

**PENGARUH LAMA WAKTU PENDINGINAN TERHADAP
RENDEMEN DAN KEMURNIAN ALFA MANGOSTIN DARI
KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn.)**

SKRIPSI



Oleh :

**NOERMALINDA PERMATA SARI
K 100 060 086**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2010**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tanaman manggis atau *Garcinia mangostana* Linn. dapat dipergunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Hal tersebut karena manggis telah diketahui memiliki senyawa aktif sebagai obat. Bagian yang berkhasiat adalah kulit buahnya. Penelitian dari Jung *et al.* (2006) dan Peres *et al.* (2000) menyatakan bahwa senyawa aktif yang banyak terdapat dalam manggis adalah turunan xanton (Obolskiy, 2009). Senyawa yang terkandung dalam kulit buah manggis adalah alfa mangostin, beta mangostin, gamma mangostin dan methoxy- β -mangostin (Akao *et al.*, 2008).

Senyawa alfa mangostin memiliki aktivitas yang berbeda-beda seperti penyegar, aktivitas antioksidan, antikanker, antituberkulosis, dan efek antihistamin (Obolskiy *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Nabandith *et al.* (2004) menemukan bahwa alfa mangostin memiliki efek kemopreventif yang poten terhadap kanker usus besar. Alfa mangostin, beta mangostin, gamma mangostin dan methoxy- β -mangostin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker usus besar DLD-1 pada manusia dengan nilai IC_{50} alfa mangostin 7,5 μ M, beta mangostin 8,1 μ M, dan gamma mangostin 7,1 μ M (Akao *et al.*, 2008). Penelitian lain menjelaskan bahwa alfa mangostin berguna sebagai antibakteri, dengan memperlihatkan efek inhibitor yang kuat melawan *Mycobacterium tuberculosis* dengan nilai MIC 6,25 μ g/ml (Suksamrarn *et al.*, 2003).

Efek farmakologi xanton dari kulit buah manggis, terutama alfa mangostin yang begitu besar mendorong penelitian identifikasi dan isolasinya. Xanton dari kulit buah manggis diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (Chawla *et al.*, 1975 cit Peres *et al.*, 2000) dan dipisahkan dengan HPLC (Hostettmann and Guillardmod, 1976; Hostettmann and McNair, 1976 cit Peres *et al.*, 2000). Isolasi alfa mangostin dilakukan dengan ekstraksi menggunakan heksana dan rekristalisasi alfa mangostin dilakukan dengan melarutkan dalam metanol, penambahan air dan dilanjutkan pendinginan (Walker, 2007).

Proses pemurnian dengan rekristalisasi pada umumnya dilakukan dengan melarutkan sampel dalam solven hangat kemudian didinginkan untuk mendesak kristal keluar (Vogel, 1978). Walker (2007) melakukan rekristalisasi dengan pendinginan selama 24 jam. Tong *et al.* (1995) menyatakan bahwa waktu pendinginan yang lebih lama berperan pada proses rekristalisasi, semakin lama waktu pendinginan hasil kristal semakin besar. Berdasarkan hal tersebut peneliti tertarik untuk meneliti variasi lama waktu pendinginan pada proses rekristalisasi alfa mangostin. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh variasi lama pendinginan terhadap rendemen dan kemurnian alfa mangostin menggunakan kromatografi lapis tipis dan HPLC, sehingga dapat diketahui lama waktu pendinginan yang paling optimal untuk mendapatkan kristal alfa mangostin yang lebih banyak dan murni.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan di atas, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu :

1. Bagaimana pengaruh variasi lama waktu pendinginan terhadap rendemen dan kemurnian alfa mangostin dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.)?
2. Berapakah lama waktu pendinginan yang optimal untuk mendapatkan rendemen paling banyak dan kemurnian alfa mangostin yang paling tinggi?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan lama waktu pendinginan optimal yang menghasilkan rendemen paling banyak dan kemurnian alfa mangostin paling tinggi dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.).

D. Tinjauan Pustaka

1. Tumbuhan Manggis

a. Sistematika Tumbuhan

Kedudukan tanaman manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledonae
Ordo : Guttiferanaless

Familia : Guttiferae
Genus : *Garcinia*
Spesies : *Garcinia mangostana* Linn.

(Rukmana, 1995).

b. Kandungan Kimia

Kulit kayu, kulit buah, dan lateks kering *Garcinia mangostana* Linn. mengandung sejumlah zat warna kuning yang berasal dari dua metabolit yaitu mangostin dan beta mangostin yang berhasil diisolasi. Mangostin merupakan komponen utama sedangkan beta mangostin merupakan konstituen minor. Sudarsono dkk. (2007) menemukan metabolit baru yang diberi nama alfa mangostanin [1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-di(3-metil-2-butenil) xanton] dari kulit buah *Garcinia mangostana* Linn.

c. Khasiat dan Kegunaan

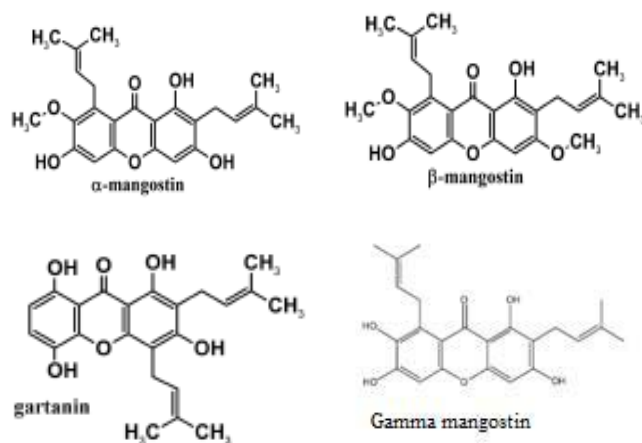
Kulit buah *Garcinia mangostana* Linn. oleh masyarakat biasanya digunakan untuk mengobati diare, disentri menahun, peradangan saluran kemih, pendarahan usus, obat cacing (Heyne, 1987).

2. Senyawa Alfa mangostin

Xanton merupakan metabolit sekunder biasanya terdapat pada beberapa famili tanaman tingkat tinggi, jamur dan lumut (Cardona *et al.*, 1990 cit Peres *et al.*, 2000). Xanton merupakan senyawa polifenol berupa cincin aromatik trisiklik yang disubstitusi dengan variasi dari isopren, fenolik dan metoksi yang paling banyak terdapat dalam manggis (Obolskiy *et al.*, 2009). Beberapa jenis xanton

antara lain alfa mangostin, beta mangostin, gartanin dan gamma mangostin (Gambar 1).

Alfa mangostin (Gambar 1) merupakan turunan xanton yang paling besar konsentrasinya dalam kulit buah manggis (Walker, 2007). Alfa mangostin merupakan suatu kristal amorf berwarna kuning yang memiliki titik lebur 180-182°C yang memberi serapan pada daerah UV pada panjang gelombang maksimum 215, 243, 317 nm (Ee *et al.*, 2006).



Gambar 1. Struktur kimia senyawa golongan xanton

Isolasi alfa mangostin dilakukan dengan ekstraksi menggunakan heksana dan proses pemurnian dengan rekristalisasi menggunakan metanol sebagai pelarut (Walker, 2007). Analisis kualitatif dengan kromatografi lapis tipis dan dideteksi dengan lampu UV dengan atau tanpa ammonia, atau menggunakan pereaksi semprot fenolik (Peres *et al.*, 2000). Analisis kuantitatif dengan HPLC (Walker, 2007).

3. Metode Penyarian

Ekstraksi atau penyarian adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa tersebut. Apabila senyawa aktif yang dikandung simplisia telah diketahui akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik atau optimal untuk senyawa aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lain. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah selektivitas, kemudahan bekerja dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, keamanan (Depkes, 2000).

Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi dan soxhletasi (Depkes, 1986), tetapi pada penelitian ini digunakan metode penyarian maserasi. Maserasi merupakan penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes, 1986). Remaserasi

berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes, 2000).

4. Rekrystalisasi

Ekstrak bahan alam merupakan campuran berbagai komponen, sehingga sulit untuk menemukan teknik pemisahan yang dapat menghasilkan isolat tunggal (Sarker *et al.*, 2006). Pemurnian kristal biasanya efektif dengan rekrystalisasi dari pelarut yang cocok atau campuran pelarut. Pemurnian dengan rekrystalisasi didasarkan pada perbedaan kelarutan solid pada solven. Proses kristalisasi terdiri dari :

- a. Melarutkan komponen solid dengan sedikit pelarut yang cocok (pelarut pada atau mendekati titik didih)
- b. Memisahkan material yang tidak larut dengan larutan panas
- c. Larutan panas didinginkan untuk mendesak kristal keluar
- d. Kristal yang mengendap dipisahkan dari larutan (Vogel, 1978).

5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Pengertian Umum

Kromatografi merupakan alat pemisahan yang berbeda dengan cara pemisahan yang berdasar kimia dan fisika atau pemisahan cair-cair. Pemisahan yang terjadi di kromatografi menggunakan dua fase yang tidak tercampur tetapi selalu dalam satu sistem yang bercampur, yang dinamakan fase gerak dan fase diam yang umumnya zat padat atau zat cair yang didukung oleh zat padat (Sumarno, 2001).

Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat dengan menggunakan zat penjerat berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca (Depkes, 1979). Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan maupun dari tanaman dan mikroorganisme. Alat ini merupakan alat yang mudah penggunaannya, murah dan selektif walaupun sekarang telah dikembangkan (Sumarno, 2001).

Beberapa keuntungan kromatografi lapis tipis yaitu :

- 1) Kromatografi lapis tipis banyak digunakan untuk tujuan analisis.
- 2) Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet.
- 3) Dapat dilakukan elusi secara menaik, menurun atau dengan cara elusi dua dimensi.
- 4) Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Fase Gerak

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multi komponen ini harus berupa campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (Stahl, 1985).

c. Fase Diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik pula efisiensi dan resolusinya. Penyerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme adsorpsi yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi (Gandjar dan Rohman, 2007). Menurut Sumarno (2001), fase diam dalam KLT berupa fase polar (fase normal) maupun fase non polar (fase terbalik). Fase normal adalah Silika Gel, merupakan silika yang dibebaskan dari air, bersifat sedikit asam, fase ini lebih banyak digunakan. Untuk memperkuat pelapisannya pada pendukung silika gel ditambah gips (Kalsium sulfat).

Jarak pengembangan senyawa kromatografi biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf.

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal (cm)}}{\text{Jarak dari garis depan dari titik awal (cm)}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua dimensi. hRf adalah angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100, harga hRf-lah yang dicantumkan untuk menunjukkan letak suatu senyawa pada kromatogram (Stahl, 1985).

6. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

a. Pengertian Umum

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau biasa dikenal dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang antara lain farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer dan industri-industri makanan.

Instrumentasi KCKT pada dasarnya terdiri dari delapan komponen pokok yaitu wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan suatu komputer atau integrator atau perekam (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Fase Gerak

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratik (komposisi fase gerak tetap selama elusi) atau dengan cara bergradien (komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi). Elusi bergradien digunakan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang luas. Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril.

Pemisahan yang umum biasanya menggunakan fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak) (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Fase Diam

Oktadesil silica (ODS atau C_{18}) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang maupun tinggi (Gandjar dan Rohman, 2007).

d. Detektor

Detektor pada KCKT dapat dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu: detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik dan tidak bersifat selektif) seperti detektor indeks bias dan spektrofotometri massa dan golongan detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi dan elektrokimia. Idealnya, suatu detektor harus mempunyai karakteristik sebagai berikut :

1. Mempunyai respon terhadap solut yang cepat dan reproduibel.
2. Mempunyai sensitivitas yang tinggi, yakni mampu mendeteksi solut pada kadar yang sangat kecil.
3. Stabil dalam pengoperasian.
4. Tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak.

Detektor spektrofotometer UV-Vis merupakan detektor yang paling banyak digunakan dan sangat berguna untuk analisis di bidang farmasi karena kebanyakan senyawa mempunyai struktur yang dapat menyerap sinar UV-Vis. Detektor ini didasarkan pada adanya penyerapan radiasi ultraviolet dan sinar

tampak pada kisaran panjang gelombang 190-800 nm oleh spesies solut yang mempunyai struktur-struktur atau gugus-gugus kromoforik (Gandjar dan Rohman, 2007).

E. Landasan teori

Kandungan utama kulit buah manggis adalah golongan xanton, yang mempunyai efek antiinflamasi, antibakteri, dan antikanker. Xanton yang terdapat dalam kulit buah manggis adalah alfa mangostin, beta mangostin, gamma mangostin, dan methoxy- β -mangostin (Akao *et al.*, 2008). Senyawa yang diisolasi adalah alfa mangostin, karena merupakan senyawa yang konsentrasinya paling besar pada kulit buah manggis (Walker, 2007) dan memiliki efek farmakologi yang besar. Alfa mangostin mampu menghambat pertumbuhan sel kanker usus besar DLD-1 pada manusia dengan nilai IC_{50} 7,5 μ M (Akao *et al.*, 2008). Alfa mangostin dapat diisolasi dari kulit buah manggis dengan cara maserasi menggunakan heksana, kemudian ekstrak kering heksana dilarutkan kembali dalam metanol, proses rekristalisasi dilakukan dengan penambahan air dan pendinginan selama 24 jam sehingga terbentuk suatu kristal alfa mangostin yang berwarna kuning (Walker, 2007). Proses pemurnian dengan rekristalisasi pada umumnya dilakukan dengan melarutkan sampel dalam solven hangat kemudian didinginkan untuk mendesak kristal keluar (Vogel, 1978). Tong *et al.* (1995) menyatakan bahwa waktu pendinginan yang lebih lama berperan pada proses rekristalisasi, semakin lama waktu pendinginan hasil kristal semakin besar. Berdasarkan hal tersebut, diharapkan apabila dilakukan variasi pada lama waktu

pendinginan akan berpengaruh terhadap hasil kristal yang meliputi rendemen dan kemurniannya.

F. Hipotesis

Pendinginan pada waktu tertentu menghasilkan rendemen alfa mangostin yang paling banyak dan kemurniannya paling tinggi.