



TESIS - SK185401

**Modifikasi Struktur dan Uji Antidiabetes
 α -mangostin Hasil Isolasi Dari Ekstrak Etil Asetat
Kulit Buah *Garcinia mangostana* Linn.**

Khoiriyah Umami

NRP. 01211850010013

Dosen Pembimbing

Prof. Dr. Taslim Ersam, MS.

Arif Fadlan, D.Sc

PROGRAM MAGISTER

BIDANG KEAHLIAN KIMIA ORGANIK

DEPARTEMEN KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2020



THESIS - SK185401

**Structural Modification and Antidiabetic Activity
of α -mangostin Isolated from Ethyl Acetate Extract
of *Garcinia mangostana* Linn.**

Khoiriyah Umami

NRP. 01211850010013

Advisor Lecturer

Prof. Dr. Taslim Ersam, MS.

Arif Fadlan, DSc

FIELD OF ORGANIC CHEMISTRY EXPERTISE

MASTER PROGRAM

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2020

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Sains (M.Si)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh

KHOIRIYAH UMAMI

NRP: 01211850010013

Tanggal Ujian: 22 September 2020

Periode Wisuda: Oktober 2020

Disetujui Oleh:

Pembimbing:

1. **Prof. Dr. Taslim Ersam**
NIP. 19520816 197903 1 004



2. **Arif Fadlan, D.Sc**
NIP. 19810809 200812 1 001

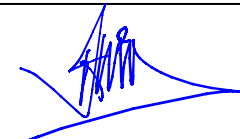


Penguji:

1. **Dra. Yulfi Zetra, MS**
NIP. 19600727 198701 2 001



2. **Prof. Dr. rer. nat. Irmina K. Murwani**
NIP. 19641224 198903 2 002



3. **Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.**
NIP. 19800724 200812 1 002



Kepala Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data



Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, M.Si
NIP. 19740428 199802 1 001

**Modifikasi Struktur dan Uji Antidiabetes α -mangostin Hasil Isolasi dari
Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah *Garcinia mangostana* Linn.**

Nama : Khoiriyah Umami
NRP : 01211850010013
Departemen : Kimia ITS
Pembimbing : Prof. Taslim Ersam
Arif Fadlan, D. Sc

ABSTRAK

Garcinia mangostana Linn. (Manggis) famili Clusiaceae merupakan sumber utama senyawa santon, banyak ditemukan sebagai suplemen untuk meningkatkan kesehatan dan kebugaran tubuh, termasuk juga sebagai obat untuk penderita diabetes mellitus. Pada penelitian ini, telah dapat diisolasi dan dimurnikan dua senyawa turunan santon, melalui pemisahan dengan cara maserasi pelarut etil asetat dilanjutkan fraksinasi dan refraksinasi dengan metoda kromatografi gradien pelarut yang ditingkatkan kepolarannya. Kedua senyawa yang dihasilkan, yaitu α -mangostin (**1**) sebanyak (21,66 g) dan 8-deoksigartanin (**2**) sebanyak (0,34 g) strukturnya ditentukan menggunakan teknik spektroskopi (UV-Vis, IR, HRESIMS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$), dan uji aktivitas antidiabetes dilakukan dengan metode penghambatan enzim α -glukosidase, dihasilkan nilai IC_{50} 67,56 μM (**1**) dan 77,95 μM (**2**). Hasil struktur modifikasi (**1**) dengan asam asetat anhidrida, diperoleh 3,6-dimetil ester α -mangostin (**3**) sebanyak (13,5 mg). Penentuan struktur (**3**) dipantau melalui spektrum $^{13}\text{C-NMR}$. Pengujian aktivitas antidiabetes dengan enzim α -glukosidase memberikan nilai IC_{50} 32,55 μM , data ini menunjukkan bahwa aktivitas antidiabetes senyawa (**3**) lebih aktif dibandingkan (**1**)

Kata Kunci : *Garcinia mangostana* Linn., α -mangostin, 8-deoksigartanin, 3,6-dimetil ester- α -mangostin, antidiabetes

**Structural Modification and Antidiabetic Activity of α -mangostin Isolated
from Ethyl Acetate Extract of *Garcinia mangostana* Linn.**

Nama : Khoiriyah Umami
NRP : 01211850010013
Departement : Kimia ITS
Advisor Lecturer : Prof. Taslim Ersam
Arif Fadlan, D. Sc

ABSTRACT

Garcinia mangostana Linn. (Mangosteen) Clusiaceae family is the main source of xanthenes compounds, commonly found as supplements to improve health and fitness, including drug for people with diabetic mellitus. In this research, two xanthone derivatives have been isolated and purified, through separation with maceration with ethyl acetate solvent and followed by fractionation and refractionation by the solvent gradient chromatography method which is increasing polarity. The two compounds produced, namely α -mangostin (**1**) in the amount of (21.66 g) and 8-deoxigartanin (**2**) in the amount of (0.34 g) the structure is determined using spectroscopic techniques (UV-Vis, IR, HRESIMS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$), and the antidiabetic activity test was performed with the α -glucosidase enzyme inhibition method, resulting in IC_{50} values of 67.56 μM (**1**) and 77.95 μM (**2**). Structural modifications produced (**1**) with acetic acid anhydride obtained 3,6-dimethyl ester- α -mangostin (**3**) as much (13.5 mg). The structure determination (**3**) is monitored with the $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum. Testing antidiabetic activity with the α -glucosidase enzyme gives an IC_{50} value of 32.55 μM , this data shows that the antidiabetic activity of compound (**3**) is more active than (**1**)

Keywords: *Garcinia mangostana* Linn., α -mangostin, 8-deoxigartanin, 3,6-dimethyl ester- α -mangostin, antidiabetic.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas curahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun TESIS berjudul “**Modifikasi Struktur dan Uji Antidiabetes α -mangostin Hasil Isolasi dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah *Garcinia mangostana* Linn.**”.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam penyusunan TESIS ini. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Taslim Ersam, MS. dan Arif Fadlan, DSc selaku dosen pembimbing atas semua bimbingan, masukan, arahan dan nasehat yang berharga dalam penyusunan Tesis ini.
2. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc, selaku Ketua Departemen Kimia ITS
3. Keluarga besar S2 Kimia ITS angkatan 2018 serta teman-teman laboratorium kimia organik bahan alam (NPSC).
4. Semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis telah berusaha dengan sebaik-baiknya dan memanfaatkan segala kemampuan, sampai selesai penulisan tesis ini, walaupun demikian penulis dengan senang hati menerima masukan, saran dan kritik demi penyempurnaan naskah ini. Harapan penulis tesis ini, dapat dijadikan inspirasi dan rujukan oleh pembaca yang budiman, serta para peneliti sejenis dimasa selanjutnya.

Surabaya, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN TESIS	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan.....	2
1.3. Tujuan.....	3
1.4. Manfaat.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Umum Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> Linn).....	5
2.2 Kandungan Senyawa Santon Kulit Buah <i>Garcinia mangostana</i> Linn.....	6
2.3 Penyakit Diabetes	13
2.4 Reaksi Asetilasi Turunan Santon.....	15
2.5 Metode Ekstraksi, Fraksinasi, dan Pemurnian Senyawa	19
2.6 Elusidasi Struktur	21
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1. Alat dan Bahan	23
3.1.1. Alat	23
3.1.2. Bahan.....	23
3.2. Prosedur Kerja	24
3.2.1 Persiapan Bahan.....	24
3.2.2 Uji Pendahuluan.....	24
3.2.3 Ekstraksi Senyawa	24
3.2.4 Pemisahan dan Identifikasi Senyawa.....	24
3.2.5 Modifikasi Senyawa Santon Asetat	25
3.2.6 Aktivitas Antidiabetes Metode Penghambatan Enzim α - Glukosidase	25

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil Uji Pendahuluan	29
4.2 Hasil Ekstraksi Senyawa dari Kulit Buah <i>Garcinia mangostana</i> Linn.	30
4.2.1 Hasil Ekstraksi	30
4.2.2 Hasil Isolasi Senyawa	30
4.3 Identifikasi Senyawa	35
4.3.1 Senyawa 1	36
4.3.2 Senyawa 2	47
4.4 Asetilasi Santon	57
4.4.1 Reaksi Asetilasi dan Pemisahan Senyawa α -mangostin Asetat.....	57
4.4.2 Penentuan Struktur Senyawa α -mangostin Asetat	62
4.4.3 Penentuan Antidiabetes.....	65
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	75
5.1 Kesimpulan.....	75
5.2 Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN.....	81
Skema Kerja Isolasi	81
Skema Kerja Modifikasi α -mangostin dan Asetat Anhidrat	84
Skema Kerja Uji Antidiabetes	85
a. Pembuatan Larutan Buffer, pH 6.9 (1M).....	85
b. Pembuatan Enzim	85
c. Pembuatan Substrat.....	85
d. Uji Aktivitas Enzim α -Glukosidase	86
BIODATA PENULIS.....	87

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah dan kulit buah <i>Garcinia mangostana</i> Linn.	6
Gambar 2.2 Kerangka dasar santon.....	7
Gambar 2.3 Pembentukan trihidroksisanton.....	8
Gambar 2.4 Mekanisme reaksi siklisasi 2,3',4,6-tetrahidroksibenzofenon	8
Gambar 2.5 Biosintesis santon	10
Gambar 2.6 Efek senyawa flavonoid terhadap aktivitas sekresi insulin	17
Gambar 2.7 Kereaktifan senyawa karbonil	18
Gambar 2.8 Reaksi asetilasi pembentukan santon asetat	19
Gambar 4.1 Kromatogram KLT uji pendahuluan.....	29
Gambar 4.2 Ekstrak etil asetat kering.....	30
Gambar 4.3 Kromatogram KLT hasil fraksinasi ekstrak etil asetat	31
Gambar 4.4 Kromatogram KLT fraksi gabungan ekstrak etil asetat	31
Gambar 4.5 Kromatogram KLT padatan 1 (A1) dari fraksi 3	31
Gambar 4.6 Kromatogram KLT refraksinasi fraksi 3.....	32
Gambar 4.7 Kromatogram KLT padatan 2 (A2) dari subfraksi F3.3.....	32
Gambar 4.8 Kromatogram KLT refraksinasi fraksi 4.....	33
Gambar 4.9 Kromatogram KLT padatan 3 (A3) dari subfraksi F4.2.....	33
Gambar 4.10 Kromatogram KLT padatan A1, padatan A2, padatan A3	34
Gambar 4.11 Kromatogram KLT senyawa 1 sistem tiga eluen	34
Gambar 4.12 Kromatogram KLT senyawa 2 dari fraksi gabungan 2	35
Gambar 4.13 Kromatogram KLT senyawa 2 sistem tiga eluen	35
Gambar 4.14 Spektrum UV-Vis senyawa 1 dalam metanol dan metanol+NaOH	36
Gambar 4.15 Keseimbangan keto-enol senyawa 1.....	37
Gambar 4.16 Spektrum UV-Vis senyawa 1, AlCl ₃ , dan AlCl ₃ +HCl	37
Gambar 4.17 Spektrum IR senyawa 1.....	39
Gambar 4.18 Saran kerangka dasar senyawa 1 hasil analisis spektra UV dan IR.....	40
Gambar 4.19 Spektrum HRESIMS senyawa 1.....	41
Gambar 4.20 Spektrum ¹ H-NMR senyawa 1	44
Gambar 4.21 Spektrum ¹³ C-NMR senyawa 1	46
Gambar 4.22 Spektrum UV-Vis senyawa 2 dalam metanol dan metanol+NaOH	48
Gambar 4.23 Keseimbangan keto enol senyawa 2	48
Gambar 4.24 Spektrum UV-Vis senyawa 2, AlCl ₃ , dan AlCl ₃ +HCl	49
Gambar 4.25 Spektrum IR senyawa 2.....	50

Gambar 4.26	Saran kerangka dasar senyawa 2 hasil analisis spektra UV dan IR.....	51
Gambar 4.27	Spektrum HRESIMS senyawa 2	52
Gambar 4.28	Spektrum ¹ H-NMR senyawa 2	54
Gambar 4.29	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa 2	56
Gambar 4.30	Kromatogram reaksi asetilasi α -mangostin.....	58
Gambar 4.31	Kromatogram pemisahan lapisan organik dan lapisan air	58
Gambar 4.32	Kromatogram hasil KKG produk asetilasi	59
Gambar 4.33	Kromatogram penggabungan fraksi KKG produk asetilasi	59
Gambar 4.34	Kromatogram KKG fraksi 2	59
Gambar 4.35	Kromatogram penggabungan KKG fraksi 2	60
Gambar 4.36	Kromatogram kromatotron subfraksi F2.2.....	60
Gambar 4.37	Kromatogram penggabungan kromatotron subfraksi F2.2.....	60
Gambar 4.38	Kromatogram sisa fraksi.....	61
Gambar 4.39	Kromatogram penggabungan sisa fraksi.....	61
Gambar 4.40	Kromatogram KLTp elusi berulang.....	62
Gambar 4.41	Kromatogram penggabungan hasil KLTp senyawa 3	62
Gambar 4.42	Kromatogram KLT tiga eluen senyawa 3	62
Gambar 4.43	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa 3	63
Gambar 4.44	Grafik uji antidiabetes senyawa α -mangostin	69
Gambar 4.45	Grafik uji antidiabetes senyawa α -mangostin	69
Gambar 4.46	Grafik uji antidiabetes senyawa 8-deoksigartanin	71
Gambar 4.47	Grafik uji antidiabetes senyawa 8-deoksigartanin	71
Gambar 4.48	Grafik uji antidiabetes senyawa 3,6-dimetil ester- α -mangostin	73
Gambar 4.49	Grafik uji antidiabetes senyawa 3,6-dimetil ester- α -mangostin.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antidiabetes Senyawa.....	14
Tabel 3.1 Struktur Pengujian Enzim α -Glukosidase.....	27
Tabel 4.1 Perbandingan Spektrum NMR Senyawa (1) dan α -mangostin (1)	43
Tabel 4.2 Perbandingan Spektrum NMR Senyawa (2) dan 8-deoksigartanin (2)..	53
Tabel 4.3 Perbandingan δ_C ¹³ C-NMR (3), dan 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3).	64
Tabel 4.4 Data Hasil Absorbansi Blanko α -mangostin (1)	66
Tabel 4.5 Data Absorbansi α -mangostin.....	66
Tabel 4.6 Analisis Data Persentase Penghambatan α -mangostin	67
Tabel 4.7 Nilai Probit.....	68
Tabel 4.8 Data Hasil Absorbansi Blanko 8-deoksigartanin (2)	69
Tabel 4.9 Data Absorbansi 8-deoksigartanin	70
Tabel 4.10 Analisis Data Persentase Penghambatan 8-deoksigartanin.....	70
Tabel 4.11 Data Hasil Absorbansi Blanko 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3).....	72
Tabel 4.12 Data Absorbansi 3,6-dimetil ester- α -mangostin	72
Tabel 4.13 Data Persentase Penghambatan 3,6-dimetil ester- α -mangostin	73

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Garcinia mangostana Linn merupakan salah satu spesies dari famili Clusiaceae yang telah dilaporkan sebagai sumber senyawa santon terprenilasi dan teroksigenasi (Lukis, 2011). Di Indonesia, tanaman *G. mangostana* umumnya dikenal sebagai manggis, juga disebut sebagai "*queen of fruits*" karena mempunyai banyak sekali manfaat aktivitas biologis yang digunakan dalam bidang kesehatan. Di Amerika Serikat, manggis telah digunakan sebagai produk komersial dalam bentuk ekstrak atau serbuk dalam kapsul (Benatrehina *et al.*, 2018). Masyarakat Indonesia diketahui telah lama memanfaatkan manggis sebagai suplemen kesehatan untuk mencegah maag, kanker, diare, deman, hipertensi, obesitas, dan diabetes mellitus (Fatmawati *et al.*, 2015).

Diabetes mellitus DM adalah salah satu penyakit degeneratif akibat gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan kelebihan glukosa dalam darah. Penyakit ini disebabkan oleh tubuh yang tidak dapat memproduksi insulin dengan cukup (DM tipe I) atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif (DM tipe II). Diabetes mellitus (DM) memiliki angka kejadian yang meningkat setiap tahun. Indonesia berada pada peringkat keenam di dunia setelah China, India, Amerika Serikat, Brazil dan Meksiko dengan jumlah penyandang DM sekitar 10,3 juta orang pada usia 20-79 tahun dan ini terus meningkat (IDF, 2017). Riset Kesehatan Dasar juga melaporkan peningkatan angka diabetes yang cukup signifikan, dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018 (Kemenkes RI, 2018). Hal ini menjadi perhatian yang cukup penting dalam dunia kesehatan.

Eksplorasi bahan aktif yang diperoleh dari tanaman merupakan salah satu alternatif yang terus dikembangkan dalam rangka pengobatan diabetes. Salah satu tanaman yang sangat berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut adalah tanaman manggis. Kulit buah manggis dilaporkan mengandung senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi, diantaranya adalah santon dan turunannya. Santon

menunjukkan berbagai aktivitas, seperti antiaging, antioksidan, membantu meningkatkan imunitas, membantu melindungi jantung, mencegah osteoporosis, membantu sistem pencernaan, memacu pertumbuhan sel darah merah, antivirus, antibiotik, membantu menurunkan berat badan, antiradang, antitumor, antidiabetes, antilipidemik, antiatherosklerosis, antidepresan, anti-alzheimerian, antiarthritis, antipiretik, antidiare dan antineuralgik (Putri, 2015). Ekstrak etil asetat kulit buah manggis mengandung senyawa santon berupa α -mangostin dan γ -mangostin (Sari, 2011). Senyawa α -mangostin merupakan senyawa aktif golongan fenolat turunan santon (Arsana *et al.*, 2014), yang memiliki aktivitas antidiabetes terhadap penghambatan enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} 53,3 μ M (Ryu *et al.*, 2011), nilai ini masih tergolong moderat jika dibandingkan dengan akarbosa yang sering dimanfaatkan sebagai obat oral untuk penderita diabetes mellitus. Modifikasi senyawa α -mangostin (**1**) dengan asetat anhidrat dapat meningkatkan aktivitas antikankernya menghasilkan turunan 3,6-dimetil ester α -mangostin (**3**) yang mempunyai nilai ED_{50} 1 μ M dimana nilai ini jauh lebih baik dibandingkan senyawa (**1**) hasil isolasi dengan nilai ED_{50} 4,1 μ M (Ren *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah disebutkan maka α -mangostin yang dimodifikasi menjadi α -mangostin terasetilasi merupakan kandidat senyawa yang bermanfaat sebagai obat antidiabetes yang potensial.

1.2. Permasalahan

Senyawa α -mangostin sebagai hasil ekstraksi kulit buah *G. mangostana* dengan pelarut etil asetat jumlahnya sangat dominan (24%) dan masih tergolong moderat jika digunakan sebagai obat antidiabetes. Berdasarkan penelitian terdahulu, senyawa-senyawa metabolit sekunder alami mempunyai aktivitas antidiabetes tinggi apabila dimodifikasi menjadi bentuk asetilnya. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan peningkatan aktivitas antidiabetes untuk α -mangostin dengan pembentukan asetil dari α -mangostin atau yang disebut sebagai α -mangostin terasetilasi. Senyawa α -mangostin terasetilasi akan dimodifikasi dengan asetat anhidrat menurut penelitian (Liu *et al.*, 2006), agar dapat

dibandingkan kemampuan aktivitas antidiabetesnya, maka α -mangostin dan α -mangostin terasetilasi dilakukan uji antidiabetes dengan metode penghambatan enzim α -glukosidase sebelum dan sesudah dilakukan modifikasi struktur α -mangostin.

1.3. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan cara terbaik menghasilkan senyawa α -mangostin (**1**) dari kulit buah manggis dalam jumlah maksimal dengan cara pemilihan pelarut yang tepat pada proses isolasi senyawa metabolit sekunder dan mendapatkan turunan senyawa 3,6-dimetil ester α -mangostin (**3**) dengan nilai aktivitas antidiabetes terhadap penghambatan α -glukosidase yang lebih baik melalui modifikasi senyawa α -mangostin (**1**) dengan asetat anhidrat.

1.4. Manfaat

Penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang isolasi α -mangostin dan modifikasinya melalui reaksi asetilasi dengan asetat anhidrida sebagai peraksinya. Senyawa α -mangostin dan α -mangostin terasetilasi diharapkan dapat menjadi alternatif sediaan biofarmaka untuk penanganan antidiabetes. Penelitian juga diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap kelengkapan data kemotaksonomi spesies *G. mangostana* sehingga tumbuhan ini dapat terus dilestarikan karena manfaatnya yang besar bagi kehidupan.

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Genus *Garcinia* mempunyai 300 spesies tersebar di seluruh dunia, 100 spesies diantaranya terdapat di Asia Tenggara dan 64 spesies diantaranya terdapat di Indonesia (Uji, 2007). *Garcinia mangostana* Linn merupakan salah satu spesies yang banyak dibudidayakan, di Indonesia dikenal dengan nama manggis. Buah manggis berbentuk bola dengan diameter 3,5-7 cm. Sewaktu masih muda permukaan kulit buah berwarna hijau, namun setelah matang berubah menjadi ungu kemerah-merahan atau merah muda sedangkan warna daging buahnya putih. Manggis disebut sebagai “*queen of fruit*”. Kulit buah manggis telah digunakan dalam pengobatan tradisional di Asia Tenggara selama berabad-abad untuk mengobati infeksi, luka, peradangan dan diare.

Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) berasal dari hutan tropis yang teduh di wilayah Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Indonesia dan Malaysia, tanaman manggis menyebar ke wilayah tropis lainnya seperti Filipina, Papua New Guinea, Kamboja, Thailand, Srilanka, Madagaskar, Honduras, Brazil dan Australia Utara hingga Amerika Tengah. Di Indonesia, manggis mempunyai nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), manggus (Lampung), manggusto (Sulawesi Utara), manggista (Sumatera Barat). Pohon manggis dapat tumbuh di dataran rendah hingga ketinggian kurang dari 1.000 m dpl. Pusat tanaman manggis di Indonesia adalah Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Jawa Barat, Sumatera Barat, Sumatera Utara, Riau, Jawa Timur dan Sulawesi Utara (Rubiyanti *et al.*, 2016).

Kandungan utama dari kulit buah manggis adalah α -mangostin. α -mangostin memiliki beberapa bioaktivitas dan merupakan senyawa utama dalam ekstrak kulit manggis (Pedraza *et al.*, 2008). Mangostin dan turunannya tergolong ke dalam senyawa santon yang merupakan pigmen fenol kuning yang reaksi warnanya dan gerakan kromatografinya serupa dengan flavonoid. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kulit buah *G. mangostana* mengandung senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi. Senyawa tersebut diantaranya flavonoid, tanin

dan santon. Khasiat santon antara lain sebagai anti-aging (membantu memperlambat penuaan), anti-oksidan (menangkal radikal bebas), membantu menurunkan tekanan darah tinggi atau hipertensi, modulator kekebalan tubuh (membantu meningkatkan respon kekebalan tubuh), kardio-protektif (membantu melindungi jantung), mencegah osteoporosis, membantu sistem pencernaan, memacu pertumbuhan sel darah merah, antivirus (membantu menanggulangi infeksi anti virus), antibiotik (membantu menanggulangi infeksi bakteri), membantu menurunkan berat badan, antiradang, antitumor, hipoglikemik atau antidiabetes, antilipidemik, antiatherosklerosis, antidepresan, anti-alzhemerian, antiarthritis, antipiretik, antidiare dan antineuralgik (Putri, 2015). Taksonomi tumbuhan manggis dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Guttiferales
Suku	: Clusiaceae
Marga	: <i>Garcinia</i>
Jenis	: <i>Garcinia mangostana</i> Linn

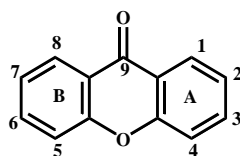


Gambar 2.1 Buah dan kulit buah *Garcinia mangostana* Linn.

2.2 Kandungan Senyawa Santon Kulit Buah *Garcinia mangostana* Linn

Santon adalah senyawa polifenolik alami ($C_{13}H_{18}O_2$) yang terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi, jamur dan lumut. Struktur dasar santon terdiri dari dua

cincin benzen yang dihubungkan oleh jembatan keton dan eter pada posisi orto dari kedua cincin benzen tersebut. Hampir semua molekul turunan santon mempunyai gugus fenol, sehingga santon sering disebut dengan polifenol, kerangka dasar santon, 9H-xanthen-9-one yang ditunjukkan pada Gambar 2.2. Karbon 1-4 pada cincin A berasal dari jalur asetat sedangkan karbon 5-8 pada cincin B berasal dari jalur shikimat (Peres *et al.*, 2000). Tumbuhan dari famili Gentianaceae, Guttiferae (Clusiaceae), dan Poligalaceae merupakan sumber yang kaya senyawa santon. Santon alami dapat dibagi berdasarkan sifat substituenya menjadi enam kelompok, yaitu: santon teroksigenasi sederhana, santon terprenilasi, santon glikosida, bisanton, santonlignoid, dan miscellaneous santon.

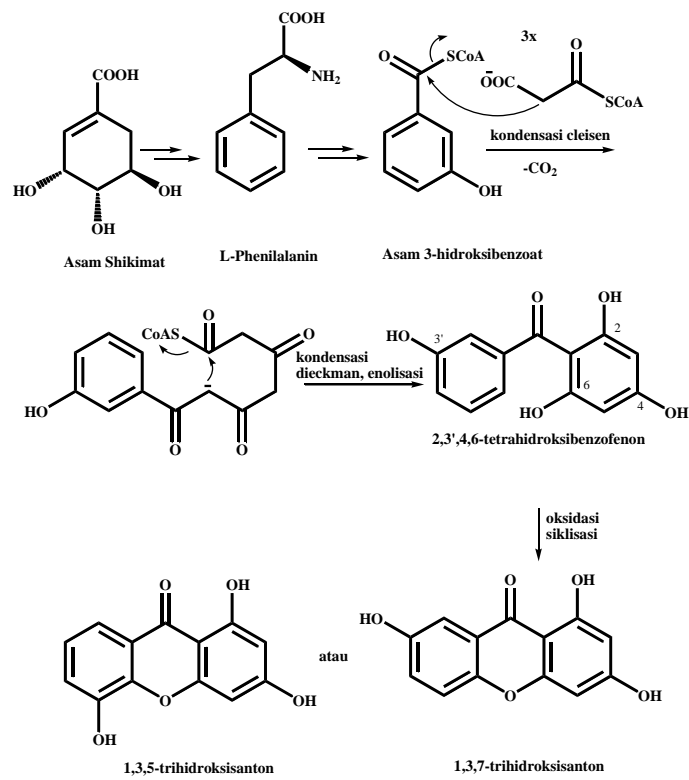


Gambar 2.2 Kerangka dasar santon

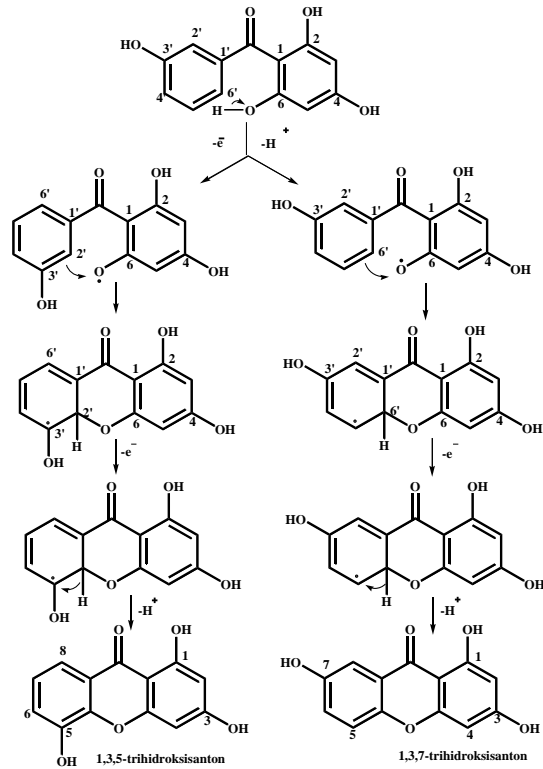
Senyawa santon dapat dibentuk dari zat antara polihidroksibenzofenon melalui dua jalur (Nguyen, 2015):

- a. Jalur polimalonat asetat pada tumbuhan tingkat rendah dan jamur
- b. Jalur shikimat-asetat pada tumbuhan tingkat tinggi

L-phenilalanin yang terbentuk dari shikimat, dioksidasi untuk membentuk asam *m*-hidoksibenzoat dengan kehilangan dua atom karbon dari rantai samping. Asam ini bereaksi dengan tiga unit malonil CoA melalui kondensasi Claisen untuk menghasilkan zat antara seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Zat antara shikimat-asetat mengalami reaksi kondensasi dan enolisasi Dieckmann untuk membentuk benzofenon tersubstitusi, yang menghasilkan cincin pusat kerangka santon melalui oksidasi dan siklisasi yang dikatalis oleh santon sintase. Reaksi ini dapat membentuk 1,3,5- atau 1,3,7-trihidroksisanton yang merupakan prekursor sebagian besar santon pada tumbuhan tingkat tinggi.



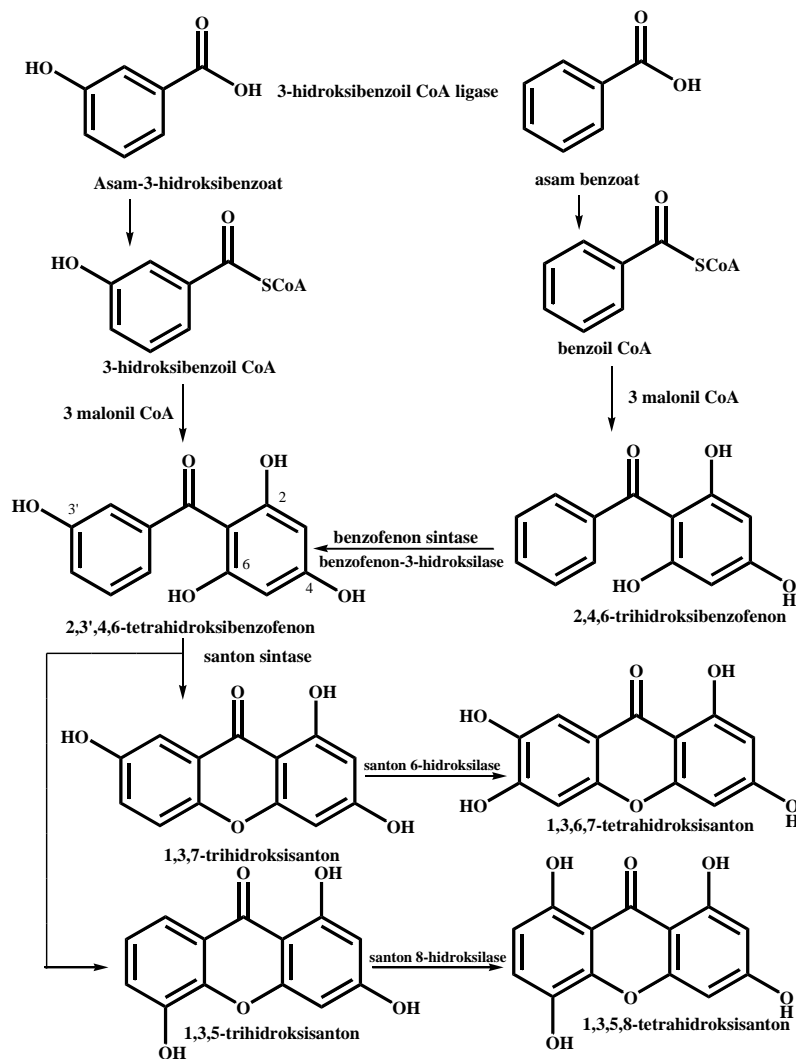
Gambar 2.3 Pembentukan trihidroksisanton (Nguyen, 2015)



Gambar 2.4 Mekanisme reaksi siklisasi intermolekul regioselektif dari 2,3',4,6-tetrahidroksibenzofenon (Nguyen, 2015)

Mekanisme reaksi siklisasi intermolekul regioselektif dari 2,3',4,6-tetrahidroksibenzofenon melibatkan dua tahap oksidasi satu elektron. Transfer satu elektron tahap pertama dan deprotonasi menghasilkan radikal fenoksi pada cincin B dari kerangka santon, siklisasi benzofenon melalui serangan elektrofilik memberikan radikal hidroksi-sikloheksadienil. Radikal fenoksi ini kehilangan satu elektron dan satu proton menghasilkan senyawa santon (Gambar 2.4).

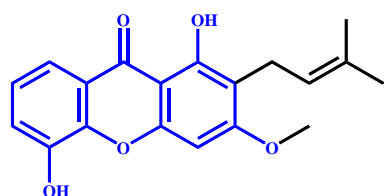
Alternatif biosintesis senyawa santon dalam kultur sel *Hypericum androsaemum* L telah ditemukan. Kondensasi benzoil-CoA dengan tiga unit malonil CoA menghasilkan 2,4,6-trihidroksibenzofenon yang dihidroksilasi pada C-3' melalui adanya benzofenon-3'-hidroksilase menghasilkan 2,3',4,6-tetrahidroksibenzofenon kemudian dikatalisis oleh santon sintase menghasilkan 1,3,7-trihidroksisanton atau 1,3,5-trihidroksisanton (dari kultur sel *Centaurium erythraea* (Gentianaceae)). 1,3,7-trihidroksisanton dengan kehadiran santon 6-hidroksilase terjadi penambahan hidroksi pada C6 menjadi 1, 3, 6, 7-tetrahidroksisanton. 1,3,5-trihidroksisanton dengan kehadiran santon 8-hidroksilase terjadi penambahan hidroksi pada C8 menjadi 1, 3, 5, 8-tetrahidroksisanton (Schmidt *et al.*, 1997) yang dapat dilihat pada Gambar 2.5. berikut:



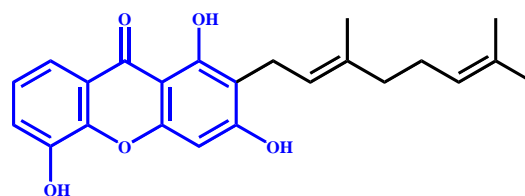
Gambar 2.5 Biosintesis santon (Schmidt, 1997)

Dua puluh empat senyawa santon telah diisolasi dari kulit buah manggis, pertama ditemukannya senyawa santon dari kulit buah manggis diberi nama mangostin (yang kemudian α -mangostin) ketika diisolasi pada tahun 1855. Mangostin ini memberikan warna kuning yang juga dapat diperoleh dari kulit dan getah kering dari *G. mangostana*. Beberapa senyawa santon kulit buah manggis, diantaranya α -mangostin (1), 8-deoksiganin (2), 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3), 1,5-dihidroksi-2-(3-metil-2-butenil)-3-metoksisanton (4), mangostinon (5), 1,7-dihidroksi-2-(3-metil-2-butenil)-3-metoksisanton (6), 1,3,7-trihidroksi-2,8-di-(3-metil-2-butenil)santon (7), 2-(1,1-dimetilalil)-1,7-dihidroksi-3-metoksisanton (8), 1,3,6,7-tetrahidroksi-8-(3-metil-2-butenil)santon (9), γ -mangostin (10), 1-

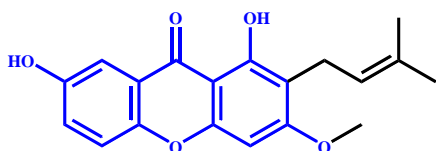
isomangostin (**11**), β -mangostin (**12**), calosanton A (**13**), garsinon C (**14**), garsinon D (**15**), garsinon B (**16**), BR-santon A (**17**), garsinon E (**18**), tovopilin A (**19**), tovopilin B (**20**), mangostenon A (**21**), mangostanol (**22**), gartanin (**23**), dan esmeatsanton A (**24**) (Pedraza *et al.*, 2008).



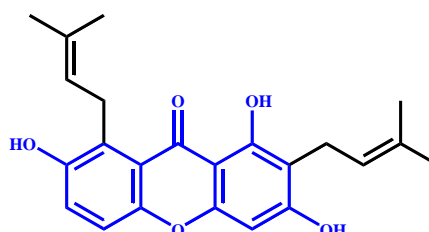
(4)



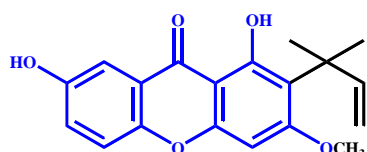
(5)



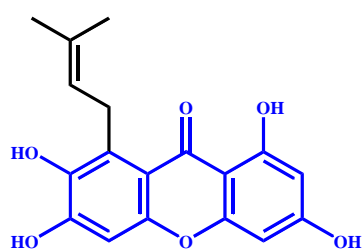
(6)



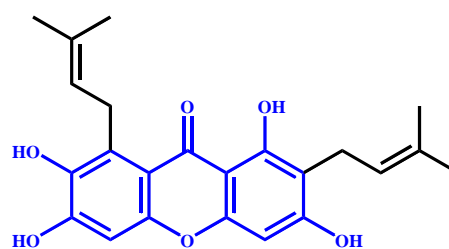
(7)



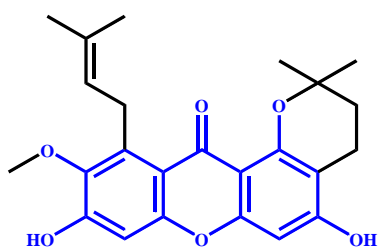
(8)



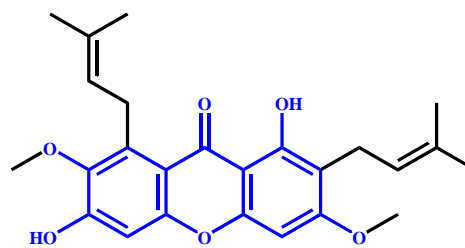
(9)



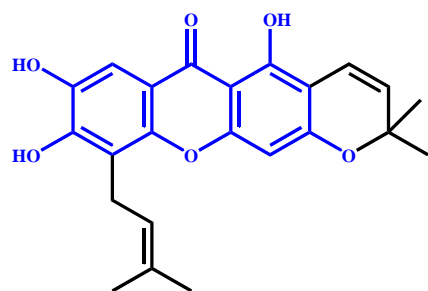
(10)



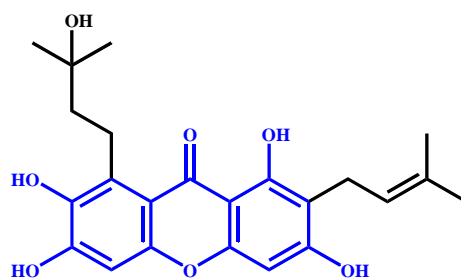
(11)



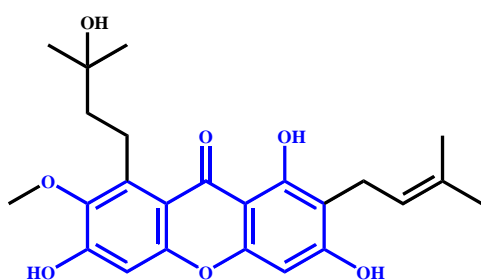
(12)



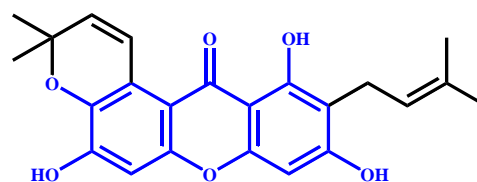
(13)



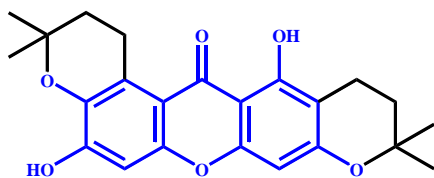
(14)



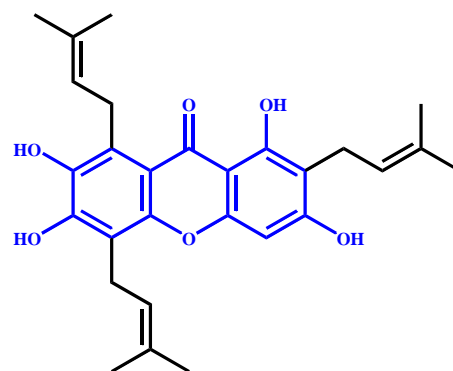
(15)



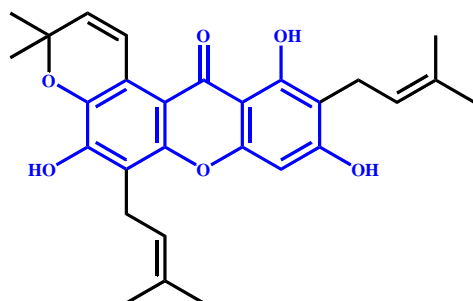
(16)



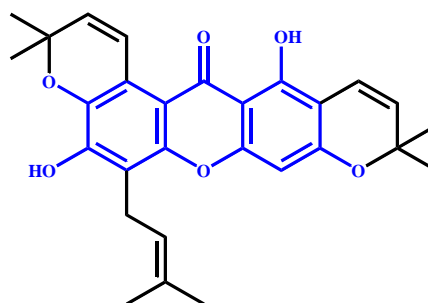
(17)



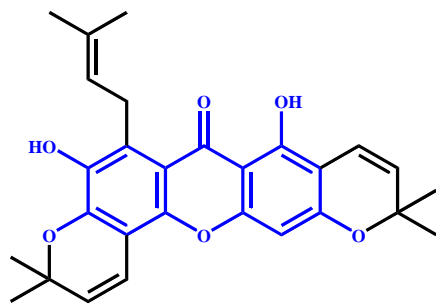
(18)



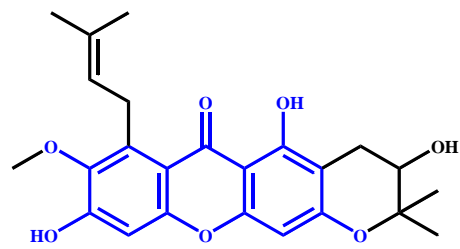
(19)



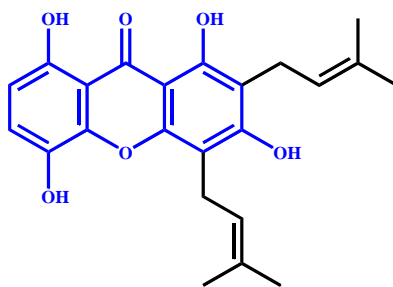
(20)



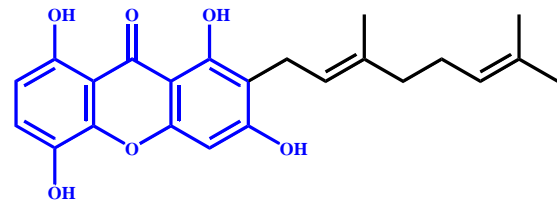
(21)



(22)



(23)



(24)

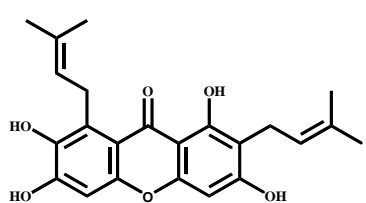
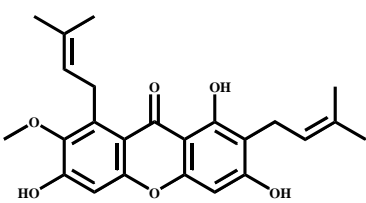
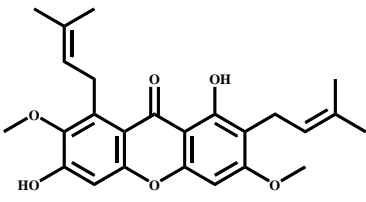
2.3 Penyakit Diabetes

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan kelebihan glukosa dalam darah, baik tubuh tidak dapat memproduksi insulin yang cukup (DM tipe I) atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif (DM tipe II). Insulin adalah hormon penting yang diproduksi di kelenjar pankreas tubuh, insulin membawa glukosa dari aliran darah ke sel-sel tubuh dimana glukosa diubah menjadi energi. Kurangnya insulin atau ketidakmampuan sel untuk merespon insulin menyebabkan tingginya kadar glukosa darah atau hiperglikemia. Hiperglikemia jangka panjang menyebabkan kerusakan pada berbagai organ tubuh seperti penyakit kardiovaskular, neuropati, dan penyakit mata. Diabetes dibagi menjadi 3 tipe, yaitu : Diabetes gestational, Diabetes tipe I, dan Diabetes tipe II (IDF, 2017).

Salah satu pilihan terapi dalam pengobatan DM tipe II adalah penghambatan α -glukosidase. Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang ada di usus halus. Penghambatan α -glukosidase berfungsi menunda penyerapan karbohidrat kompleks sehingga menghambat produksi glukosa, dengan dihambatnya kerja enzim α -glukosidase, maka penyerapan glukosa akan berlangsung lambat

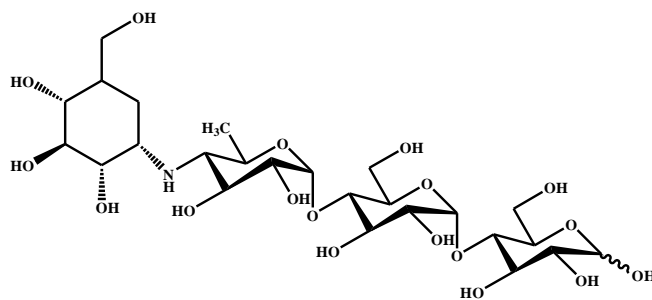
sehingga kadar glukosa dalam darah menurun. Aktivitas antidiabetes dapat dilakukan dengan pengujian terhadap tanaman, hal ini dikarenakan kemampuan metabolit sekunder yang dikandungnya mampu mengembalikan fungsi jaringan pankreas dengan peningkatan produksi insulin dan menghambat penyerapan glukosa (Fatmawati *et al.*, 2011). Metabolit sekunder yang mempunyai sifat sebagai penghambatan α -glukosidase salah satunya adalah senyawa α , β , dan γ -mangostin (Ryu *et al.*, 2011), dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Nilai IC_{50} Aktivitas Antidiabetes Senyawa Penghambatan α -Glukosidase

Struktur Senyawa Santon	IC_{50} (μ M) Maltosa	Kelompok Santon
 <p>(10)</p>	17,5	Hidroksilasi
 <p>(1)</p>	53,3	Hidroksilasi monometil
 <p>(12)</p>	192,0	Hidroksilasi dimetil

Bahan aktif obat golongan penghambat enzim α -glukosidase ini antara lain akarbose, miglitol dan voglibose. Akarbosa merupakan oligosakarida yang bersifat sebagai penghambatan α -glukosidase oral yang memperlambat absorpsi

karbohidrat dan sukrosa untuk mengatasi penyakit diabetes melitus tipe II. Akarbosa (**25**) diperoleh dari mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*, memiliki bentuk serbuk putih dengan berat molekul 645,6; pKa 5,1 dan dengan rumus kimia $C_{25}H_{43}NO_{18}$ (Bayer, 2011).



(25)

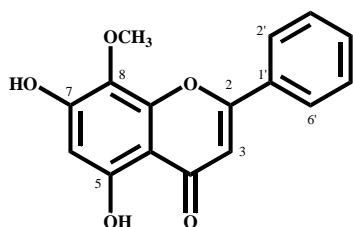
Akarbosa akan menunda pencernaan karbohidrat, sehingga menghasilkan konsentrasi glukosa darah setelah makan lebih kecil. Konsekuensi dari pengurangan glukosa plasma, akarbosa mengurangi kadar hemoglobin glikosilasi (HbA1c) pada pasien diabetes melitus tipe 2. Berbeda dengan sulfonilurea, akarbosa tidak meningkatkan sekresi insulin. Akarbosa sebagai antihiperqlikemia berkerja secara kompetitif, penghambatan reversibel pada pankreas α -amilase dan membrane mengikat enzim α -glukosidase pada usus (Bayer, 2011).

2.4 Reaksi Asetilasi Turunan Santon

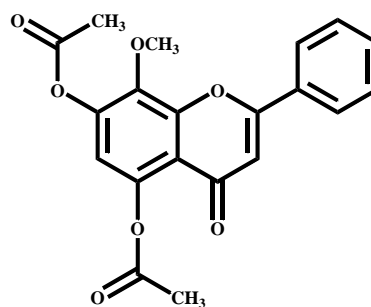
Senyawa metabolit sekunder yang didapatkan dari hasil isolasi suatu tanaman dapat diuji bioaktivitasnya secara *in vitro* untuk mengetahui sifat farmakologisnya. Sifat-sifat farmakologis yang umum dari metabolit sekunder meliputi antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, antibakteri, antimalaria dan sitotoksik. Beberapa senyawa metabolit sekunder menunjukkan aktivitas yang baik, sedangkan lainnya memiliki aktivitas yang rendah atau bahkan tidak aktif. Banyak juga usaha yang dilakukan oleh para peneliti, untuk dapat memanfaatkan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah dan tidak aktif tersebut, dengan cara melakukan modifikasi strukturnya, untuk meningkatkan aktivitasnya (Ehianeta, 2016).

Modifikasi struktur pada dasarnya adalah melakukan perubahan pada gugus fungsional pada kerangka dasar dengan mengganti, mengubah, dan menghilangkan atau menambahkan suatu gugus pada kerangka senyawa tersebut. Banyak penelitian telah melaporkan tentang isolasi dan modifikasi struktur senyawa turunan santon karena nilai terapeutiknya meningkat menjadi lebih aktif.

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa modifikasi struktur dapat meningkatkan bioaktivitas senyawa. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dilaporkan potensial melawan diabetes mellitus sehingga flavonoid saat ini dianggap sebagai salah satu produk alami yang menjanjikan dan sangat penting untuk terapi diabetes mellitus. Wagonin (**26**) merupakan senyawa flavon yang telah diisolasi dari daun *Tetracera indica* kemudian diasetilasi menghasilkan wagonin asetat (**27**). Selanjutnya senyawa wagonin dan wagonin asetat diuji aktivitas pelepasan insulin menggunakan metode RIN-5F *pancreatic cell line* dan glibenclamide sebagai kontrol positif untuk mengetahui kemampuannya sebagai senyawa antidiabetes. Pelepasan insulin dari sel beta pankreas berperan dalam keseimbangan kadar glukosa dalam darah. Hasil uji aktivitas pelepasan insulin senyawa wagonin dan wagonin asetat dapat dilihat pada Gambar 2.6.

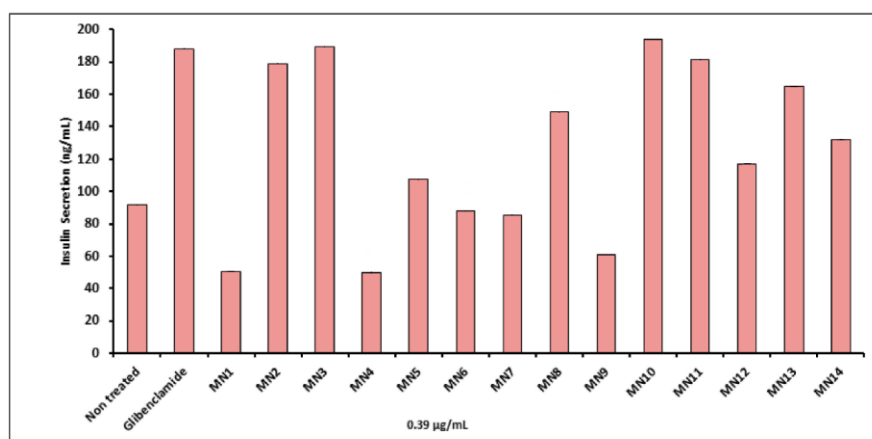


(26)



(27)

MN 1 : Wagonin
 MN 2 : Metil eter wagonin
 MN 3 : Wagonin asetat
 MN 4 : Tectochrysin
 MN 5 : 8-hidroksi-7-
 metoksiflavon
 MN 6 : Chrysin
 MN 7 : Norwagonin
 MN 8 : Norwagonin asetat
 MN 9 : Isoscutellarein
 MN 10 : Hypolaetin
 MN 11 : Kaempferol
 MN 12 : Quersetin
 MN 13 : Catechin
 MN 14 : Epicatechin



Gambar 2.6 Efek senyawa flavonoid terhadap aktivitas sekresi insulin menggunakan metode RIN-5F *pancreatic cell*

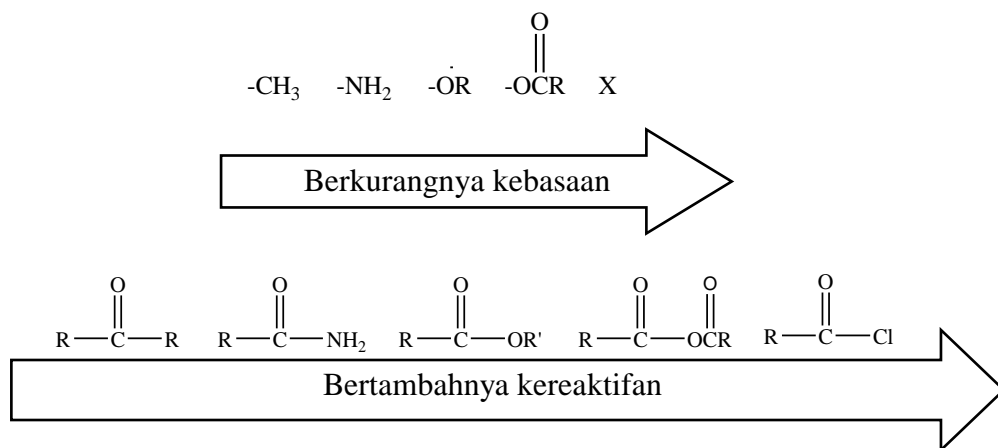
Pada Gambar 2.6, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas pelepasan insulin dari senyawa wagonin dan wagonin asetat, bahkan aktivitas pelepasan insulin senyawa wagonin asetat hampir sama dengan aktivitas pelepasan insulin glibenklamide sebagai positif kontrol (Ahmed *et al.*, 2018).

Senyawa α -mangostin (**1**) merupakan senyawa potensial sebagai antikanker yang dihasilkan dalam jumlah banyak dari batang *Cratoxylum cochinchinense* kemudian senyawa α -mangostin (**1**) dimodifikasi dengan asetat anhidrida menghasilkan 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**). Selanjutnya senyawa α -mangostin (**1**) dan 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**) diuji aktivitas antikanker menggunakan metode HT-29 *human colon cancer cell line* dan paclitaxel sebagai kontrol positif (ED_{50} 0,10 μ M). Hasil uji antikanker terhadap α -mangostin (**1**) mempunyai nilai ED_{50} 4,1 μ M sedangkan untuk senyawa turunannya 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**) mempunyai nilai ED_{50} 1,0 μ M (Ren *et al.*, 2011).

Reaksi asetilasi adalah reaksi memasukkan gugus asetil (CH_3CO^+) ke dalam gugus molekul organik seperti (-OH dan $-NH_2$). Reagen yang paling umum adalah anhidrida asam asetat atau asetil klorida. Reaksi asetilasi terhadap gugus OH penting dan biasanya digunakan pada modifikasi senyawa organik. Diantara gugus-gugus pelindung untuk OH, asetil adalah gugus yang biasa digunakan karena stabil dalam reaksi keadaan asam dan mudah dihilangkan dengan hidrolisis menggunakan alkali. Reaksi asetilasi sama dengan reaksi esterifikasi, yaitu reaksi antara alkohol dan asam yang menghasilkan ester dan air (Heravi, 2007).

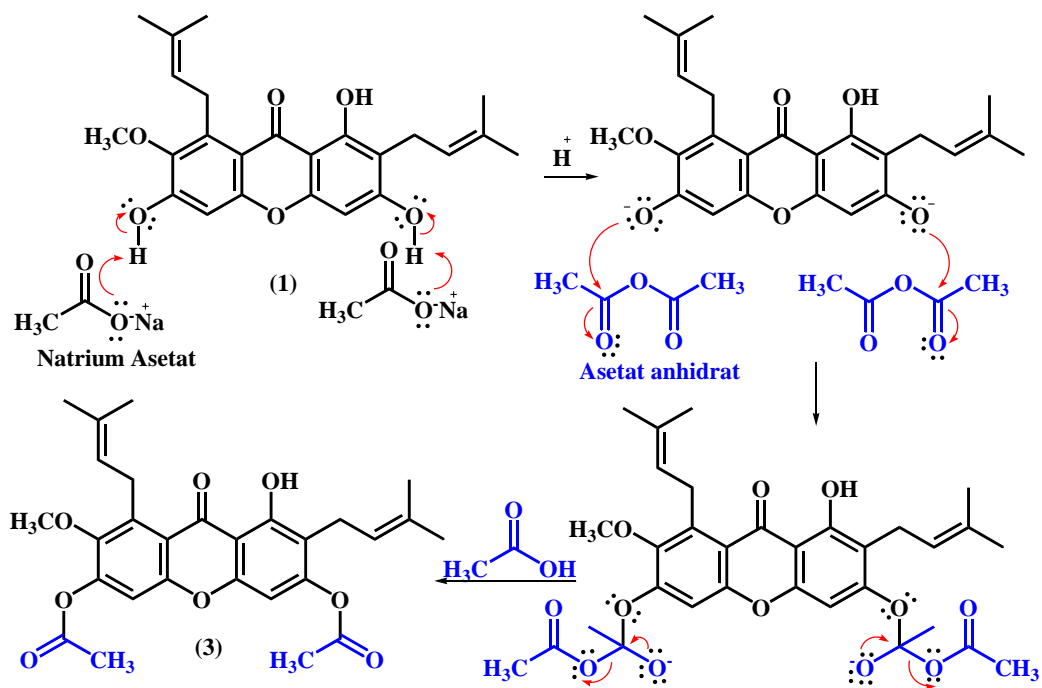
Reaksi esterifikasi adalah reaksi antara alkohol dengan asam karboksilat dan turunan asamnya yang menghasilkan senyawa ester. Pembuatan ester dari fenol dapat dibuat dengan baik dari turunan asam, seperti anhidrida asetat atau asetil klorida. Turunan asam ini lebih reaktif daripada asam karboksilat, sehingga pembuatan ester dari alkohol dan anhidrida asam atau asetil klorida dapat memberikan hasil yang lebih baik (Bulan, 2004).

Derivat asam karboksilat mengandung gugus pergi yang terikat pada karbon asil. Gugus pergi yang baik merupakan suatu basa lemah. Oleh karena itu Cl^- adalah gugus pergi yang baik, tetapi OH dan OR merupakan gugus pergi yang jelek. Kereaktifan senyawa karbonil terhadap substitusi pada karbon karbonil dapat disebabkan langsung oleh kebasaaan gugus perginya dapat dilihat pada Gambar 2.7 berikut:



Gambar 2.7 Kereaktifan senyawa karbonil

Klorida asam dan anhidrida asam, yang mempunyai gugus pergi yang baik mudah diserang oleh air. Bertambahnya kereaktifan dikarenakan berkurangnya kebasaaan suatu gugus pergi, sehingga bertambah mudahnya untuk ditukargantikan. Reaksi asetilasi pembentukan santon asetat dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reaksi asetilasi pembentukan santon asetat (Liu, *et al.*, 2006)

2.5 Metode Ekstraksi, Fraksinasi, dan Pemurnian Senyawa

Ekstraksi merupakan metode pemisahan senyawa dari campuran homogen berdasarkan perbedaan kelarutan zat terlarut dalam suatu pelarut. Prinsip distribusi zat terlarut terhadap pelarut adalah *like dissolve like*. Penggunaan campuran dua pelarut atau lebih dengan kepolaran berbeda atau peningkatan kepolaran pelarut dapat mempengaruhi hasil ekstraksi (Ersam, 2012).

Metode ekstraksi berdasarkan wujud sampel dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Maserasi merupakan salah satu teknik ekstraksi padat cair dengan cara merendam sampel dengan pelarut pada temperatur ruang dalam wadah tertutup selama periode tertentu (Deshmukh *et al.*, 2017).

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa dari hasil ekstrak menjadi beberapa fraksi. Pembagian fraksi berdasarkan tingkat kelarutan senyawa terhadap pelarut dengan kepolaran yang sama atau berdekatan. Proses fraksinasi dapat dilakukan dengan metode kromatografi. Kromatografi adalah metode pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi fasa gerak terhadap fasa diam. Fasa

gerak pada metode ini merupakan pelarut (eluen) yang membawa senyawa terlarut dan fasa diamnya berupa adsorben (Cooper & Nicola, 2014). Beberapa metode kromatografi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi kolom grafitasi, kromatografi cair vakum, dan kromatografi lapis tipis preparatif.

Kromatografi kolom grafitasi (KKG) merupakan metode kromatografi dengan prinsip adsorpsi. Fasa diam metode ini berupa silika gel atau alumina yang dimasukkan pada kolom dan fasa gerak berupa pelarut. Selain itu, sephadex LH-20 dapat digunakan sebagai fasa diam. Pada metode ini, pelarut dialirkan ke dalam kolom yang telah diisi fasa diam dan hasil ekstrak sampel. Jenis eluen yang dimasukkan pada kolom berdasarkan hasil uji KLT. Fasa gerak akan mengalir akibat gaya gravitasi dan komponen senyawa akan terpisah berdasarkan kecepatan distribusinya terhadap fasa diam. Perlakuan ini terus diulang sampai diperoleh senyawa murni (Yang *et al.*, 2012).

Kromatografi cair vakum (KCV) merupakan teknik kromatografi kolom dengan penambahan pompa vakum. Pada teknik ini, sampel terlebih dahulu diimpregnasi dengan silika gel kemudian dimasukkan ke dalam kolom terisi silika secara rata. Selanjutnya eluen dialirkan sampai mengisi rongga-rongga adsorben dan mengelusi senyawa dengan sifat yang sama. Proses dihentikan saat fraksi berbagai pelarut telah diperoleh (Bo, 2004).

Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTp) merupakan teknik kromatografi dengan penggunaan fasa diam berupa silika gel yang dilapiskan pada lempeng tipis. Kemudian lempeng silika diberi cuplikan fraksi atau campuran senyawa yang akan dipisahkan. Proses pemisahan dilakukan pada chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan sebelumnya. Pemisahan tersebut diakhiri jika eluen sudah mencapai batas atas yang telah ditentukan. Selanjutnya senyawa yang telah terpisah dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan tersebut diuapkan sehingga dapat diperoleh senyawa yang diinginkan. Pada metode kromatografi dengan adsorben silika gel, senyawa-senyawa nonpolar terelusi lebih cepat daripada senyawa-senyawa polar. Hal ini disebabkan senyawa polar terikat lebih kuat dengan silanol (SiOH_2) yang bersifat polar pada silika gel (Kristanti, 2008).

Pemurnian senyawa hasil ekstraksi dan fraksinasi dapat dilakukan dengan kristalisasi dan rekristalisasi:

Kristalisasi merupakan suatu metode pemurnian zat padat berdasarkan pada perbedaan kelarutan dari masing-masing komponen yang tercampur dalam pelarut dan yang bersifat tidak bereaksi dengan sampel, dapat melarutkan sampel dengan sempurna pada suhu panas dan tidak melarutkan sampel pada suhu kamar, titik didih pelarut harus lebih rendah dibanding titik didih sampel. Caranya dengan melarutkan zat padat dengan pelarut yang sesuai dan dipanaskan. Larutan kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan pengotor. Filtrat yang mengalami pendinginan akan membentuk kristal. Kristal dicuci dengan pelarut yang tidak melarutkan sehingga kristal bebas dari pengotor (Jannes, 1992).

Rekristalisasi adalah salah satu cara memperoleh zat yang lebih murni, yaitu dengan kristalisasi yang dilakukan secara berulang-ulang. Metode pemisahan campuran dengan tingkat pemurnian yang lebih tinggi ini memiliki enam tahapan utama, antara lain:

1. Memilih pelarut yang tepat
2. Pemanasan
3. Penyaringan dengan kertas saring
4. Pendinginan yang berfungsi membentuk kristal – kristal
5. Memisahkan kristal-kristal dari zat pengotornya
6. Pengeringan yang dapat dilakukan dalam oven, desikator, atau dengan sublimasi.

2.6 Elusidasi Struktur

Elusidasi struktur dapat dilakukan dengan metode spektroskopi Inframerah (IR), dan Resonansi Magnetik Inti (NMR). Prinsip dasar dari spektroskopi adalah melewatkan gelombang elektromagnetik pada molekul organik sehingga terjadi penyerapan sejumlah sinar. Sinar yang diserap oleh molekul kemudian diukur dan digambarkan dalam bentuk spektrum (Suarsa, 2015).

Teknik analisis spektrofotometri UV memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrument spektroskopi. Spektrofotometri UV lebih banyak

menggunakan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif (Helwandi, 2016).

Teknik analisis spektroskopi Inframerah (IR) dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional seperti C=O, C=C, -OH, dan lain-lain dalam suatu senyawa organik, yang didasarkan pada vibrasi dari gugus fungsional dari suatu senyawa. Radiasi IR yang digunakan untuk analisis instrumental adalah radiasi IR yang rentang bilangan gelombangnya antara 4000-670 cm^{-1} . Radiasi pada rentang 4000 hingga 1600 cm^{-1} disebut daerah gugus fungsi, sedangkan radiasi pada rentang antara 1600-670 cm^{-1} disebut daerah sidik jari.

Spektrometer resonansi magnetik inti (NMR) dilakukan untuk mengamati inti proton ^1H dan karbon ^{13}C . Spektrum NMR memberikan informasi jenis proton/karbon, lingkungan proton/karbon, dan jumlah proton/karbon berdasarkan nilai pergeseran kimia. Spektrum ^1H -NMR berada pada rentang 0-12 ppm dan spektrum ^{13}C -NMR berada pada rentang 0-200 ppm downfield dengan TMS (tetrametilsilan) sebagai sinyal referensi (Negi *et al*, 2013).

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian yaitu peralatan gelas, meliputi : chamber, pipet tetes, pipet ukur, pipa kapiler, botol vial, kertas saring, aluminium foil, plastik kedap udara (*wrap*), pelat KLT Merck dengan silika gel 60 F₂₅₄ (Merck KGaA 64271, Darmstadt, Germany), pelat KLT preparatif (KLTp), neraca digital (Fujitsu FS-AR210, Japan), maserator, *rotary evaporator* (Buchi R-210, Swiss), Fisher John *melting point Apparatus* (Philip Haris, U.S.A), peralatan kromatografi cair vakum (KCV), peralatan kromatografi kolom gravitasi (KKG), lampu UV ($\lambda=254$ dan 366 nm), serta spektroskopi UV-Vis Genesys 10S (ThermoFisher, U.S.A), FT-IR 8400S (Shimadzu, Japan), NMR DELTA2_JEOL ECS 400 MHz (JEOL, Japan), dan HRESIMS (ThermoFinnigan, Bremen, Germany).

3.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel kulit buah *G. mangostana* Linn. dari Bondowoso, pelarut *n*-heksana (C₆H₁₄), diklorometana (CH₂Cl₂), etil asetat (CH₃COOC₂H₅), dan metanol (CH₃OH), serta bahan lain yaitu silika gel Merck 60 G untuk KCV, silika gel 60 (70-230 mesh) untuk KKG, silika gel 60 GF₂₅₄ sebagai fasa diam pada pelat KLTp, pereaksi penampak noda serium sulfat (Ce(SO₄)₂) 1,5% dalam asam sulfat (H₂SO₄) 2N, reagen geser untuk uji UV yaitu NaOH, AlCl₃ dan HCl, pelarut untuk uji NMR aseton-*d*₆, dan KBr (kalium bromida) untuk uji IR, natrium asetat, asetat anhidrat, air es, MgSO₄, petroleum eter, aseton, diklorometana, dan metanol, enzim *rat intestinal acetone powder* (Sigma, 1630-10G), sukrosa, buffer fosfat (Na₂HPO₄ dan KH₂PO₄), *glucose-kit liquor*, akarbosa, aquades, DMSO, HCl, dan NaOH.

3.2. Prosedur Kerja

3.2.1 Persiapan Bahan

Sampel dalam penelitian ini adalah kulit buah *G. mangostana* Linn. asal Bondowoso. Sampel dibersihkan, dikeringkan, digiling, dan ditimbang sebanyak 8 kg. Bentuk serbuk sampel akan memberikan hasil lebih baik daripada bentuk potongan kecil (Azwanida, 2015).

3.2.2 Uji Pendahuluan

Serbuk sampel dimasukkan ke dalam empat botol kecil masing-masing sebanyak 10 g. Kemudian diekstrak secara maserasi dengan pelarut berbeda setiap botol yaitu *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol selama 24 jam. Selanjutnya, setiap filtrat hasil ekstrak dimonitoring dengan pengujian KLT. Eluen yang digunakan dalam uji tersebut sama dengan pelarut untuk ekstraksi (Stalikas, 2007). Noda pada pelat KLT dilihat di bawah lampu UV pada $\lambda=254$ nm dan $\lambda=366$ nm, kemudian disemprot dengan penampak noda 1,5% serium sulfat dalam asam sulfat 2N dan dikeringkan di dalam oven. Hasil uji pendahuluan tersebut digunakan sebagai acuan untuk proses pemisahan senyawa berdasarkan kecenderungannya terhadap pelarut.

3.2.3 Ekstraksi Senyawa

Serbuk sampel kering (8 kg) diekstrak secara maserasi dengan pelarut berturut-turut yaitu *n*-heksana dan etil asetat masing-masing selama 3x24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya masing-masing filtrat hasil ekstraksi disaring dan diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* Buchi R-210 (Stalikas, 2007) sehingga didapatkan ekstrak pekat *n*-heksana dan etil asetat. Penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi didasarkan pada profil kromatogram hasil uji pendahuluan.

3.2.4 Pemisahan dan Identifikasi Senyawa

Ekstrak pekat sampel dipisahkan dengan metode fraksinasi kromatografi cair vakum (KCV). Fasa diam yang digunakan adalah silika gel 60G dan fasa geraknya berupa eluen (dilakukan dengan sistem *increasing polarity*). Hasil fraksinasi KCV diperoleh fraksi-fraksi yang ditampung di dalam botol kecil (300

mL), lalu diuji KLT dan diamati profil pemisahan senyawanya. Fraksi-fraksi yang memiliki nilai faktor retensi (R_f) yang sama digabung, sehingga akan diperoleh jumlah fraksi yang lebih sederhana.

Fraksinasi kedua dilakukan dengan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG). Fraksi pilihan (dipilih berdasarkan pengamatan kromatogram) dari fraksinasi KCV dire-fraksinasi dengan KKG menggunakan silika gel 70-230 mesh sebagai fasa diamnya. Dari hasil KKG akan diperoleh fraksi-fraksi (perlakuan yang sama dengan KCV). Hasil akhir dari proses pemisahan fraksinasi diharapkan merupakan suatu senyawa murni. Untuk menguji kemurnian dari senyawa yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan proses rekristalisasi untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang masih tersisa. Uji kemurnian dilakukan dengan metode kromatografi KLT sistem tiga eluen, dan uji titik leleh. Tahap terakhir yaitu penentuan struktur terhadap senyawa yang diperoleh dengan spektroskopi UV-Vis, FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, dan HRESIMS (Stalikas, 2007).

3.2.5 Modifikasi Senyawa Santon Asetat

α -Mangostin (41 mg ; 0.1 mmol) dilarutkan dalam asetat anhidrat (2.5 mL) kemudian ditambahkan natrium asetat (10.3 mg ; 0.125 mmol). Campuran reaksi diaduk dengan *stirrer* pada 60 °C selama 3-5 jam (dimonitoring dengan KLT) dilanjutkan dengan evaporasi pada tekanan rendah. Residu yang diperoleh dipartisi dengan air (30 mL) dan kloroform (15 mL), dan lapisan organik dipisahkan, diuapkan pelarutnya dengan tekanan rendah, dan dipisahkan menggunakan kromatografi (Liu *et al.*, 2006). Produk asetilasi diidentifikasi dengan spektroskopi $^{13}\text{C-NMR}$.

3.2.6 Aktivitas Antidiabetes Metode Penghambatan Enzim α - Glukosidase

Uji antidiabetes dilakukan dengan metode uji penghambatan α -glukosidase (Yuliana, 2019) yang dimodifikasi. Uji antidiabetes dilakukan dengan enzim *rat intestinal acetone powder*, larutan buffer fosfat (pH 6,9), dan substrat berupa sukrosa. Larutan uji sampel dibuat dengan cara melarutkan 10 mg sampel dalam 1 mL DMSO.

Larutan buffer fosfat (pH 6,9) dibuat dengan cara melarutkan 2,72 gram KH_2PO_4 dalam 100 mL aquades DM dan melarutkan Na_2HPO_4 sebanyak 2,84 gram dalam 100 mL aquades DM. Kedua larutan (KH_2PO_4 dan Na_2HPO_4) dicampurkan dan diukur pHnya sampai mencapai pH 6.9 dengan menambahkan NaOH atau HCl.

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan enzim rat intestinal acetone powder sebanyak 1 gram dengan 30 mL natrium klorida 0,9% (w/v NaCl) dalam tabung sentrifuge 50 mL, dihomogenkan dengan sonikator selama 30 detik, dan disentrifugasi (3000 rpm) selama 30 menit. Filtrat selanjutnya dipisahkan dan disimpan pada suhu 20 °C. Larutan substrat dibuat dari 1,71 gram sukrosa yang dilarutkan dalam larutan buffer fosfat (pH 6,9).

Uji antidiabetes dilakukan dengan menambahkan 10 μL DMSO pada eppendorf 1-4 yang dilanjutkan dengan penambahan 50 μL buffer fosfat (pH 6,9) pada eppendorf 1 dan 3, dan 30 μL buffer fosfat (pH 6,9) pada eppendorf 2 dan 4. Substrat sukrosa (20 μL) ditambahkan pada eppendorf 2 dan 4. Selanjutnya glukosa kit (80 μL) dan enzim (20 μL) ditambahkan pada semua eppendorf, dan eppendorf diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. Setelah inkubasi, serapan diukur pada panjang gelombang (λ) 520 nm. Sistem pengujian enzim α -glukosidase bisa dilihat pada Tabel 3.1 dan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase (%) dihitung dengan persamaan dibawah ini:

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(A \text{ Blank} - A \text{ Sampel})}{A \text{ Blank}} \times 100\%$$

Keterangan:

$$A \text{ Blank} = A \text{ reaksi enzim} - A \text{ blanko reaksi enzim}$$

$$A \text{ Sampel} = A \text{ reaksi sampel} - A \text{ blanko reaksi sampel}$$

Tabel 3.1 Struktur Pengujian Enzim α -Glukosidase

<p>Blanko dari reaksi enzim (1) DMSO (10 μL) + buffer (50 μL) + glukosa kit (80 μL) + enzim (20 μL)</p>	<p>Reaksi enzim (2) DMSO (10 μL) + buffer (30 μL) + sukrosa (20 μL) + glukosa kit (80 μL) + enzim (20 μL)</p>
<p>Blanko dari reaksi sampel (3) Sampel (10 μL) + buffer (50 μL) + glukosa kit (80 μL) + enzim (20 μL)</p>	<p>Reaksi sampel (4) Sampel (10 μL) + buffer (30 μL) + sukrosa (20 μL) + glukosa kit (80 μL) + enzim (20 μL)</p>

Halaman ini sengaja dikosongkan

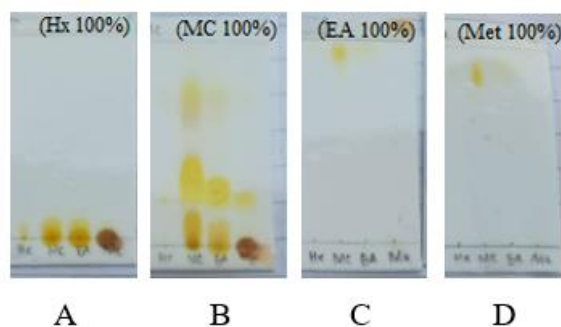
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan pelarut yang dapat mengekstrak sempurna senyawa yang terkandung dalam sampel kulit buah *G. mangostana* Linn. Pada uji pendahuluan, sebanyak 10 g kulit kering halus buah manggis dimaserasi dengan 15 mL pelarut organik yaitu *n*-heksan, diklorometan, etil asetat, metanol selama 24 jam. Selanjutnya didapatkan ekstrak kulit buah dari masing-masing pelarut dan diujikan pada plat kromatografi lapis tipis dan dielusi dengan pelarut organik yaitu *n*-heksan, diklorometan, etil asetat, metanol. kemudian digunakan penampak noda larutan cerium sulfat ($\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$) dan dipanaskan pada suhu 60-70 °C, sampai terlihat profil noda berwarna kuning, seperti pada (Gambar 4.1).

Performa kromatogram KLT pada Gambar 4.1 A senyawa yang terkandung dalam sampel tetap pada base line, kromatogram KLT pada Gambar 4.1 B tampak banyak noda senyawa yang terkandung dalam sampel sehingga dibutuhkan pemisahan yang berulang-ulang, kromatogram KLT pada Gambar 4.1 C tampak tidak banyak noda senyawa dalam sampel, sedangkan kromatogram KLT pada Gambar 4.1 D noda senyawa tidak tampak, hasil analisis dari kromatogram KLT pada Gambar 4.1, memperlihatkan bahwa pelarut etil asetat mempunyai kemampuan mengekstrak komponen-komponen yang lebih baik dan digunakan sebagai pelarut untuk maserasi pada proses ekstraksi sampel penelitian ini.



Gambar 4.1 Kromatogram KLT uji pendahuluan eluen tunggal A. *n*-heksan, B. diklorometana, C. etil asetat, D. metanol

4.2 Hasil Ekstraksi Senyawa dari Kulit Buah *Garcinia mangostana* Linn.

4.2.1 Hasil Ekstraksi

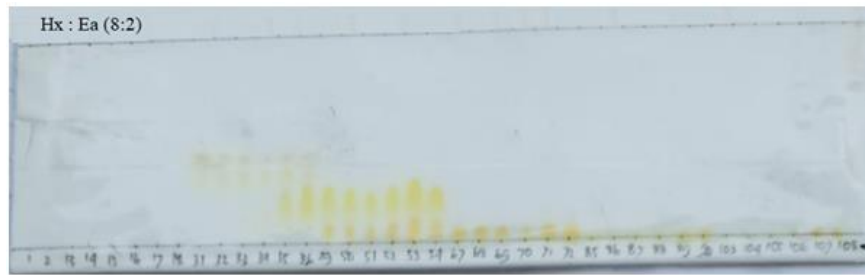
Sebanyak 8 kg kulit buah *G. mangostana* Linn.yang diekstraksi dengan etil asetat yang diperoleh dari hasil uji pendahuluan. Metode maserasi dipilih karena prosesnya sederhana, mudah, serta dilakukan pada suhu kamar. Maserasi dilakukan dengan 5 L pelarut etil asetat tiap 3x24 jam. Selanjutnya, ekstrak etil asetat dievaporasi dengan *rotary evaporator* menghasilkan 535.01 g ekstrak etil asetat (Gambar 4.2)



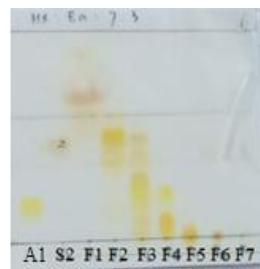
Gambar 4.2 Ekstrak etil asetat kering

4.2.2 Hasil Isolasi Senyawa

Sebanyak 90 g ekstrak etil asetat difraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum diatas silika gel dan dielusi secara gradien dengan campuran eluen *n*-Hx:EA, yang ditingkatkan kepolarannya, dihasilkan (120 *vial*, @100 mL), Faksi-fraksi ini di monitoring dengan plat KLT dan dielusi dengan eluen (*n*-Hx:EA, 8:2) menggunakan penampakan noda larutan Cerium sulfat ($Ce_2(SO_4)_3$), dan dipanaskan pada suhu 60-70 °C, sampai terlihat profil noda pada kromatogram KLT Gambar 4.3. Noda-noda dengan nilai *R_f* yang relatif sama dikelompokkan dan dihasilkan tujuh fraksi gabungan (F1-F7) dengan profil noda seperti pada kromatogram KLT Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Kromatogram KLT hasil fraksinasi ekstrak etil asetat kulit buah manggis eluen *n*-heksan : etil asetat 8:2



Gambar 4.4 Kromatogram KLT fraksi gabungan ekstrak etil asetat kulit buah manggis yang dielusi dengan *n*-heksan:etil asetat 7 : 3

Hasil fraksi gabungan 3 didapatkan dua fasa yakni padat dan cair, padatan dipisahkan menggunakan penyaring vakum dihasilkan padatan berwarna kuning, sebanyak 8,80 g, sebagai A1, dimonitoring kromatogram KLT menghasilkan noda tunggal, seperti pada Gambar 4.5 yang selanjutnya diuji kemurnian dengan sistim campuran tiga eluen dengan kepolaran berbeda, dihasilkan tiga noda tunggal dengan harga *R_f* yang berbeda, hasil ini menunjukkan padatan A1 telah murni, sesuai dengan hasil uji titik leleh = 174-175 °C.



Gambar 4.5 Kromatogram KLT padatan 1 (A1) dari fraksi 3 eluen *n*-heksan:etil asetat 6 : 4

Fraksi 3 dilakukan refraksinasi menggunakan KCV dan dielusi dengan eluen *n*-heksan-etil asetat yang ditingkatkan kepolaran (*increasing polarity*) dihasilkan lima subfraksi, hasil monitoring dengan kromatogram KLT (Gambar 4.6). Hal yang sama dengan sebelumnya, maka pada subfraksi F3.3, juga terbentuk dua fasa, padatan yang terbentuk dipisahkan dengan penyaring vakum dan dilakukan rekristalisasi dengan *n*-heksan dan etil asetat dihasilkan padatan berwarna kuning, sebanyak 9,73g, sebagai A2 selanjutnya dimonitoring kromatogram KLT menghasilkan noda tunggal pada Gambar 4.7.



Gambar 4.6 Kromatogram KLT refraksinasi fraksi 3 yang dielusi dengan *n*-heksan : etil asetat 50%



Gambar 4.7 Kromatogram KLT padatan 2 (A2) dari subfraksi F3.3 eluen *n*-heksan : etil asetat 6 : 4

Fraksi 4 dilakukan refraksinasi metode kromatografi cair vakum eluen *n*-heksan-etil asetat (*increasing polarity*) menghasilkan lima subfraksi. Hasil monitoring dengan kromatogram KLT (Gambar 4.8). Hal yang sama dengan sebelumnya, maka pada subfraksi F4.2, juga terbentuk dua fasa, padatan yang terbentuk dipisahkan menggunakan penyaring vakum dihasilkan padatan

berwarna kuning, sebanyak 3,13g, sebagai A3, dimonitoring kromatogram KLT menghasilkan noda tunggal pada Gambar 4.9.



Gambar 4.8 Kromatogram KLT refraksinasi fraksi 4 yang dielusi dengan diklorometana : metanol 94 :6

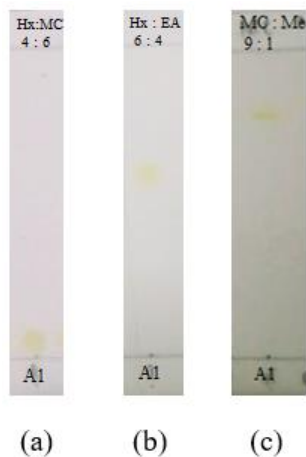


Gambar 4.9 Kromatogram KLT padatan 3 (A3) dari subfraksi F4.2 eluen *n*-heksan :etil asetat 6 : 4

Padatan A1, A2 dan A3, memperlihatkan harga *R_f* yang relatif sama pada kromatogram KLT, hal ini dapat dinyatakan sebagai senyawa yang sama, seperti diperlihatkan pada kromatogram KLT Gambar 4.11. Ketiga padatan tersebut digabungkan dan dinyatakan sebagai senyawa **1** dengan massa total sebanyak 21,66g berasal dari A1 (8,80g) + A2 (9,73g) + A3 (3,13g). Hasil pengujian kemurnian senyawa **1** diperlihatkan pada Gambar 4.11 Kromatogram KLT senyawa **1** dengan pengujian sistem tiga eluen, yaitu: (a). *n*-heksan:diklorometana (4 : 6), (b). *n*-heksan : etil asetat (6 : 4), dan (c). diklorometana:methanol (9 : 1)



Gambar 4.10 Kromatogram KLT padatan A1, padatan A2, padatan A3 eluen *n*-heksan:etil asetat 6 : 4

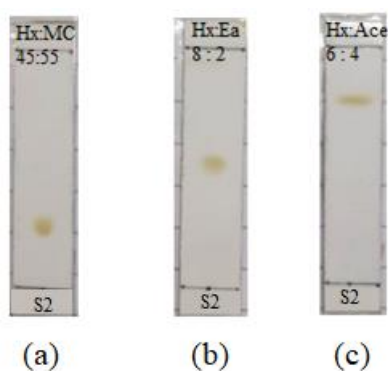


Gambar 4.11 Kromatogram KLT senyawa **1** dengan pengujian sistem tiga eluen, yaitu: (a). *n*-heksan: diklorometana (4: 6), (b). *n*-heksan: etil asetat (6: 4), dan (c). diklorometana: metanol (9 : 1)

Selanjutnya pada fraksi gabungan 2 juga didapatkan dua fasa yakni padat dan cair, padatan dipisahkan menggunakan penyaring vakum dihasilkan kristal berwarna kuning berbentuk jarum, sebanyak 0,34g, yang disebut sebagai senyawa **2**, hasil monitoring dengan kromatogram KLT dihasilkan noda tunggal, seperti pada Gambar 4.12, menggunakan eluen *n*-heksan: etil asetat (8:2), yang selanjutnya diuji kemurnian dengan sistem campuran tiga eluen dengan kepolaran berbeda, dihasilkan tiga noda tunggal dengan harga *R_f* yang berbeda, seperti pada Gambar 4.13, hal ini menunjukkan senyawa ini sudah murni, demikian pula dengan hasil uji titik leleh = 155-156 °C.



Gambar 4.12 Kromatogram KLT senyawa **2** dari fraksi gabungan 2 dengan eluen *n*-heksan : etil asetat (8 : 2)



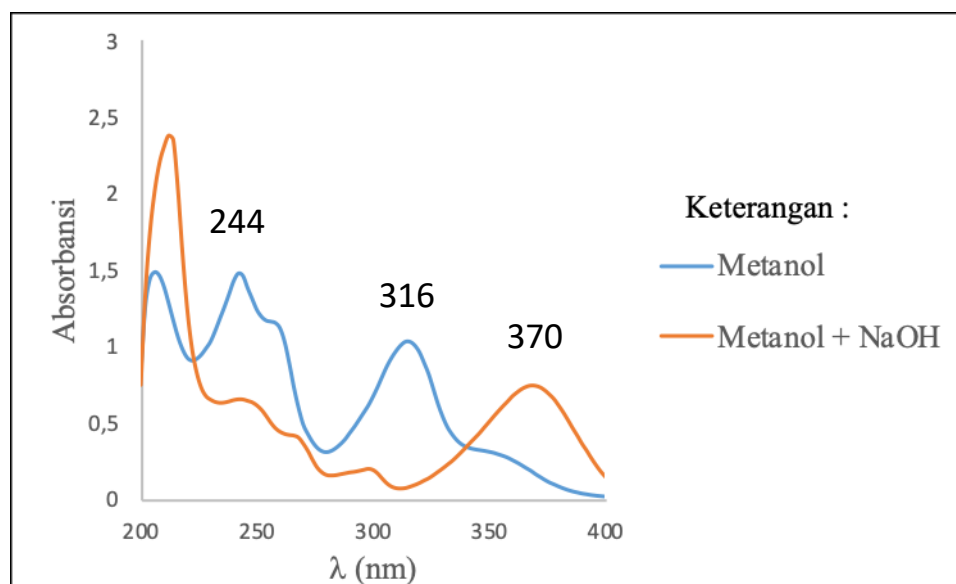
Gambar 4.13 Kromatogram KLT senyawa **2** dengan pengujian sistem tiga eluen, yaitu: (a). *n*-heksan: diklorometana (45 :55), (b). *n*-heksan: etil asetat (8 : 2), dan (c). *n*-heksan: aseton (6:4)

4.3 Identifikasi Senyawa

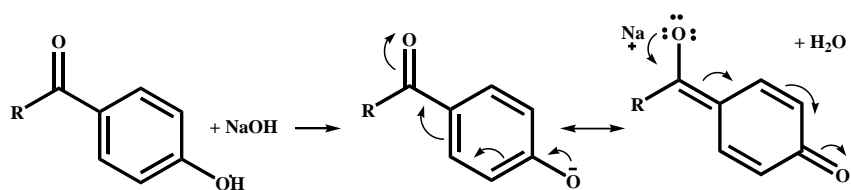
Penentuan struktur terhadap senyawa-senyawa yang dihasilkan dalam penelitian ini, dilakukan dengan memanfaatkan data spektrum dari berbagai teknik spektroskopi, seperti spektra dari UV-Vis, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, dan HRESIMS. Proses penentuan struktur senyawa menggunakan masing-masing spektra diuraikan berikut ini:

4.3.1 Senyawa 1

Hasil analisis spektrum UV-Vis senyawa **1**, seperti dilihat pada Gambar 4.14, menunjukkan memiliki dua puncak serapan, yaitu pita II pada panjang gelombang (λ) 244 nm dan pita I pada λ 316 nm. Pita II adalah transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang merupakan ciri khas ikatan rangkap terkonjugasi ($-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$) untuk cincin aromatik, sedangkan pita I adalah transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang merupakan ciri khas sistem terkonjugasi heteroatom dengan cincin aromatik ($\text{Ar}-\text{C}=\text{O}$). Berdasarkan hal ini maka senyawa **1** diprediksi sebagai senyawa yang mempunyai cincin aromatik tersubstitusi gugus karbonil. Selanjutnya, penambahan pereaksi geser NaOH dilakukan untuk mengetahui adanya gugus hidroksi pada posisi *ortho*- dan *para*-. Penambahan pereaksi geser NaOH menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik pada pita I, yaitu dari λ (316 ke 370) nm, menunjukkan bahwa gugus hidroksi pada cincin aromatik tersubstitusi pada posisi *para* terhadap gugus karbonil dan menyebabkan terjadinya kesetimbangan keto enol yang khas untuk senyawa fenolat seperti pada Gambar 4.15 (Lukis, 2011).

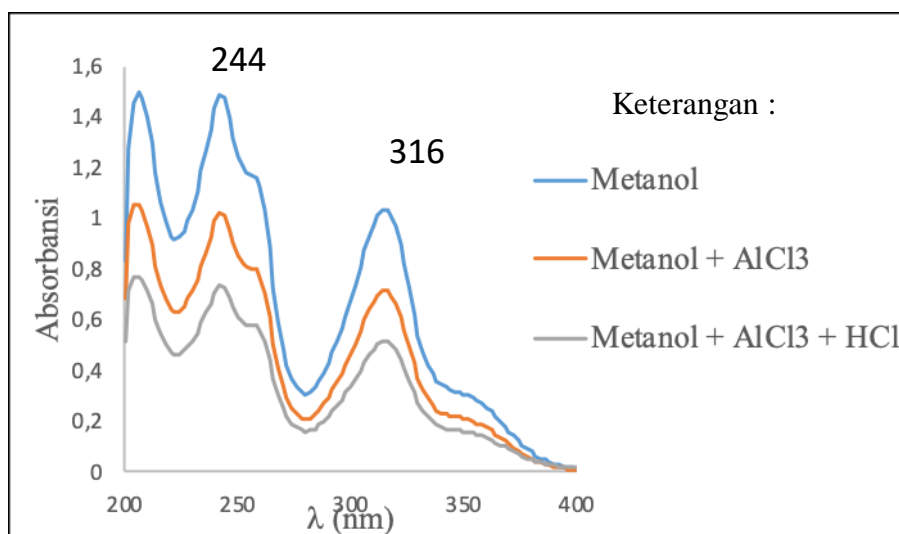


Gambar 4.14 Spektrum UV-Vis senyawa **1** dalam metanol dan metanol+NaOH



Gambar 4.15 Keseimbangan keto-enol senyawa **1**

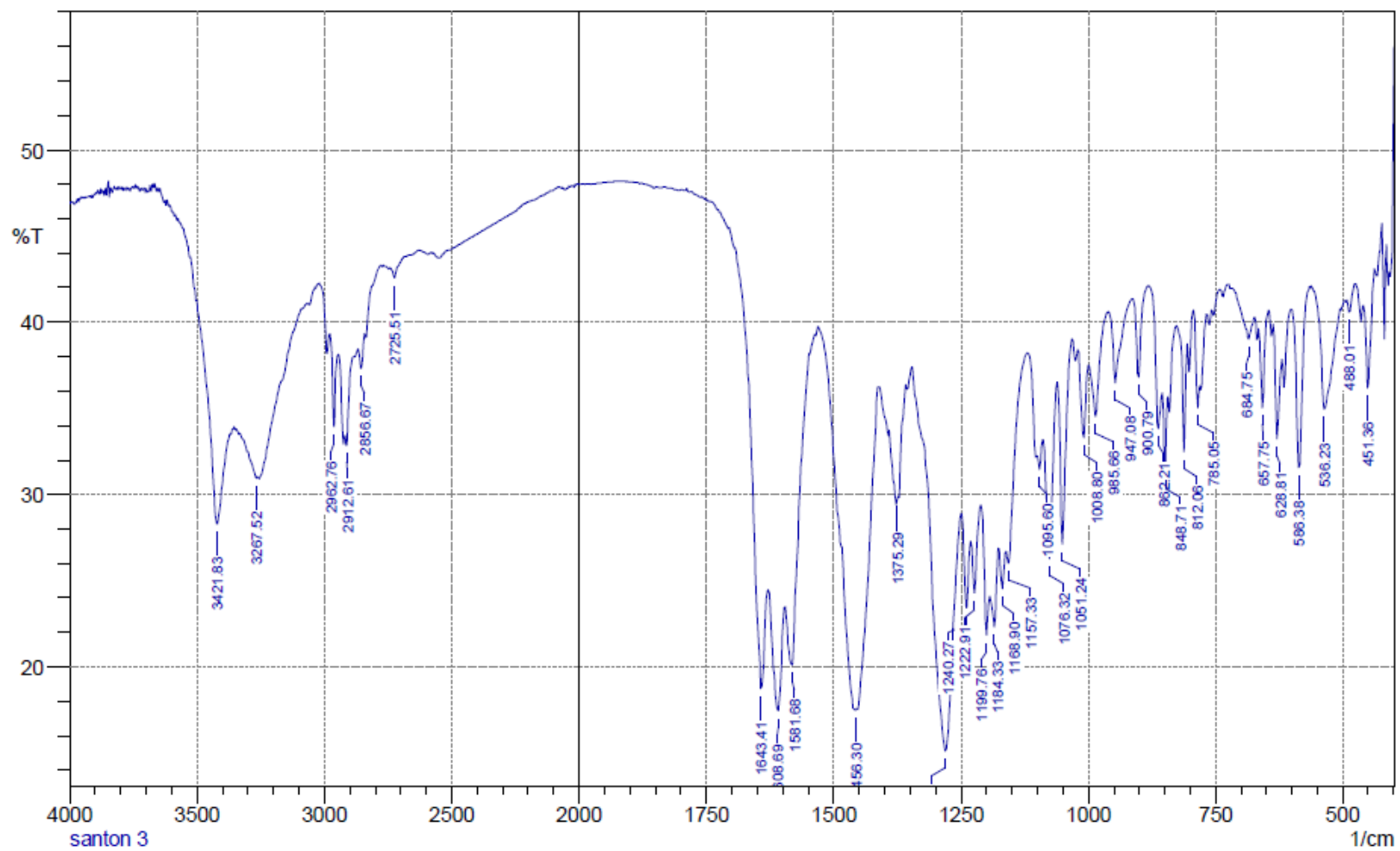
Penambahan pereaksi geser AlCl_3 pada senyawa **1**, kemudian dilakukan untuk mengetahui apakah gugus hidroksi tersebut berada pada posisi *ortho* yang membentuk khelat dengan Al, akan tetapi tidak terjadi pergeseran bathokromik. Hal ini diperkuat dengan penambahan pereaksi geser HCl juga tidak terjadi perubahan serapan Panjang gelombang, seperti pada Gambar 4.16. Dari data tersebut menunjukkan bahwa pada kerangka aromatik tidak terdapat gugus hidroksi pada posisi *ortho*.



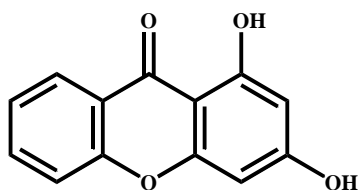
Gambar 4.16 Spektrum UV-Vis senyawa **1** dalam metanol, metanol+ AlCl_3 , dan metanol + AlCl_3 +HCl

Berdasarkan analisis UV, memperlihatkan bahwa senyawa **1** memiliki kerangka aromatik, yang tersubstitusi oleh gugus hidroksi sebagai senyawa fenolat dan gugus karbonil yang mengalami konjugasi dengan gugus -OH atau terjadi kesetimbangan keto enol, seperti pada Gambar 4.15.

Selanjutnya, senyawa **1** dianalisis dengan spektrum IR, seperti pada Gambar 4.17 memperlihatkan bahwa adanya sinyal pada bilangan gelombang ($\nu \text{ cm}^{-1}$) pada 3421 dan 3267 menyatakan terdapat gugus hidroksi bebas, adanya sinyal pada ($\nu \text{ cm}^{-1}$) 2856-2962 yang spesifik untuk gugus C-H alifatik, yang mewakili gugus metil ($-\text{CH}_3$), atau adanya gugus γ,γ -dimetilalil atau prenil, selanjutnya sinyal pada ($\nu \text{ cm}^{-1}$) 1456-1508 memberi indikasi dari ikatan ($-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$) konyugasi sebagai cincin aromatik tersubstitusi serta terlihat pula ($\nu \text{ cm}^{-1}$) pada 1643 khas untuk gugus khelat yang terjadi akibat interaksi antar gugus hidroksi ($-\text{OH}$) dan gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$), Berdasar hasil analisis dari spektrum UV dan IR untuk senyawa **1**, dapat diketahui terdapat cincin aromatik tersubstitusi gugus hidroksi, heteratom dari karbonil sebagai khelat yang khas untuk kerangka dasar santon yang juga tersubstitusi γ,γ -dimetilalil atau prenil, analisis ini diperkuat dengan hasil analisis (Lukis, 2011) yang identik sama. Dengan demikian, senyawa **1** memiliki kerangka dasar santon tersubstitusi gugus prenil, dan hidroksi, yang dapat disarankan seperti pada Gambar 4.18.

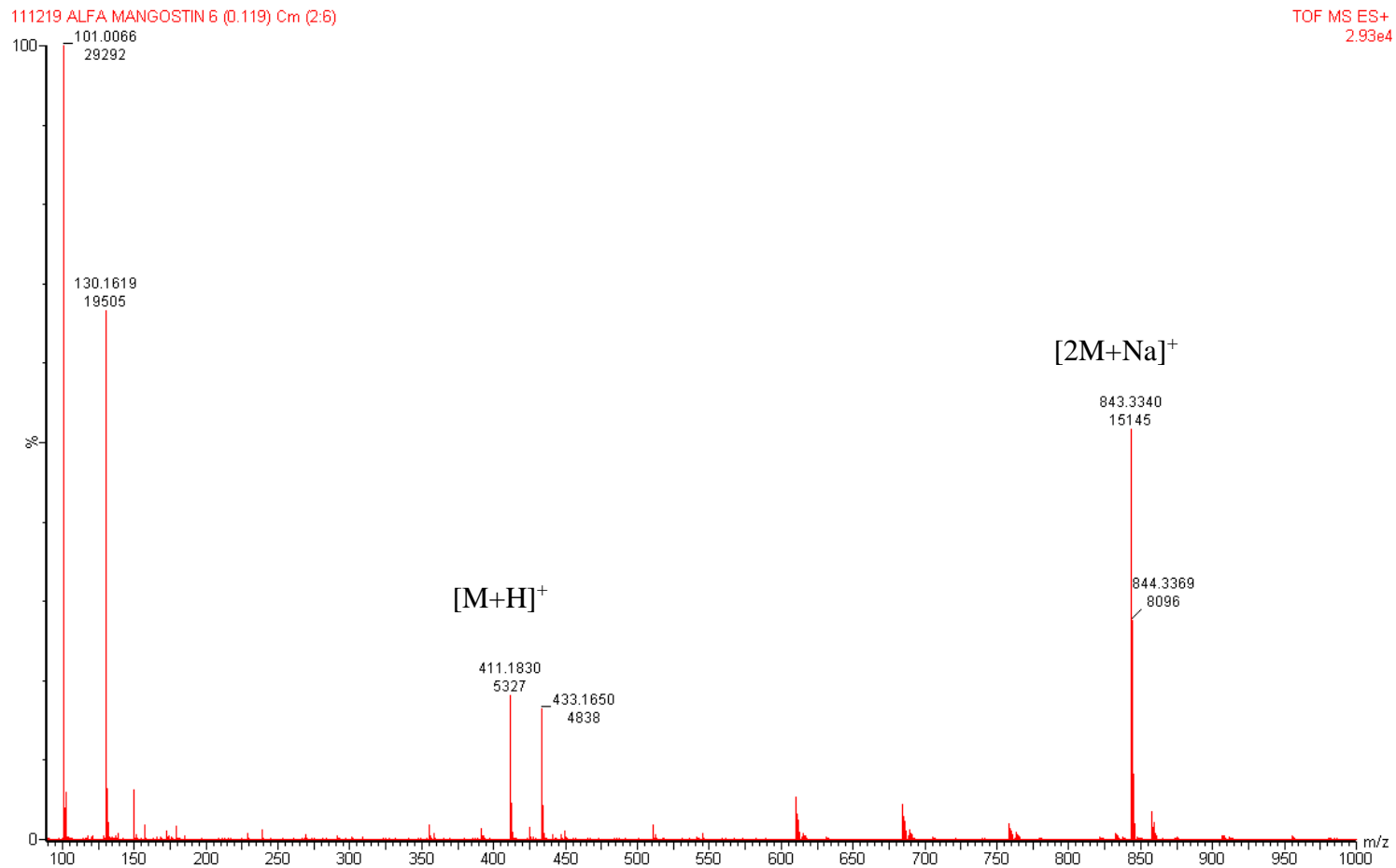


Gambar 4.17 Spektrum IR senyawa 1



Gambar 4.18 Saran kerangka dasar senyawa **1** hasil analisis spektra UV dan IR

Selanjutnya, senyawa **1** dianalisis dengan spektrum HRESIMS, seperti pada Gambar 4.19 menunjukkan bahwa ion molekul positif $[M+H]^+$ pada m/z 411,1830 (perhitungan 411,4546 untuk $C_{24}H_{26}O_6$) dan ion kuasi molekul positif $[2M+Na]^+$ pada m/z 843,3340, diperkuat oleh pernyataan (Sukandar *et al.*, 2019) bahwa ion molekul negatif $[M-H]^-$ pada m/z 409,1682 diprediksi mempunyai rumus molekul $C_{24}H_{26}O_6$. Berdasarkan hal tersebut, senyawa **1** diprediksi mempunyai rumus molekul $C_{24}H_{26}O_6$ dengan 12 DBE (*Double Bond Equivalent*). Berdasarkan data UV dan IR senyawa **1** yang telah dibahas, serta jumlah DBE maka senyawa **1** diprediksi merupakan senyawa santon dengan enam atom oksigen yang mempunyai dua ikatan π pada substituen (dua prenil atau satu geranil). Prediksi senyawa **1** jika dilihat dari jumlah atom karbon maka senyawa **1** merupakan senyawa dengan kerangka santon yang memiliki 13 atom karbon, dua gugus prenil atau satu gugus geranil, masing-masing dengan 10 atom karbon, dan gugus metoksi. Saran kerangka dasar senyawa **1** jika diperhatikan dari jumlah atom oksigen memiliki satu gugus karbonil khelat dengan gugus hidroksi, gugus metoksi dan dua gugus hidroksi bebas pada kerangka santon.

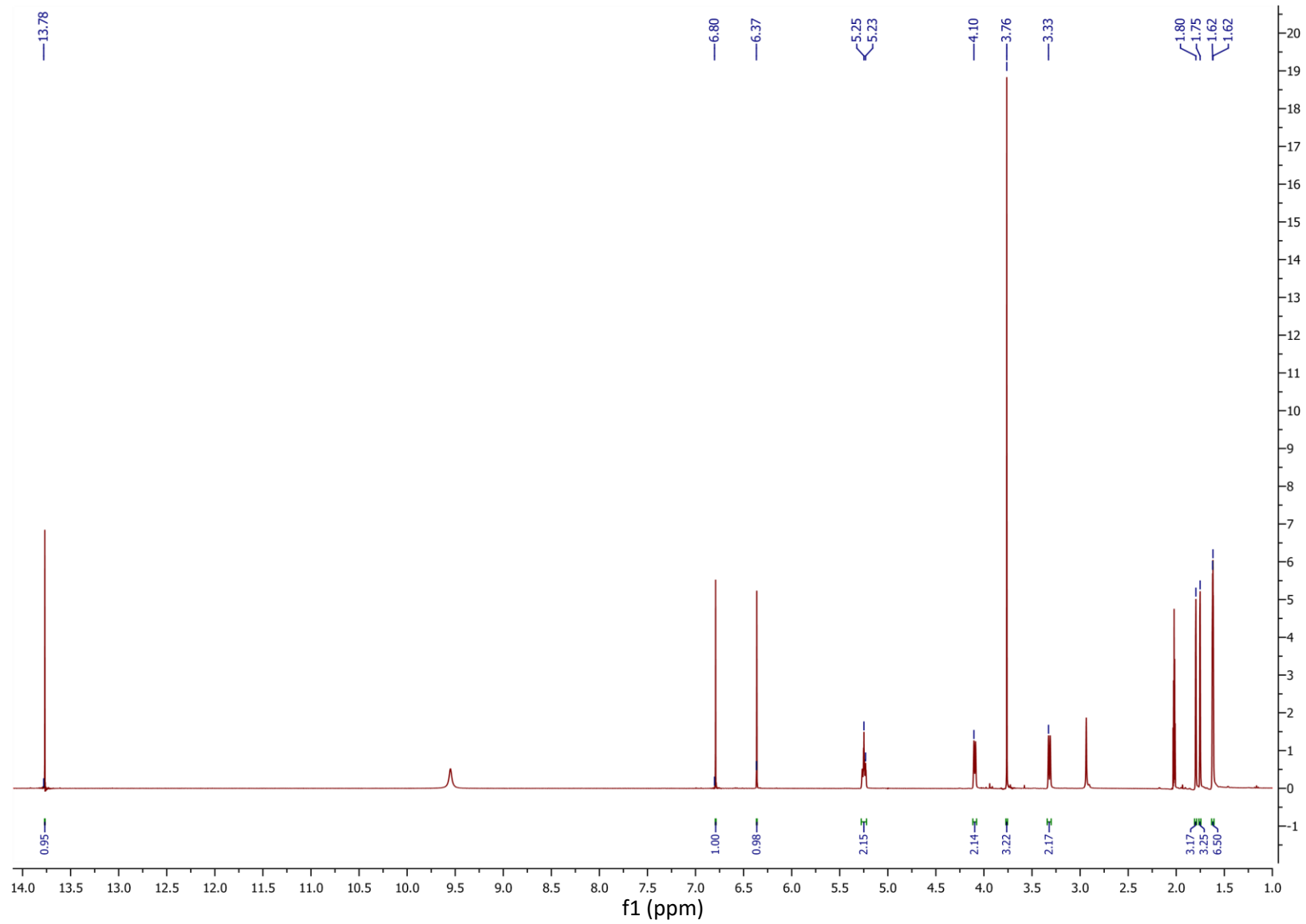


Gambar 4.19 Spektrum HRESIMS senyawa 1

Penentuan struktur senyawa **1** selanjutnya dilakukan dengan spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ untuk mengetahui jumlah proton maupun lingkungan kimianya. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **1** memiliki 26 proton dengan lingkungan kimia yang berbeda (Gambar 4.20). Proton hidroksi terkhelet karbonil pada senyawa **1** ditunjukkan dengan munculnya sinyal *singlet* pada pergeseran kimia (δ_{H}) 13,78 ppm diperkuat data IR pada ν 3267 cm^{-1} dan 1643 cm^{-1} . Sinyal *triplet* pada δ_{H} 5,23 dan 5,25 ppm (1H, t, $J=7,0$ Hz) menunjukkan adanya gugus metin, sinyal *doublet* pada δ_{H} 4,10 (2H, d, $J=7,0$ Hz) dan 3,33 (2H, d, $J=7,0$ Hz) menunjukkan adanya dua gugus metilen, dan empat sinyal *singlet* pada 1,62; 1,62; 1,75; 1,80 (3H, s) merupakan empat gugus metil, data diperkuat oleh ν 2912 cm^{-1} pada spektrum IR. Nilai *J coupling* pada pergeseran kimia proton tersebut menginformasikan bahwa proton metin dan metilen bertetangga, yang mengindikasikan pada senyawa **1** terdapat dua gugus prenil. Sinyal *singlet* pada δ_{H} 6,37 dan 6,80 merupakan sinyal proton aromatik. Sinyal *singlet* δ_{H} 3,76 (3H, s) merupakan sinyal khas gugus metoksi. Berdasarkan data $^1\text{H-NMR}$ maka senyawa **1** adalah senyawa santon dengan dengan dua gugus prenil, satu gugus metoksi, satu gugus hidroksi dan dua proton aromatik *singlet*. Sehingga senyawa **1** dapat disarankan memiliki isomer yang sama dengan senyawa α -mangostin yang telah dilaporkan (Sage *et al.*, 2018) dengan δ_{H} yang relatif sama, seperti diperlihatkan pada Tabel 4.1 berikut ini.

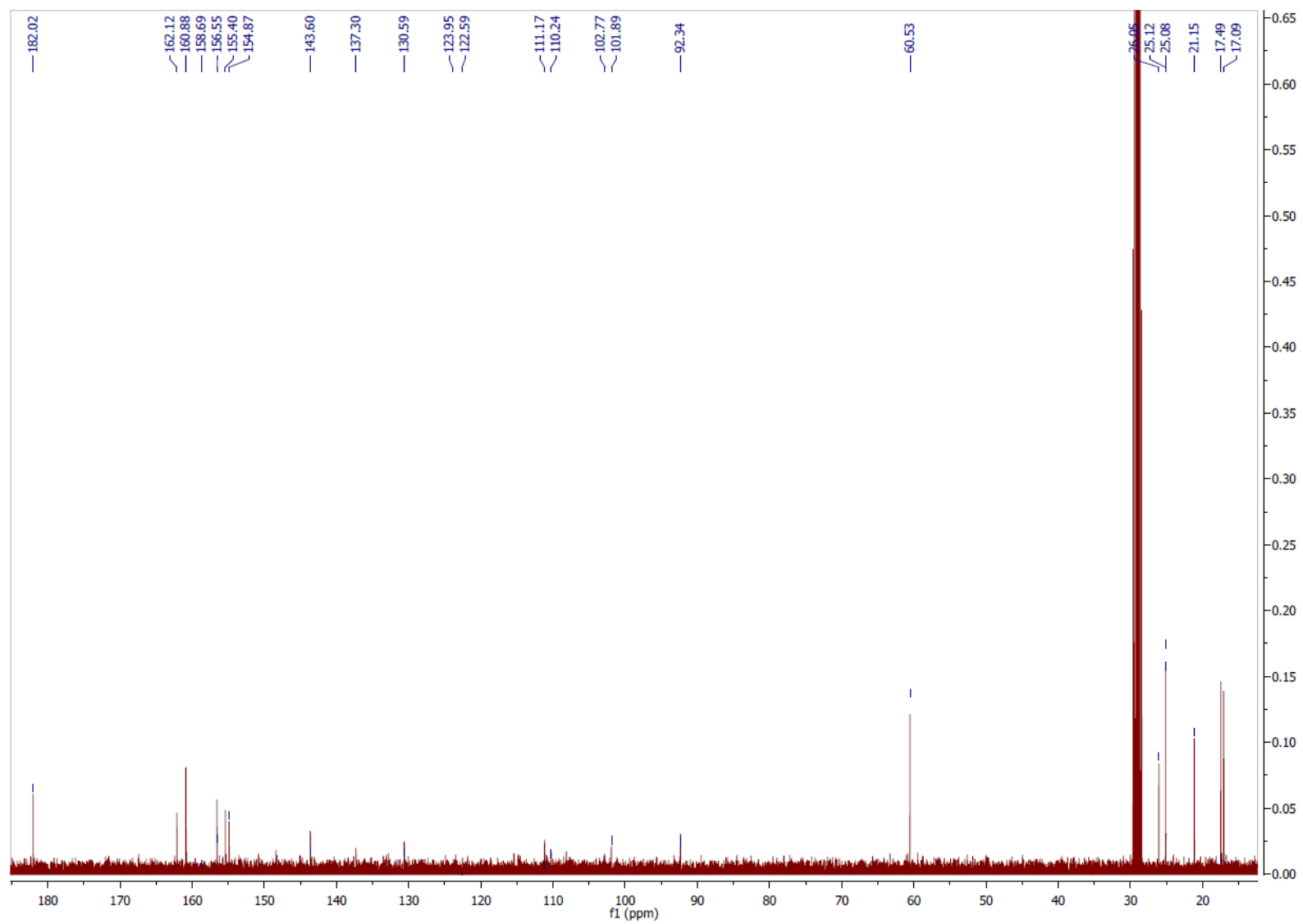
Tabel 4.1 Perbandingan Spektrum NMR Senyawa (1) dan (1) dari Literatur (Sage et al., 2018)

Posisi	α -mangostin (Sage et al., 2018)		Senyawa (1)	
	δ ¹ H NMR (J/Hz) (<i>d</i> ₆ , 700 MHz)	δ ¹³ C NMR (<i>d</i> ₆ , 175 MHz)	δ ¹ H NMR (J/Hz) (<i>d</i> ₆ , 400 MHz)	δ ¹³ C NMR (<i>d</i> ₆ , 100 MHz)
1	13,81 (1H, s, OH)	161,2	13,78 (1H, s, OH)	160,8
2	-	112,9	-	110,2
3	-	152,3	-	155,4
4	6,42 (1H, s)	93,3	6,37 (1H, s)	92,3
4a	-	162,1	-	162,1
5	6,85 (1H, s)	101,8	6,80 (1H, s)	101,8
6	-	155,8	-	156,5
7	3,81 (3H, s, OCH ₃)	146,0	3,76 (3H, s, OCH ₃)	154,8
8	-	137,8	-	143,6
8a	-	121,6	-	111,1
9	-	183,1	-	182,0
9a	-	111,8	-	102,7
10a	-	156,6	-	158,6
11	4,15 (2H, d, <i>J</i> =6,85)	26,6	4,10 (2H, d, <i>J</i> =7.0)	26,0
12	5,29 (1H, t, <i>J</i> =6,85)	123,2	5,23 (1H, t, <i>J</i> =7.0)	123,9
13	-	130,2	-	130,5
14	1,68 (3H, s)	17,8	1,75 (3H, s)	17,5
15	1,80 (3H, s)	25,8	1,80 (3H, s)	25,1
16	3,37 (2H, d, <i>J</i> =8,00)	21,1	3,33 (2H, d, <i>J</i> =7.0)	21,1
17	5,29 (1H, t, <i>J</i> =6,85)	123,2	5,25 (1H, t, <i>J</i> =7.0)	122,5
18	-	130,2	-	137,3
19	1,68 (3H, s)	18,2	1,62 (3H, s)	17,1
20	1,80 (3H, s)	25,8	1,62 (3H, s)	25,1
OCH ₃		61,9		60,5



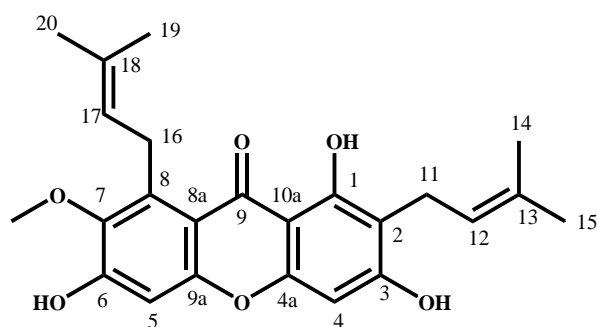
Gambar 4.20 Spektrum ¹H-NMR senyawa 1

Pembuktian struktur senyawa **1** dilakukan dengan spektrum ^{13}C -NMR pada Gambar 4.21 menunjukkan 24 atom karbon dengan lingkungan kimia yang berbeda. Pergeseran kimia δ_{C} 182,0 ppm merupakan sinyal khas untuk karbonil terkhelat OH pada senyawa santon yang diperkuat dengan data ^1H -NMR pada δ_{H} 13,77 ppm. Kelompok sinyal dengan δ_{C} 21,1; 122,5; 130,5; 25,1; 17,1; 26,0; 123,9; 137,3; 25,1; 17,5 merupakan serapan karbon dua gugus prenil yang diperkuat dengan data ^1H -NMR dengan tiga multiplisitas *singlet* pada δ_{H} 1,62; 1,62; 1,75; 1,80 (3H, s) menunjukkan adanya empat gugus metil dari dua prenil, sedangkan δ_{C} 60,5 merupakan serapan karbon metoksi yang diperkuat dengan data ^1H -NMR pada δ_{H} 3,76. Kelompok sinyal δ_{C} 110,2; 92,3; 101,8; 143,6 merupakan sinyal C aromatik, sedangkan kelompok sinyal δ_{C} 160,8; 162,1; 155,4; 158,6; 154,8; 156,5; 111,1; 102,7 merupakan sinyal karbon oksidasi aril. Data δ_{C} senyawa **1**, juga memiliki data yang sama pula dengan data δ_{C} senyawa α -mangostin yang telah dilaporkan (Sage *et al.*, 2018), seperti terlihat pada Tabel 4.1.



Gambar 4.21 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa **1**

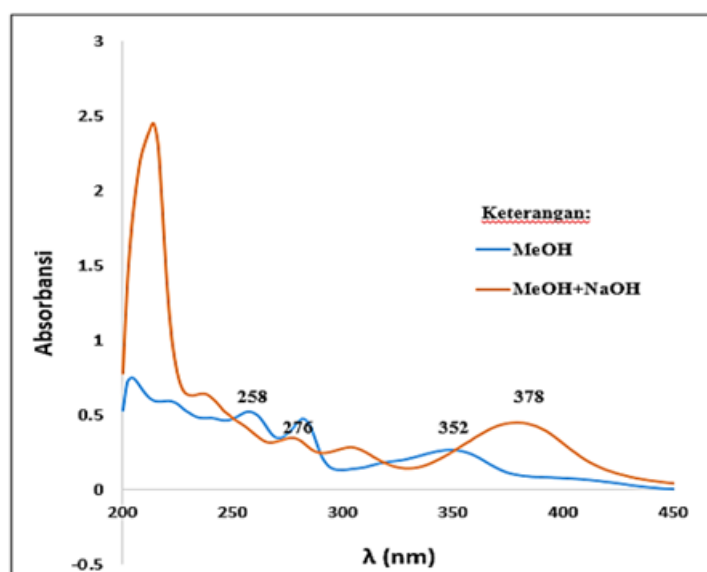
Berdasarkan data UV-Vis, IR, HRESIMS, $^1\text{H-NMR}$, dan $^{13}\text{C-NMR}$ bahwa senyawa **1** yang telah diisolasi ekstrak etil asetat dari kulit buah *G. mangostana* dan hasil perbandingan data δ_{H} dan δ_{C} senyawa α -mangostin dari literatur, maka dapat disarankan sebagai senyawa α -mangostin (**1**).



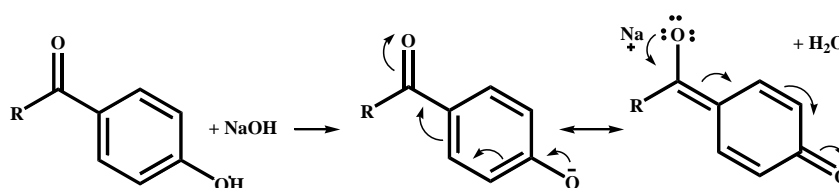
(1)

4.3.2 Senyawa 2

Senyawa **2** yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning dengan masa 0,34 g. Hasil analisis spektrum UV-Vis senyawa **2**, seperti dilihat pada Gambar 4.22, menunjukkan bahwa memiliki dua puncak serapan, yaitu pita II pada panjang gelombang (λ) 258 nm dan pita I pada λ 352 nm. Pita II adalah transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang merupakan ciri khas ikatan rangkap terkonjugasi ($-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$) untuk cincin aromatik, sedangkan pita I adalah transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang merupakan ciri khas sistem terkonjugasi heteroatom dengan cincin aromatik ($\text{Ar}-\text{C}=\text{O}$). Berdasarkan hal ini maka senyawa **2** diprediksi sebagai senyawa yang mempunyai cincin aromatik tersubstitusi gugus karbonil. Selanjutnya, penambahan pereaksi geser NaOH dilakukan untuk mengetahui adanya gugus hidroksi pada posisi *orto*- dan *para*-. Penambahan pereaksi geser NaOH menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik yang signifikan pada pita I, yaitu dari λ (258 ke 276 dan 352 ke 378) nm, yang menunjukkan bahwa gugus hidroksi pada cincin aromatik tersubstitusi pada posisi *para* terhadap gugus karbonil dan menyebabkan terjadinya kesetimbangan keto enol yang khas untuk senyawa fenolat seperti pada Gambar 4.23 (Lukis, 2011).

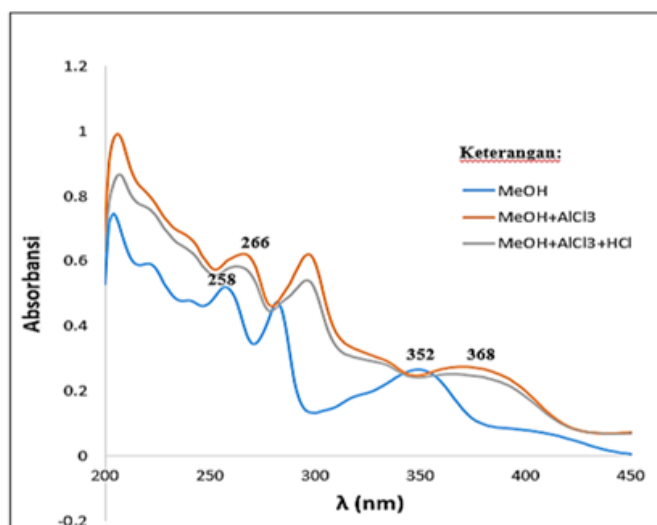


Gambar 4.22 Spektrum UV-Vis senyawa **2** dalam metanol dan metanol+NaOH



Gambar 4.23 Keseimbangan keto enol senyawa **2**

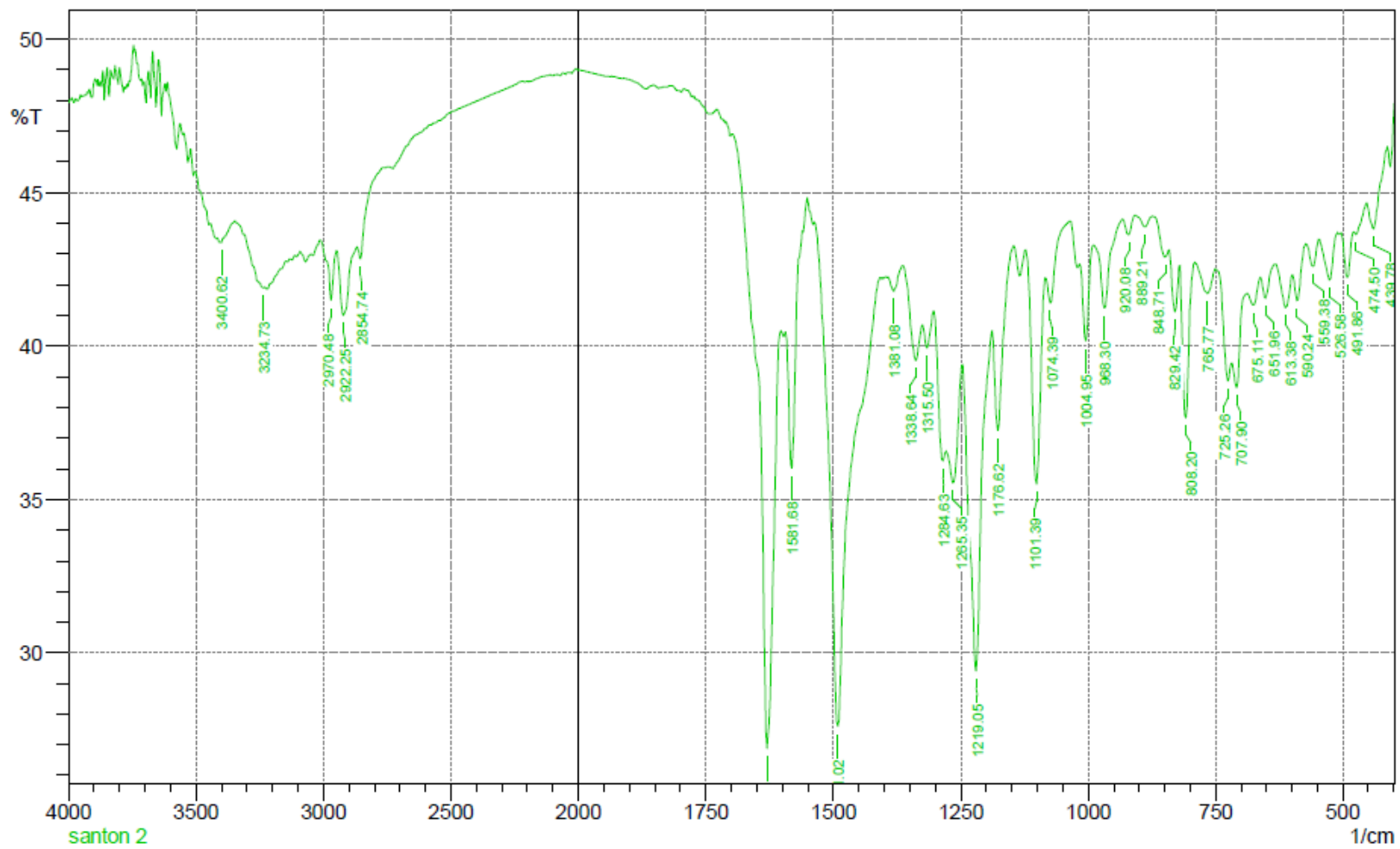
Penambahan pereaksi geser AlCl_3 pada senyawa **2**, kemudian dilakukan untuk mengetahui apakah gugus hidroksi tersebut berada pada posisi *orto* yang membentuk khelat dengan Al, penambahan pereaksi geser AlCl_3 menyebabkan pergeseran batokromik, puncak pada λ 352 nm bergeser ke 368 nm dan puncak pada λ 258 nm bergeser ke 266 nm (Gambar 4.24). Pergeseran ini menandakan bahwa senyawa **2** tersubstitusi oleh gugus hidroksi (-OH) yang terkhelat dengan karbonil (-C=O). Penambahan pereaksi geser HCl selanjutnya tidak menyebabkan pergeseran puncak serapan. Hal ini menandakan pada senyawa **2** terdapat gugus hidroksi terkhelat dengan karbonil pada kondisi yang stabil. Dari data tersebut menunjukkan bahwa pada kerangka aromatik terdapat gugus hidroksi pada posisi *ortho* terhadap karbonil.



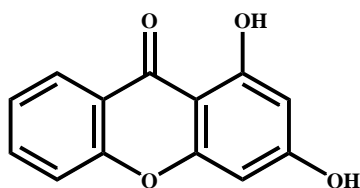
Gambar 4.24 Spektrum UV-Vis senyawa **2** dalam metanol, metanol+AlCl₃, dan metanol +AlCl₃+HCl

Berdasarkan analisis UV, memperlihatkan bahwa senyawa **2** memiliki kerangka aromatik, yang tersubstitusi oleh gugus hidroksi sebagai fenolat dan gugus heteroatom yang mengalami konjugasi dari gugus -OH ke gugus heteroatom atau mengalami kesetimbangan keto enol, seperti pada Gambar 4.23.

Selanjutnya, senyawa **2** dianalisis dengan spektrum IR, seperti pada Gambar 4.25 memperlihatkan bahwa adanya sinyal pada bilangan gelombang (ν cm⁻¹) pada 3400 dan 3234 menyatakan terdapat gugus hidroksi bebas, adanya sinyal pada (ν cm⁻¹) 2854-2970 yang spesifik untuk gugus C-H alifatik, yang mewakili gugus metil (-CH₃), atau adanya gugus γ,γ -dimetilalil atau prenil, selanjutnya sinyal pada (ν cm⁻¹) 1581 memberi indikasi dari ikatan (-C=C-C=C-) konyugasi sebagai cincin aromatik tersubstitusi serta terlihat pula (ν cm⁻¹) pada 1643 khas untuk gugus khelat yang terjadi akibat interaksi antar gugus hidroksi (-OH) dan gugus karbonil (C=O), Berdasar hasil analisis dari spektrum UV dan IR untuk senyawa **2**, dapat diketahui terdapat cincin aromatik tersubstitusi gugus hidroksi, heteroatom dari karbonil sebagai khelat yang khas untuk kerangka dasar santon yang juga tersubstitusi γ,γ -dimetilalil atau prenil. Dengan demikian, senyawa **2** memiliki kerangka dasar santon tersubstitusi gugus prenil, dan hidroksi, yang dapat disarankan seperti pada Gambar 4.26.

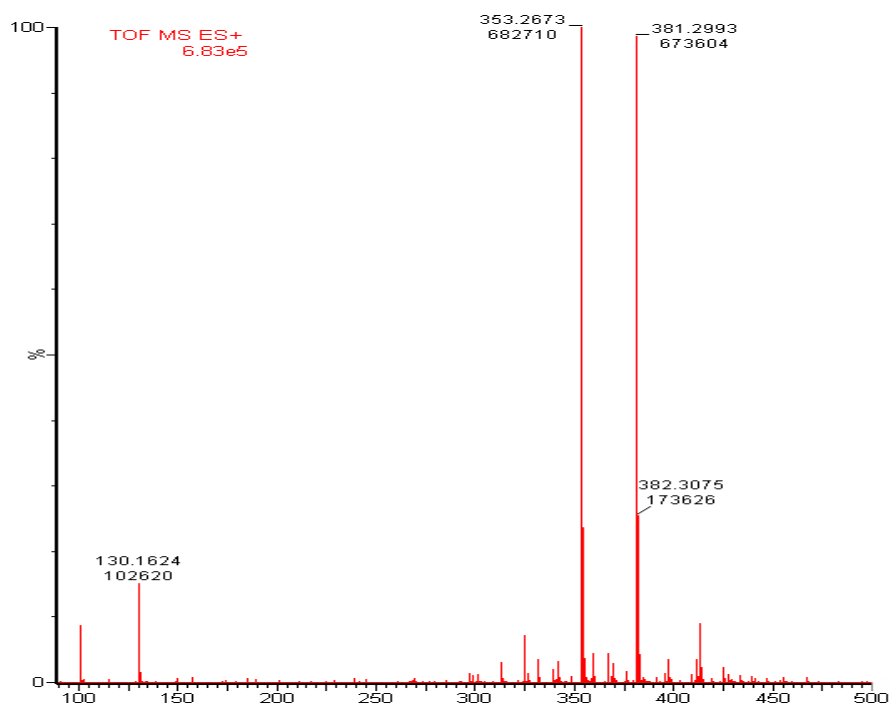


Gambar 4.25 Spektrum IR senyawa 2



Gambar 4.26 Saran kerangka dasar senyawa **2** hasil analisis spektra UV dan IR

Selanjutnya, senyawa **2** dianalisis dengan spektrum HRESIMS seperti pada Gambar 4.27 menunjukkan bahwa ion molekul positif $[M+H]^+$ pada m/z 381,2993 (perhitungan 381,4293 untuk $C_{23}H_{24}O_5$), diperkuat pernyataan (Liu *et al.*, 2019) bahwa ion molekul positif $[M+H]^+$ pada m/z 381,1699 diprediksi mempunyai rumus molekul $C_{23}H_{24}O_5$. Berdasarkan hal tersebut, senyawa **2** diprediksi mempunyai rumus molekul $C_{23}H_{24}O_5$ dengan 12 DBE (*Double Bond Equivalent*). Berdasarkan data UV dan IR senyawa **2** yang telah dibahas, serta jumlah DBE maka senyawa **2** diprediksi merupakan senyawa santon dengan lima atom oksigen yang mempunyai dua ikatan π pada substituen (dua prenil atau satu geranil). Prediksi senyawa **2** jika dilihat dari jumlah atom karbon maka senyawa **2** merupakan senyawa dengan kerangka santon yang memiliki 13 atom karbon, dua gugus prenil atau satu gugus geranil, masing-masing dengan 10 atom karbon. Saran kerangka dasar senyawa **2** jika diperhatikan dari jumlah atom oksigen memiliki satu gugus karbonil khelat dengan gugus hidroksi, dan dua gugus hidroksi bebas pada kerangka santon.



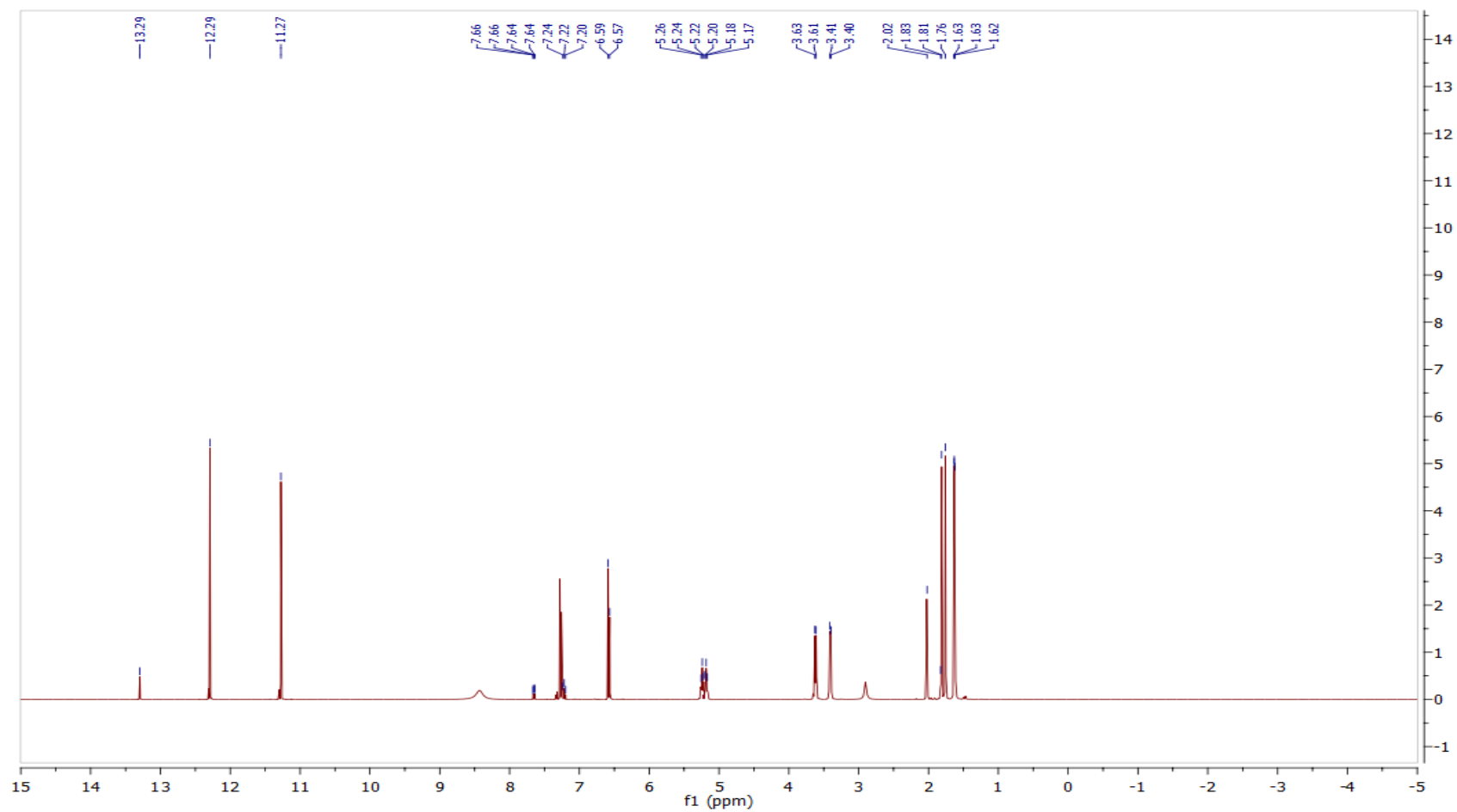
Gambar 4.27 Spektrum HRESIMS senyawa **2**

Penentuan struktur senyawa **2** selanjutnya dilakukan dengan spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ untuk mengetahui jumlah proton maupun lingkungan kimianya. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **2** memiliki 24 proton dengan lingkungan kimia yang berbeda (Gambar 4.28). Proton hidroksi terkhelet karbonil pada senyawa **2** ditunjukkan dengan munculnya sinyal singlet pada pergeseran kimia (δ_{H}) 13,29 ppm diperkuat data IR pada ν 3234 cm^{-1} dan 1643 cm^{-1} . Proton hidroksi yang terletak pada pergeseran kimia *downfield* (δ_{H}) 12,29 ppm dan 11,27 ppm menandakan adanya gugus hidroksi yang terletak dekat dengan gugus yang mempunyai elektronegativitas. Sinyal *triplet* pada δ_{H} 5,24 ppm dan 5,18 ppm (1H, t, $J = 7,0$ Hz) menunjukkan adanya dua gugus metin, sinyal *doublet* pada δ_{H} 3,62 (2H, d, $J = 7,0$ Hz) dan 3,40 (2H, d, $J = 7,1$ Hz) menunjukkan adanya dua gugus metilen, dan empat sinyal *singlet* pada 2,01 ; 1,82 ; 1,76 ; 1,63 merupakan empat gugus metil, data diperkuat oleh ν 2922 cm^{-1} pada spektrum IR. Nilai J coupling pada pergeseran kimia proton tersebut menginformasikan bahwa proton metin dan metilen bertetangga, yang mengindikasikan pada senyawa **2** terdapat dua gugus prenil. Sinyal *doublet* pada δ_{H} 7,65 (dd, $J = 8,0$ dan 1,3 Hz, 1H); 7,22 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H); dan 6,58 (dd, $J = 8,4$ Hz, 1H) merupakan sinyal proton aromatik. Nilai J

coupling pada pergeseran kimia proton tersebut menginformasikan bahwa proton aromatik bertetangga, yang mengindikasikan dua gugus prenil pada senyawa **2** terletak pada satu cincin. Berdasarkan data ¹H-NMR maka senyawa **2** adalah senyawa santon dengan dengan dua gugus prenil, tiga gugus hidroksi dan tiga proton aromatik *doublet*, sehingga senyawa **2** dapat disarankan memiliki isomer yang sama dengan senyawa 8-deoksigartanin (**2**) dari literatur (Vo *et al.*, 2012) dengan δ_H yang relatif sama, seperti diperlihatkan pada Tabel 4.2.

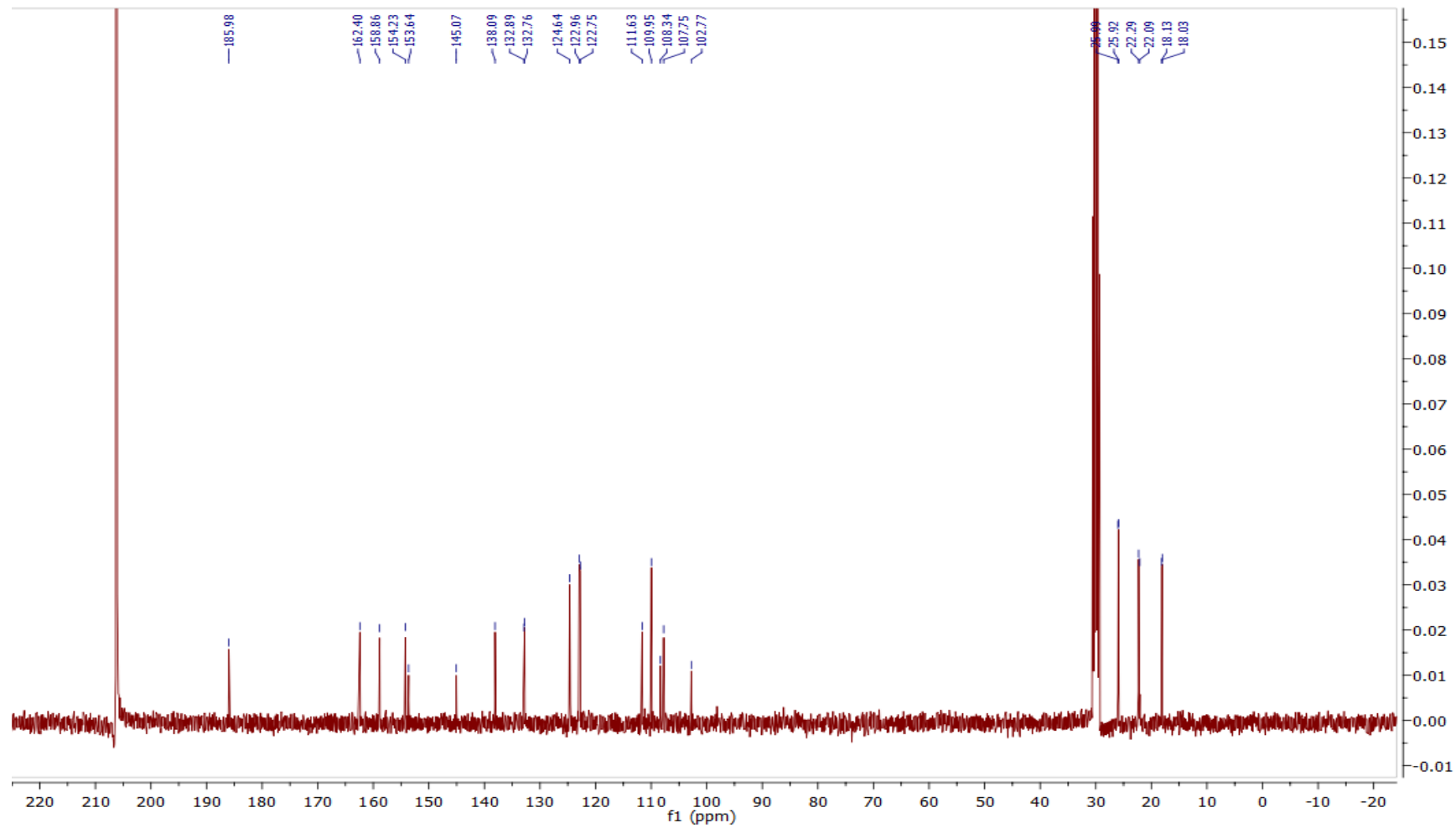
Tabel 4.2 Perbandingan Spektrum NMR Senyawa (**2**) dan (**2**) dari Literatur (Vo *et al.*, 2012)

Posisi	8-deoksigartanin		Senyawa 2	
	δ ¹ H NMR (aseton <i>d</i> ₆ , 400 MHz)	δ ¹³ C NMR (aseton <i>d</i> ₆ , 100 MHz)	δ ¹ H NMR (aseton <i>d</i> ₆ , 400 MHz)	δ ¹³ C NMR (aseton <i>d</i> ₆ , 100 MHz)
1	-	159,8	-	158,8
2	-	111,6	-	111,6
3	-	162,0	-	162,4
4	-	107,8	-	107,7
4a	-	153,9	-	153,6
5	-	147,6	-	154,2
6	7,38 (1H, dd, <i>J</i> = 7,9 dan 1,6)	121,6	6,58 (1H, dd, <i>J</i> = 8,4)	108,3
7	7,26 (1H, t, <i>J</i> = 7,9)	124,9	7,22 (1H, t, <i>J</i> = 7,9)	132,7
8	7,70 (1H, dd, <i>J</i> = 7,9 dan 1,6)	116,6	7,65 (1H, dd, <i>J</i> = 8,0 dan 1,3)	109,9
8a	-	122,5	-	122,9
9	-	182,5	-	185,9
9a	-	146,8	-	145,0
10a	-	104,2	-	102,7
11	3,46 (2H, s, <i>J</i> = 7,0)	22,8	3,40 (2H, d, <i>J</i> = 7,1)	22,2
12	5,31 (1H, t, <i>J</i> = 7,0 dan 1,3)	123,6	5,24 (1H, t, <i>J</i> = 7,0)	124,6
13	-	133,0	-	138,0
14	1,67 (3H, d)	26,3	1,76 (3H, s)	26,0
15	1,87 (3H, d)	18,5	1,63-1,62 (3H, m)	18,1
16	3,69 (2H, s, <i>J</i> = 7,0)	22,5	3,62 (2H, d, <i>J</i> = 7,0)	22,0
17	5,25 (t, <i>J</i> = 7,0 dan 1,3)	123,4	5,18 (t, <i>J</i> = 7,0)	122,7
18	-	132,9	-	132,8
19	1,66 (3H)	26,2	1,82 (3H, d)	25,9
20	1,80 (3H)	18,4	2,01 (3H, m)	18,0
1-OH	13,33 (1H, s)	-	13,29 (1H, s)	-
3-OH	6,58 (1H, s)	-	12,29 (1H, s)	-
5-OH	5,56 (1H, br s)	-	11,27 (1H, s)	-



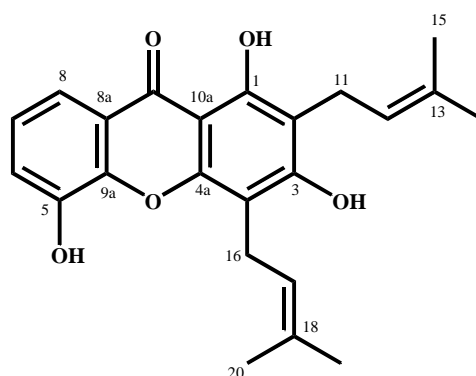
Gambar 4.28 Spektrum ¹H-NMR senyawa 2

Pembuktian struktur senyawa **2** dilakukan dengan spektrum ^{13}C -NMR pada Gambar 4.29 menunjukkan 23 atom karbon dengan lingkungan kimia yang berbeda. Pergeseran kimia δ_{C} 185,9 ppm merupakan sinyal khas untuk karbonil terkhelat OH pada senyawa santon yang diperkuat dengan data ^1H -NMR pada δ_{H} 12,29 ppm. Kelompok sinyal dengan δ_{C} 22,2; 124,6; 138,0; 25,9; 18,1; 22,0; 122,7; 132,8; 25,9; 17,9 merupakan serapan karbon untuk dua gugus prenil yang diperkuat oleh data ^1H -NMR dengan tiga multiplisitas *singlet* pada δ_{H} 2,01; 1,82 ; 1,76 ; 1,63 untuk empat proton metil. Kelompok sinyal δ_{C} 108,3; 132,7; 109,9; 111,59; 107,7 merupakan sinyal C aromatik, sedangkan kelompok sinyal δ_{C} 158,8; 162,4; 153,6; 145,0; 154,2; 122,9; 102,7 merupakan empat sinyal dari karbon oksidasi aril. Hasil analisis spektrum ^{13}C -NMR senyawa **2**, memperkuat saran hasil analisis ^1H -NMR **2**, sebagai 8-deoksigartanin (**2**). Jadi kesimpulan ini diperkuat oleh data δ_{C} senyawa 8-deoksigartanin (Vo *et al.*, 2012), seperti pada Tabel 4.2.



Gambar 4.29 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 2

Berdasarkan data UV-Vis, IR, HRESIMS, $^1\text{H-NMR}$, dan $^{13}\text{C-NMR}$ bahwa senyawa **2** yang telah diisolasi dari kulit buah *G. mangostana* ekstrak etil asetat adalah senyawa 8-deoksigartanin (**2**).

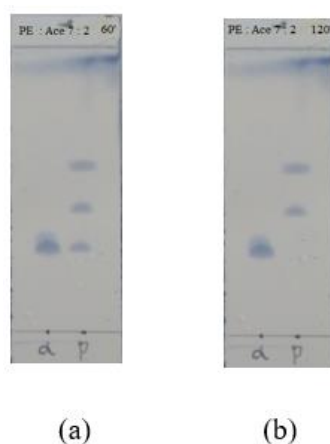


(2)

4.4 Asetilasi Santon

4.4.1 Reaksi Asetilasi dan Pemisahan Senyawa α -mangostin Asetat

Reaksi asetilasi santon hasil isolasi pada penelitian ini dilakukan untuk memodifikasi struktur santon dan menghasilkan santon terasetilasi. Modifikasi melalui reaksi asetilasi dilakukan dengan melarutkan α -mangostin (**1**) dalam asetat anhidrat. Selanjutnya natrium asetat ditambahkan, campuran reaksi diaduk pada suhu 60 °C, dan reaksi yang berjalan dimonitoring dengan KLT. Profil kromatogram monitoring reaksi asetilasi menggunakan KLT sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.30 menunjukkan bahwa α -mangostin sebagai *starting material* telah habis bereaksi saat reaksi berjalan selama 120 menit. Reaksi selanjutnya dihentikan dan campuran reaksi diuapkan pelarutnya pada tekanan rendah.



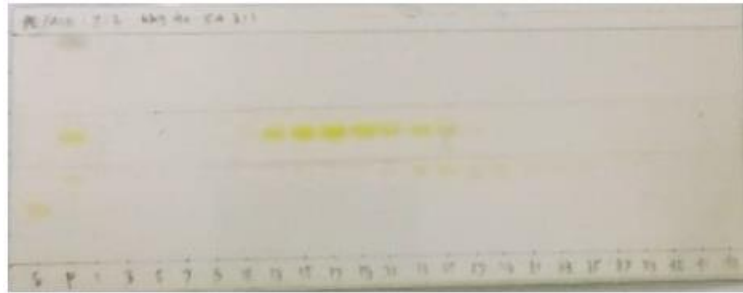
Gambar 4.30 Kromatogram reaksi asetilasi α -mangostin (a) setelah 60 menit reaksi eluen PE : aeton 7:2, (b) setelah 120 menit reaksi eluen PE : aseton 7:2

Residu yang diperoleh kemudian dipartisi dengan campuran air-kloroform. Lapisan organik yang diperoleh dipisahkan, dikeringkan, dan ditimbang sehingga memberikan produk asetilasi yang belum murni sebanyak 77,4 mg. Monitoring lapisan organik dengan KLT (Gambar 4.31) menunjukkan profil yang belum murni ditandai dengan adanya dua noda dengan nilai R_f yang berbeda.



Gambar 4.31 Kromatogram pemisahan lapisan organik dan lapisan air eluen PE : aeton 7:2

Fraksinasi dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG) menggunakan eluen *n*-heksan : etil asetat 3 : 1 (Gambar 4.32) selanjutnya dilakukan penggabungan fraksi yang mempunyai nilai R_f sama dan didapatkan empat fraksi (F1-F4) F1 vial 1-10 (2.1 mg), F2 vial 11-29 (60 mg), F3 vial 30-38 (4.5 mg), F4 vial 39-42 (10.8 mg). (Gambar 4.33).

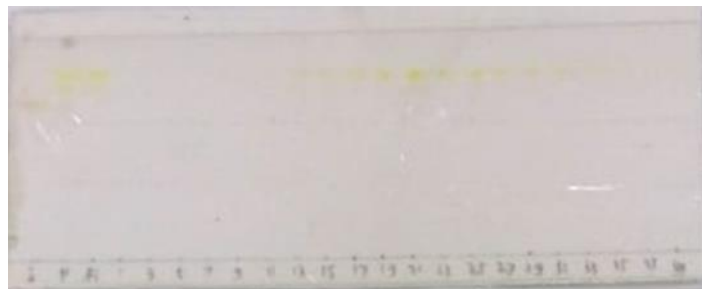


Gambar 4.32 Kromatogram hasil KKG produk asetilasi eluen PE : aseton 7:2



Gambar 4.33 Kromatogram penggabungan fraksi KKG produk asetilasi eluen PE : aseton 7:2

Fraksi 2 masih terdapat dua noda sehingga direfraksinasi dengan kromatografi kolom gravitasi PE 100%, PE : aseton (7:3), aseton 100%, dan metanol 100% sebagai eluennya (Gambar 4.34). Profil noda hasil KKG (Fr 2) yang mempunyai nilai R_f sama digabungkan menjadi tiga subfraksi (Gambar 4.35) masing-masing F2.1 vial 1-10 (2 mg), F2.2 vial 11-37 (44.8 mg), dan F2.3 vial 38-39 (5.8 mg).



Gambar 4.34 Kromatogram KKG fraksi 2 eluen PE : aseton 7:2

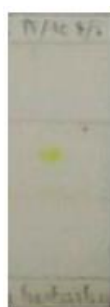


Gambar 4.35 Kromatogram penggabungan KKG fraksi 2 eluen PE : aseton 7:2

Subfraksi F2.2 masih terdapat dua noda sehingga difraksinasi kembali dengan kromatotron *n*-heksan : etil asetat 8 : 1 sebagai eluennya (Gambar 4.36). Profil noda hasil kromatotron subfraksi F2.2 yang mempunyai nilai R_f sama digabungkan menjadi tiga subfraksi (Gambar 4.37) masing-masing F2.2.1 vial 1-8 (1 mg), F2.2.2 vial 9-21 (22.2 mg), F2.2.3 vial 22-51 (3 mg).



Gambar 4.36 Kromatogram kromatotron subfraksi F2.2 eluen PE : aseton 8:2



Gambar 4.37 Kromatogram penggabungan kromatotron subfraksi F2.2 eluen PE : aseton 8:2

Subfraksi F2.2.2 masih terdapat dua noda sehingga masih perlu dipisahkan dengan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTp) PE : aseton 8 : 2 sebagai eluennya. Semua fraksi yang tersisa dimonitoring KLT (Gambar 4.38).

Profil noda yang memiliki nilai R_f sama digabungkan (Gambar 4.39) untuk dilakukan KLTp menjadi dua fraksi (FR1 (10.3 mg) dan FR2 (22.2 mg)) KLTp.



Gambar 4.38 Kromatogram sisa fraksi eluen PE : aseton 7:3



Gambar 4.39 Kromatogram penggabungan sisa fraksi eluen PE : aseton 7:3

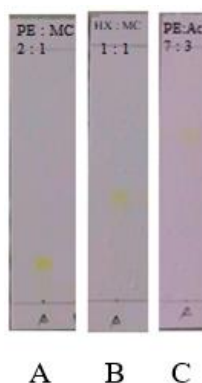
FR2 mempunyai massa yang lebih banyak dan mempunyai profil noda yang tegas sehingga FR 2 dilakukan KLTp dengan berulang elusi kemudian didapatkan noda (noda atas (A) dan noda bawah (B)) (Gambar 4.40). Noda atas yang didapat dikerok, dilarutkan dengan kloroform (pelarut yang melarutkan), dan disaring vakum, filtrat dibiarkan sampai terbentuk oily berwarna kuning, kemudian dimonitoring dengan KLT (Gambar 4.41). Profil noda menampilkan satu noda sehingga diberi kode senyawa **3** yang selanjutnya diuji kemurniannya dengan KLT tiga eluen berbeda tingkat kepolaran, dihasilkan tiga noda tunggal dengan harga R_f yang berbeda, seperti pada Gambar 4.42, hal ini menunjukkan senyawa **3** ini sudah murni. Setelah didapatkan senyawa **3**, senyawa **3** ditimbang menghasilkan 13.5 mg (27%).



Gambar 4.40 Kromatogram KLTp elusi berulang eluen PE : aseton 8:2



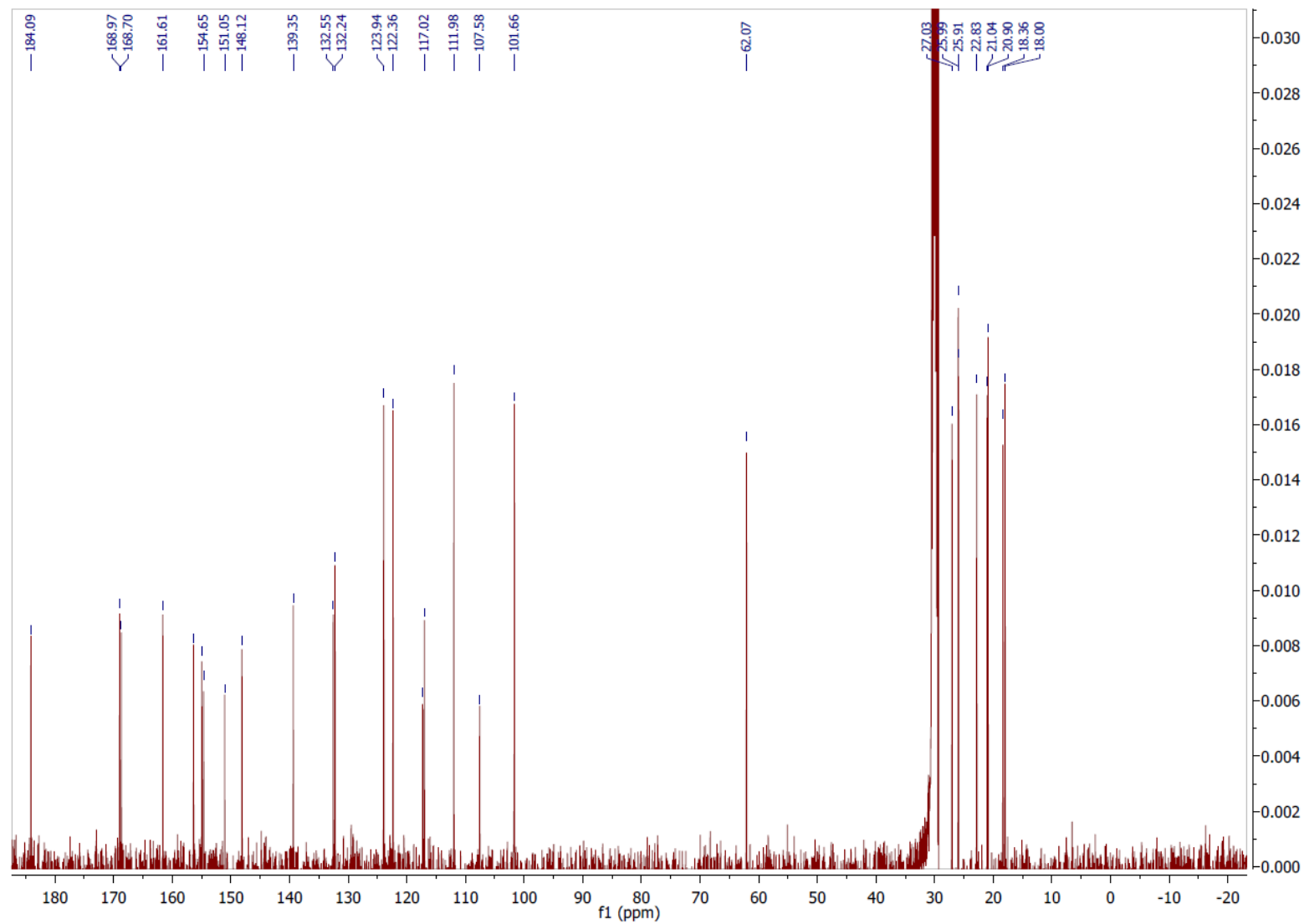
Gambar 4.41 Kromatogram hasil KLTp senyawa **3**, eluen *n*-heksan : diklorometana 1 : 1



Gambar 4.42 Kromatogram KLT tiga eluen senyawa **3** A. PE : diklorometana 2:1 B. *n*-heksan : diklorometana 1:1 C. PE : aseton 7:3

4.4.2 Penentuan Struktur Senyawa α -mangostin Asetat

Senyawa (**1**) yang dimodifikasi secara asetilasi menggunakan reagen asam asetat anhidrat menghasilkan α -mangostin asetat **3** yang belum dapat ditentukan jumlah tersubtitusinya gugus asetat terhadap hidroksil. Jumlah tersubtitusinya gugus hidroksil oleh asetat dapat diketahui dengan analisis instrumen ^{13}C -NMR, data spektrum ^{13}C -NMR senyawa hasil modifikasi dapat mengetahui jumlah atom karbon yang bertambah yang dibandingkan data spektrum ^{13}C -NMR α -mangostin (**1**), seperti dilihat pada Gambar 4.43.



Gambar 4.43 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 3

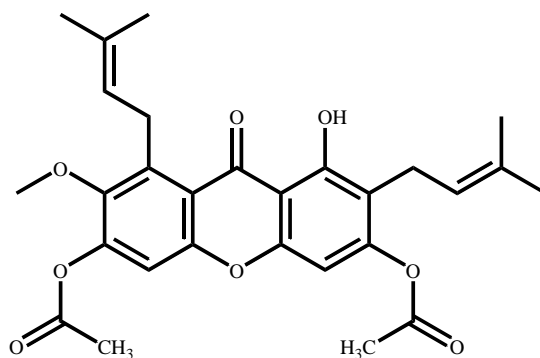
Spektrum ^{13}C -NMR senyawa α -mangostin (**1**) mempunyai 24 atom karbon sedangkan senyawa **3** (Gambar 4.43) mempunyai 28 atom karbon. Jika dibandingkan dengan α -mangostin (**1**) maka ada penambahan empat atom karbon, diantaranya pada δ_{C} 168,9 dan 168,7 ppm yang menunjukkan serapan karbon ester serta pada δ_{C} 20,9 dan 22,8 yang menunjukkan serapan karbon metil, sehingga diprediksi bahwa senyawa **3** merupakan α -mangostin (**1**) tersubstitusi pada dua gugus hidroksinya dengan gugus asetat. Data ini diperkuat dengan data 3,6-dimetil ester- α -mangostin dari literatur (Ren, 2011), seperti pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Perbandingan δ_{C} ^{13}C -NMR (**1**), (**3**), dan (**3**) dari Literatur (Ren, 2011)

Posisi C	δ_{C} senyawa 1 (aseton d_6 , 100 MHz)	δ_{C} senyawa 3 (aseton d_6 , 100 MHz)	δ_{C} senyawa 3,6-dimetil ester- α -mangostin (Ren, 2011) (CDCl ₃ , 75.5 MHz)
1	160.9	156.4	161.0
2	110.2	117.0	116.2
3	162.1	161.6	154.9
4	92.3	101.7	100.3
4a	155.4	151.0	153.7
5	102.8	111.9	110.6
6	158.7	154.9	149.4
7	154.9	148.1	146.8
8	143.6	139.3	139.2
8a	111.7	117.3	116.9
9	182.0	184.1	182.9
9a	101.9	107.6	107.1
10a	156.5	154.6	154.1
11	21.1	21.0	22.3
12	122.6	122.4	121.3
13	130.6	132.2	132.3
14	25.1	25.9	25.7
15	17.1	18.0	18.2
16	26.0	27.0	26.5
17	123.9	123.9	122.6

18	137.3	132.5	132.3
19	25.1	25.9	25.8
20	17.5	18.4	17.8
7-OCH ₃	60.5	62.1	61.7
OAc		168.7	167.9
		20.9	20.9
OAc		168.9	168.4
		22.8	21.0

Berdasarkan analisis ¹³C-NMR maka senyawa **3** yang telah dimodifikasi dari senyawa α -mangostin (**1**) merupakan senyawa 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**).



(3)

4.4.3 Penentuan Antidiabetes

Ketiga senyawa yang dihasilkan pada penelitian ini, yaitu α -mangostin (**1**), 8-deoksigartanin (**2**) dan 3,6-dimetil-ester- α -mangostin (**3**) ditentukan aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase menggunakan *rat intestinal acetone powder* (Sigma, 1630-10G) dan sukrosa sebagai substrat secara in vitro. Pengujian ini, digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa tersebut sebagai indikator aktivitas antidiabetes. Pengukuran intensitas penghambatan senyawa terhadap enzim α -glukosidase menggunakan metoda Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang (λ) = 520 dan akarbosa sebagai kontrol positif. Prosentase aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dapat ditentukan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(A \text{ Blank} - A \text{ Sampel})}{A \text{ Blank}} \times 100\%$$

Keterangan:

$A \text{ Blank} = A \text{ reaksi enzim} - A \text{ blanko reaksi enzim}$

$A \text{ Sampel} = A \text{ reaksi sampel} - A \text{ blanko reaksi sampel}$

a. Hasil Uji Antidiabetes α -mangostin

Uji antidiabetes dilakukan dengan metode uji penghambatan α -glukosidase menggunakan enzim *rat intestinal acetone powder*, larutan buffer fosfat (pH 6,9), dan substrat berupa sukrosa. Berikut ini adalah data hasil analisis perhitungan penghambatan enzim α -glukosidase terhadap α -mangostin dan blanko menggunakan perhitungan “absorbansi blanko sukrosa = abs reaksi enzim - abs blanko reaksi” yang dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Data Hasil Absorbansi Blanko α -mangostin (1)

abs reaksi enzim	abs blanko reaksi enzim	abs blanko sukrosa
0.514	0.228	0.286

Sedangkan perhitungan hasil analisis data absorbansi α -mangostin (1) dari variasi konsentrasi α -mangostin (1) menggunakan perhitungan “absorbansi sampel = abs reaksi sampel - abs blanko reaksi sampel” seperti dillihatkan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Data Absorbansi α -mangostin

konsentrasi (α -mangostin)	log konsentrasi	abs blanko reaksi sampel	abs reaksi sampel			abs sampel			
			1	2	3	1	2	3	rerata
39.06	1.59	0.69	0.79	0.80	0.86	0.10	0.10	0.17	0.12
19.53	1.29	0.44	0.60	0.60	0.59	0.16	0.16	0.15	0.16
9.76	0.98	0.38	0.57	0.57	0.57	0.19	0.18	0.19	0.19
4.88	0.68	0.37	0.60	0.61	0.61	0.22	0.23	0.23	0.22
2.44	0.38	0.37	0.62	0.62	0.63	0.25	0.25	0.25	0.25

Data absorbansi blanko (Tabel 4.4) dan data absorbansi sampel (Tabel 4.5) yang telah didapatkan kemudian digunakan menghitung besar % penghambatan α -mangostin (1) pada setiap konsentrasi dengan persamaan sebagai berikut:

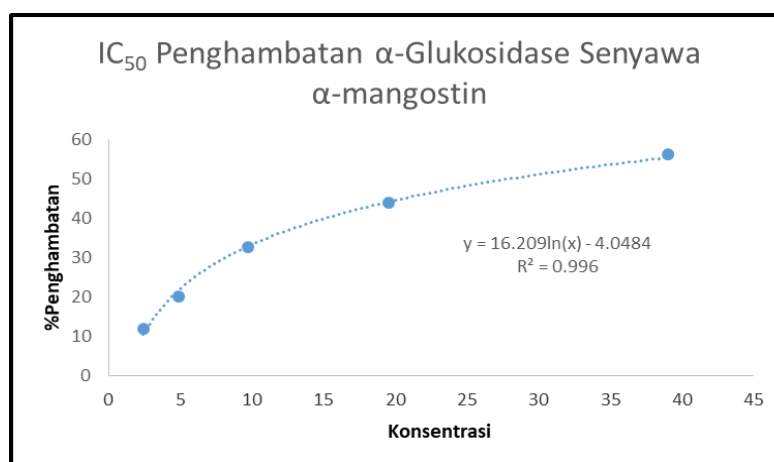
$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(A \text{ Blank} - A \text{ Sampel})}{A \text{ Blank}} \times 100\%$$

Berdasarkan persamaan % penghambatan diatas, maka nilai % penghambatan α -mangostin (1) setiap konsentrasi dapat dilihat seperti Tabel 4.6

Tabel 4.6 Analisis Data Persentase Penghambatan α -mangostin

% penghambatan				*probit
1	2	3	rerata	
65.03	62.58	40.55	56.06	5.15
44.05	42.30	45.10	43.82	4.82
31.46	34.61	32.16	32.75	4.53
22.02	19.23	18.88	20.04	4.16
12.58	11.88	10.83	11.77	3.77

Hubungan % penghambatan dan konsentrasi α -mangostin kemudian dibuat grafik untuk mengetahui adanya korelasi antara konsentrasi dan % penghambatan yang dapat dilihat pada (Gambar 4.44).



Gambar 4.44 Grafik uji antidiabetes terhadap penghambatan enzim α -glukosidase α -mangostin

Konsentrasi α -mangostin, saat penghambatan 50 % diperoleh dari grafik antara % penghambatan dan konsentrasi yang tidak linier, untuk membuat persamaan yang linier maka % penghambatan ditransformasi ke nilai probit (Tabel 4.7) seperti yang ditulis (Finney, 1952) dalam bukunya yang berjudul “Analisis Probit”. Kolom dibawah nilai probit merupakan nilai % puluhan, kolom

kekanaan nilai probit merupakan nilai % satuan, kemudian dicocokkan berdasarkan nilai % penghambatan.

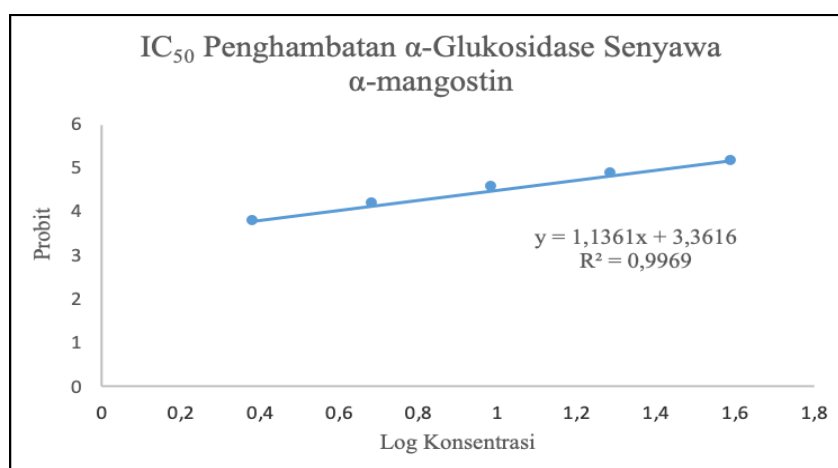
Tabel 4.7 Nilai Probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	--	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
--	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

(Finney, 1952)

Analisa data yang digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ aktivitas antidiabetes terhadap penghambatan α -glukosidase adalah analisa probit yang mengacu pada metode Hubert (1979), yaitu hubungan nilai log konsentrasi senyawa dan nilai probit (Gambar 4.44) yang merupakan fungsi linear $Y = a + bx$. Nilai IC₅₀ diperoleh dari antilog x, dimana x merupakan konsentrasi senyawa α -mangostin pada $Y = 5$ (probit 50 %). Sehingga persamaan regresi menjadi:

$$X = \frac{5 - a}{b}$$



Gambar 4.45 Grafik uji antidiabetes terhadap penghambatan enzim α -glukosidase α -mangostin (metode Hubert, 1979)

Berdasarkan persamaan $Y = 1,1361 x + 3,3616$ (Gambar 4.45), maka konsentrasi α -mangostin saat penghambatan 50 % adalah $67,56 \mu\text{M}$ dengan perhitungan sebagai berikut:

$$X = \frac{5 - a}{b}$$

$$= \frac{5 - 3,3616}{1,1361} = 1,44$$

$$\text{antilog } 1,44 = 27,7 \text{ mg/L}$$

$$= 67,56 \mu\text{M}$$

b. Hasil Uji Antidiabetes 8-deoksigartanin

Uji antidiabetes dilakukan dengan metode uji penghambatan α -glukosidase menggunakan enzim *rat intestinal acetone powder*, larutan buffer fosfat (pH 6,9), dan substrat berupa sukrosa. Berikut ini adalah data hasil analisis perhitungan penghambatan enzim α -glukosidase terhadap 8-deoksigartanin dan blanko menggunakan perhitungan “absorbansi blanko sukrosa = abs reaksi enzim - abs blanko reaksi” yang dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data Hasil Absorbansi Blanko 8-deoksigartanin (2)

abs reaksi enzim	abs blanko reaksi enzim	abs blanko sukrosa
0.514	0.228	0.286

Sedangkan perhitungan hasil analisis data absorbansi 8-deoksigartanin (2) dari variasi konsentrasi 8-deoksigartanin (2) menggunakan perhitungan

“absorbansi sampel = abs reaksi sampel - abs blanko reaksi sampel” seperti
dilihatkan pada Tabel 4.9

Tabel 4.9 Data Absorbansi 8-deoksigartanin

konsentrasi (8-deoksigartanin)	log konsentrasi	abs blanko reaksi sampel	abs reaksi sampel			abs sampel			
			1	2	3	1	2	3	rerata
39.06	1.59	0.24	0.38	0.38	0.38	0.13	0.14	0.14	0.14
19.53	1.29	0.21	0.29	0.28	0.31	0.15	0.14	0.14	0.14
9.76	0.98	0.17	0.37	0.38	0.37	0.19	0.20	0.19	0.19
4.88	0.68	0.16	0.39	0.40	0.41	0.22	0.23	0.24	0.23
2.44	0.38	0.16	0.39	0.42	0.42	0.23	0.25	0.26	0.24

Data absorbansi blanko (Tabel 4.8) dan data absorbansi sampel (Tabel 4.9) yang telah didapatkan kemudian digunakan menghitung besar % penghambatan 8-deoksigartanin (2) pada setiap konsentrasi dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(A \text{ Blank} - A \text{ Sampel})}{A \text{ Blank}} \times 100\%$$

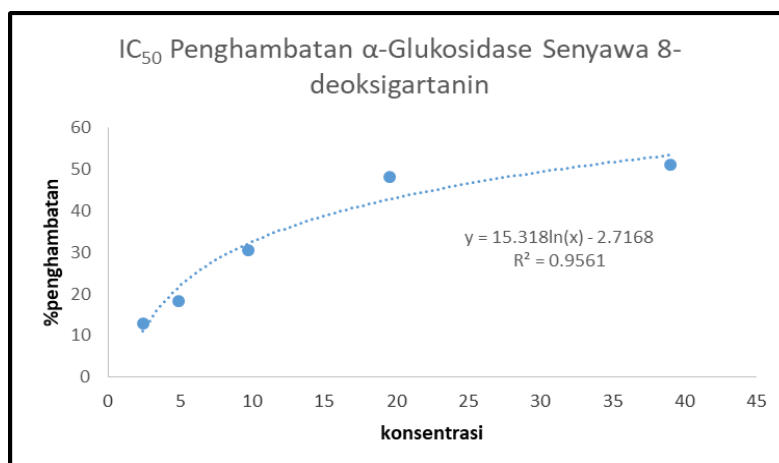
Berdasarkan persamaan % penghambatan diatas, maka nilai % penghambatan 8-deoksigartanin (2) setiap konsentrasi dapat dilihat seperti Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Analisis Data Persentase Penghambatan 8-deoksigartanin

% penghambatan				*probit
1	2	3	rata-rata	
51.39	50.69	51.04	51.04	5.03
47.20	48.95	48.25	48.13	4.95
31.11	28.67	32.16	30.65	4.48
22.37	17.13	15.03	18.18	4.08
19.58	10.13	9.09	12.93	3.82

*probit diperoleh dari mencocokkan % penghambatan dengan nilai probit (Tabel 4.7).

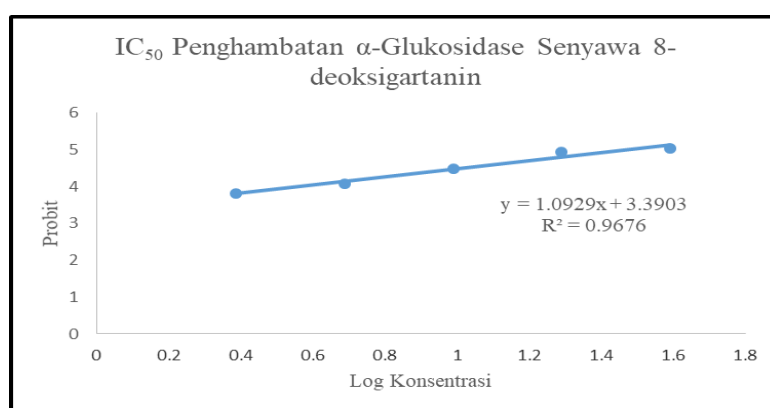
Hubungan % penghambatan dan konsentrasi 8-deoksigartanin kemudian dibuat grafik untuk mengetahui adanya korelasi antara konsentrasi dan % penghambatan yang dapat dilihat pada (Gambar 4.46).



Gambar 4.46 Grafik uji antidiabetes terhadap penghambatan enzim α-glukosidase 8-deoksiganin

Konsentrasi 8-deoksiganin, saat penghambatan 50 % diperoleh dari grafik antara % penghambatan dan konsentrasi yang tidak linier, untuk membuat persamaan yang linier maka % penghambatan ditransformasi ke nilai probit (Tabel 4.7) seperti yang ditulis (Finney, 1952) dalam bukunya yang berjudul “Analisis Probit”. Kolom kebawah nilai probit merupakan nilai % puluhan, kolom kekanan nilai probit merupakan nilai % satuan, kemudian dicocokkan berdasarkan nilai % penghambatan.

Nilai IC₅₀ aktivitas antidiabetes terhadap penghambatan α-glukosidase 8-deoksiganin diperoleh dari grafik hubungan linear dengan memplotkan log konsentrasi dan nilai probit (Gambar 4.47).



Gambar 4.47 Grafik uji antidiabetes terhadap penghambatan enzim α-glukosidase 8-deoksiganin (metode Hubert, 1979)

Berdasarkan persamaan $Y = 1,0929 x + 3,3903$ (Gambar 4.45), maka konsentrasi 8-deoksiganin saat penghambatan 50 % adalah 77,95 μM.

c. Hasil Uji Antidiabetes 3,6-dimetil ester- α -mangostin

Uji antidiabetes dilakukan dengan metode uji penghambatan α -glukosidase menggunakan enzim *rat intestinal acetone powder*, larutan buffer fosfat (pH 6,9), dan substrat berupa sukrosa. Berikut ini adalah data hasil analisis perhitungan penghambatan enzim α -glukosidase terhadap 3,6-dimetil ester- α -mangostin dan blanko menggunakan perhitungan “absorbansi blanko sukrosa = abs reaksi enzim - abs blanko reaksi” yang dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Data Hasil Absorbansi Blanko 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3)

abs reaksi enzim	abs blanko reaksi enzim	abs blanko sukrosa
0.627	0.256	0.371

Sedangkan Perhitungan hasil analisis data absorbansi 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3) dari variasi konsentrasi 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3) menggunakan perhitungan “absorbansi sampel = abs reaksi sampel - abs blanko reaksi sampel” seperti dillihatkan pada Tabel 4.12

Tabel 4.12 Data Absorbansi 3,6-dimetil ester- α -mangostin

konsentrasi (3,6-dimetil ester- α -mangostin)	log konsentrasi	abs blanko reaksi sampel	abs reaksi sampel			abs sampel			
			1	2	3	1	2	3	rerata
19.53	1.29	0.22	0.38	0.38	0.39	0.16	0.16	0.17	0.16
9.76	0.98	0.20	0.43	0.42	0.42	0.22	0.21	0.21	0.22
4.88	0.68	0.19	0.45	0.45	0.45	0.25	0.25	0.26	0.25
2.44	0.38	0.19	0.51	0.51	0.52	0.31	0.32	0.32	0.32
1.22	0.08	0.18	0.51	0.52	0.52	0.33	0.33	0.33	0.33

Data absorbansi blanko (Tabel 4.11) dan data absorbansi sampel (Tabel 4.12) yang telah didapatkan kemudian digunakan menghitung besar % penghambatan 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3) pada setiap konsentrasi dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(A \text{ Blank} - A \text{ Sampel})}{A \text{ Blank}} \times 100\%$$

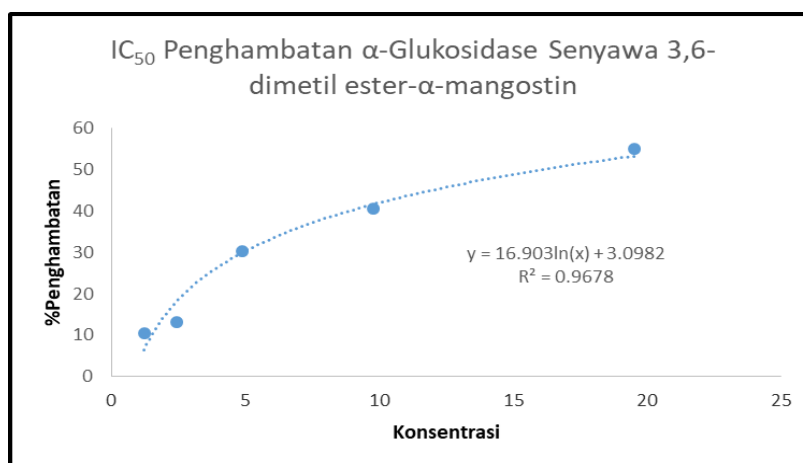
Berdasarkan persamaan % penghambatan diatas, maka nilai % penghambatan 3,6-dimetil ester- α -mangostin (3) setiap konsentrasi dapat dilihat seperti Tabel 4.13.

Tabel 4.13 Analisis Data Persentase Penghambatan 3,6-dimetil ester- α -mangostin

% penghambatan				*probit
1	2	3	rata-rata	
56.87	54.71	53.63	55.07	5.13
38.81	41.50	41.77	40.70	4.75
31.26	30.18	29.64	30.36	4.23
14.01	13.47	11.59	13.02	3.87
11.05	10.51	9.43	10.33	3.72

*Probit diperoleh dari mencocokkan % penghambatan dengan nilai probit (Tabel 4.7)

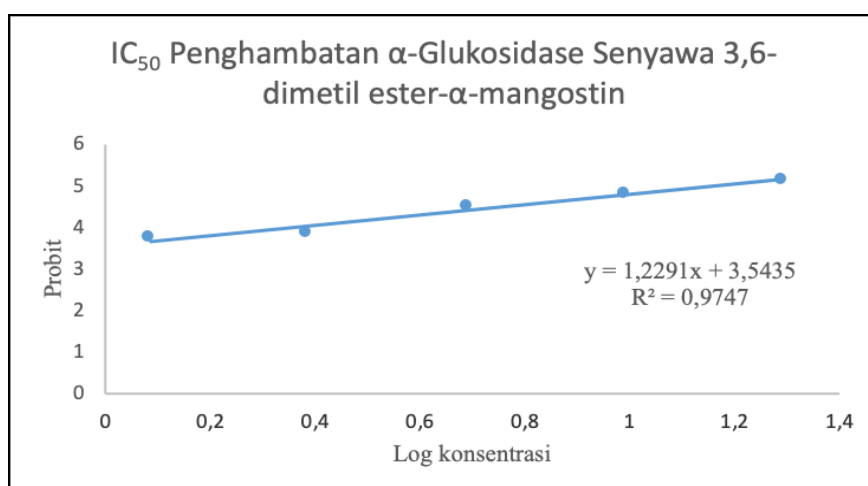
Hubungan % penghambatan dan konsentrasi 3,6-dimetil ester- α -mangostin kemudian dibuat grafik untuk mengetahui adanya korelasi antara konsentrasi dan % penghambatan dapat dilihat pada (Gambar 4.48).



Gambar 4.48 Grafik uji antidiabetes terhadap penghambatan enzim α -glukosidase 3,6-dimetil ester- α -mangostin

Konsentrasi 3,6-dimetil ester- α -mangostin, saat penghambatan 50 % diperoleh dari grafik antara % penghambatan dan konsentrasi yang tidak linier, untuk membuat persamaan yang linier maka % penghambatan ditransformasi ke nilai probit (Tabel 4.7) seperti yang ditulis (Finney, 1952) dalam bukunya yang berjudul “Analisis Probit”. Kolom kebawah nilai probit merupakan nilai % puluhan, kolom kekanan nilai probit merupakan nilai % satuan, kemudian dicocokkan berdasarkan nilai % penghambatan.

Nilai IC₅₀ aktivitas antidiabetes terhadap penghambatan α -glukosidase oleh 3,6-dimetil ester- α -mangostin diperoleh pada (Gambar 4.46).



Gambar 4.49 Grafik uji antidiabetes terhadap penghambatan enzim α -glukosidase 3,6-dimetil ester- α -mangostin (metode Hubert, 1979)

Berdasarkan persamaan $Y = 1,2291 x + 3,5435$ (Gambar 4.46), maka konsentrasi 3,6-dimetil ester- α -mangostin saat penghambatan 50 % adalah 32,55 μM .

Nilai IC_{50} aktivitas antidiabetes terhadap penghambatan α -glukosidase α -mangostin, 8-deoksigartanin, dan 3,6-dimetil ester- α -mangostin yang telah dianalisis terjadi peningkatan aktivitas antidiabetes pada senyawa hasil modifikasi yakni dari α -mangostin ($\text{IC}_{50} = 67,56 \mu\text{M}$) menjadi 3,6-dimetil ester- α -mangostin ($\text{IC}_{50} = 32,55 \mu\text{M}$), meskipun masih lebih rendah dari nilai IC_{50} akarbosa (4,55 μM). Data ini memperlihatkan bahwa senyawa metabolit sekunder hasil modifikasi dapat meningkatkan nilai IC_{50} aktivitas antidiabetes, seperti yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} untuk 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**). Walaupun, nilai IC_{50} senyawa (**3**) hasil modifikasi dari α -mangostin (**1**) menggunakan pereaksi anhidrida asetat pada penelitian ini, masih lebih rendah dibandingkan nilai IC_{50} akarbosa.

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa nilai aktivitas antidiabetes dari 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**) \gg α -mangostin (**1**) \gg 8-deoksigartanin (**2**).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan yaitu:

1. Jumlah dan randemen α -mangostin (**1**) dapat dioptimalkan menggunakan pelarut etil asetat untuk kulit buah *G. mangostana* = 24% sedangkan untuk 8-deoksigartanin (**2**) = 0,38%.
2. Hasil modifikasi α -mangostin (**1**) menggunakan pereaksi asetat anhidrat untuk memperoleh 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**) dengan randemen = 27%
3. Nilai aktivitas antidiabetes menggunakan enzim α -glukosidase dari ketiga senyawa hasil penelitian ini adalah 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**) dengan nilai 32,55 μM >> α -mangostin (**1**) dengan nilai IC_{50} 67,56 μM >> 8-deoksigartanin (**2**) dengan nilai 77,95 μM
4. Nilai aktivitas antidiabetes senyawa turunan 3,6-dimetil ester- α -mangostin (**3**) lebih baik dari pada α -mangostin (**1**).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai aktivitas antidiabetes untuk senyawa hasil modifikasi memberikan nilai aktivitas yang lebih baik dari α -mangostin, akan tetapi masih kurang baik dibandingkan kontrol positif senyawa antidiabetes acarbose. Berdasarkan hasil penelitian dan juga referensi menunjukkan hasil yang komplementer terhadap uji yang berbeda, maka penggantian pereaksi untuk modifikasi perlu dipertimbangkan untuk penelitian selanjutnya agar produk modifikasi memberikan nilai aktivitas yang lebih aktif dibandingkan kontrol positif dan dapat ditindaklanjuti sebagai alternatif biofarmaka baru.

Halaman ini sengaja dikosongkan

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Q. U., Sarian, M. N., So'ad, S. Z. M., Latip, J., Ichwan, S. J. A., Hussein, N. N., & Fakurazi, S. (2018). Methylation and acetylation enhanced the antidiabetic activity of some selected flavonoids: In vitro, molecular modelling and structure activity relationship-based study. *Biomolecules*, 8(4), 1–22.
- Arsana, I. N., Oka, I. B., & Juliasih, N. K. A. (2014). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Seminar Nasional Integrasi Keanekaragaman Hayati Dan Kebudayaan Dalam Pembangunan Berkelanjutan*, 206–2012.
- Azwanida, N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal and Aromatic Plant*, 4(196), 1-6.
- Benatrehina, P. A., Pan, L., Naman, C. B., Li, J., & Kinghorn, A. D. (2018). Usage, biological activity, and safety of selected botanical dietary supplements consumed in the United States. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8(2), 267–277.
- Bo, T., & Liu, H. (2004). Separation methods for pharmacologically active xanthenes. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 812(1), 165–174.
- Bulan, R. (2004). Esterifikasi patchouli alkohol hasil isolasi dari minyak daun nilam (*Patchouli Oil*). *Skripsi pada FMIPA*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Cooper, R., & Nicola, G. (2014). Extraction and Separation of Natural Products. In *Natural Products Chemistry*. London: CRC Press.
- Deshmukh Krishi Vidyapeeth, P., Mangesh Moharil Biotechnology Centre, I. P., Vaibhav Khelurkar Biotechnology Centre, I. C., Ingle, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., & Khelurkar, V. C. (2017). Phytochemicals: extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 32–36.

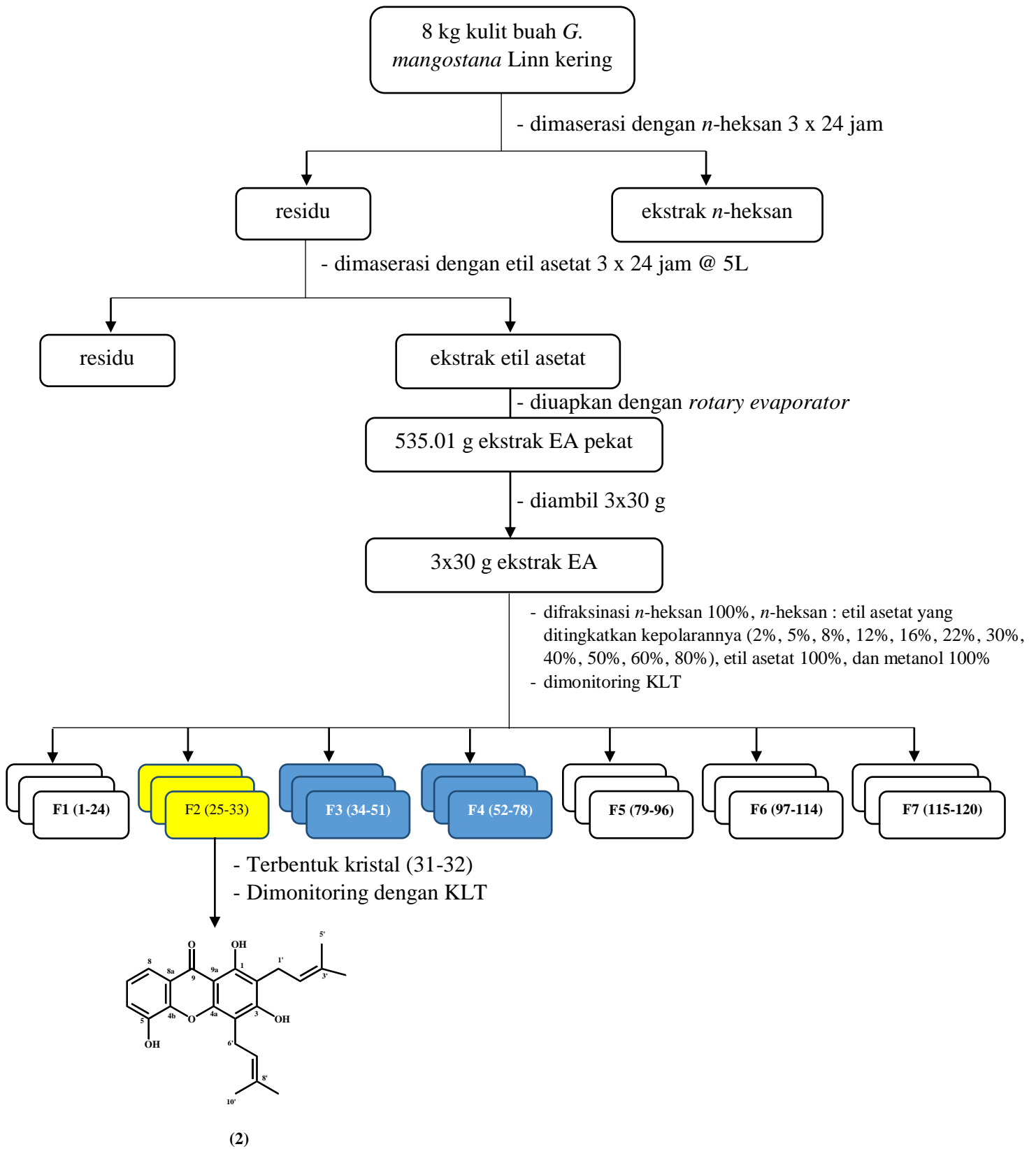
- Ehianeta. (2016). Bio- and chemical syntheses of mangiferin and congeners. *BioFactors Journal*, 42(5), 445–458.
- Ersam, T. (2012). *Kimia Mikromolekul Tumbuhan Artocarpus*. Surabaya: ITS Press
- Fatmawati, S., Ersam, T., & Shimizu, K. (2015). The inhibitory activity of aldose reductase in vitro by constituents of *Garcinia mangostana* Linn. *Phytomedicine*, 22(1), 49–51.
- Fatmawati, S., Shimizu, K., & Kondo, R. (2011). Ganoderol B: a potent α -glucosidase inhibitor isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum*. *Phytomedicine*, 18(12), 1053–1055.
- Finney, D.J. (1952). *Probit Analysis*. England: Cambridge University Press
- Helwandi, I. (2016). Validasi metode spektrofotometri uv-vis analisis tiga panjang gelombang untuk penetapan kadar tablet prednison yang mengandung zat pewarna. *Skripsi pada FF*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Heravi, M. M., Behbahani, F. K., & Bamoharram, F. F. (2007). Acetylation of alcohols, phenols and salicylic acid by heteropoly acids in acetic anhydride: a green and eco-friendly protocol for synthesis of acetyl salicylic acid (Aspirin). *Arkivoc*, 2007(16), 123–131.
- Hubert, J.J. (1979). *Bioassay*. USA: Kendall Hunt Publishing Company
- IDF (International Diabetes Federation). *Diabetes Atlas*, 2013. <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/134-idf-diabetes-atlas-8th-edition>. Accessed 03.11.19.
- Inc., B. H. P. (2011). (acarbose tablets) Reference ID : 2922442 Reference ID : 2922442. *Accesdata.Fda.Gov*, 1–13.
- Jannes. (1992). *The Organic Chemistry Laboratory Manual*. Edisi Kesatu. New York: Bargus Publishing.
- Kemenkes RI. (2018). *Hasil Utama Riskesdas 2018*. https://www.depkes.go.id/materi_rakorpop_2018 HasilRiskesdas 2018. Accessed 20.10.19.
- Kristanti, A. N., Aminah. N. S., Tanjung. M., Kurniadi. B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia (Laboratori)*. Surabaya: Airlangga University Press.

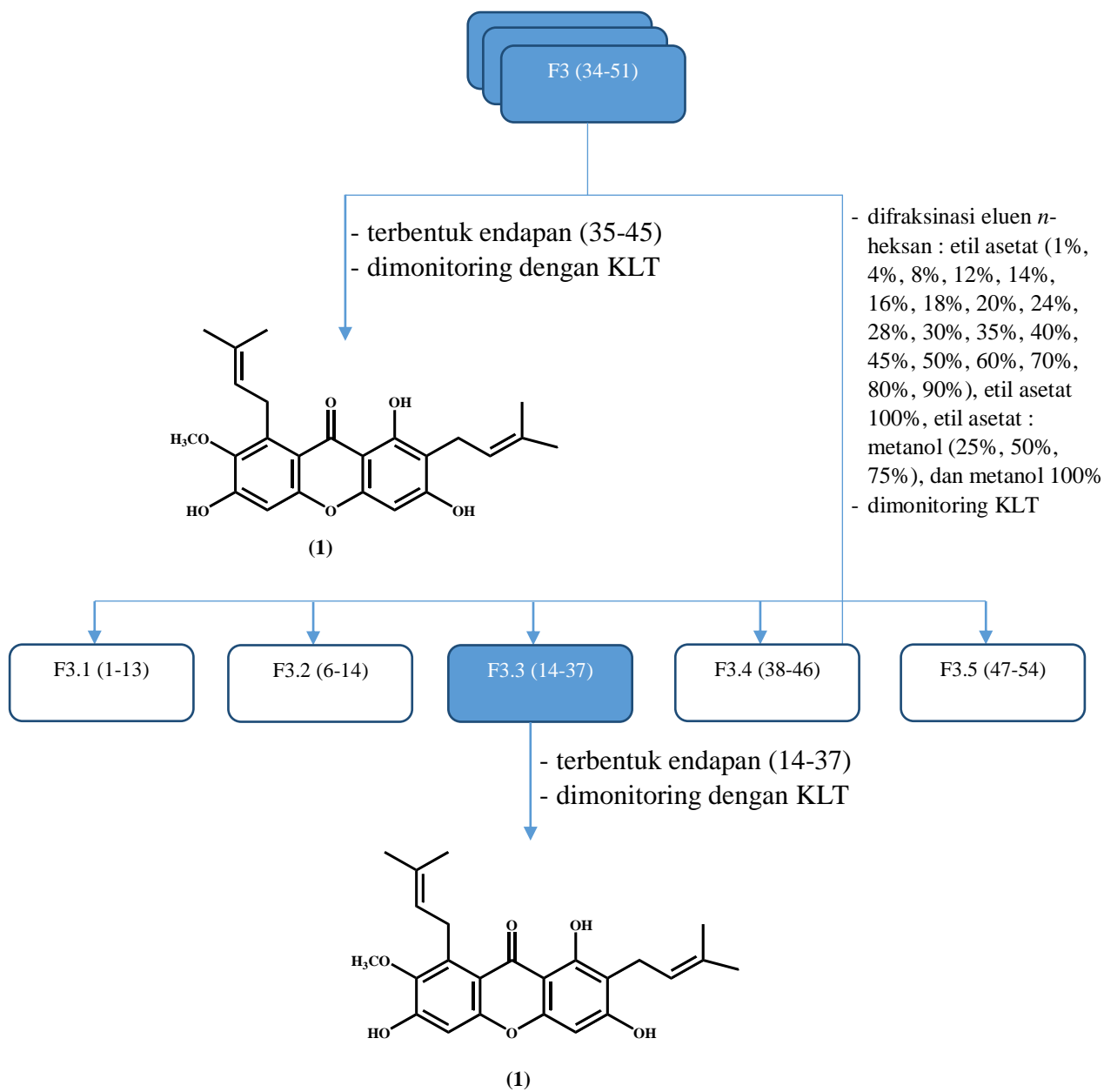
- Liu, Y. P., Guo, J. M., Yan, G., Zhang, M. M., Zhang, W. H., Qiang, L., & Fu, Y. H. (2019). Anti-inflammatory and antiproliferative prenylated isoflavone derivatives from the fruits of *ficus carica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(17), 4817–4823.
- Liu, Y., Zou, L., Ma, L., Chen, W. H., Wang, B., & Xu, Z. Le. (2006). Synthesis and pharmacological activities of xanthone derivatives as α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *14*(16), 5683–5690.
- Lukis. (2011). Dua senyawa mangostin dari ekstrak *n*-heksana pada kayu akar manggis (*Garcinia mangostana* linn.) asal kab. Nganjuk, Jawa Timur. *Prosiding Kimia FMIPA*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Mulja, M., Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Negi, J. S., Bisht, V. K., Singh, P., Rawat, M. S. M., & Joshi, G. P. (2013). Naturally occurring xanthenes: chemistry and biology. *Journal of Applied Chemistry*, *2013*, 1–9.
- Nguyen, T. H. (2015). Phytochemical and biological investigation of the bark of *Garcinia fusca* Pierre. *Dissertation to Faculty Of Chemistry and Pharmacy*. Jerman: University of Regensburg
- Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J. M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*, *46*(10), 3227–3239.
- Peres, V., Nagem, T. J., & de Oliveira, F. F. (2000). ChemInform abstract: tetraoxygenated naturally occurring xanthenes. *ChemInform*, *32*(8), 683–710
- Putri, I. P. (2015). Effectivity of xanthone of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind as anticancer. *Journal of Majority*, *4*(1), 33–38..
- Ren, Y., Matthew, S., Lantvit, D. D., Ninh, T. N., Chai, H., Fuchs, J. R., & Kinghorn, A. D. (2011). Cytotoxic and NF- κ B inhibitory constituents of the stems of *Cratoxylum cochinchinense* and their semisynthetic analogues. *Journal of Natural Products*, *74*(5), 1117–1125.
- Rubiyanti, R., Susilawati, Y., & Muchtaridi, M. (2016). Potensi ekonomi dan manfaat kandungan α -mangostin serta gartanin dalam kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Farmaka*, *15*(1), 15–25.

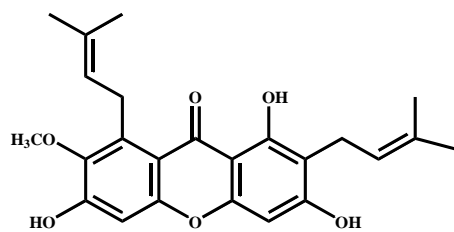
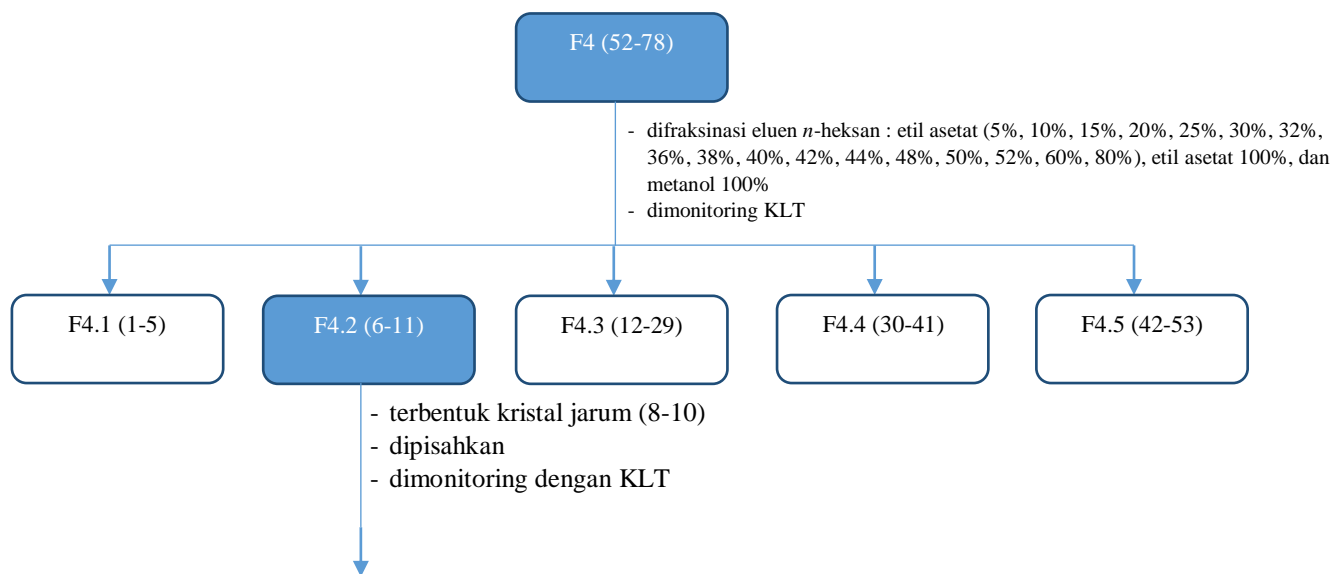
- Ryu, H. W., Cho, J. K., Curtis-Long, M. J., Yuk, H. J., Kim, Y. S., Jung, S., & Park, K. H. (2011). α -Glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of prenylated xanthenes from *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*, *72*(17), 2148–2154.
- Sage, E. E., Jailani, N., Taib, A. Z. M., Noor, N. M., Ikram Mohd Said, M., Bakar, M. A., & Mackeen, M. M. (2018). From the front or back door? quantitative analysis of direct and indirect extractions of α -mangostin from mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Plos One*, *13*(10), 1–12.
- Sari, A. P. (2011). Senyawa α dan γ -mangostin dari kulit buah *Garcinia mangostana* Linn. *Skripsi pada FS*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Schmidt, W., & Beerhues, L. (1997). Alternative pathways of xanthone biosynthesis in cell cultures of (*Hypericum androsaemum* L). *FEBS Letters*, *420*, 1–4
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, *30*(18), 3268–3295.
- Suarsa, I. W. (2015). *Spektroskopi*. Bali: Universitas Udayana Press
- Sukandar, E. R., Kaennakam, S., Rassamee, K., Ersam, T., Siripong, P., & Tippyang, S. (2019). Tetrandraxanthenes A – I, prenylated and geranylated xanthenes from the stem bark of *Garcinia tetrandra*. *Journal of Natural Products*, *85*(5), 1312-1318.
- Uji, T. (2007). Keanekaragaman, persebaran, dan potensi jenis-jenis *Garcinia* di Indonesia. *Berkala Penelitian Hayati*, *12*, 129-135.
- Vo, H. T., Nguyen, N. T. T., Maas, G., Werz, U. R., Pham, H. D., & Nguyen, L. H. D. (2012). Xanthenes from the bark of *Garcinia pedunculata*. *Phytochemistry Letters*, *5*(4), 766–769.
- Yang, C., Ma, L., Wei, Z., Han, F., & Gao, J. (2012). Advances in isolation and synthesis of xanthone derivatives. *Chinese Herbal Medicines*, *4*(308), 87–102.
- Yuliana. (2019). Isolasi senyawa dari *Stachytarpheta Jamaicensis* serta uji aktivitas antioksidan dan α -glukosidase. *TESIS pada FS*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

LAMPIRAN

Skema Kerja Isolasi

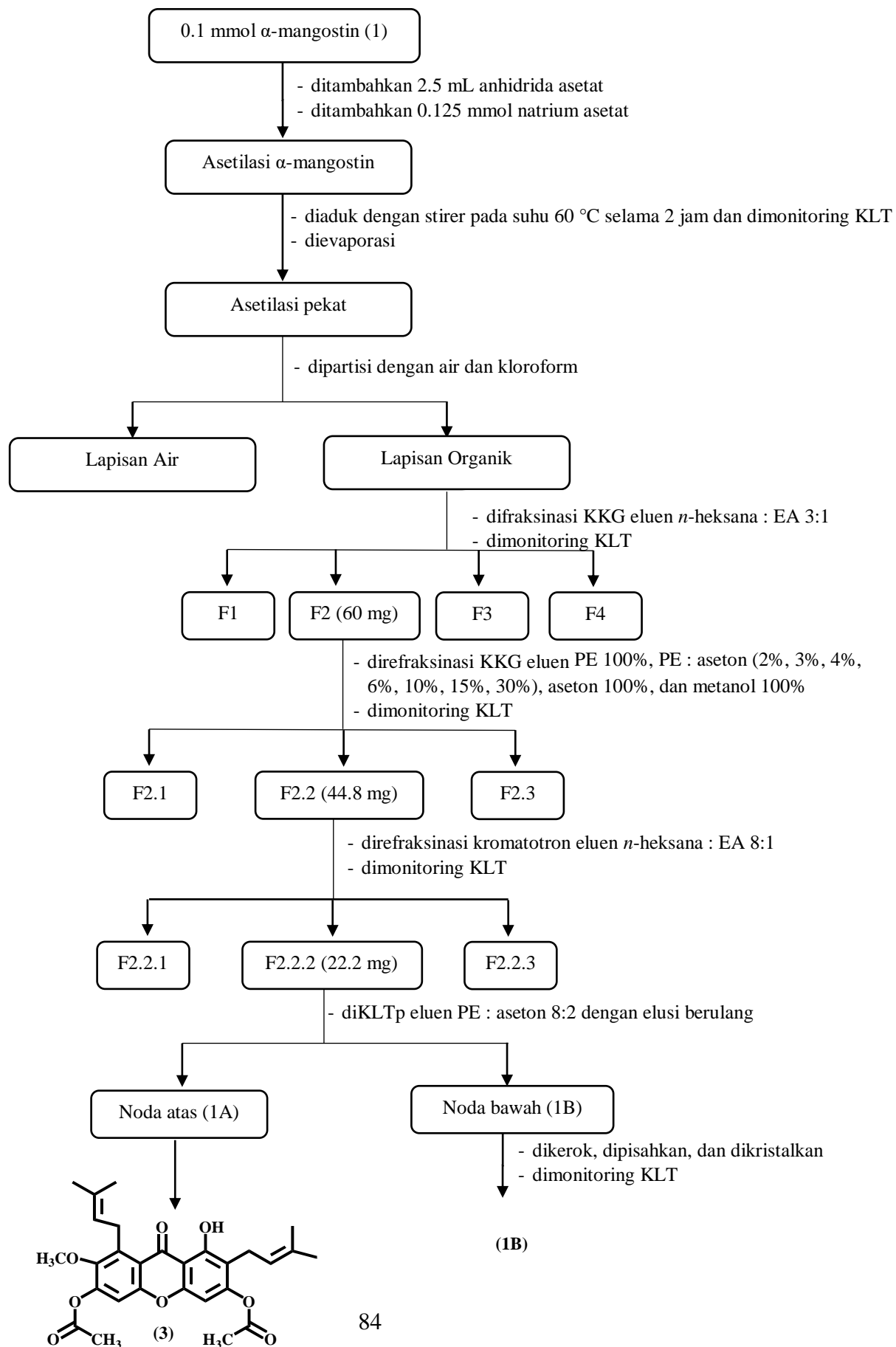






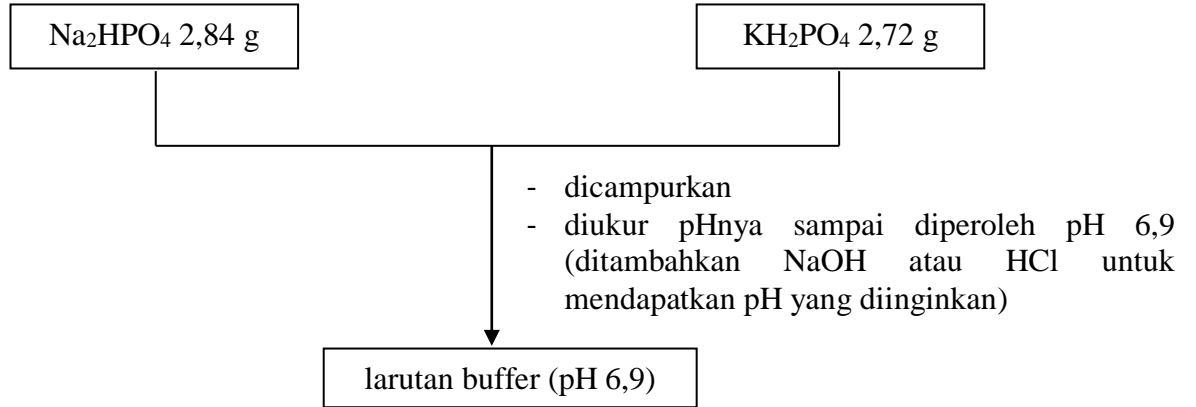
(1)

Skema Kerja Modifikasi α -mangostin dan Asetat Anhidrat

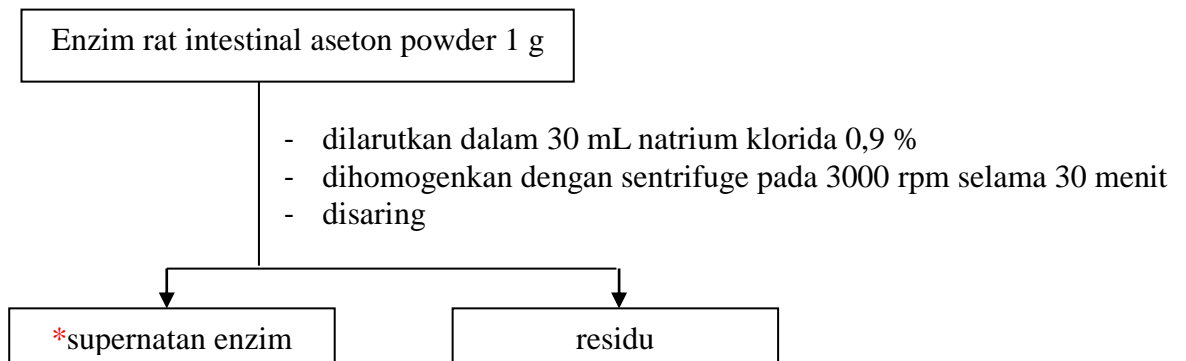


Skema Kerja Uji Antidiabetes

a. Pembuatan Larutan *Buffer*, pH 6.9 (1M)



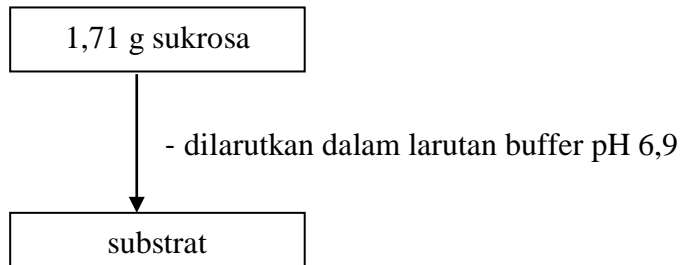
b. Pembuatan Enzim



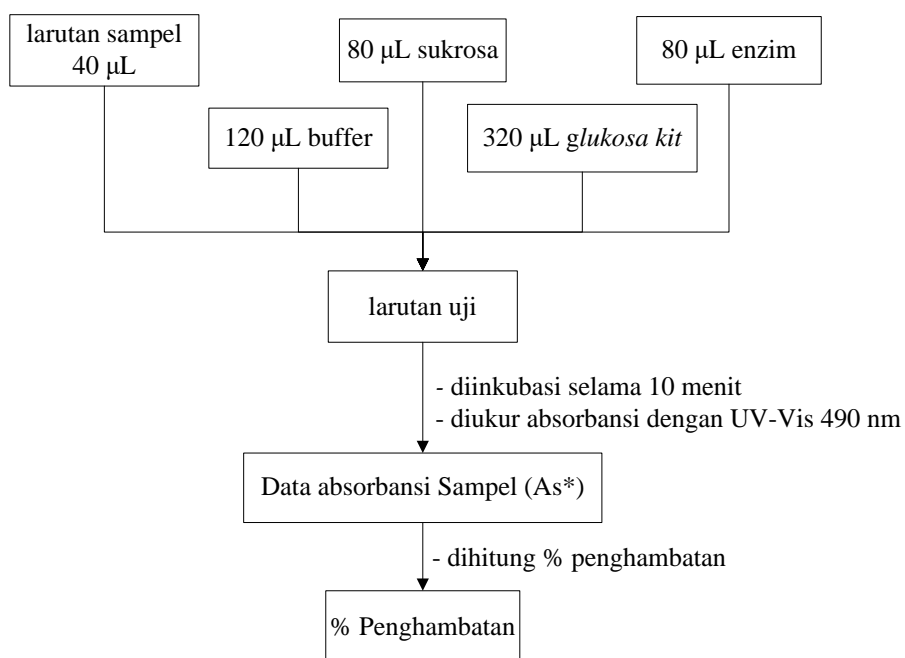
Keterangan :

*dimasukkan dalam botol dan disimpan pada suhu 20 °C

c. Pembuatan Substrat



d. Uji Aktivitas Enzim α -Glukosidase



Keterangan:

*Pengukuran dilakukan *triplo*

Blanko : DMSO

Kontrol positif : Akarbosa

Larutan Sampel : Senyawa α -mangostin, 8-deoksigartanin, dan 3,6-dimetil ester α -mangostin

BIODATA PENULIS



Penulis mempunyai nama lengkap Khoiriyah Umami, biasa dikenal dengan panggilan Ami. Penulis lahir di Mojokerto, 11 Januari 1988, anak pertama dari tiga bersaudara. Riwayat pendidikan yang telah ditempuh yaitu TK Miftahul Ulum Lengkong (1992-1994), MI. Miftahul Ulum Lengkong (1994-2000), SLTPN 1 Mojokerto (2000-2003), SMAN 1 Sooko Mojokerto (2003-2006), dan S1 Kimia Universitas Negeri Surabaya (2006-2010).

Penulis melanjutkan studi Magister bidang Kimia Organik Bahan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember di bawah bimbingan Prof. Dr. Taslim Ersam, MS.

Penulis dapat dihubungi melalui:

- Email : justlove_chemistry11@yahoo.co.id
- Facebook : Khoiriyah Umami
- Instagram : @khoiriyahumami