *Biotech*. 2012;2(1):27–30.
31. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011;1(1):98-106.
32. Al-Ash'ary MN, Supriyanti FM, Zackiyah. Penentuan pelarut terbaik dalam mengekstraksikan senyawa bioaktif dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 2010;1(2):150-8.
33. Dent M, Dragovis V, Penic M, Brncic M. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols of Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.). *Food technology and biotechnology*. 2012: 50(4).