

Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)

Antioxidant Activity of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Leaves Extract and Fraction toward DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Ghani Nurfiana*, Lukito Mindi, Masyitah Novia

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518
Email:ghani.nurfiana@rocketmail.com

ABSTRAK

Antioksidan sangat penting dalam menjaga kesehatan tubuh manusia karena mampu menangkal radikal bebas. Daun manggis (*Garcinia mangostana*) oleh masyarakat digunakan sebagai obat tradisional yang diketahui mengandung flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun manggis terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan parameter IC_{50} serta untuk mengetahui golongan senyawa yang berperan dalam uji aktivitas antioksidan.

Daun manggis diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh kemudian disuspensi dengan air selanjutnya difraksinasi dengan *n*-heksana dan etil asetat. Ekstrak daun manggis dan fraksi yang didapatkan selanjutnya diuji aktivitas antioksidannya terhadap radikal DPPH. Pengujian dilakukan dalam 5 seri konsentrasi dengan cara menambahkan 4,0 ml larutan uji dengan 1,0 ml DPPH 0,45 mM. Aktivitas terhadap radikal bebas diukur dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm dan ditentukan nilai IC_{50} dengan menggunakan analisis probit. Kontrol positif yang digunakan yaitu Rutin. Identifikasi golongan senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang hasilnya bisa diidentifikasi dengan pereaksi semprot atau dibandingkan dengan baku standart.

Hasil menunjukkan bahwa daun manggis memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air berturut turut sebesar 17,64 mg/ml, 45,36 mg/ml, 13,71 mg/ml, 12,10 mg/ml. Fraksi air mempunyai aktivitas yang paling kuat dibandingkan yang lainnya dengan nilai IC_{50} yang mendekati IC_{50} Rutin yaitu 15,24 mg/ml sebagai kontrol positif. Identifikasi senyawa dalam ekstrak dan fraksi secara KLT dengan berbagai penampak bercak mengandung golongan senyawa : flavonoid, saponin dan steroid.

Kata Kunci : Antioksidan, Daun Manggis (*Garciniamangostana*) , DPPH

ABSTRACT

Antioxidant is very important to keep human's health because it can scavenge free radical. *Garcinia mangostana* L. which is used by people as traditional herbal medicine and it has traditional name mangosteen is known contain of flavonoid, tannin and saponin. The aim of the experiment was to find out the antioxidant activity of extracts and fractions of mangosteen folium against the DPPH radicals (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) to determine the IC_{50} and classes of compounds that play a role in antioxidant activity assay.

Mangosteen leaves were extracted by maceration method using 96% ethanol. Extract was partitioned with water and *n*-hexane, and then with ethyl acetate. The antioxidant activity of fraction was tested against DPPH radicals. The test was conducted in 5 series of concentrations by adding 4.0 ml test solutions with 1.0 ml DPPH 0.45 mM. The radicals scavenging activity was measured with spectrophotometer at 517 nm wavelength and determined the IC_{50} value. The experiment used Rutin as positive control. The identification of the class of compounds can be carried out using the Thin Layer Chromatography (TLC) method whose results can be identified by spray reagents or compared with the standard standard.

The result of the experiment showed that Mangosteen folium had antioxidant activity with IC_{50} of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction: 17.64 $\mu\text{g} / \text{ml}$, 45.36 $\mu\text{g} / \text{ml}$, 13.71 $\mu\text{g} / \text{ml}$, 12.10 $\mu\text{g} / \text{ml}$ respectively. The water fraction has the strongest activity compare to the other with the IC_{50} is almost near often Rutin's IC_{50} is 15.24 μg as the positive control. Extracts and fractions of TLC with various spotting agents contain a class of compounds: flavonoids, saponins and steroids

Keywords: Antioxidant, leaves Mangosteen (*Garcinia mangostana*), DPPH

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksi dan eksogen (Sunarni 2005). Antioksidan sintetik seperti BHA, (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksi toluen), PG (propil galat), dan TBHQ (tert-butil Hidrokuinon) dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan (Rohman and Riyanto 2005). Senyawa-senyawa polifenol seperti flavonoid dan galat mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (Pokorny *et al* 2001).

Daun manggis dapat digunakan sebagai antioksidan, antiradang dan antikanker, dan baru-baru ini dinyatakan memiliki aktivitas anti HIV (Williams *et al* 1995). Daun manggis diketahui mengandung quersetin (Falodun and Agbakwuru 2004). Quersetin diindikasikan sebagai flavonoid yang

mempunyai kemampuan antioksidan paling kuat (De Groot 1994).

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 515 nm yang diikuti reaksi reduksi oleh senyawa antioksidan (Pokorny *et al* 2001). Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang menyebabkan penghilangan warna sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni 2005).

Pada penelitian ini dilakukan uji antiradikal bebas DPPH untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksane, etil asetat, dan fraksi air daun manggis dalam menghambat radikal bebas DPPH. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui manakah dari seluruh zat uji yang memiliki potensi tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan yang bersifat antioksidan. Manfaat penelitian ini yaitu untuk memberikan dasar ilmiah potensi daun manggis sebagai antioksidan dan memberikan acuan dalam usaha menemukan serta menyelidiki senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan dari tanaman yang tumbuh di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah daun manggis yang ditanam di daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan meliputi *n*-heksana, etil asetat, etanol 96 %, metanol p.a. (Merck, Germany), 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil, Rutin. Lempong KLT GF 254, pereaksi *lieberman bourchardad*, sitroborat, anisaldehida, FeCl₃

Alat

Alat yang digunakan adalah botol maserasi, *vacuum rotaevaporator*, dan alat gelas. Alat kromatografi dan spektrofotometri adalah bejana kromatografi (*chamber*), lampu UV, pipa kapiler, oven, spektrofotometer UV-Vis, kondensor, labu destilasi, timbangan analisis, kuvet, labu takar. Alat lain yang digunakan seperti *stopwatch*, timbangan miligram, *waterbath*, timbangan analitik, *beaker glass*, pipet volume, mikropipet, pipet ukur, siring.

Persiapan Bahan

Tanaman sebelum digunakan harus dipastikan terlebih dahulu dengan dilakukan determinasi tanaman berdasarkan kunci determinasi menurut Backer and Van der Brink (1968). Daun manggis yang telah ditetapkan identitasnya, dipilih yang tidak terlalu muda, tidak terlalu tua, masih segar dan dipetik siang hari. Daun selanjutnya dicuci dengan air, dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Pembuatan serbuk menggunakan ayakan ukuran 40 mesh.

Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun manggis

Ekstrak etanolik dibuat dengan cara, 1000 g serbuk daun manggis

dimasukkan dalam botol gelap kemudian ditambah dengan etanol 96% sebanyak 7500 ml. Maserasi dilakukan selama lima hari dengan penggojogan. Setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotaevaporator* suhu 40°C), selanjutnya disebut ekstrak etanolik daun manggis

Pembuatan Fraksi *n*-Heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air

Ekstrak etanolik sebanyak 10 g kemudian disuspensi dengan air sebanyak 75 ml lalu dipartisi dengan *n*-heksana 75 ml dan di replikasi sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Lapisan *n*-heksana selanjutnya dikumpulkan dan dipekatkan dengan *vacuum rotaevaporator*, filtrat *n*-heksana yang kering ini selanjutnya disebut fraksi *n*-heksana. Lapisan air sisa partisi dengan *n*-heksan kemudian dipartisi lagi dengan 75 ml etil asetat dan di replikasi sebanyak tiga kali. Lapisan etil asetat dipisahkan dan dipekatkan dengan *vacuum rotaevaporator* dan diperoleh fraksi etil asetat. Lapisan air diuapkan di atas *waterbath* sampai kental, yang kemudian disebut fraksi air. Fraksi yang didapat masing-masing ditimbang untuk mendapat persen rendemen terhadap bobot awal.

Identifikasi Kandungan Flavonoid secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi golongan senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan KLT. Identifikasi golongan senyawa dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi yang diperoleh dengan melihat hasil dari penampak bercak yang bereaksi dengan reagen di antaranya : flavonoid (uap Ammonia dan pereaksi Sitroborat),

alkaloid (pereaksi Dragendroff), steroid (pereaksi Liberman bourchard), tanin (Pereaksi FeCl_3), saponin (Pereaksi Anisaldehyd). Uji kualitatif ini dilakukan untuk membuktikan kebenaran bahan/zat aktif yang terkandung pada daun manggis yang berperan dalam aktivitas antioksidan terhadap DPPH.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 1,0 ml larutan DPPH 0,45 mM ditambah 4,0ml metanol, dikocok homogen dan diamati serapannya pada rentang λ 500-523 nm dengan menggunakan blanko methanol p.a. Sebelum dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum tersebut terlebih dahulu ditetapkan *operating time* untuk mengetahui kestabilan larutan DPPH.

Penetapan Aktivitas Antioksidan

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan fraksi air daun manggis beserta Rutin sebagai kontrol positif dibuat menjadi 4 seri konsentrasi. Setiap konsentrasi larutan uji dipipet 4,0 ml dimasukkan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 1,0ml larutan pereaksi DPPH 0,45 mM, dikocok homogen dan didiamkan selama 30 menit kemudian diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan kontrol negatif larutan DPPH 0,45 mM tanpa zat uji.

Analisis Data

Aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH dihitung dengan menggunakan rumus persentase peredaman sebagai berikut:

$$\text{Peredaman}(\%) = \frac{\text{Absblanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Absblanko}} \times 100\%$$

Data selanjutnya dihitung dengan persamaan regresi linier berdasarkan rumus $Y = a + bX$ dengan metode probit. Persamaan regresi linier digunakan untuk menghitung IC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Daun Manggis

Determinasi dilakukan di laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret. Bagian tumbuhan yang digunakan sebagai bahan determinasi adalah daun Manggis. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman manggis (*Garcinia mangostana*)

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak kental etanolik yang didapatkan dari 1000 g serbuk adalah 296,43 g sehingga memiliki rendemen sebesar 29,64%. Ekstraksi dilakukan dengan etanol karena etanol merupakan pelarut universal sehingga dapat mengekstraksi hampir semua kandungan kimia dalam simplisia. Ekstrak kental etanolik sebanyak 10 g kemudian dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air dimaksudkan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya, dimana fase *n*-heksana akan melarutkan kandungan senyawa tanaman yang bersifat nonpolar, fase etil asetat melarutkan senyawa yang bersifat semipolar, dan fase air melarutkan kandungan senyawa kimia tanaman yang bersifat polar. Hasil partisi dapat dilihat pada Tabel 1 setelah dilakukan 3 kali replikasi.

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak etanolik daun manggis

Nama pelarut	Berat (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	8,997	26,67
etil asetat	19,287	32,14
air	23,425	39,04

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun manggis menggunakan metode KLT

Ekstrak etanol herba manggis yang diperoleh melalui metode maserasi, kemudian dianalisis kandungan kimianya menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Senyawa yang akan diidentifikasi yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, tannin dan saponin. Fase diam yang digunakan yaitu Silika Gel GF 254 dan menggunakan fase gerak yang berbeda-beda berdasarkan polaritas senyawa, Hasil identifikasi kandungan senyawa tersebut dapat dilihat pada tabel 2.

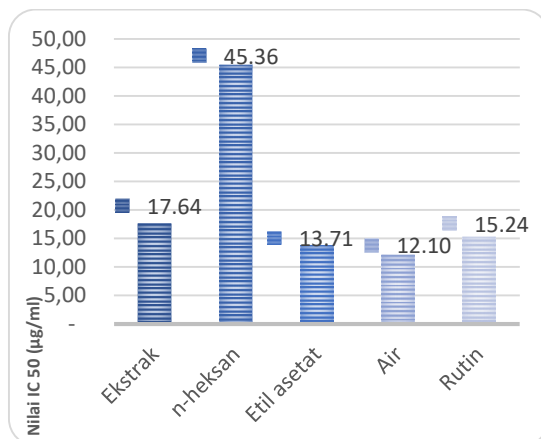
Dari hasil identifikasi kandungan senyawa ini dapat disimpulkan bahwa herba manggis mengandung senyawa flavonoid, steroid dan saponin baik pada ekstrak maupun pada masing-masing fraksinya.

Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan

Panjang gelombang maksimum DPPH dalam metanol yang didapatkan pada penelitian ini adalah 517 nm. Pengukuran aktivitas peredaman radikal DPPH selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna violet larutan DPPH menjadi warna kuning karena bereaksi dengan antioksidan diikuti dengan penurunan serapan pada panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna tersebut menunjukkan adanya aktivitas yang dapat dilihat dari prosentase peredamannya. Rutin digunakan sebagai kontrol positif sebab telah terbukti aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} merupakan yakni daya konsentrasi larutan uji yang mampu menangkal 50% larutan radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin efektif sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa setiap fraksi dari ekstrak daun manggis

Uji	Alkaloid	Flavonoid	Steroid	Saponin	Tanin
Ekstrak	-	+	+	+	-
<i>n</i> -heksana	-	+	+	+	-
Etil asetat	-	+	+	+	-
Air	-	+	-	+	-



Gambar 1. Aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas berdasarkan nilai IC_{50} .

Fraksi *n*-heksana memiliki nilai IC_{50} tertinggi yaitu 45,36 mg/ml yang menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas antioksidan paling lemah dibanding fraksi lainnya. Fraksi air memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC_{50} terendah yaitu 12,10 mg/ml bahkan lebih rendah daripada ekstrak etanolik yang belum terfraksinasi dengan nilai IC_{50} 17,64 mg/ml. Aktivitas fraksi air yang lebih tinggi dari ekstrak etanolik menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari hasil penelitian ini bukan karena efek sinergis dari campuran senyawa tetapi karena adanya kemungkinan senyawa aktif antioksidan yang terkandung pada fraksi air. Selain itu, berdasarkan identifikasi KLT fraksi air menunjukkan bercak yang mengarah pada senyawa flavonoid dengan salah satu bercak terdeteksi mempunyai karakteristik seperti pada bercak Rutin.

Aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat hanya selisih sedikit dari pada fraksi air dan bahkan juga lebih tinggi dari ekstrak etanolik yaitu dengan nilai IC_{50} 13,71 mg/ml. Hal ini kemungkinan karena fraksi etil asetat meskipun

mengandung senyawa yang mengarah flavonoid pada identifikasi KLT tetapi senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan fraksi air.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka fraksi air mempunyai potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan yang bersifat antioksidan.

KESIMPULAN

1. Daun Manggis memiliki aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH.
2. Ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air secara berturut-turut memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 17,64 mg/ml, 45,36 mg/ml, 13,71 mg/ml, dan 12,10 mg/ml.
3. Fraksi air memiliki aktivitas paling kuat dibandingkan lainnya dengan nilai IC_{50} mendekati IC_{50} Rutin yaitu 15,24 ppm sebagai kontrol positif.
4. Daun manggis memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu golongan senyawa flavonoid, steroid dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer CA and Van der Brink RBC. 1968. *Flora of Java*. N.V.D.
- Noordhoff. Groningen. De Groot H. 1994. Reactive oxygen species in tissue injury. *J. Hepatogastroenterology*. 41:328-332.
- Hernani M. dan Rahardjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- I S Young, J V Woodside. 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* : 54 : 17
- Pokorny J, Yanishlieva N, and Gordon M. 2001. *Antioxidant in Food: Practical Applications*. CRC Press. New York.
- Rohman A, Riyanto S. 2005. Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara *In Vitro*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(3):136 – 140.
- Sunarni T. 2005. Aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol*(Bl). Hook f. & Th.). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 2(1):12-15.
- Williams CA, Hoult, JRS, Harborne JB, Greenham J. 1995. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* 38 (1): 267-270.
- Winarsi W. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Halm : 21, 26-27
- Zarena, A. S., dan Sankar, K.U. 2009. Study of Antioxidant Properties from *Garcinia mangostana* L. Pericarp Extract. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 8 (1): 23-34