



## Isolasi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Aseton Daun *Garcinia lateriflora* Blume

### (Isolation and Identification of Bioactive Compound of Aceton Extract *Garcinia lateriflora* Blume Leaf)

SRI HARTATI<sup>1\*</sup>, DEDE RAHMAWATI<sup>2</sup>, SUJASWADI WIRYOWIDAGDO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Kimia – LIPI, Kawasan Puspiptek SERPONG

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Pancasila JAKARTA

Diterima 4 April 2011, Disetujui 13 Juni 2011

**Abstrak:** Studi pendahuluan mencakup skrining fitokimia, uji toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dan sel lestari murine P388 telah dilakukan terhadap ekstrak aseton daun *Garcinia lateriflora* Blume. Isolat yang menunjukkan efek mortalitas paling tinggi dilakukan fraksinasi, isolasi dan pemurnian. Penentuan struktur kimia senyawa aktif dilakukan dengan menganalisis spektrum IR, GC-MS (*Gas Chromatography mass spectrometer*) dan spektrometer resonansi magnetik inti proton (<sup>1</sup>H-RMI) dan inti karbon (<sup>13</sup>C-RMI). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat paling aktif terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan nilai LC<sub>50</sub> 18.03 ug/mL adalah β-asaron, IC<sub>50</sub> hasil uji terhadap sel lestari murine P-388 adalah 47.0 ug/mL. Senyawa ini pertama kali diisolasi dari tumbuhan *Garcinia lateriflora* BL.

**Kata kunci:** *Garcinia lateriflora* BL., asaron, murine P388, *Artemia salina* L.

**Abstract:** Preliminary studies have been carried out phytochemical test acetone leaf extract *Garcinia lateriflora* Blume., and toxicity test against shrimp larvae (*Artemia salina* Leach) and murine cell line P388. Isolates which showed the highest mortality are proceeded further for fractionation, isolation and purification. The structure identification of active compound carried out by analyzing the spectrum of IR, GC-MS (Gas chromatography mass spectrometer) and proton nuclear magnetic resonance spectrometer (<sup>1</sup>H-NMR) and (<sup>13</sup>C-NMR). The results showed that the most active against the larval shrimp *Artemia salina* L. with LC<sub>50</sub> value of 18.03 ug/mL is β-asaron, IC<sub>50</sub> of test results on cell line murine P-388 is 47.0 ug/mL. This compound was isolated first time from the plant *Garcinia lateriflora* BL.

**Keywords:** *Garcinia lateriflora* BL., asaron, murine P388, *Artemia salina* L.

#### PENDAHULUAN

GENUS *Garcinia* merupakan tumbuhan tropis yang termasuk dalam familia *Guttiferae* (*Cluceaceae*) yang terdiri dari 35 genera dan 400 species<sup>(1)</sup>, tumbuh di Mexico, India, Afrika, Filipina dan Malaysia. Tumbuhan tersebut juga banyak tersebar di Indonesia dan umumnya terkenal sebagai tumbuhan manggis-manggis. Beberapa dari famili ini dikenal sebagai obat tradisional, misalnya akar dari *G. picorriza* Meg. dan *G. atroviridis* sebagai obat penurun demam, jus

daunnya diberikan pada wanita yang habis bersalin<sup>(2)</sup> *G. mangostana* buahnya sebagai obat antiinflamasi dan obat diare<sup>(3)</sup>, *G. cowa* digunakan sebagai antipiretik<sup>(4)</sup>, *G. dulcis* digunakan sebagai obat tradisional untuk lymphatitis, struma, parolitis dll.<sup>(5)</sup>. Ekstrak kulit batang *G. cambogia* digunakan sebagai antiobesitas berdasarkan efeknya sebagai inhibitor lipogenesis<sup>(6)</sup>.

Secara umum kandungan kimia dari tumbuhan familia *Garcinia* ini adalah senyawa xanton dengan berbagai turunannya. Beberapa xanton yang ditemukan, di antaranya memiliki sifat aktif biologis, misalnya xantonoida terpoliprenilasi dari *G. gaudichaudii* bersifat sitotoksik terhadap beberapa jaringan sel kanker<sup>(7)</sup>. Mangostin dari *G. mangostana*<sup>(8)</sup> dan empat xanton dari *G.*

\* Penulis korespondensi, Hp. 08129294477  
e-mail: elzariana@yahoo.com



*subleptica*<sup>(9)</sup>, mempunyai efek antioksidan. Xantonoida lain dari *G. mangostana* mempunyai efek antibakteri<sup>(5)</sup>,  $\gamma$ -mangostin sebagai anti HIV-1<sup>(10)</sup>, senyawa 1,4,5-trihidroksi-2 (1,1 dimetil alil) xanton ditemukan dalam *G. gerrardii*, sebagai fungisidal terhadap *Clasdoforium cucumerium*<sup>(10)</sup>. Dalam studi pendahuluan telah dilakukan uji fitokimia ekstrak aseton daun *Garcinia lateriflora* B. dan uji toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) serta sel lestari murine P388.

## BAHAN DAN METODE

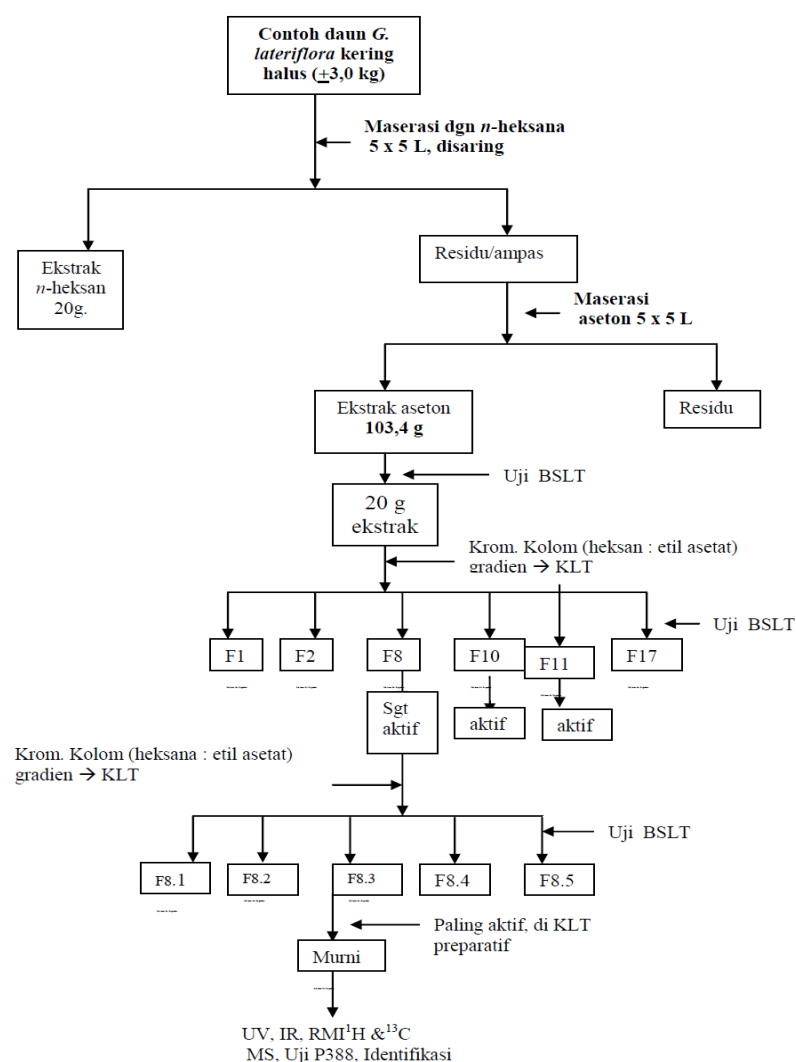
**BAHAN.** Simplisia daun *G. lateriflora* BL. diambil dari Kebun Raya Bogor, spesimen dan diterminasi tumbuhan dilakukan di Puslit Biologi Bogor.

Bahan kimia yang digunakan adalah *n*-heksana, aseton, etil asetat, metanol, eter, diklorometan, kualitas teknis yang telah didestilasi. asam sulfat 10% dalam metanol, silika gel GF<sub>254</sub> untuk kromatografi lapis tipis (KLT), silika gel G<sub>60</sub> 70-230 mess untuk kromatografi kolom (produk E. Merck 1.07734), untuk kromatografi

lapis tipis (KLT) dipergunakan lempeng silika gel GF<sub>254</sub> siap pakai dari produk E. Merck 05554, larutan FeCl<sub>3</sub>, Pereaksi Mayer, pereaksi Liberman Burchard, pereaksi Dragendorf, pereaksi Stiasny, ammonia 10%, NaOH, serbuk magnesium, formaldehid, larva udang *Artemia salina* Leach.

**Alat.** Spektrofotometer Ultra Violet Merk Hewlett Packard (HP) 8453 spektrofotometer infra merah (Szimadzu), kromatografi gas spektrofotometer-massa (GC-MS) dan spektrometer resonansi magnetic inti proton (Jeol JNM-ECA 500 MHz), spektrofotometer IR Shimadzu IR Prestige 21.

**METODE. Isolasi.** Sejumlah kurang lebih 3.0 kg residu simplisia kering daun *G. lateriflora* sisa ekstraksi dengan *n*-heksana, diekstraksi kembali dengan cara perkolasi menggunakan aseton selama 5 x 48 jam, filtrat disaring. Filtrat yang dikumpulkan dipekatkan dengan vacum rotary eveporator pada suhu kurang lebih 50 °C, sehingga diperoleh ekstrak kental aseton seberat 103.4 g. Cara isolasi dapat dilihat pada diagram isolasi Gambar 1.



**Gambar 1 . Diagram pemisahan dan pemurnian senyawa yang terkandung dalam ekstrak aseton hasil fraksinasi *G. lateriflora* BL.**

**Penapisan Ekstrak.** Penapisan fitokimia terhadap ekstrak aseton daun *G. lateriflora* dilakukan dengan cara modifikasi Farnsworth (1996)<sup>(11)</sup>.

Uji Bioaktivitas. Uji toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan dengan metoda Meyer<sup>(12)</sup>. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai  $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ <sup>(12,13)</sup>.

Larva udang yang hidup sebanyak 10-15 ekor dimasukkan ke dalam vial uji yang berisi 100  $\mu\text{L}$  air laut (diambil dari laut pantai anyer sekitar 3 km dari pantai), tambahkan larutan contoh yang akan diuji masing-masing 10, 100, 500 dan 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Larutan diaduk sampai homogen, untuk setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan. Sebagai kontrol dilakukan dengan tidak menambahkan sampel, kemudian didiamkan selama 24 jam, selanjutnya dihitung jumlah larva udang yang mati dan yang masih hidup. Kemudian dihitung tingkat kematiannya atau mortalitas dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah larva udang.

Dibuat grafik antara log konsentrasi terhadap mortalitas. Nilai  $LC_{50}$  didapat dengan cara menarik garis pada nilai 50% dari sumbu mortalitas sampai memotong sumbu grafik, perpotongan garis ditarik ke garis konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50 % larva yang disebut  $LC_{50}$ . Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai  $LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ <sup>(12,13)</sup>.

**Uji Aktivitas sel murine P-388.** Uji aktivitas terhadap sel murine P388 dilakukan dengan metoda MTT Hakim E.H<sup>(14)</sup>. Sel P388 diperoleh dari Japan Foundation dan dibiakkan dalam medium RPM-I1640 yang diberi *Fetal Bovine Serum* (FBS) sebanyak 5 % dan kanamisin (100  $\mu\text{g/mL}$ ). Menurut Collegate<sup>(15)</sup> dan Ito<sup>(16)</sup>, hasil uji dinyatakan bahwa senyawa sangat aktif (++) bila memiliki nilai  $IC_{50} < 10 \mu\text{M}$ , aktif (+) 10–20  $\mu\text{M}$  dan tidak aktif jika nilai  $IC_{50} > 20 \mu\text{M}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penapisan fitokimia pendahuluan dapat ditunjukkan bahwa ekstrak aseton *G. lateriflora* terdapat senyawa-senyawa, saponin, tannin, steroid dan minyak atsiri, yang mana hasil awal tersebut perlu divalidasi lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa aktif secara lebih definitif (Tabel 1).

Dari hasil pengujian terhadap ekstrak awal dan fraksi-fraksi hasil kolom kromatografi ekstrak aseton *G. lateriflora*, bahwa ekstrak awal dan fraksi 10 menunjukkan aktivitas dengan  $LC_{50}$  masing 12.22  $\mu\text{g/mL}$  dan 29.10  $\mu\text{g/mL}$  yang dinyatakan cukup aktif. Sedangkan fraksi 8, 11, 8.3, dan 8.4 menunjukkan aktivitas yang sangat kuat dengan  $LC_{50}$  berturut-turut 1.30, 1.30, 0.18, dan 0.33  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil pengujian BSLT tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 1. Hasil uji fitokimia awal ekstrak aseton *G. lateriflora*.**

No.	Golongan Senyawa	Hasil pengamatan
1	Alkaoid	-
2	Flavonoid	-
3	Saponin	+
4	Tanin	+
5	Kuinon	-
6	Steroid	+
7	Minyak atsiri	+
8	Kumarin	-

**Tabel 2. Hasil Uji BSLT terhadap fraksi-fraksi ekstrak aseton *G. lateriflora*.**

No.	Sampel	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Keterangan
1	Ekstrak awal	12.22	Aktif
2	F8	1.30	Sangat aktif
3	F10	29.10	Aktif
4	F11	1.30	Sangat aktif
5	F8.3	0.18	Sangat aktif
6	F8.4	0.33	Sangat aktif

Dari hasil pengujian secara metoda BSLT tersebut diatas adalah fraksi F8.3 paling aktif, karena jumlah fraksinya sangat sedikit (17 mg) dan jarak antar noda di kromatografi lapis tipis sangat dekat maka dilakukan pemisahan secara kromatografi *preparative* dengan eluen *n*-heksana : kloroform (1 : 1) diperoleh senyawa A, B dan C berat masing-masing 1.7, 15.2 dan 1.5 mg. Selanjutnya terhadap senyawa B, dilakukan uji dan analisa lebih lanjut, sedangkan senyawa A dan C karena jumlahnya sangat sedikit tidak memungkinkan untuk analisa lanjutan. Hasil uji senyawa murni B terhadap uji BSLT menunjukkan aktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan nilai  $LC_{50}$  18.03  $\mu\text{g/mL}$  dan  $IC_{50}$  hasil uji terhadap sel lestari murine P-388 adalah 47.0  $\mu\text{g/mL}$ .

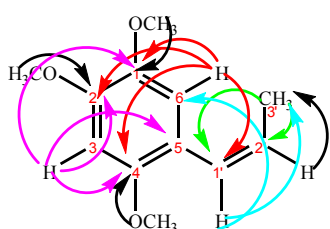
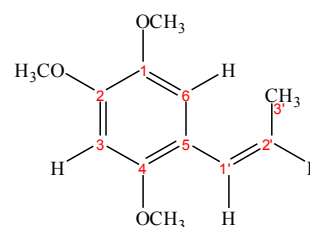
Hasil analisis spektroskopi senyawa B. Dari hasil analisis spektrum FT-IR, adanya serapan pada bilangan gelombang ( $\nu$ ) pada 2999.5, 2933.7, 2855.7  $\text{cm}^{-1}$ , menunjukkan adanya vibrasi ulur dari gugus C-H aromatis dan  $\text{CH}_2$ ;  $\text{CH}_3$  alifatik. Adanya ikatan C-O ditunjukkan pada puncak spektrum serapan yang tajam pada bilangan gelombang 1232 dan 1216  $\text{cm}^{-1}$ .

Dari hasil analisis RMI proton ( $^1\text{H}$ ) 500 MHz dan inti karbon ( $^{13}\text{C}$ ) dalam pelarut  $\text{CDCl}_3$  125 MHz yang ditampilkan pada Tabel 3 menunjukkan adanya gugus metil ( $d, d J = 1.85; 1.85 \text{ Hz}, 3\text{H}$ ) pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) proton 1.84 ppm dengan pasangan karbon pada 14.78 ppm. Adanya 3 gugus metoksi ( $-\text{OCH}_3$ ) ditunjukkan pada  $\delta$   $^1\text{H}$  3.81, 3.84, dan 3.91 ppm,  $\delta$   $^{13}\text{C}$  pada 56.21, 56.59, dan 5.75 ppm. Adanya proton aromatis ditunjukkan pada  $\delta$   $^1\text{H}$  6.84 ppm (s) dan 6.54 ppm (s) dengan pasangan karbon pada  $\delta$   $^{13}\text{C}$  11.27 ppm dan 97.23 ppm. Dari hasil pengamatan HMBC (Tabel 3, Gambar 2) memperlihatkan adanya korelasi

**Tabel 3 .Hasil pengukuran  $^1\text{H}$ -RMI dan inti karbon  $^{13}\text{C}$ -RMI, HMQC dan HMBC dalam pelarut  $\text{CdCl}_2$ .**

No	$\delta$ ppm ( $^1\text{H}$ -RMI)	$\delta$ ppm $^{13}\text{C}$ -RMI & APT	HMQC	HMBC
1	1.84, <i>d,d J</i> = 1,85;1,85, 3H	14.78 : $\text{CH}_3$	1.84	124.91;125.95
2	3.81 ; <i>s</i> , 3 H	56.21 : $\text{OCH}_3$	3.81	15.64
3	3.84; <i>s</i> ; 3 H	56.59; $\text{OCH}_3$	3.84	142.53
4	3.91; <i>s</i> ; 3H	56.75; $\text{OCH}_3$	3.91	14.,67
5	5.77; <i>m</i> ; 1H	97.73; CH	6.54	118.22;142.53; 148.67; 151.64
6	6.47; <i>s</i> ; 1; H	114.27; CH	6.84	124.94;142.53; 148.67; 151.64
7	6.54; <i>s</i> ; 1H	118; 22: C	-	
8	6.84; <i>s</i> ; 1H	124.91 : CH	6.47	114.27; 14.78*
9	-	125.95 ; CH	5.77	14.78
10	-	142.53; C	-	
11	-	148.67; C	-	
12	-	151.64:C	-	

Keterangan: d = doublet, s = singlet ; HMQC = *Heteronuclear Multiple Quantum coherence*; HMBC = *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*.

**Gambar 2. Korelasi HMBC  $\beta$ -Asaron.****Gambar 4. Struktur  $\beta$ -Asaron.**

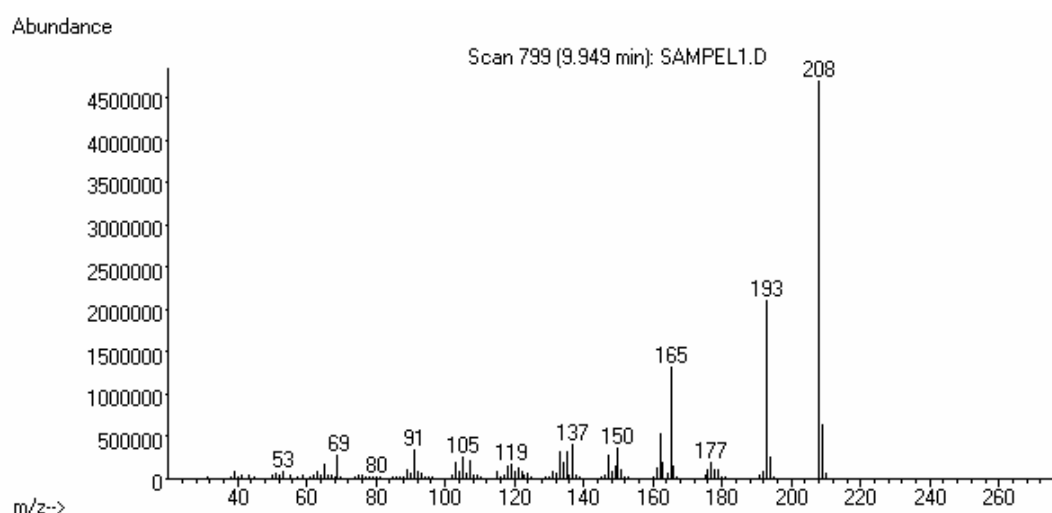
proton metoksi 1 (3.84 ppm) dengan C1 142.53 ppm, korelasi proton metoksi 2 (3.91 ppm) dengan C2 148.67 ppm, korelasi proton metoksi 3 (3.81 ppm) dengan C4 151.64 ppm. Adanya korelasi proton aromatis H3 (6.54 ppm) dengan C1, C2, C4, dan C5, korelasi proton aromatis H6 (6.84 ppm) dengan C1, C2, C3, C4 dan C1'; korelasi proton h1' dengan karbon C6 dan C3', proton H2' dengan C3'.

Dari hasil GC-MS menunjukkan satu puncak kromatogram (Gambar 3) dengan massa molekul  $m/z$   $[\text{M}^+] = 208$  (Gambar 4) dengan rumus molekul  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$ . Dari hasil analisis spectrum IR, NMR proton dan karbon satu dan dua dimensi serta analisis GC-MS serta membandingkan dengan pustaka dapat disimpulkan

bahwa senyawa B adalah (Z)-1,2,4-trimethoxy-5-(prop-1-enyl)benzene atau disebut  $\beta$ -asaron, dari penelusuran literatur maupun *chemical abstract* senyawa tersebut adalah baru pertama kali ditemukan dalam spesies *garcinia*.

## SIMPULAN

Senyawa yang diperoleh adalah asaron, diperkirakan  $\beta$ -asaron. Aktivitas/toksisitas terhadap larva udang (BSLT) dinyatakan cukup aktif dengan  $\text{LC}_{50}$  18.03  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Hasil uji aktivitas terhadap sel murin P388 dinyatakan kurang aktif dengan aktivitas  $\text{IC}_{50}$  47  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

**Gambar 3. Spektrum hasil pengukuran GC- MS senyawa B.**

## DAFTAR PUSTAKA

1. Lawrence GHM. Taxonomy of Vascular Plants. New York: The Macmillan Company; 1955. 603-4.
2. Burkill IH, Birtwistle W, Foxworthy FW, Scrivenor JB, and Watsan J G. A Dictionary of Economic Products of the Malay Peninsula. Vol. 1. Milbank London: Governments of the Straits Settlements And Federated Malay State By the Crown Agents For the Colonies; 1935. 1046-57.
3. Balasubramanian K. and Rajagopalan K. Xanthonones from *Garcinia mangostana*, Structures of BR-Xanthone A and BR-Xanthone B. *Phytochemistry*. 1988. 27(5): 1552-4.
4. Likhitwitauwuid K, Padungcharoen T, Mahidol C, Ruchirawat S. 7-O-Methylgarcinone E from *Garcinia cowa*, *Phytochemistry*. 1977. 45(6): 1299-1301.
5. Inuma M, H. Tosa T, Ito, T Tanaka, Riswan S. Three New Benzophenone-Xanthone Dimers from the Root of *Garcinia dlcis*. *Chem Pharm Bull*. 1996. 44(9): 1744-47.
6. Girola M, De Benardi M, Contos S, Tripodi S. Ventura P, Guarino C, Marletta M. Dose effect in lowering activity of a new dietary integrator (chitosan, *Garcinia cambogia* extract and chrome). *Acta Toxicol Ther*. 1996. 17(1): 25-40.
7. Cao S-G, Valeri HL, Wu X-H, Keng YS, Tan B. H-K, Pereira JT, Goh JH. Novel Cytotoxic Polyprenylated Xanthonoids from *Garcinia gaudichaudii* (*Guttiferae*), *Tetrahedron*. 1998. 54(36): 10915-24.
8. Yoshikanwa, Masayuki, Yoshizumi, Tamoy. *Chemical Abstract*. 2999777c.1996. 125(23).
9. Hiroyuki M, Kinoshita M, Fukuyama Y, Kodama M, Yushizawa T, Sugiura M, Nakagawa K, Tago H. Antioxidant Xanthone from *Garcinia subeliptica*. *Phytochemistry*. 1994. 36(2): 501-6.
10. Chen S-X, Wan M, Loh B-N. Active Constituents Against HIV-1 Protease from *Garcinia mangostana*. *Planta Med*. 1996. (62): 381-2.
11. Farnsworth NR. Biological and Phytochemical screening of Plant. *J Pharm Sci*. 1996. 55(3): 225-65.
12. Meyer BN, Ferrigini NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nicholas D, McLaughlin JL. *Planta Medica*. 1992. (45): 31-59.
13. Jerry LM, Chanf C-J, Smith DL. Bioassay For the Discovery of Natural Products : An Update, Workshop On Brine Shrimp And Potato Disc Bioassay, Bandung: Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung. 1990. 3-6.
14. Saroyobudiono H, Hakim EH, Juliawati LD, Latip J. Trimerstilbenoid dari kulit batang *Shorea rugosa*. *Bull Soc Prod Chem*. 2006. 6, 13-8.
15. Colegate SM, Mollyneux RJ. *Bioactive Natural Products, Detection, Isolation and Structural Determination, USA: CRC Press. Inc*. 1993. 20-3.
16. Ito T, Akao YYi H, Ohguchi K, Matsumoto K, Tanaka T, Linuma M, Nozawa Y. Antitumor Effect of Resveratrol Oligomers Against Human Cell Cancer Lines and the Molecular Mechanism of Apoptosis Induced by Vaticanol C. *Carcinogenesis*. 2003-a. 24(9): 1489-97.