

Evaluasi Sitotoksik Alfa Mangostin Pada Kultur Sel Leukosit Manusia Secara *In Vitro* dan Uji Aktivitas Antioksidan

(Evaluation of Alfa Mangostin Cytotoxicity in Human Leukocyte Culture *In Vitro* and Antioxidant Activities Test)

Fatma Sri Wahyuni*¹, Ikhwan Resmala Sudji², dan Rizki Amaliyah¹

¹Faculty of Pharmacy, Andalas University,

²Faculty of Medicine, Andalas University

ABSTRACT: Mangosteen peel extract has been widely used as an herbal medicine for the treatment of various diseases and health care. The main chemical compound of mangosteen peel extract is α -mangostin. Bioactivity alpha mangostin has been extensively tested on various organisms *in vitro*. However, information about its safety effects is not yet known. The study aimed to review the safety of alpha mangostin by evaluating cytotoxic activity of alpha mangostin to normal leukocyte cell culture and antioxidant activity of α -mangostin. Cytotoxic evaluation was performed using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay) and antioxidant activity was performed using DPPH assay. The range of alpha mangostin concentrations were tested 3,125 $\mu\text{g/mL}$; 6,25 $\mu\text{g/mL}$; 12,5 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$; 50 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$. The results indicated that alpha mangostin was not toxic effect on leukocyte cells. The alpha mangostin was capable of triggering leukocyte cell proliferation response at 50 $\mu\text{g/mL}$ with cell viability $208,485 \pm 21,21\%$ and at 100 $\mu\text{g/mL}$ with cell viability $361,818 \pm 86,37\%$. The alpha mangostin also showed strong antioxidant activity with IC50 value of 13,57 $\mu\text{g/mL}$. The results of this study proved that alpha mangostin compounds was not toxic in human leukocyte cells so safe for consumption. As an antioxidant compound alpha mangostin was able to trigger the proliferation of leukocyte cells in leukocyte cell cultures

Keywords: α -mangostin, cytotoxic, antioxidant, leukocyte cell culture, MTT assay, DPPH assay.

ABSTRAK: Ekstrak kulit manggis telah banyak digunakan sebagai obat herbal untuk pengobatan berbagai penyakit dan pemeliharaan kesehatan. Senyawa kimia utama dari ekstrak kulit manggis adalah α -mangostin. Bioaktivitas senyawa alfa mangostin telah diuji secara ekstensif pada berbagai organisme *in vitro*. Namun, informasi tentang efek keamanannya belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk meninjau keamanan alfa mangostin dengan mengevaluasi aktivitas sitotoksik dari alfa mangostin pada kultur sel leukosit normal dan aktivitas antioksidan dari α -mangostin. Evaluasi sitotoksik dilakukan dengan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay) dan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH assay). Konsentrasi alpha mangostin yang diuji yaitu: 3.125 $\mu\text{g/mL}$; 6,25 $\mu\text{g/mL}$; 12,5 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$; 50 $\mu\text{g/mL}$ dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Hasilnya menunjukkan bahwa alfa mangostin tidak memiliki efek toksik pada kultur sel leukosit. Alfa mangostin mampu memicu respon proliferasi sel leukosit pada 50 $\mu\text{g/mL}$ dengan viabilitas sel $208,485 \pm 21,21\%$ dan pada 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan viabilitas sel $361,818 \pm 86,37\%$. Alfa mangostin juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC50 13,57 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa alfa mangostin tidak toksik pada sel leukosit manusia sehingga aman untuk dikonsumsi. Sebagai senyawa antioksidan alfa mangostin dapat memicu proliferasi sel leukosit dalam kultur sel leukosit

Kata kunci: α -mangostin; sitotoksik; antioksidan; kultur sel leukosit; MTT assay; DPPH assay.

Pendahuluan

Alfa mangostin merupakan salah satu senyawa utama yang diisolasi dari kulit manggis memiliki potensi sebagai senyawa obat baru. Penelitian tentang bioaktivitas alfa mangostin telah dikembangkan sejak awal senyawa ini berhasil diisolasi. Bioaktivitas mangostin yang telah diketahui antaranya anti-inflamasi [1,2], analgetika [3], antikanker dan sitotoksik [4-7], antimalaria [8,9], antibakteri [10], antioksidan [13]. Namun, informasi tentang keamanannya belum diketahui. Studi terbaru telah

melakukan evaluasi toksikologi *in vivo* dan *in vitro* lengkap dari senyawa α -mangostin murni. Hasilnya menunjukkan α -mangostin menunjukkan toksisitas rendah untuk sel hati normal (WRL-68) secara *in vitro*. Ngawhirunpat, dkk [12] menemukan bahwa α -mangostin sangat sitotoksik terhadap kultur sel primer keratinosit dengan IC50 2,5 μM ; 0,94 $\mu\text{g/mL}$ meskipun memiliki efek antioksidan yang baik.

Data dari Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, menunjukkan 68

Access this article



*Corresponding Author: Fatma Sri Wahyuni

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Jalan Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat 25163 | Email: fatmasriwahyuni@gmail.com

produk obat tradisional yang terdaftar dari ekstrak kulit manggis tidak memiliki informasi yang berkaitan dengan komposisi ekstrak, konsentrasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak serta review keamanan ekstrak. Setiap produk ekstrak kulit manggis yang telah dikenal, memiliki bioaktivitas berbeda sebagai antioksidan, antimikroba dan sitotoksik. Berdasarkan total produk yang terdaftar, menjelaskan penggunaan ekstrak manggis telah meningkat di masyarakat. Sehingga khasiat dan keamanan produk ekstrak kulit manggis untuk manusia perlu diamati, terutama alpha mangostin sebagai senyawa utama. Sel-sel leukosit adalah sel-sel yang dapat digunakan untuk mengamati efek toksik dari senyawa yang mewakili keamanan senyawa untuk sel-sel tubuh normal.

Metode Penelitian

Alat

Inkubator CO₂ (ThermoScientific®), Biosafety cabinet (Kojair®), mikroskop *inverted* (Zeiss®), *Mikroplate reader* (BioRad X Mark™), hemasitometer (Neuer®), tabung falcon 15 mL, tabung falcon 50 mL, EDTA *vacum tube*, *microtube* 1,5 mL, *serological pipette*, *96-well plate* (Iwaki®), gelas beaker (Pyrex®), labu ukur 50 mL (Pyrex®), labu ukur 5 mL (Pyrex®), tips 1000 µL, tips 100 µL, *micropipette* (Socorex®), sentrifuse (Zentrifugen®), timbangan analitik (KERN).

Bahan

Senyawa α -Mangostin, sampel darah manusia, RPMI 1640 medium (SigmaAldrich®), *fetal bovine serum* (Gibco®), *streptomycin/penicillin* (Gibco®), *Phosphat buffer saline* (PBS), *trypan blue* (Biorad®), NH₄Cl (Dwipraga Chemical), EDTA (Merck®), Natrium bikarbonat (Merck®), reagen DPPH (SigmaAldrich®), DMSO (SigmaAldrich®), reagen MTT (SigmaAldrich®), etanol p.a (Merck®).

PROSEDUR KERJA

Pengumpulan Sampel Darah

Penelitian ini disetujui oleh Komisi Kaji Etik Universitas Andalas Nomor 256/KEP/FK/2017. Relawan dimintai persetujuannya untuk partisipasi dalam penelitian ini dengan lembar *informed consent*. Sampel darah diperoleh dari relawan sehat yang diambil dengan bantuan dokter melalui pembuluh vena pada lengan relawan sebanyak 5 cc untuk dilakukan isolasi leukosit.

Isolasi Sel Leukosit

Sampel darah yang digunakan masih segar, tidak boleh lebih dari 24 jam setelah diambil dari relawan.

Darah diambil 3 mL, lalu disentrifuse pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit lalu lapisan plasma dibuang. Bagian sel yang tersisa diencerkan dengan larutan lisis buffer ammonium klorida (1:10) dan tabung diaduk vertikal untuk menghomogenkan selama 10 menit. Selanjutnya suspensi lisis buffer disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit dan supernatan dibuang. Lisis sampel darah diulang jika masih terdapat sel darah merah yang terlihat. Resuspensi pelet sel darah putih dalam PBS dan cuci pelet sel untuk menghilangkan reagent lisis dan disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit, lalu supernatan dibuang. Resuspensi pelet sel leukosit dalam 1 mL medium dan sel dihitung untuk dilakukan kultur.

Kultur Sel Leukosit

Leukosit yang telah diisolasi diresuspensi kedalam medium RPMI 1640 yang ditambah 10% *fetal bovine serum*, 1% *penicillin/streptomycin*. Inkubasi sel selama 24 jam pada 37 °C. Sel yang diisolasi dihitung dengan menggunakan *Cell counter slide*. Suspensi sel leukosit diambil 10 µL yang dimasukkan dalam *microtube*, dan ditambahkan dengan 10 µL *trypan blue* lalu dipipet agar homogen. Setelah itu dipipet 10 µL campuran, diletakkan didalam kolom counter slide, lalu dihitung dengan alat *cell counter*. Setelah itu, perhitungan sel untuk menentukan jumlah sel yang ditanam pada sumuran.

Evaluasi Sitotoksik Terhadap Sel Leukosit

Kultur leukosit jumlah total sel yang diperlukan 106 sel/mL dalam medium RPMI 1640. Setelah dihitung, sel didistribusikan dalam pelat 96 dengan jumlah sel per sumuran 105. Tambahkan senyawa α -mangostin dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25 dan 3,125 µg/mL pada tiap sumuran sesuai desain percobaan (volume total 100 µL/sumuran). Selanjutnya pelat diinkubasi dengan senyawa pada 37 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi dengan senyawa, 20 µL larutan MTT (5 mg/mL) ditambahkan pada tiap sumuran dan selanjutnya sel diinkubasi pada 37°C selama 6 jam. Setelah inkubasi, ditambahkan 50 µL DMSO untuk melarutkan garam ungu formazan yang terbentuk. Kontrol negatif adalah kultur sel yang tidak diberi perlakuan, kontrol positif adalah medium pertumbuhan leukosit, dan kontrol senyawa adalah senyawa dengan berbagai konsentrasi yang ditambahkan dengan reagen MTT. Ukur absorbansi dengan mikroplate reader dengan panjang gelombang 570 nm. Viabilitas sel dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{((\text{Abs Perlakuan} - \text{Abs Kontrol Senyawa}) / (\text{Abs kontrol Sel} - \text{Abs Kontrol Media})) \times 100}$$

Uji Antioksidan DPPH assay

Larutan DPPH disiapkan dengan menimbang 4 mg DPPH dan dilarutkan dalam etanol p.a ke volume 25 mL menghasilkan konsentrasi 0,4 mM DPPH. Larutan stok alpha mangostin diencerkan untuk membuat serial konsentrasi senyawa 25; 10; 5; 1; 0,5; 0,25 dan 0,1 µg/mL. Larutan stok diencerkan untuk membuat serial konsentrasi senyawa 25; 10; 5; 1; 0,5; 0,25 dan 0,1 µg/mL. Sebanyak 50 µL larutan uji dari masing-masing konsentrasi dimasukkan pada tiap sumur perlakuan dengan tiga kali pengulangan. Selanjutnya semua sumuran ditambahkan dengan 50 µL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga volume total 200 µL. Sumur kontrol diisi dengan 50 µL larutan DPPH dan 150 µL etanol. Kemudian diinkubasi selama 40 menit pada tempat yang gelap dan dihitung absorbansinya tiap waktu tersebut. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan microplate reader dengan panjang gelombang 517 nm.

Analisa Data

Data penentuan konsentrasi toksik (IC50) dan aktivitas persen inhibisi DPPH dianalisa dengan analisis regresi. Data disajikan dalam bentuk mean ± standar eror (SE) atau mean ± standar deviasi (SD) dan grafik

Hasil dan Diskusi

Senyawa α -mangostin dalam rentang konsentrasi yang bervariasi mulai dari konsentrasi 3,125 µg/mL; 6,25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 25 µg/mL; 50 µg/mL dan 100 µg/mL tidak menunjukkan efek toksik terhadap kultur sel leukosit, yang ditunjukkan dari nilai viabilitas sel leukosit pada [tabel 1](#). MTT assay adalah uji sitotoksik kolorimetrik untuk menentukan jumlah sel hidup berdasarkan perubahan dalam larutan MTT yang diwarnai dari kristal formazan kuning ke ungu oleh mitokondria aktif dalam sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi oksidasi oleh dinukleotida adenin nikotinamida, karena enzim dalam rantai pernapasan mitokondria diubah menjadi formazan yang tidak dapat larut dalam air. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme. Semakin tajam warna yang dibentuk, maka semakin tinggi nilai absorbansi, menyatakan semakin banyak sel yang hidup ([Gambar 1](#)). Uji MTT berguna untuk mengukur pertumbuhan sel dalam menanggapi mitogen, stimulasi antigenik, faktor pertumbuhan dan reagen yang memicu pertumbuhan sel lainnya, studi sitotoksik dan pada derivasi

kurva pertumbuhan sel [\[14\]](#).

Senyawa α -mangostin menunjukkan potensi meningkatkan proliferasi sel leukosit pada konsentrasi 50 dan 100 µg/mL. Peningkatan aktivitas proliferasi sel leukosit dibuktikan dengan peningkatan persentase viabilitas sel saat diuji dengan MTT assay sebesar $208,485 \pm 21,21$ dan $361,818 \pm 86,37$, yang ditampilkan pada [gambar 2](#). Kasemwattanaroj et al., [\[15\]](#) mendapatkan bahwa senyawa α -mangostin pada sangat sitotoksik terhadap kultur sel leukosit mononuklear manusia dengan IC50 5,55 µg/mL. Namun ketika sel leukosit diberi perlakuan dengan mitogen pemicu proliferasinya dan α -mangostin, tingkat proliferasi sel leukosit meningkat dan meregulasi pelepasan sitokin proinflamasi. Proliferasi sel leukosit dipicu oleh adanya mitogen, antigen atau ligan yang mengaktifkan jalur sinyal proliferasi. Proliferasi dan diferensiasi sel-sel leukosit secara terus menerus terjadi pada sel-sel induk myeloid, tetapi pada sel-sel leukosit perifer, proliferasi tidak terjadi pada semua jenis leukosit. Umumnya leukosit perifer yang mampu berkembang biak adalah limfosit yang mengisi komposisi paling banyak sekitar 20-45% dalam sirkulasi darah perifer [\[16\]](#).

Mangostin sebagai senyawa mitogen dalam proliferasi leukosit berperan secara tidak langsung melalui kemampuannya untuk menghambat radikal bebas, yang ditunjukkan oleh linearitas profil konsentrasi alfa mangostin terkait dengan viabilitas leukosit dan aktivitas antioksidan. Alfa mangostin diperoleh memiliki aktivitas antioksidan terhadap penghambatan radikal bebas DPPH dengan nilai IC50 13,57 µg/mL ([Tabel 2](#) menunjukkan persentase penghambatan DPPH oleh mangostin). Keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting untuk fungsi sel sistem kekebalan untuk menjaga integritas dan fungsionalitas membran sel, protein seluler dan asam nukleat. Selain itu, keseimbangan ini sangat penting untuk mengontrol transduksi sinyal dan ekspresi gen [\[17\]](#). Terutama dalam sel-sel sistem kekebalan tubuh yang sangat aktif dalam memproduksi radikal bebas ketika diaktifkan oleh antigen, memiliki lebih banyak aktivitas enzim antioksidan dan mikronutrien antioksidan daripada sel-sel lainnya. Penelitian yang terkait dengan hubungan antioksidan terhadap proliferasi sel leukosit dilakukan dengan mengevaluasi glutathion intraseluler, dimana glutathion intraseluler berpengaruh secara signifikan pada leukosit yang mendapat perlakuan dengan mitogen. Senyawa alfa mangostin juga mempengaruhi kadar glutathione plasma dan intraseluler dalam kultur sel saraf [\[19\]](#).

Tabel 1. Nilai absorban pengujian sitotoksik senyawa α -mangostin terhadap kultur sel leukosit, dan nilai absorban kontrol diukur pada panjang gelombang 570 nm dengan 3x pengulangan.

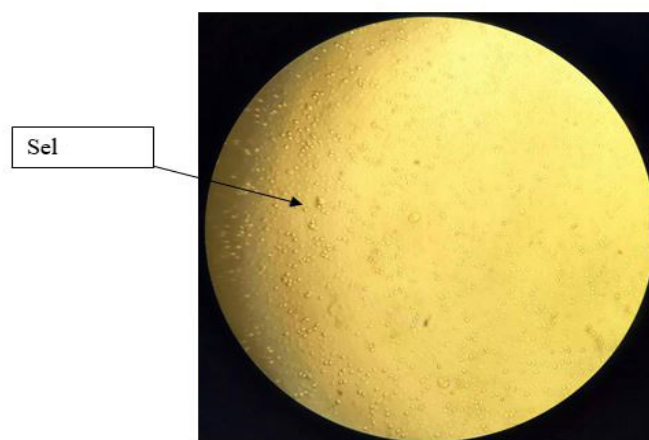
Absorban Kontrol		Absorban Kontrol Senyawa		Absorban Kontrol Perlakuan				Persen Viabilitas sel
Kontrol Media	Kontrol Sel	Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorban	1	2	3	Rata-rata	
0,481	0,609	3,125	0,467	0,517	0,513	0,512	0,514	85,455 \pm 2,77
0,519	0,543	6,25	0,476	0,533	0,536	0,539	0,536	109,091 \pm 3,15
0,543	0,566	12,5	0,477	0,566	0,535	0,528	0,543	120 \pm 21,23
0,527	0,573	25	0,522	0,597	0,575	0,585	0,586	115,758 \pm 11,56
Rata- rata	Rata- rata	50	0,531	0,669	0,634	0,634	0,646	208,485 \pm 21,21
0,518	0,573	100	0,555	0,849	0,708	0,705	0,754	361,818 \pm 86,37

Persentase Viabilitas Sel Leukosit Kontrol

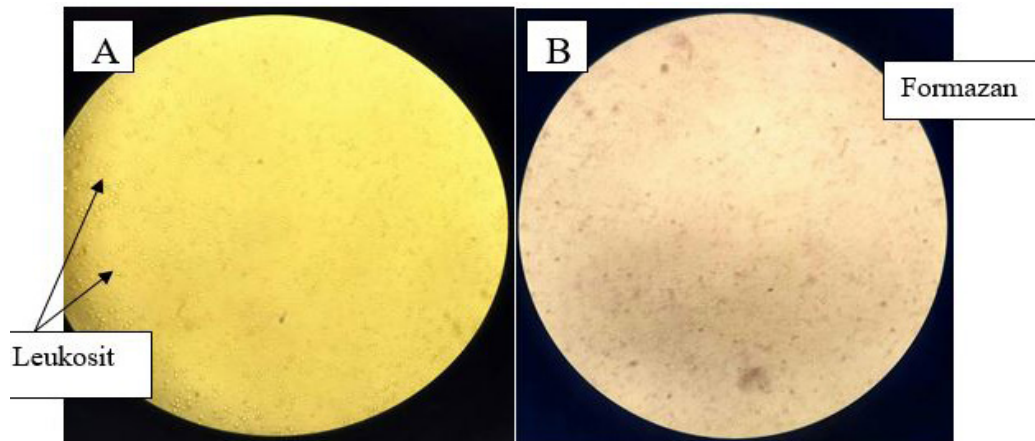
$$\begin{aligned} \% \text{ Viabilitas Leukosit} &= (\text{Abs rata-rata Kontrol Sel}) / (\text{Absorban Kontrol Media}) \times 100 \\ &= (0,573 / 0,518) \times 100 = 110,62\% \end{aligned}$$

Tabel 2. Pengaruh variasi konsentrasi senyawa α -mangostin dan persen inhibisi radikal bebas DPPH

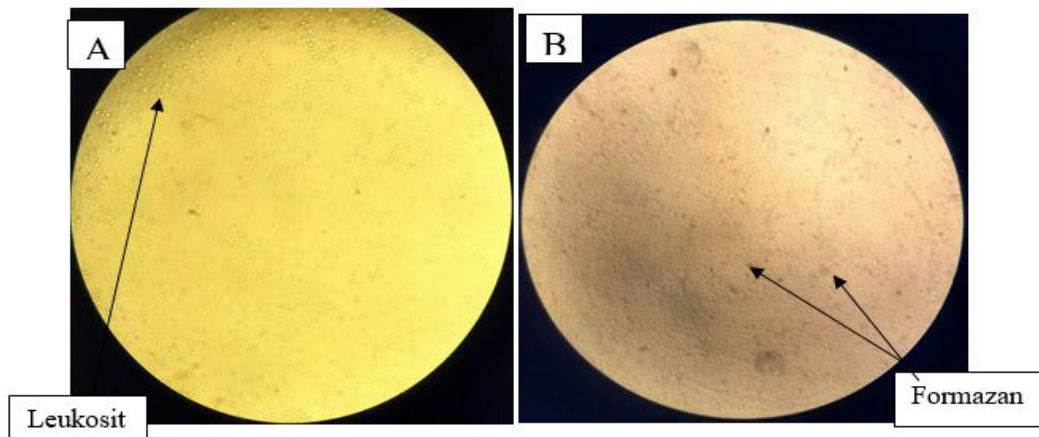
Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Rata-rata Inhibisi (%) \pm SD
0,1	1,699 \pm 0,199
0,25	2,176 \pm 0,075
0,5	3,875 \pm 0,199
1	5,149 \pm 0,586
5	23,779 \pm 1,881
10	44,745 \pm 0,791
25	85,934 \pm 0,375



Gambar 1. Kultur sel leukosit pada sumuran kontrol (perbesaran 100x)

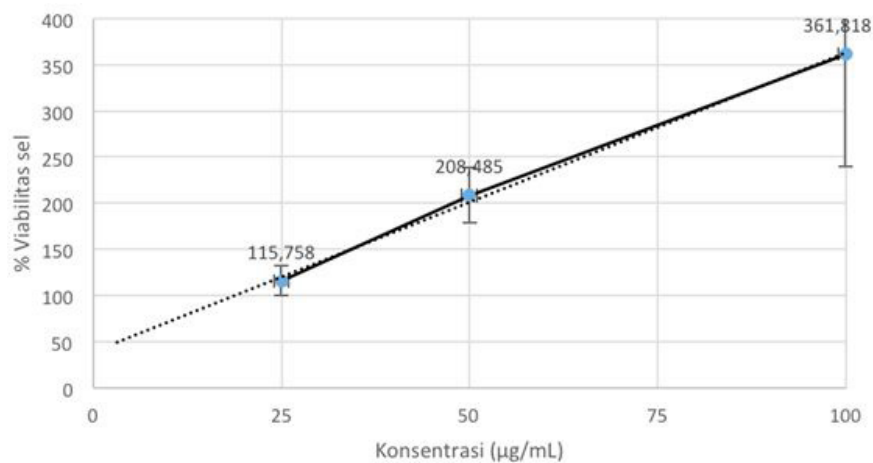


Gambar 2. Kultur sel leukosit pada sumuran dengan perlakuan α -mangostin konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang diinkubasi selama 24 jam (perbesaran 100x): A) sebelum ditambahkan reagen MTT; B) setelah penambahan reagen MTT yang diinkubasi selama 4 jam



Gambar 3. Kultur sel leukosit pada sumuran dengan perlakuan α -mangostin konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang diinkubasi selama 24 jam (perbesaran 100x): A) sebelum ditambahkan reagen MTT; B) setelah penambahan reagen MTT yang diinkubasi selama 4 jam.

Keterangan : Setelah diinkubasi dengan reagen MTT, banyak terbentuk kristal formazan berwarna ungu, sehingga penampakan sel leukosit tertutup oleh perubahan warna formazan.



Gambar 4. Grafik proliferasi sel leukosit yang dipengaruhi konsentrasi α -mangostin

Keterbatasan penelitian ini tidak dapat secara langsung menentukan peran alfa mangostin sebagai antioksidan intraseluler pada kultur sel leukosit dalam medium yang sama. Hal ini diperlukan untuk menguji aktivitas antioksidan dalam sistem *in vivo* yang melibatkan sistem kehidupan sel yang kompleks, yang melibatkan faktor-faktor lain dalam sistem pengujian *in vivo* seperti pengaruh tingkat oksidan dan antioksidan dalam media kultur, atau efek dari penambahan serum sebagai komposisi media kultur. Selain itu, perlu diketahui batas konsentrasi toksik dari alfa mangostin terhadap kultur sel leukosit dengan melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan rentang konsentrasi yang lebih besar.

Kesimpulan

Senyawa alpha mangostin tidak memberikan efek toksik pada kultur sel leukosit manusia pada konsentrasi 3.125; 6,25; 12,5; 25, 50, dan 100 µg/mL. Senyawa secara tidak langsung berperan mempengaruhi proliferasi sel leukosit pada konsentrasi 50 µg / mL dan 100 µg / mL. Senyawa alpha mangostin memiliki aktivitas antioksidan tinggi dalam menangkap radikal bebas DPPH dengan IC50 13.57 µg/mL. Luaran dari penelitian ini telah menyajikan data awal mengenai keamanan mangostin terhadap sel tubuh normal, yaitu sel leukosit.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah mendanai penelitian ini melalui Program DIPA Fakultas Farmasi Tahun 2018

Referensi

- [1] Chen LG, Yang LL, Wang CC. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):688–93.
- [2] Joshua D D, T.Gautschi J, Whitman S, Johnson TA, Gassner NC, Crews P, et al. Discovery of platelet-type 12-human lipoxygenase selective inhibitors by high-throughput screening of structurally diverse libraries. *Bioorg Med Chem*. 2007;15(22):1–18.
- [3] Cui J, Hu W, Cai Z, Liu Y, Li S, Tao W, et al. New medicinal properties of mangostins: Analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. *Pharmacol Biochem Behav*. 2010;95(2):166–72.
- [4] Wahyuni FS, Shaari K, Stanslas J, Lajis NH. Cytotoxic xanthenes from the stem bark of *Garcinia cowa* Roxb. *J Chem Pharm Res*. 2015;7(1):227–36.
- [5] Novilla A, Djamhuri DS, Fauziah N, Maesaroh, Balqis, Widowati W. Cytotoxic Activity of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Peel Extract and α -Mangostin toward Leukemia Cell Lines (HL-60 and K-562). *J Nat remedies*. 2016;16(2):52–9.
- [6] Aisha AFA, Abu-Salah KM, Ismail Z, Majid AMSA. In vitro and in vivo anti-colon cancer effects of *Garcinia mangostana* xanthenes extract. *BMC Complement Alternative Medication*. 2012;12:1.
- [7] Yousif M, Mohd N, Mariod AA, Mohan S, Ameen M, Ibrahim S. α -Mangostin from *Garcinia mangostana* Linn : An updated review of its pharmacological properties. *Arab J Chem*. 2016;9(3):317–29.
- [8] Likhitwitayawuid K, Phadungcharoen T, Krungkrai J. Antimalarial xanthenes from *Garcinia cowa*. *Planta Med*. 1998;64(April 1994):70–2.
- [9] Tjahjani S. Antimalarial activity of *Garcinia mangostana* L rind and its synergistic effect with artemisinin in vitro. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):131.
- [10] Panthong K, Pongcharoen W, Phongpaichit S, Taylor WC. Tetraoxygenated xanthenes from the fruits of *Garcinia cowa*. *Phytochemistry*. 2006;67(10):999–1004.
- [11] Aurawiwat C, Trisuwan K, Saijai A, Pyne SG, Ritthiwigrom T. Antibacterial tetraoxygenated xanthenes from the immature fruits of *Garcinia cowa*. *Fitoterapia*. 2014;98:179–83.
- [12] Ngawhirunpat T, Opanasopi P, Sukma M, Sittisombut C, Kat A, Adachi I. Antioxidant, free radical-scavenging activity and cytotoxicity of different solvent extracts and their phenolic constituents from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Pharm Biol*. 2010;48(1):55–62.
- [13] Lin J, Gao Y, Li H, Zhang L, Li X. DNA protective effect of mangosteen xanthenes: An in vitro study on possible mechanisms. *Adv Pharm Bull*. 2014;4(2):147–53.
- [14] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1–2):55–63.
- [15] Kasemwattanoj P, Moongkarndi P, Pattanapanyasat K, Mangmool S, Rodpai E, Samer J, et al. Immunomodulatory activities of alpha-mangostin on peripheral blood mononuclear cells. *Nat Prod Communications*. 2013;8(9):1257–60.
- [16] Van de Loosdrecht AA, Beelen RHJ, Ossenkoppele GJ, Broekhoven MG, Langenhuijsen MMAC. A tetrazolium-based colorimetric MTT assay to quantitate human monocyte mediated cytotoxicity against leukemic cells from cell lines and patients with acute myeloid leukemia. *J Immunol Methods*. 1994;174(1–2):311–20.
- [17] Knight JA. Review : Free Radicals, Antioxidants, and the Immune System. 2000;30(2):145–58.
- [18] Coquette A, Vray B, Vanderpas J. Role of vitamin E in the protection of the resident macrophage membrane against oxidative damage. *Arch Int Physiol Biochim*. 1986;94:529–534.
- [19] Marquez-Valadez B, Maldonado PD, Galvan-Arzate S, Mendez-Questa LA, Perez-De La Cruz V, Pedraza-Chaverri J, Cardenas MEC, Santamaria A. Alpha-mangostin induces changes in glutathione levels associated with glutathione peroxidase activity in rat brain synaptosomes. *Journal Nutricional Neuroscience*. 2012;15(5):13–19



Copyright © 2018 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)