

## EVALUASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA SANTON DARI KULIT BATANG MANGGIS HUTAN (*Garcinia bancana* Miq.)

Muharni, Elfita  
Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Sriwijaya  
Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32 Indralaya OI Palembang  
e-mail: muharnimyd@yahoo.co.id

### Abstrak

Telah dilakukan isolasi senyawa antibakteri penyebab diare dari ekstrak kulit batang *G. bancana*. Pengujian dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan dua jenis bakteri yaitu *E. Coli*, dan *S. disenteriae* dengan variasi konsentrasi 1, 0,75, 0,50, dan 0,25%. Senyawa antibakteri hasil isolasi berupa kristal kuning yang merupakan kelompok senyawa piranosanton. Struktur dari senyawa hasil isolasi telah ditentukan berdasarkan data spektroskopi NMR 1D, serta dengan membandingkan dengan data yang pernah dilaporkan. Aktivitas antibakteri dari senyawa hasil isolasi masih memberikan aktivitas sampai konsentrasi 0,25 % dengan diameter zona hambat untuk *E.coli* dan *S. Disenteriae* berturut-turut 9 mm dan 9,2 mm. Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa kulit batang *G. bancana* mengandung senyawa antibakteri penyebab diare.

Kata Kunci: *G. bancana*, *E. coli*, *S. disenteriae*, difusi agar, santon.

### PENDAHULUAN

*Garcinia* adalah genus terbesar dari famili Guttiferae dikenal dengan nama manggis-manggis. Kajian fitokimia dari genus ini menunjukkan bahwa genus ini kaya dengan metabolit sekunder golongan santon dan benzofenon sebagai komponen utama dan juga flavonoid, terpenoid, terpenoid dan asam fenolat sebagai komponen minornya (Bennett and Lee, 1989).. Senyawa Golongan santon dan benzofenon ini menunjukkan aktivitas biologis yang bervariasi sebagai antibakteri, antioksidan, antimalaria, antiviral dan aktivitas mencegah kanker (Mackeen *et al.*, 2000; Xu *et al.*, 2001; Ruckhaisiricul *et al.*, 2005. Keberadaannya dapat berbentuk santon dan benzofenon teroksidasi maupun teralkilasi. Struktur senyawa tiap kelompok tersebut sangat bervariasi, antara lain disebabkan oleh jumlah oksidasi, siklisasi, alkilasi, prenilasi dan perbedaan stereokimianya.

Disisi lain Kebutuhan bahan antimikroba untuk terapi penyakit infeksi masih tinggi dan juga timbul mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antimikroba yang ada (Gunatilaka, 2006; Chandrashekhara *et al.*, 2007). Kondisi tersebut menuntut pencarian bahan-bahan antimikroba baru untuk mengatasinya. Salah satunya adalah dari *Garcinia bancana* yang dikenal dengan namamanggis hutan (Whitmore, 1973; Heyne, 1987). Pada penelitian sebelumnya kami telah menemukan tiga senyawa golongan fenol dari kulit batang *G. Bancana* yaitu isosantosimol, 1,5-Dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-bis-(3-metil-but-2-enil)-santon, dan (-)-epikatekin (Muharni dkk., 2007 dan 2008).

Dalam rangka penelitian berkelanjutan investigasi kandungan kimia dari tumbuhan *G. bancana* asal Indonesia, telah dilakukan penelitian isolasi senyawa antibakteri penyebab diare dari ekstrak kulit batang *G. bancana*. Struktur molekul senyawa hasil isolasi telah ditetapkan berdasarkan data-data spektri\oskopi spektroskopi UV, IR, <sup>1</sup>H NMR dan <sup>13</sup>C NMR, HMQC dan HMBC serta didukung oleh perbandingan data sejenis yang telah dilaporkan sebelumnya. Dalam makalah ini akan disampaikan identifikasi struktur senyawa hasil isolasi berdasarkan data NMR 1 dimensinya serta aktivitas antibakterinya terhadap bakteri penyebab diare (*E. coli* dan *S. disenteriae*) yang ditentukan dengan metode difusi agar.

### METODE PENELITIAN

**Umum.** Spektrum <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR ditentukan dengan spektrofotometer JEOL JNM ECA-500 yang beroperasi pada 500 MHz (<sup>1</sup>H) dan 125 MHz (<sup>13</sup>C) menggunakan TMS sebagai internal standar. Kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan Si-gel 60 GF254 (Merck), kromatografi kolom cair terbuka menggunakan Si gel 60 G (70-230 Mesh). Analisa KLT menggunakan plat KLT Kieselgel 60 F<sub>254</sub> 0,25 mm (Merck). Uji antibakteri menggunakan metode difusi agar. Bahan tumbuhan berupa kulit batang *G. bancana*

### Ekstraksi dan Isolasi.

Sebanyak 3 Kg serbuk kulit batang kering *G. bancana* dimaserasi berturut-turut dengan *n*-heksana, diklorometana dan metanol masing –masing diulangi sebanyak 3 x 5 L. Masing-masing maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotari evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak

kental *n*-heksana, diklorometana dan ekstrak kental metanol. Ekstrak diklorometana, dianalisa dengan kromatografi lapis tipis menggunakan pelarut dengan berbagai eluen untuk mencari eluen yang tepat untuk kolom vakum. Ekstrak diklorometana kemudian difraksinasi dengan kromatografi vakum cair. Sampel disiapkan secara preabsorpsi dan dimasukkan ke dalam kolom kromatografi (adsorben Si-gel) secara merata dan dilusi menggunakan eluen: *n*-heksana, campuran *n*-heksana-EtOAc. Hasil kolom ditampung dengan botol dan dianalisis dengan Kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penampak noda lampu UV. Botol dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Dari hasil pengoloman vakum diperoleh 6 subfraksi gabungan F.M.1 – F.M.6. Pemisahan fraksi F.M.2 selanjutnya menggunakan kolom kromatografi cair terbuka (adsorben Si gel, eluen bergradien *n*-heksana dan campuran *n*-heksana-EtOAc menghasilkan 4 subfraksi gabungan F.M.2.1 – F.M.2.4. Subfraksi F.M.2.4 kembali dimurnikan dengan teknik kromatografi kolom terbuka menghasilkan senyawa murni berupa kristal kuning (18 mg).

### Uji Aktifitas Antidiare Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa murni yang didapat dilakukan uji aktifitas antimikrobanya menggunakan metoda difusi agar dengan kadar tiap cakram 1% ; 0,75% ; 0,5% dan 0,25% terhadap masing-masing bakteri uji (*Escherichia coli*, dan *Shigella dysenteriae*). Sebanyak 0,1 ml suspensi mikroba uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah yang masing-masing berisi 12 ml media NA, lalu dihomogenkan. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah media memadat diletakkan kertas cakram steril yang telah ditetesi 10 µl larutan uji menggunakan pipet mikro. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati adanya pertumbuhan mikroba uji dan diukur diameter daerah hambatannya. Sebagai kontrol negatif digunakan kertas cakram steril yang telah ditetesi dengan metanol. Sebagai pembanding digunakan larutan tetrasiklin 16 ppm. Sebagai kontrol negatif digunakan metanol sebagai kontrol negatif. Kemudian diukur diameter daerah hambat disekeliling cakram dan dibandingkan dengan kontrol.

### Karakterisasi senyawa murni hasil isolasi

Karakterisasi senyawa murni meliputi pemeriksaan sifat fisika, (titik leleh) dan fisiko kimia dengan melakukan analisis spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa murni yang berhasil diisolasi dengan menggunakan alat spektrometer <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C NMR 1D. Dari analisis spektroskopi ini akan dapat diduga struktur kimia dari senyawa aktif yang diperoleh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi Senyawa Antidiare dari Kulit Batang *G. bancana*

Serbuk kering kulit batang *G. bancana* (3 kg) diekstraksi berturut-turut dengan *n*-heksana, diklorometana, dan metanol, dan setelah dipekatkan didapatkan ekstrak *n*-heksana (40 g), diklorometana (22 g), dan ekstrak metanol (32 g). Selanjutnya terhadap masing-masing ekstrak dilakukan pengujian aktivitas antibakteri penyebab diare. Dari hasil uji yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana dan ekstrak diklorometana bersifat aktif terhadap kedua bakteri uji sehingga pengerjaan selanjutnya dilakukan terhadap kedua fraksi ini.

### Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Antibakteri dari Fraksi Diklorometana

Pemisahan fraksi diklorometana (F.M; 22 g) dari kulit batang *G. bancana* dengan kromatografi vakum cair (KVC) setelah dianalisis dengan KLT, menghasilkan enam subfraksi gabungan F.M.1 (Botol 1; 0,8 g), F.M.2 (Botol 2 dan 3 ; 3,3 g), F.M.3 (Botol 4 - 7; 5,2 g), F.M.4 (Botol 8 - 14: 3,2 g), F.M.5 (Botol 15 - 17; 4,2 g), dan F.M.6 (Botol 18 - 23; 3,5 g). Pemisahan subfraksi F.M.2 (3,3 g) menggunakan kromatografi kolom terbuka menghasilkan empat subfraksi gabungan yaitu F.M.2.1 (vial 1 - 2: 0,8 g), F.M.2.2 (vial 3 - 8; 0,6 mg), F.M.2.3 (vial 9-17; 1 g), dan F.M.2.4 (vial 18-46; 0,5 g).

Pada Fraksi F.M.2.4 (300 mg) juga menunjukkan adanya kristal dengan jumlah tiga noda. Subfraksi F.M.2.4 (0,5 g) kembali dimurnikan dengan kromatografi kolom terbuka (KKT) dengan eluen bergradien *n*-heksana dan campuran *n*-heksana : etil asetat. Hasil kolom selanjutnya di KLT dan yang memberikan pola KLT yang sama kembali digabung menjadi satu subfraksi. Dari pola KLT didapatkan tiga subfraksi FM2.4.1 (200 mg), F.M.2.4.2 (30 mg), dan F.M.2.4.3 (150 mg). Dari subfraksi F.M.2.4.2 setelah dicuci dengan *n*-heksana didapatkan senyawa **1** (18 mg) berupa kristal kuning dan setelah di KLT dengan berbagai eluen menunjukkan 1 noda sehingga diduga merupakan senyawa murni.

Tabel 1. Uji aktivitas antibakteri dari senyawa hasil isolasi dari subfraksi F.M.2.4.2 hasil kolom grafitasi ekstrak diklorometana kulit batang *G.bancana* dengan metode difusi agar

Bakteri Uji	Senyawa Uji	Perlakuan	Diameter zona bening (mm)
<i>Escherichia coli</i>	I	0,25 %	9,0
		0,50%	10,0
		0,75 %	12,2
		1,00%	15,0
<i>Sigella disenteriae</i>	I	0,25 %	9,2
		0,50%	10,0
		0,75 %	14,0
		1,00%	17,0

#### Uji aktivitas antidiare terhadap senyawa hasil isolasi

Terhadap senyawa murni yang diperoleh dari fraksi diklorometana dilakukan uji antibakteri dengan variasi konsentrasi 1%, 0,75%, 0,5%, dan 0,25% dan untuk kontrol positif digunakan metanol. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 1.

Dari hasil uji ditunjukkan bahwa kedua senyawa murni hasil isolasi menunjukkan aktif antibakteri terhadap kedua bakteri uji (*E.coli* dan *S. disenteriae*) sampai konsentrasi 0,25%. Berdasarkan data ini maka disimpulkan bahwa senyawa hasil diisolasi menunjukkan aktif terhadap bakteri penyebab diare.

#### Karakterisasi senyawa murni hasil isolasi

Karakterisasi senyawa murni meliputi analisis spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa murni yang berhasil diisolasi dengan menggunakan alat spektrometer  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C NMR}$  1D dan 2D. Senyawa hasil isolasi berupa kristal jarum kuning. Analisis data  $^1\text{H NMR}$  menunjukkan adanya sinyal proton aromatik *doublet-doublet* yang terkopling *orto* dan *meta* (masing-masing  $\delta_{\text{H}}$  7,28 (1H,  $J = 1,2$  dan 7,9 Hz) dan pada 7,24 (1H,  $J = 1,2$  Hz dan 7,9), satu sinyal aromatik lainnya 1H,  $J = 7,65$ ; 7,9 Hz), yang merupakan sinyal khas untuk trisubstitusi benzena. Selain itu juga terlihat satu sinyal proton aromatik singlet pada  $\delta_{\text{H}}$  6,18 ppm. Spektrum  $^1\text{H NMR}$  juga menunjukkan adanya sinyal yang khas untuk satu unit cincin dimetilokromen pada  $\delta_{\text{H}}$  7,02 dan 5,71 masing-masing (1H,  $d$ ,  $J = 10,0$  Hz) dan 1,48 (6H,  $s$ ).

Spektrum  $^{13}\text{C}$  menunjukkan adanya 18 sinyal karbon. Diantaranya merupakan sinyal yang khas untuk rangka dasar santon. Hal ini diperkuat dengan kajian pustaka bahwa kandungan mayor dari genus *Garcinia* adalah senyawa golongan santon. Sinyal pada  $\delta_{\text{C}}$  182,5 ppm merupakan sinyal dari C karbonil yang khas untuk karbonil yang terkelasi dari cincin santon. Sinyal pada  $\delta_{\text{C}}$  164,3; 162,3; dan 147,8 ppm merupakan sinyal dari C yang mengikat O. Hal ini mengindikasikan adanya substituen Oh dari senyawa hasil isolasi. Satu sinyal pada daerah 79,6 ppm merupakan sinyal karakteristik untuk sinyal dari C kwartener dari cincin dimetilokromen. Selanjutnya juga terlihat sinyal yang khas untuk dua gugus metil pada  $\delta_{\text{C}}$  26,7 ppm yang diperkirakan merupakan dua sinyal metil yang selingkungan. Hal ini diperkuat dengan data spektrum  $^1\text{H NMR}$  yang menunjukkan adanya sinyal pada  $\delta_{\text{H}}$  1,48 (6H,  $s$ ). Berdasarkan data spektroskopi NMR 1D dan korelasi antara jumlah H dan karbon yang muncul, diduga senyawa hasil isolasi juga memiliki gugus OH yang tersubstitusi pada cincin aromatik. Tidak munculnya sinyal OH pada spektrum  $^1\text{H NMR}$  diduga disebabkan oleh pengambilan data spektrum dilakukan dengan menggunakan pelarut  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Berdasarkan hasil analisis ini diperkirakan bahwa senyawa hasil isolasi adalah golongan santon tipe piranosanton yang memiliki substituen OH.

Dari hasil uji ditunjukkan bahwa kedua senyawa murni hasil isolasi menunjukkan aktif antibakteri terhadap kedua bakteri uji (*E.coli* dan *S. disenteriae*) sampai konsentrasi 0,25%. Berdasarkan data ini maka disimpulkan bahwa senyawa hasil diisolasi menunjukkan aktif terhadap bakteri penyebab diare.

### Karakterisasi senyawa murni hasil isolasi

Karakterisasi senyawa murni meliputi analisis spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa murni yang berhasil diisolasi dengan menggunakan alat spektrometer  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$  NMR 1D dan 2D. Senyawa hasil isolasi berupa kristal jarum kuning. Analisis data  $^1\text{H}$  NMR menunjukkan adanya sinyal proton aromatik *doblet-doblet* yang terkopling *orto* dan *meta* (masing-masing  $\delta_{\text{H}}$  7,28 (1H,  $J = 1,2$  dan 7,9 Hz) dan pada 7,24 (1H,  $J = 1,2$  Hz dan 7,9), satu sinyal aromatik lainnya 1H,  $J = 7,65$ ; 7,9 Hz), yang merupakan sinyal khas untuk trisubstitusi benzena. Selain itu juga terlihat satu sinyal proton aromatik singlet pada  $\delta_{\text{H}}$  6,18 ppm. Spektrum  $^1\text{H}$  NMR juga menunjukkan adanya sinyal yang khas untuk satu unit cincin dimetilokromen pada  $\delta_{\text{H}}$  7,02 dan 5,71 masing-masing (1H,  $d$ ,  $J = 10,0$  Hz) dan 1,48 (6H, s).

Spektrum  $^{13}\text{C}$  menunjukkan adanya 18 sinyal karbon. Diantaranya merupakan sinyal yang khas untuk rangka dasar santon. Hal ini diperkuat dengan kajian pustaka bahwa kandungan mayor dari genus *Garcinia* adalah senyawa golongan santon. Sinyal pada  $\delta_{\text{C}}$  182,5 ppm merupakan sinyal dari C karbonil yang khas untuk karbonil yang terkhelasi dari cincin santon. Sinyal pada  $\delta_{\text{C}}$  164,3; 162,3; dan 147,8 ppm merupakan sinyal dari C yang mengikat O. Hal ini mengindikasikan adanya substituen OH dari senyawa hasil isolasi. Satu sinyal pada daerah 79,6 ppm merupakan sinyal karakteristik untuk sinyal dari C kwartener dari cincin dimetilokromen. Selanjutnya juga terlihat sinyal yang khas untuk dua gugus metil pada  $\delta_{\text{C}}$  26,7 ppm yang diperkirakan merupakan dua sinyal metil yang selingkungan. Hal ini diperkuat dengan data spektrum  $^1\text{H}$  NMR yang menunjukkan adanya sinyal pada  $\delta_{\text{H}}$  1,48 (6H, s). Berdasarkan data spektroskopi NMR 1D dan korelasi antara jumlah H dan karbon yang muncul, diduga senyawa hasil isolasi juga memiliki gugus OH yang tersubstitusi pada cincin aromatik. Tidak munculnya sinyal OH pada spektrum  $^1\text{H}$  NMR diduga disebabkan oleh pengambilan data spektrum dilakukan dengan menggunakan pelarut  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Berdasarkan hasil analisis ini diperkirakan bahwa senyawa hasil isolasi adalah golongan santon tipe piranosanton yang memiliki substituen OH.

### SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Dari fraksi diklorometana kulit batang *G. bancana* berhasil diisolasi satu senyawa murni berupa kristal kuning yang merupakan senyawa golongan santon

tipe piranosanton yang memiliki substituen OH.

2. Senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antibakteri penyebab diare (*E. coli* dan *S. dysenteriae*) sampai konsentrasi 0,25% dengan diameter daerah bening 9 mm terhadap *E. coli* dan 9,2 mm terhadap *S. dysenteriae*

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan pada kepala staf LIPI Serpong yang telah membantu pengukuran spektrum ini dan kepada DP2M Dikti melalui Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya, yang telah membantu dana penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bennett, G. J., and Lee, H. H. 1989. Xanthenes from Guttiferae. *Phytochemistry* 28 (4): 967-998.
- Chandrashekhara, Niranjanraj, S., Deepak, S.A., Amruthesh, K.N., Shetty, N.P., and Shetty, H.S. 2007. Endophytic Bacteria from Different Plant Origin Enhance Growth and Induce Downy Mildew Resistance in Pearl Millet. *A sian Journal of Plant Pathology*, 1 (1): 1-11.
- Gunatilaka A.A.L. 2006. Natural Products from Plant-Associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence. *J. Nat. Prod*, 69, 509-526.
- Hay, A. E., Aumond, M.C., Mallet, S., Dumonted, V., Litaudon, M., Rondeau, D., and Richomne P. 2004. Antioxidant Xanthenes from *Garcinia vieillardii*. *Journal of Natural Products* 67: 707-709.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Jakarta: Yayasan SaranaWana Jaya. 387.
- Mackeen, M. M., Ali, A. M., Lajis, N. H., Kawazu, K., Hassan, Z., Amran, M., Hasbah, M., Mooi, L. Y., and Mohamed, S. M. 2000. Antimicrobial, Antioxidant, Antitumour-Promoting and Cytotoxic Activities of Different Plant Part Extracts of *Garcinia atroviridis* Griff. Ex T. Anders. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 394-402.
- Muharni, Dachriyanus, Husein, H. Bahti, dan Supriyatna. 2007. Benzofenon Terpoliprenilasi dari Kulit Batang

- Garcinia bancana* Miq. *Jurnal Alchemy*, 6(2): 9 -13.
- Muharni, Dachriyanus, Husein, H. Bahti., dan Supriyatna. 2008. Senyawa fenol dari kulit batang manggis hutan (*Garcinia bancana* Miq.) dan kandis keling (*Garcinia nigrolineata* Planch Ex t. Anders) serta aktivitas antioksidannya. Disertasi Pascasarjana Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Rukachaisirikul, V., Naklue, W., Sukpondma, Y., and Phongpaichit, S. 2005. An Antibacterial Biphenyl Derivative from *Garcinia bancana* Miq. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53: 342-343.
- Whitmore, M. A.1973. Tree Flora of Malaya, Malaysia. Longman: Forest Department, Ministry of Primary Industries: 218.
- Xu, Y. J., Lai, Y. H., Imiyabir, Z., and Goh, S. H. 2001. Xanthones from *Garcinia parvifolia*. *Journal of Natural Products* 64: 1191-1195.

**TANYA JAWAB**

Penanya : Dominicus Martono (Puslitbang Hasil Hutan Bogor)

**Pertanyaan :**

Bagaimana manggis yang biasa kita konsumsi sebagai buah-buahan dapat dimanfaatkan untuk pengawetan gula?

**Jawaban :**

Kalau manggis yang dikonsumsi sebagai buah adalah jenis manggis *Carcinia manggostana*. Berbeda dengan spesies manggis yang saya teliti yaitu *Garcinia bancana*. Tapi diketahui bahwa komponen utama dari buah manggis itu adalah  $\alpha$  mangostin yang bersifat sebagai antioksidan mungkin ada kaitannya dengan kandungan kimia yang dimilikinya.