

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) MENGGUNAKAN METODE DPPH

N. P. A. D. Wijayanti, A. A. G. R. Y. Putra, I. A. P. Suryantari, G. A. D. Dwiantari

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

*Email: dewi_wijayanti@unud.ac.id

ABSTRAK

Penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi kulit buah manggis menggunakan metode DPPH ini bertujuan untuk memperoleh perbandingan nilai IC_{50} antara ekstrak dan fraksi sehingga diperoleh aktivitas antioksidan yang optimum serta mengetahui golongan senyawa dari fraksi aktif. Metode yang digunakan untuk fraksinasi adalah kolom kromatografi dengan pelarut bergradien n-hexana: etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10). Uji pendahuluan KLT dilakukan untuk melihat kromatogram yang sama, dengan menggunakan fase gerak kloroform : metanol (9,5:0,5) v/v sehingga diperoleh fraksi gabungan A(4 dan 5), B(6-14), C(15-22), D(23-36). Profil KLT-bioautografi aktivitas antioksidan digambarkan dengan semua spot berwarna kuning dengan latar belakang ungu dan terdapat 3 spot pada ekstrak dan fraksi A, B, dan C sedangkan 2 spot pada fraksi D. Nilai IC_{50} untuk masing-masing ekstrak menggunakan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} untuk fraksi A, B, C dan D berturut-turut sebesar 27,51 $\mu\text{g/mL}$, 22,46 $\mu\text{g/mL}$, 22,72/mL, 10,71 $\mu\text{g/mL}$, 15,71 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi C merupakan fraksi yang memiliki aktivitas lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya dengan kandungan kimia flavonoid dan polifenol yang mampu meredam radikal bebas DPPH.

Kata kunci : aktivitas antioksidan, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), IC_{50} , kromatografi kolom

ABSTRACT

This study aimed to examine the antioxidant activity of the extract and the fractions of mangosteen peel with the use of the DPPH method, as well as to obtain the ratio of IC_{50} values between extracts and fractions so that the optimum antioxidant activity could be established and moreover, the class of the compound of active extract could be determined. The fractionation was carried out with the use of column chromatography with gradient solvents, namely n-hexana: etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10). The TLC was run to find out similar chromatogram using a mobile phase of chloroform: methanol (9.5:0.5) v/v and silica gel 60 GF as the stationary phase. The fractionation performed using column chromatography resulted in four combined fractions which were of A (4 and 5), B (6-14), C (15-22), and D(23-36). TLC-Bioautography profile of antioxidant activity was figured out by the fact that all spots showed yellow colour with violet background, 3 spots from fractions A, B, and C, while 2 spots from D fraction. The IC_{50} values using DPPH method for the fraction of A, B, C and D were of 27.51 $\mu\text{g/mL}$, 22.46 $\mu\text{g/mL}$, 22.72/mL, and 10.71 $\mu\text{g/mL}$, 15.71 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Evidently, C fraction was the most active fraction that contained flavonoids and polifenol as the chemical compounds and able to reduce free radical (DPPH).

Keywords: antioxidant activity, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), column chromatography, IC_{50}

PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan salah satu tanaman yang telah diketahui aktivitas antioksidannya yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Aktivitas

antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*), yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas penangkal radikal bebas (Dungir dkk., 2012). Pada penelitian

sebelumnya yang telah dilakukan oleh Shaine (2016), yang mengoptimasi pelarut ekstraksi menggunakan etanol 96%, etil asetat dan metanol menunjukkan hasil aktivitas antioksidan paling kuat pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} sebesar $9,00 \pm 0,048 \mu\text{g/mL}$.

Pada uji KLT *bioautography* ekstrak metanol menghasilkan 3 spot yang mampu meredam DPPH yaitu pada Rf 0,26; 0,50; 0,88. Spot dengan nilai Rf 0,50 memiliki pola yang sama dengan larutan standar yaitu alpha mangostin. Namun untuk spot dengan nilai Rf 0,26 yang bersifat relatif polar dan 0,88 yang bersifat relatif nonpolar belum dilakukan uji lebih lanjut untuk mengetahui golongan senyawanya. Berdasarkan kekurangan penelitian yaitu belum diketahui golongan senyawa pada spot 0,26 dan 0,88 yang dapat meredam DPPH, maka akan dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut dengan kepolaran yang meningkat dan penyemprotan reagen pada spot untuk mengetahui golongan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*), metanol teknis (Bratachem), n-heksana teknis (Bratachem), aquades (Bratachem), kloroform (Bratachem), metanol PA (Asian Chemical), plat KLT silika gel 60 F₂₅₄, asam askorbat (Merck), DPPH (Sigma), dan reagen semprot FeCl₃ (Bratacho), AlCl (Bratacho), dan Citroborat (Bratacho).

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas, timbangan analitik (Adam AFP-360L), blender (Philips), oven (Binder), *moister analyzer* (Shimadzu), heater, *rotary evaporator* (Eyela), *waterbath* (Memmert), *freeze dryer*, spektrofotometer UV-Vis (GENESYS), bejana pengembang (CAMAG).

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak

Simplisia kulit luar dan dalam buah manggis adalah bagian kulit buah manggis yang diperoleh dari Desa Luwus, Kecamatan Baturiti, Tabanan, kemudian dikeringkan pada suhu 65°C kemudian diblender dan diayak dengan mesh 20. Serbuk kulit buah manggis di maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak hasil maserasi dan remaserasi diuapkan dengan alat *Rotary evaporator* pada suhu 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental (Mardawati *et al.*, 2008).

Kolom dengan panjang 30 cm dan diameter 1 cm disiapkan dengan cara dikemas dengan metode basah menggunakan fase diam silika gel. Silika gel ditimbang sebanyak 4 gram. Ekstrak sebanyak 4 gram dilutur dengan sedikit metanol lalu diimpregnasikan dengan bubuk silika gel sebanyak 4 gram. Pemisahan ekstrak metanol kulit buah manggis menggunakan pelarut n-hexana:etil asetat dengan perbandingan (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10) dibuat sebanyak 20 ml. Setiap 5 ml eluat ditampung dalam vial (Mailandari, 2012).

Penentuan Kualitatif Profil KLT-Bioautografi Aktivitas Antioksidan

Secara kualitatif aktivitas antioksidan dilihat dengan pembuatan larutan sampel dari ekstrak dan fraksi metanol kulit buah manggis dan pembuatan larutan pembanding α -mangostin. Plat kemudian dielusi dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak kloroform:metanol (9,5:0,5) v/v. Plat disemprotan dengan larutan DPPH 1 mM, diamkan selama 30 menit. Kemudian diamati secara visual. Dihitung nilai Rf dan warna spot yang tampak. Spot bahan uji yang memiliki aktivitas antioksidan akan berwarna kuning dengan latar belakang ungu (Gu *et al.*, 2009).

Penentuan Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan DPPH diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 1,5 mL larutan DPPH dimasukkan ke dalam kuvet, ditambahkan 1,5 mL seri larutan uji atau larutan kontrol positif (perbandingan 1:1) dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Kontrol positif berupa larutan seri vitamin C. Larutan uji serta

kontrol positif diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (Fidrianny *et al.*, 2013). Diperoleh data berupa absorbansi ekstrak dan fraksi kulit buah manggis yang digunakan.

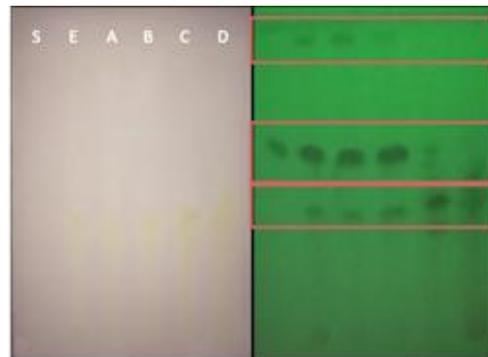
Penentuan Golongan Senyawa Ekstrak dan Fraksi Secara KLT

1 plat KLT akan dibagi menjadi 3 bagian lalu masing-masing bagian ditotolkan fraksi aktif dan ekstrak juga diperlakukan dengan sama seperti fraksi. Dielusi dengan menggunakan fase gerak kloroform P:metanol (9,5:0,5) v/v. Setelah terelusi maka plat dipotong menjadi 3 bagian terpisah. Plat pertama, kedua, dan ketiga masing-masing akan disemprotkan dengan pereaksi FeCl_3 , AlCl_3 , dan Citroborat untuk skrining fitokimia golongan flavonoid dan polifenol. Hasil positif untuk identifikasi flavonoid dengan pereaksi FeCl_3 ditunjukkan dengan bercak berwarna ungu, untuk pereaksi AlCl_3 dengan warna kuning dan indentifikasi polifenol dengan pereaksi Citroborat dengan warna kuning (Marby dkk, 1970; Robinson, 1983).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi kulit buah manggis dilakukan menggunakan metode maserasi dengan metanol sebagai larutan penyari. Kandungan lemak dalam serbuk manggis dihilangkan (*defatting*) terlebih dahulu menggunakan pelarut n-heksana sebelum dimaserasi. Maserasi dilakukan selama tiga hari dengan sesekali pengadukan dilanjutkan dengan proses remaserasi selama satu hari. Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian diuapkan pelarutnya agar lebih pekat menggunakan oven pada suhu 50°C . Diperoleh nilai rendemen ekstrak metanol yaitu 6,25% b/b.

Ekstrak difraksinasi menggunakan kolom kromatografi, hasil fraksinasi yang diperoleh sebanyak 36 vial. Pada tampungan vial 1-3 hasil tampungan berwarna bening, hal ini menandakan bahwa hasil yang ditampung hanya eluen saja dan setelah diuapkan hasil tersebut tidak menghasilkan residu. Berdasarkan pola kromatogramnya maka diperoleh 4 fraksi yang dibagi menjadi fraksi A(4 dan 5), B(6-14), C(15-22), D(23-36) dengan nilai rendemen fraksi A, B, C, dan D yaitu masing-masing sebesar 19,25% b/b; 14% b/b; 3% b/b; 3,25% b/b.



Gambar 1. KLT Bioautografi (S: standar alpha mangosten, E: ekstrak dan A,B,C,D: sampel)

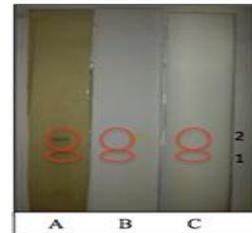
Berdasarkan hasil yang diperoleh pada gambar diatas, beberapa spot yang memiliki aktivitas yang antioksidan ditandai dengan spot berwarna kuning berlatar belakang ungu. Selain spot yang memiliki pola yang sama dan nilai Rf yang mendekati standar alfa mangostin (0,57) terdapat beberapa spot dengan Rf yang berbeda yang juga menunjukkan aktivitas peredaman DPPH. Pada *track* fraksi A, B, C terdapat 3 spot dengan nilai Rf fraksi A (0,37; 0,56; 0,94), fraksi B (0,40; 0,56; 0,94), fraksi C (0,32; 0,41; 0,56) sedangkan fraksi D memiliki 2 spot dengan nilai Rf 0,41 dan 0,5. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi pemisahan akibat proses fraksinasi menggunakan kromatografi kolom. Intensitas warna plat KLT pada UV 254nm terlihat bahwa pada spot ekstrak, fraksi A dan fraksi B spot dengan nilai Rf 0,56 lebih jelas terlihat dan memiliki pola yang sama seperti standar alfa mangostin lebih mendominasi dibandingkan dengan spot pada fraksi C dan D. Dapat disimpulkan bahwa alfa mangostin yang merupakan turunan xanthon adalah kandungan mayor yang terdapat pada kulit buah manggis (Chaverri *et al.*, 2008). Namun pada *track* fraksi C, intensitas warna pada spot dengan Rf 0,56 tidak terlalu jelas terlihat melainkan spot dengan Rf 0,41 yang lebih kuat intensitas warnanya dan pada fraksi D spot tidak tampak spot dengan nilai Rf 0,56, melainkan terdapat spot lain yang memberikan aktivitas.

Tabel 1. Data spot yang memiliki aktivitas antioksidan

No.	Ekstrak	Spot	Warna	Rf
1.	Standar alfa mangostin	1 (S)	Kuning dengan latar belakang ungu	0,57
2.	Ekstrak	1	Kuning dengan latar belakang ungu	0,40
		2	Kuning dengan latar belakang ungu	0,56
		3	Kuning dengan latar belakang ungu	0,94
3.	A	1	Kuning dengan latar belakang ungu	0,37
		2	Kuning dengan latar belakang ungu	0,56
		3	Kuning dengan latar belakang ungu	0,94
4.	B	1	Kuning dengan latar belakang ungu	0,40
		2	Kuning dengan latar belakang ungu	0,56
		3	Kuning dengan latar belakang ungu	0,94
5.	C	1	Kuning dengan latar belakang ungu	0,32
		2	Kuning dengan latar belakang ungu	0,41
		3	Kuning dengan latar belakang ungu	0,56
6.	D	1	Kuning dengan latar belakang ungu	0,41
		2	Kuning dengan latar belakang ungu	0,50

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diperoleh hasil masing-masing nilai IC_{50} pada ekstrak, fraksi A dan B ialah 27,51 $\mu\text{g/mL}$, 22,46 $\mu\text{g/mL}$, 22,72/mL. Ekstrak, fraksi A dan fraksi B pada KLT- Bioautografi memiliki pola kromatogram yang hampir sama dilihat dari nilai Rf dan intensitas warna yang kuat jika dibandingkan dengan standar alpha mangostin. Namun pada fraksi C dilihat dari profil KLT- Bioautografi memiliki spot Rf 0,56 dengan intensitas warna yang kurang dan fraksi D yang tidak memiliki spot dengan nilai Rf yang sama dengan alpha mangostin akan tetapi menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dengan nilai IC_{50} yaitu sebesar 10,71 $\mu\text{g/mL}$ dan 15,71 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga dapat diduga bahwa tidak hanya alpha mangostin yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah manggis namun terdapat senyawa lain yang mampu meredam radikal bebas.

Untuk mengetahui golongan senyawa yang berperan pada fraksi C yang merupakan fraksi teraktif maka akan dilakukan penyemprotan dengan pereaksi kimia. Fraksi C dengan nilai IC_{50} yang paling kecil, yaitu sebesar 10,71 $\mu\text{g/mL}$. Dilakukan pengujian dengan menggunakan pereaksi semprot AlCl_3 , FeCl_3 dan sitroborat. Hasil positif untuk identifikasi flavonoid dengan pereaksi FeCl_3 ditunjukkan dengan bercak berwarna ungu kehitaman, untuk pereaksi AlCl_3 dengan warna kuning dan identifikasi polifenol dengan pereaksi Citroborat dengan warna kuning (Marby dkk, 1970; Robinson, 1983). Nilai Rf yang menunjukkan hasil positif pada 0,32 dan 0,41 Diperoleh hasil bahwa fraksi C mengandung flavonoid dan polifenol yang dapat meredam radikal bebas (DPPH) seperti pada gambar berikut:



Gambar 2. Secara Visual Untuk Identifikasi Golongan Senyawa Pada Fraksi dengan menggunakan fase diam: plat silika gel GF_{254} dan fase gerak: kloroform:metanol (9,5:0,5 v/v) (A: pereaksi FeCl_3 , B: pereaksi AlCl_3 , C: pereaksi Citroborat)

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Aktivitas antioksidan secara kualitatif ditunjukkan dengan adanya warna spot yang berwarna kuning dengan latar belakang ungu pada ekstrak dan fraksi-fraksi. Ekstrak dan fraksi A, B, C, D menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 27,51 µg/mL, 22,46 µg/mL, 22,72/mL, 10,71 µg/mL, 15,71µg/mL. Fraksi C merupakan fraksi yang memiliki aktivitas lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya dengan kandungan kimia flavonoid dan polifenol yang mampu meredam radikal bebas DPPH.

Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pemisahan lebih spesifik pada kandungan Fraksi C yang merupakan fraksi teraktif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada semua pihak yang terlibat pada penelitian ini termasuk pihak laboratorium bidang teknologi, analisis, bahan alam Jurusan Farmasi Universitas Udayana

DAFTAR PUSTAKA

Chaverri, J. P., Noemi C. R., Marisol O. I., Jazmin M. P. R. 2008. Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical technology*. 46(2008): 3227-3239.

Dungir, S., G., Dewa, G., K., Vanda, S., K. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 1 (1): 11-15.

Fidrianny, I. Ari, S. W., Komar, R. W. 2013. Antioxidant Capacities of Various Leaves Extract From Five Colors Varieties of Sweet Potatoes Tubers Using ABTS, DPPH Assays and Correlation with Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid Content. *Research Journal of Medicinal Plant*. 7(3):130-140.

Gu, L., Tao Wua, Zhengtao Wang. 2009. TLC Bioautography-Guided Isolation of Antioxidants from Fruit of *Perilla frutescens* var. *acuta*. *LWT - Food Science and Technology* 42 : 131–136

Mardawati, F., Filianty, F., dan Marta, H. 2009. *Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahaning Kabupaten Tasikmalaya*. Padjajaran: FTIP Universitas Padjajaran.

Mely Mailandari. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia kydia* Roxb. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Yang aktif. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Ekstensi Farmasi Universitas Indonesia.