SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI TUMBUHAN *GARCINIA PARVIFOLIA*. MIQ

Dachriyanus[1], Meilia Izati[2], dan Rizal Fahmi[2]
[1]Jurusan Farmasi, FMIPA Universitas Andalas, Padang
Alamat korespondensi : dachriyanus@telkom.net
[2]Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas, Padang

INTISARI

Xanthone antioksidan telah diisolasi dari fraksi aktif antioksida dari kulit batang *Garcinia parvifolia* Mig dengan metoda kromatografi. Senyawa ini telah dielusidasi sebagai α-mangostine berdasarkan sifat spektrumnya. Senyawa ini mempunyai sifat penangkap antiradikal yang signifikan dengan metoda DPPH.

ABSTRACT

Antioxidant xanthone was isolated from the antioxidant active fraction of the steam bark of *Garcinia parvifolia* Mig by chromatographic method. This compound wes was elucidated as α-mangostine based on its spectral data properties. The isolated compound had a significant antiradical scanveging activity by DPPH method.

PENDAHULUAN

Genus *Garcinia* (*Guttiferae*) merupakan tumbuhan buah yang kaya dengan *isoprenylated xanthones* dan *biflavonoid*[1-2]. Beberapa spesies dari genus ini digunakan sebagai obat tradisional diantaranya obat asma, diare, dan hepatitis[3]. Ekstrak dan senyawa murni hasil isolasi dari genus ini menunjukkan aktifitas antimikroba dan beberapa aktifitas farmakologi, diantaranya antimikroba, antioksidan, anti tumor dan sitotoksik.[4]

Dari penelusuran literatur tentang *Garcinia parvifolia*. Miq telah diisolasi beberapa senyawa golongan xanthon, diantaranya *griffipavixanthone*[1], *parvixanthone A-F*[5], *rubraxanthone*[6] dan beberapa golongan senyawa golongan depside, yaitu *garcidepsidone A-D* [7], tetapi belum ada laporan tentang aktifitas biologis dari ekstraknya. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktifitas biologis, dalam hal ini sifat antioksidan dan senyawa-senyawa kimia yang bertanggungjawab terhadap aktifitas ini.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain adalah : rotary evaporator, lampu UV_{254} nm, kolom kromatografi berbagai ukuran, kromatografi radial model 7024 T USA, Spektroskopi UV_{vis}-1601 SHIMADZU, spektronik 20D, spektroskopi IR didalam plat KBr dengan menggunakan FT-IR Perkin Elmer FTIR System, Proton NMR dilakukan didalam pelarut terdeuterasi yang sesuai memakai Spektrometer Varian Unity Inova pada 500 MHz, Karbon-13 NMR dilakukan dengan alat yang sama pada frekuensi 125 MHz. Analisa spektrum dibantu dengan teknik DEPT (Distortion enhancement polarization transfer, COSY (Corelation spektroskopi), Heteronuclear Singlet Quantum Corelation (HSQC), Hetero Multibond Corelation (HMBC) Spektroskopi Massa dengan metoda Elektron Impact dengan energi ionisasi pada 70 eV dan Fisher-Jhon Point Aparatus.

Bahan yang digunakan pada pengerjaan isolasi adalah sampel kering kulit batang tumbuhan *Garcinia parvifolia*. Miq , air suling, metanol, etil asetat, n-heksana, natrium sulfat, Silika gel 60 PF_{254} , Silika gel 60, larutan DPPH *(1,1-difenil-1-pikril hidrazin), Asam askorbat, a-tokoferol.*

Eksperimental

Sampel diambil pada tanggal 28 April 2002, di daerah Sarasah Bonta Harau Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat, Indonesia. Identifikasi dilakukan di Herbarium Bogoriense Bogor dengan nomor koleksi DR 182

Kulit batang (kering) *Garcinia parvifolia*. Miq dirajang halus sebanyak 4 kg dan dimaserasi dengan metanol 5 x 7,5 liter masing-masing selama 5 hari. Ekstrak metanol yang didapat diuapkan pelarutnya *in vacuo* sehingga diperoleh 1000 ml (424,4 g) ekstrak kental metanol.

Ekstrak kental metanol ditambah aquadest, lalu difraksinasi dengan pelarut n-heksana 7 x 800 ml sehingga diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi n-heksana dan fraksi metanol-air. Fraksi n-heksana dipekatkan dengan *rotary evaporator* didapatkan ekstrak kental fraksi n-heksana sebanyak 23,827 gram. Fraksi metanol-air selanjutnya di fraksinasi dengan pelarut etil asetat 7 x 800 ml sehingga diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan didapatkan fraksi kental etil asetat sebanyak 105 g.

Fraksi etil asetat seberat 40 g di kromatografi kolom dengan menggunakan silica gel 60 (230 – 400 mesh) dengan menggunakan fasa gerak n-heksana, etil asetat dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap. Fraksi yang keluar ditampung dengan botol dan dimonitor dengan KLT dan penampak noda lampu UV$_{254}$ nm. Fraksi dengan pola noda sama di gabung, kemudian pemisahan dilanjutkan dengan menggunakan kromatotron dengan memakai kloroform sebagai eluent sehingga didapat senyawa Y sebanyak 0,044 gram kristal jarum berwarna kuning muda dengan titik leleh 181-183°C (dari etil asetat-heksan); λ_{maks}/nm (MeOH) 317 dan 244 nm; ν_{maks}/cm^{-1} (KBr) 3401, 2923, 1607 dan 1280 cm^{-1}; ^{1}H NMR (500 MHz, d6-Acetone) δ 13.81 (1H, s, 1-OH), 9.60(2H, brs, 3- dan 6-OH), 6.83 (1H, s, 5-H), 6.41 (1H, s, 4-H), 5.30 (2H, brt, $J_{2'}$ 7.5, 2'-H), 4.15 (2H, d, $J_{1'2'}$ 6.5, 1'-H) 3.81 (3H, s, 7-OMe), 3.37 (2H, d, $J_{1'2'}$ 7.0, 1'-H) 1.85 (3H, brs, 4'-H), 1.81 (3H, brs, 5'-H), 1.77 (3H, brs, 4"-H), 1.67 (3H, brs, 4'-H) ppm. ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 17.29 (C-5'), 17.67 (C-4"), 21.35 (C-2'), 25.29 (C-5"), 25.32, 26.25 (C-1"), 60.70 (7-OMe), 92.51 (C-4), 102.07 (C-5), 102.31 (C-9a), 110.39 (C-2), 111.32 (C-8a), 122.85 (C-2'), 124.16 (C-2"), 130.75 (C-3"), 137.45 (C-8), 143.79 (C-7), 155.05 (C-4a), 155.56 (C-10a), 156.74 (C-6), 161.05 (C-3), 162.31 (C-1), 182.18 (C-9) ppm; EIMS m/z 410[M]$^+$ (14 %), 395 [M - 15]$^+$ (11%), 367 [M – 43]$^+$ (11%), 354 [M – 56]$^+$ (33%), 339 [M – 71]$^+$(100%).

Uji antioksidan dilakukan terhadap ekstrak, fraksi dan senyawa murni hasil isolasi

Uji Aktifitas Antioksidan

Pada ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dilakukan uji aktifitas anticksidan dengan metoda DPPH. Sebagai standarnya digunakan α-tokoferol dan asam askorbat.

Sampel uji ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi sampel uji 10 mg/10 ml. Untuk larutan standar juga dilakukan perlakukan yang sama. Masing-masing larutan di tempatkan pada botol vial gelap.

Sebanyak 2 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 ml sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,05 mM. Sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM dipipet kedalam cuvet dan ditambahkan 0,2 ml metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan larutan diukur dengan spektrofotometer jenis spektronik 20D pada panjang gelombang 517 nm.

HASIL DAN DISKUSI

Seperti yang terlihat pada Tabel 1, hasil perhitungan % inhibisi masing-masing sampel fraksi diketahui bahwa nilai % inhibisi fraksi etil asetat lebih tinggi dari fraksi metanol dan fraksi n-heksana. Bila dibandingkan dengan zat standar *Asam askorbat* maka % inhibisi fraksi etil asetat lebih kecil 30 %. Tetapi % inhibisi fraksi etil asetat hampir sama dengan % inhibisi zat standar *α-tokoferol*, yaitu sekitar 62 %. Hal ini menunjukkan bahwa pada fraksi etil asetat terkandung senyawa yang potensial sebagai antioksidan.

Tabel 1 . Hasil Uji Aktifitas Anticksidan Fraksi dan Senyawa Hasil Isolasi dari *Garcinia parvifolia*. Miq Dengan Metoda DPPH.

No	Z a t	% Inhibisi
1.	Ekstrak Metanol	58,44 %
2.	Fraksi n-Heksana	32,75 %
3.	Fraksi Etil asetat	62,29 %
4.	α-Tokoferol	62,94 %
5.	Asam askorbat	96,14 %
6.	Senyawa X	3,38 %
7.	Senyawa Y	52,15 %
8.	Senyawa Z	26,46 %

Pengukuran dilakukan dengan pelarut metanol pada λ maksimum 517 nm

Spektroskopi Massa senyawa Y menunjukkan ion molekul *m/z* 410 yang sesuai dengan rumus molekul $C_{24}H_{26}O_6$.

Spektroskopi inframerah senyawa Y memperlihatkan beberapa serapan gugus yang penting, diantaranya regangan OH yang berikatan hidrogen pada bilangan gelombang 3401 cm^{-1}, CH alifatis pada 2923 cm^{-1}, gugus karbonil pada bilangan gelombang 1607 cm^{-1} dan gugus C-C-C pada 1280 cm^{-1}.[3]

Pemeriksaan ^{13}C NMR memperlihatkan adanya 26 atom karbon dan dengan DEPT

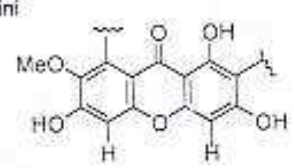
diketahui adanya 5 karbon primer, 2 karbon sekunder 4 karbon tersier dan 13 karbon kuarterner.

Pemeriksaan terhadap spektroskopi ^{1}H NMR memperlihatkan adanya sinyal singlet proton pada pergeseran kimia 13,81 ppm yang di indikasikan berasal dari proton gugus hidroksi yang berikatan hidrogen dengan atom oksigen dari gugus karbonil yang posisinya *peri* terhadap gugus hidroksi tersebut. Hal ini diperkuat dengan munculnya sinyal karbonil pada karbon NMR di δ_C 182.18 ppm. Sinyal ini khas untuk inti xanthon, dimana inti ini memiliki jumlah karbon 13. Kelompok sinyal inti xanthon pada karbon NMR muncul pada δ_C 162.31 ; 110.39 ; 161.05 ; 92.51 ; 155.05 ; 102.07 ; 156.74 ; 143.79 ; 137.45 ; 111.32 ; 182.18 ; 102.31 dan 155.56 ppm.

Didaerah δ_H 9.60 ppm terlihat sinyal singlet melebar yang diduga berasal dari 2 gugus hidroksi yang memiliki lingkungan kimia yang sama, yaitu tersubstitusi pada C_3 dan C_6.

Didaerah aromatik terlihat ada 2 kelompok sinyal. Sinyal singlet proton pada δ_H 6.83 ppm dan δ_H 6.41 ppm diduga berasal dari proton C_4 dan C_5 yang letaknya tidak berdekatan karena tidak adanya kopling orto, meta maupun para. Pada posisi C_2 , C_7 dan C_8 juga tidak ada kopling orto, meta maupun para sehingga diduga tidak ada substitusi proton di posisi tersebut.

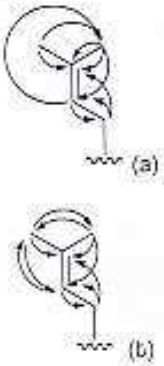
Sinyal singlet lain muncul di daerah δ_H 3.81 ppm dengan integrasi 3 proton diduga berasal dari proton metil yang mengalami pergeseran kearah downfield akibat berikatan dengan atom oksigen membentuk suatu metoksi dan diduga tersubstitusi pada C_7. Diduga senyawa ini memiliki pola substitusi seperti dibawah ini



Gambar 1. Pola substitusi senyawa Y

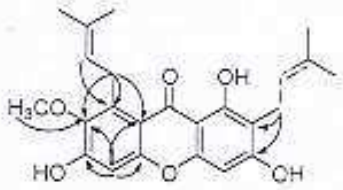
Pada daerah sekitar 1.6 ppm – 5.3 ppm terlihat 2 kelompok sinyal yang diduga berasal dari 2 substituen prenil. Sinyal proton yang menunjukkan prenil pertama muncul pada daerah δ_H 1.67 ppm , 1.81 ppm , 3.37 ppm , dan 5.03 ppm. Sinyal pada daerah δ_H 1.67 ppm dan 1.81 ppm dengan integrasi 3 proton merupakan sinyal khas dari proton metil yang terletak pada ujung prenil, yaitu $C_{4'}$ dan $C_{5'}$. Sinyal triplet proton pada δ_H 5.30 ppm merupakan sinyal khas dari proton metin dimana dari COSY diketahui bahwa proton tersebut berdekatan dengan proton metilen pada δ_H 3.37 ppm pada prenil pertama dan δ_H 4.15 ppm pada prenil kedua. Kelompok sinyal prenil pertama ini diperkuat oleh sinyal dari karbon NMR yang muncul pada pergeseran kimia 21.35 ; 122.85 ; 130.75 ; 25.29 dan 17.29 ppm. Sinyal proton yang menunjukkan prenil kedua muncul pada δ_H 1.67 ppm, 1.85 ppm , 4.15 ppm dan 5.03 ppm. Sinyal pada δ_H 1.67 ppm dan 1.85 ppm dengan integrasi 3 proton merupakan sinyal khas dari proton metil pada ujung prenil, yaitu $C_{4''}$ dan $C_{5''}$. Kelompok sinyal prenil kedua ini diperkuat oleh sinyal dari karbon NMR yang muncul pada pergeseran kimia 26.25 ; 124.16 ; 130.75 ; 25.29 dan 17.67 ppm. Posisi melekatnya masing-masing proton pada karbon dapat diketahui dari spektrum HSQC.

Elusidasi struktur ini juga didukung oleh spktrum HMBC yang memperlihatkan hubungan antara proton dengan karbon tetangganya, yaitu sebagai berikut :



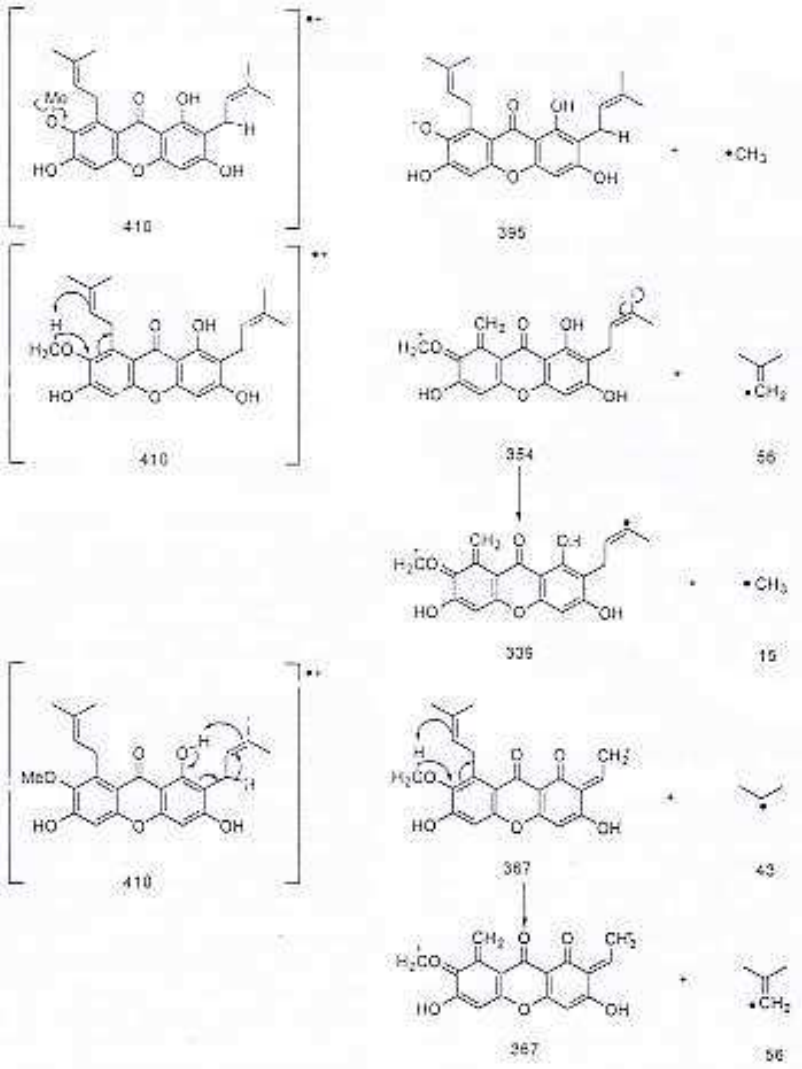
Gambar 2. (a). HMBC prenil I, (b). HMBC prenil II

Pemeriksaan spektrum HMBC menunjukkan bahwa proton metilen (δ_H 3.37 ppm) yang terkopling meta pada prenil pertama memiliki hubungan dengan karbon pada C_2 (δ_C 110.39 ppm) yang berjarak 2 ikatan. Sehingga diduga bahwa prenil pertama tersubstitusi pada C_2 cincin A, hal ini juga diperkuat dengan adanya hubungan 3 ikatan dengan karbon pada δ_C 162.31 ppm (C_1) dan δ_C 161.05 ppm (C_3). Proton metilen (δ_H 4.15 ppm) yang terkopling meta pada prenil kedua menunjukkan hubungan 2 ikatan dengan karbon C_8 (δ_C 137.45 ppm) pada cincin B. Sehingga diduga bahwa prenil kedua tersubstirusi pada C_8, hal ini dikperkuat juga dengan adanya hubungan 3 ikatan antara proton metilen dengan karbon C_7 (δ_C 143.79 ppm) dan karbon C_{8a} (δ_C 111.32 ppm). Proton metil dari gugus metoksi memiliki hubungan 3 ikatan dengan karbon pada δ_C 143.79 ppm (C_7), sehingga diduga gugus metoksi ini tersubstitusi pada C_7. Berikut hubungan antara proton dengan karbon tetangganya yang berjarak 2 atau 3 ikatan dari spektrum HMBC senyawa Y :



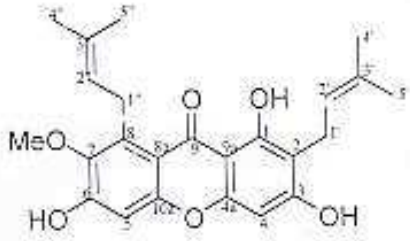
Gambar 3. Korelasi HMBC senyawa Y

Dari pemeriksaan spektrum massa terlihat fragmen-fragmen yang lepas dari senyawa Y. Ion molekul m/z 395 mengindikasikan lepasnya fragmen dengan m/z 15 yang merupakan fragmen dari gugus metil pada metoksi. Ion molekul dengan m/z 367 mengindikasikan lepasnya fragmen dengn m/z 43 yang merupakan fragmen CH_3CHCH_3 dari gugus prenil yang berdekatan dengan gugus metoksi.[9] Sedangkan ion molekul dengan m/z 354 menunjukkan lepasnya fragmen $CH_3C(CH_2)CH_3$ dengan m/z 56 yang berasal dari gugus prenil yang berdekatan dengan gugus hidroksi.[9] Ion molekul dengan m/z 339 menunjukkan lepasnya fragmen metil dari prenil yang berdekatan dengan gugus hidroksi dan $CH_3C(CH_2)CH_3$ dari prenil yang lepas secara bersamaan. Sedangkan ion molekul dengan m/z 311 menunjukkan lepasnya fragmen CH_3CHCH_3 dan fragmen $CH_3C(CH_2)CH_3$ secara bersamaan.



Gambar 4. Fragmentasi senyawa Y

Dari perbandingan data spektroskopi senyawa Y dengan literatur[10], diketahui bahwa senyawa Y merupakan senyawa *mangostin* dengan struktur sebagai berikut :



Gambar 5. α-Mangostin

Pengujian aktifitas antioksidan terhadap senyawa hasil isolasi terlihat bahwa mangostin memperlihatkan % inhibisi sebesar Y 52,15 %. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya gugus prenil yang terletak pada posisi 2 sehingga dapat membantu menstabilkan radikal yang terbentuk karena adanya DPPH.

Ucapan terimakasih

Kami mengucapkan terimakasih kepada Drs. Rusjdi Tamin untuk mengidentifikasi sample. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Prof. N.H Lajis atas izin pemakaian fasilitas pengukuran spektroskopi serta pengenalan metoda antioksidan serta pemberian reagensia dibawah progam kerjasama Laboratorium Penelitian Farmasi Universitas Andalas Padang dengan Laboratory of Phytomedicine, Institute of Bioscience, University Putra Malaysia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Y.J. Xu, S.G. Cao, X.H. Wu, Y.H. Lai, B.H.K. Tan, J.T. Pereira, S.H. Goh, G. Venkatraman, L.J. Harrison and K.Y. Sim, Griffipavixanthone, a Novel Cytotoxic Bixanthone from *Garcinia griffithii* and *G. pavifolia*, *Tetrahedron Letters*, 39(49) : 9103-9106, (1998).
2. Y.M. Lin, M.T. Flavin, Schure R., Chen F. C., Sidwell R., Barnard D. L., Huffman J. H., Kern E. R., Antiviral activities of bifiavonoids, *Planta Med.*, 65(2) : 120-125, (1999).
3. V.B. Braide, Antispasmodic extracts from seeds of *Garcinia Kola*", *Fitoterapia*, 60 (2) : 123-129, (1989).
4. M.M. Mackeen, A.M. Ali, N.H. Lajis, K. Kawazu, Z. Hassan, M. Amran, M. Habsah, L.Y. Mooi, S.M. Mohamed, Antimicrobial, antioxidant, antitumour-promoting and cytotoxic activities of different plant part extracts of *Garcinia atroviridis* Griff, *Journal of Ethnopharmacology*, 72 : 395-402, (2000).
5. Y.J. Xu, Lai H. HY., Z. Imiyabir, S.H. Goh, Xanthones from *Garcinia parvifolia*, *J. Nat Prod*, 64 : 1191-1195, (2001).
6. Pattalung, P.Na., Wiriyachitra, P., Ongsakul, M., The antimicrobial Activities of *Rubraxanthone* Isolated from *Garcinia Parvifolia (Miq.)*, *J. Sci. Soc. Thailand*, 14 : 67-71, (1988).
7. Xu Y.J., China G.P.Y., Lai Y.H., Vittal J.J., Wu X.H., Tan B.K.H., Imiyabir Z., Goh S.H., Cytotoxic prenylated depsidones from *Garcinia pervifolia*, *J. Nat. Prod.*, 63(10) : 1361-1363, (2000).
8. Bennet, G. J., and H. H. Lee, "Xanthones from Guttiferae", *Phytochemistry*, 28(4) : 967-998, (1989).
9. Stout, G.H., Krahn, Yates, P. and Bhat, H.B., The Structure of Mangostine, *Chemical Communication*, 211-212, (1968).
10. Mahabusarakam. W., Wiriyachitra. P., Chemical constituents of *Garcinia Mangostana*, *J. Nat. Prod.*, 55(3) : 474 – 478, (1987).