

Fractionation of *Garcinia mangostana* Fruit Pericarp Cellulase Assisted Extracts by Preparative Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography

Fraksinasi Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Preparatif Ekstrak Kulit Buah *Garcinia mangostana* yang Diperoleh dengan Bantuan Selulase

**Titania Tjandrawati Nugroho^{1*}, Krisna Puja^{1,2}, Yum Eryanti¹,
Miranti Miranti¹**

¹ Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau, Kampus Bina Widya Km 12,5, Jln Raya Soebrantas, Pekanbaru, Indonesia. 20293

² Environmental Management Unit, PT Mustika Sembuluh, Wilmar International Plantation, Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia.

*) Penulis korespondensi: titania.nugroho@lecturer.unri.ac.id .Telp. (+62)(761-)839631.

ABSTRACT

The polar extract of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) fruit pericarp obtained by cellulase assisted ethanol extraction has strong antioxidant activity, giving an average 2,2 diphenyl-1 pykrylhidrazyl (DPPH) radical scavenging IC₅₀ of 13.9 µg/mL. In order to elucidate the chemical component from this extract that is responsible for the high antioxidant activity, fractionation of the extract should firstly be performed. In this paper we show results of preparative fractionation of the polar extract by two methods, namely preparative Thin Layer Chromatography (PTLC) and preparative High Performance Liquid Chromatography (PHPLC). PTLC used Silica Gel G60 plates, with a hexane:ethyl acetate (6:4) eluent. PHPLC was a reverse phase method, using C₁₈ column and water:acetonitrile gradient elution. 4 fractions from PTLC and 6 fractions from PHPLC were collected and their antioxidant activity analyzed. Both methods gave separated fractions with lower antioxidant activity than the unfractionated original crude extracts, showing that the strong antioxidant activity of Mangosteen pericarp polar extracts maybe due to the concerted synergetic effect of several compounds, rather than a single isolated compound. It also shows the high degree of difficulty in separating mangosteen pericarp polar components having antioxidant activity for further structural analysis.

Keywords: 2,2 diphenyl-1 pikrylhidrazil, cellulose, DPPH, *Garcinia mangostana*, Mangosteen.

ABSTRAK

Ekstrak polar kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) hasil ekstraksi menggunakan etanol dengan bantuan enzim selulase, memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, dengan nilai IC₅₀ penangkapan radikal 2,2 diphenil-1 pikrilhidrazil (DPPH) sebesar 13,9 µg/mL. Untuk dapat menentukan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan dalam ekstrak ini, maka perlu terlebih dahulu dilakukan pemisahan atau fraksinasi dari ekstrak tersebut. Dalam makalah ini, ditunjukkan hasil fraksinasi ekstrak polar ini dengan dua metode, yaitu metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP), dan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Preparatif (KCKTP). KLTP dilakukan dengan menggunakan pelat silika gel G60, dengan eluen heksan:etil asetat (6:4). KCKTP dilakukan dengan menggunakan kolom C₁₈ dan gradien elusi air:asetonitril. Pada KLTP diperoleh 4 fraksi, sedangkan pada KCKTP diperoleh 6 fraksi yang ditentukan aktivitas antioksidannya. Analisis

aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kedua metode memberikan fraksi-fraksi dengan aktivitas antioksidan yang lebih rendah dari aktivitas antioksidan ekstrak kasar semula sebelum proses fraksinasi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak polar kulit buah manggis yang tinggi kemungkinan disebabkan efek sinergis beberapa senyawa, dan bukan disebabkan satu senyawa tunggal terpisah. Penelitian ini juga menunjukkan tingkat kesulitan yang tinggi untuk memisahkan komponen polar kulit buah manggis yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi untuk analisis struktural lebih lanjut.

Kata Kunci: 2,2 diphenil-1 pikrilhidrazil, DPPH, *Garcinia mangostana*, Kulit buah manggis, selulase

PENDAHULUAN

Buah manggis merupakan buah yang tersebar luas di kawasan Asia Tenggara. Daging buah dan kulitnya mengandung banyak senyawa bioaktif, baik yang bersifat polar maupun nonpolar. Senyawa bioaktif yang telah dilaporkan dari kulit buah manggis adalah senyawa-senyawa nonpolar dari golongan xanton, seperti α -mangostin (Zhang et al., 2017), β -mangostin, γ -mangostin, 8-deoksigartanin dan garsinon (Aizat et al., 2019), dan gartanin (Oetari et al., 2019). Senyawa-senyawa xanton ini mendapat perhatian, karena aktivitas biologisnya sebagai senyawa antikanker (Mohamed et al., 2017), penurun kadar glukosa darah dan anti-obesitas (Ovalle-Magallanes et al., 2017), anti jerawat dan obat arthritis rheumatoid (Chen et al., 2018).

Tidak kalah penting dari senyawa-senyawa xanton yang non-polar, adalah senyawa-senyawa fenolik dan poli-fenolik yang polar atau lebih polar dari senyawa xanton, yang juga dikandung oleh kulit manggis (Zarena and Sankar, 2012). Senyawa-senyawa fenolik ini juga memiliki bioaktivitas, dengan kemampuan antioksidan penangkap radikal bebas yang lebih tinggi dibanding senyawa xanton (Moongkarndi et al., 2014). Senyawa fenolik yang lebih polar ini, umumnya dapat diekstraksi dalam etanol 50% sampai 70%, dan memiliki kemampuan untuk perlindungan pembuluh darah aorta dari penebalan dinding akibat asupan kolesterol tinggi (Wihastuti et al., 2019). Beberapa senyawa polar lainnya yang telah diisolasi dari kulit manggis dan dapat menurunkan tekanan darah dalam aorta yang diberi stres metabolik, adalah 2,4,3'-trihidroksi benzofenon-6-O- β -D-glukopiranosida, epikatekin dan 2,3',4,5',6-pentahidroksi benzofenon (Abdallah et al., 2016). Kemampuan senyawa fenolik polar ini yang memiliki kemampuan penangkapan radikal bebas lebih tinggi dari senyawa xanton saat ini diteliti untuk dikembangkan menjadi obat-obat penyakit neuro-degeneratif seperti alzheimers (Ashton et al., 2019).

Pelarut 50% etanol ditemukan memiliki kemampuan paling baik untuk mengekstraksi komponen kimia dengan aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas dari kulit manggis (Suttirak and Manurakchinakorn, 2014). Proses ekstraksi aktivitas antioksidan dari kulit buah manggis dalam pelarut etanol 50% ternyata

dapat ditingkatkan dengan bantuan enzim selulase *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 (Nugroho et al., 2017). Kemampuan selulase untuk dapat meningkatkan ekstraksi zat aktif antioksidan ke dalam pelarut polar 50% etanol juga ditunjukkan pada ekstraksi senyawa-senyawa fenolik dari daun Ginkgo Biloba (Chen et al., 2011). Chen et al. (2011) menunjukkan bahwa peningkatan ekstraksi senyawa fenolik antioksidan oleh selulase tertentu, disebabkan transglukosilasi senyawa-senyawa fenolik tersebut oleh enzim selulase yang memiliki kemampuan ganda akibat sifat mekanisme retensi yang dimilikinya. Kemampuan ganda ini tidak dimiliki oleh semua jenis selulase (Wang et al., 2017), dan kemampuan transglukosilasi juga sangat tergantung pada lingkungan reaksinya, antara lain dengan adanya etanol (Wang and Huang, 2009);(York and Hawkins, 2000).

Belum diketahui apakah selulase *T. asperellum* LBKURCC1 memiliki kemampuan transglukosilasi sehingga belum dapat dinyatakan bagaimana mekanisme selulase *T. asperellum* LBKURCC1 dalam meningkatkan ekstraksi senyawa polar beraktivitas antioksidan kulit manggis dalam etanol 50%. Salah satu tahapan awal yang harus dilakukan untuk menentukan bagaimana mekanisme selulase *T. asperellum* LBKURCC1 meningkatkan ekstraksi aktivitas antioksidan polar kulit manggis, adalah mengidentifikasi senyawa polar yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan tersebut. Tujuan penelitian ini merupakan bagian dari tahap awal untuk dapat mengidentifikasi senyawa yang berkontribusi memberikan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit manggis dalam etanol 50% dengan bantuan selulase, yaitu dengan melakukan pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak selulase-etanol 50% secara kromatografi preparatif. Dalam makalah ini ditunjukkan hasil analisis fraksinasi ekstrak etanol 50%-selulase menggunakan dua metode kromatografi preparatif, yakni Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Preparatif (KCKTP).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan.

Ekstrak kasar kulit manggis hasil ekstraksi menggunakan 50% etanol dengan bantuan selulase diperoleh sesuai dengan metode yang diuraikan pada aplikasi Paten Republik Indonesia no. P00201709350 (Nugroho et al., 2017). Pelat KLT preparatif yang digunakan adalah pelat Silica Gel G60 yang dibuat manual dengan aplikator sehingga menghasilkan ketebalan seragam 0,5 mm pada pelat kaca 20 cm x 20 cm. Silica Gel G60 yang digunakan untuk membuat pelat KLT preparatif berasal dari Merck KGaA (Darmstadt, Jerman) (No. Kat. 1.07731.1000). Untuk KLT analitik digunakan pelat KLT Silica Gel G60 F₂₅₄ (Merck KGaA No. Kat. 1.055554.001). Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan 2,2 diphenil-1 pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich, No. Kat. D9132).

Fraksinasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis preparatif (KLTP).

Plat KLTP Silika Gel G60 preparatif diaktivasi di dalam oven (30 menit, 100 °C), kemudian diberikan batas bawah 2 cm dan batas atas 1 cm yang digaris dengan menggunakan pensil. Sampel ekstrak etanol 50%-selulase kulit manggis yang sudah dilarutkan dengan sedikit metanol ditotolkan pada plat KLTP (20 x 20 cm) di sepanjang bagian batas bawah dengan menggunakan pipa kapiler secara berulang dan merata. Plat KLTP dielusi eluen n-heksan:etil asetat dengan perbandingan (6:4). Bagian noda pada silika yang telah ditandai dikerik dengan menggunakan spatula. Hasil pengerikan silika dilarutkan dengan sedikit metanol kemudian disaring, untuk analisis lebih lanjut.

Fraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Preparatif (KCKTP).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Preparatif (KCKTP) dilakukan dengan menggunakan KCKTP *Waters 2695*, dan detektor *Photodiode Detector Array* (PDA). Kolom yang digunakan adalah *Waters Column Puresil 5m C18 4,6 x 150 mm*, diameter 10 mm, panjang 150 mm, dan diameter partikel 5µm. Volume injeksi sampel adalah 3 ml/injeksi. Kolom dielusi menggunakan gradien elusi fase terbalik dengan fase gerak mulai dari perbandingan air (60%) dengan asetonitril (40%), hingga air (20%) dengan asetonitril (80%) selama 36 menit dengan kecepatan alir 3,554 mL/menit, dan tekanan kolom 1350 psi, dan panjang gelombang detektor sebesar 240 nm dan 280 nm. Konsentrasi sampel yang diinjeksikan adalah sebesar 5000 µg/mL. Fase gerak diatur sebagai gradien elusi melalui penurunan kepolaran pelarut dari polar menuju semi-polar.

Analisis fraksi dengan KLT analitik.

Metode KLT analitik dilakukan dengan mengaplikasikan sampel secara aplikasi titik pada pelat KLT G60 F₂₅₄. Pelat KLT analitik dielusi dengan eluen heksan : etil asetat (6:4). Noda dideteksi di bawah sinar UV 254/366 nm.

Analisis fraksi menggunakan KCKT analitik.

Fraksi hasil fraksinasi dengan KLT preparatif dan KCKT preparatif sebanyak 1 mg/mL dilarutkan dengan metanol, kemudian diinjeksikan ke dalam kolom KCKT. KCKT yang digunakan adalah KCKT Shimadzu seri UFLC *system* dengan Kolom Shim Pack C₁₈ berukuran 250 mm x 4 mm (Shimadzu, Kyoto, Japan). Metode yang digunakan untuk analisis adalah menggunakan gradien elusi dengan fase gerak air-asetonitril (80:40) selama 30 menit dengan kecepatan alir

1 mL/menit. Deteksi senyawa dilakukan dengan detektor sinar UV pada panjang gelombang 240 nm dan 280 nm.

Analisis aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas.

Bioaktivitas antioksidan sampel ditentukan berdasarkan kemampuan menangkap radikal 2,2 diphenil-1 pikrilhidrazil (DPPH), dengan suatu metode berformat pelat mikro 96 sumur (Zhang et al., 2006). Pada metode ini 10 μ L larutan DPPH 80 μ g/mL dimasukkan ke dalam sumur-sumur pelat mikro, yang telah berisi 90 μ L ekstrak yang dilarutkan dengan metanol pada berbagai konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 μ g/mL). Untuk blanko, campuran berisi 10 μ L larutan DPPH 80 μ g/mL dan 90 μ L metanol. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada temperatur ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm, menggunakan *microplate reader* Berthold Technology Tristar LB 941. Konsentrasi inhibisi 50% (IC_{50}) ditentukan dengan memvariasikan konsentrasi sampel. Setiap sampel diuji aktivitas antioksidan sebanyak tiga kali, sedangkan pengulangan perlakuan untuk memperoleh sampel uji adalah dua kali, kecuali pembuatan ekstrak awal yang diulang tiga kali. Rerata aktivitas antioksidan diuji ANOVA dan analisis Duncan Jarak Berganda pada tingkat kepercayaan 5% menggunakan perangkat lunak SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanpa selulase, maka aktivitas antioksidan polar kulit manggis yang dapat diekstraksi oleh 50% etanol hanya sebesar 44 μ g/mL (Rahmayanti et al., 2018). Aktivitas ini lebih rendah dari yang diperoleh pada penelitian ini untuk ekstrak 50% etanol dengan bantuan selulase **Tabel 1**. Dalam upaya dapat lebih memahami peran selulase dalam proses ekstraksi aktivitas antioksidan polar dari kulit manggis, maka terlebih dahulu perlu dilakukan pemisahan komponen-komponen ekstrak selulase-50% etanol kulit manggis, untuk selanjutnya dapat mengidentifikasi komponen-komponen tersebut. Berikut diuraikan hasil penelitian pemisahan komponen-komponen ekstrak selulase-50% etanol kulit manggis menggunakan KLTP dan KCKTP.

Pada penelitian ini, KLT preparatif dan analitik dilakukan dengan mengaplikasikan ekstrak pada pelat KLT yang kemudian dielus dengan eluen heksan:etil asetat 6:4. Pemilihan eluen adalah berdasarkan hasil penelitian terdahulu, yang menunjukkan komposisi eluen tersebut yang memberikan pemisahan noda terbaik yang dapat dideteksi (Zaili et al., 2017). KLTP ekstrak etanol 50%-selulase kulit manggis memberikan 4 fraksi dengan Rf dan aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH ditunjukkan di **Tabel 1**. Rf analisis KLT dari masing-masing fraksi berkorelasi dengan Rf noda-noda yang diperoleh pada

ekstrak awal. Rerata aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH fraksi 2, 3 dan 4 secara signifikan ($p < 0.05$) berbeda dan lebih rendah dari rerata aktivitas antioksidan ekstrak awal sebelum KLTP. Fraksi 1, yang merupakan noda dengan Rf KLT 0, merupakan sisa hasil fraksinasi KLTP yang tertinggal pada titik awal pelat KLTP. Meskipun rerata aktivitas antioksidan fraksi 1 lebih rendah dari aktivitas antioksidan ekstrak awal, tetapi rerata itu secara statistik analisis Duncan Jarak Berganda, tidak berbeda nyata ($p \geq 0.05$) dengan aktivitas antioksidan ekstrak awal, tetapi juga tak berbeda nyata ($p \geq 0.05$) dengan aktivitas antioksidan fraksi 2. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa rerata aktivitas antioksidan fraksi 1 berada pada nilai perbatasan antara rerata aktivitas antioksidan ekstrak awal dan fraksi 2. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian komponen yang menyumbang aktivitas antioksidan ekstrak awal, pada KLTP telah terpisah, berpindah ke fraksi 2. Juga dapat disimpulkan bahwa sebagian besar aktivitas antioksidan tertinggal di titik awal KLTP.

Kekuatan senyawa antioksidan berdasarkan penangkapan radikal DPPH dapat dikategorikan sebagai berkekuatan sangat tinggi ($< 10 \mu\text{g/mL}$), berkekuatan tinggi ($10-50 \mu\text{g/mL}$), berkekuatan sedang ($50-100 \mu\text{g/mL}$), berkekuatan lemah ($100-250 \mu\text{g/mL}$), dan tidak memiliki aktivitas antioksidan berarti ($> 250 \mu\text{g/mL}$) (Phongpaichit et al., 2007). Dengan demikian maka dapat disimpulkan bahwa kekuatan aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH ekstrak awal adalah tinggi, fraksi 1 adalah pada perbatasan tinggi dan sedang, fraksi 2 sedang, sedangkan fraksi 3 dan 4 tidak memiliki aktivitas antioksidan berarti. Fraksi-fraksi 3 dan 4 merupakan fraksi-fraksi dengan sifat kepolaran yang rendah (Rf KLT 0,6 untuk fraksi 3), atau non-polar (Rf 0,9 untuk fraksi 4).

Kromatogram hasil analisis KCKT analitik setiap fraksi hasil KLTP menunjukkan bahwa pada fraksi 1 masih tertinggal banyak senyawa polar, yang tak dapat terelusi oleh eluen n-heksan:etil asetat (6:4) yang digunakan (**Gambar 1a**). Hal ini menandakan bahwa komponen-komponen pada fraksi 1 terlalu polar untuk terelusi oleh pelarut yang relatif nonpolar yang digunakan. Dari semua fraksi, hanya fraksi 2 (Rf KLT 0,3) yang memberikan puncak tunggal pada waktu retensi 23,66 menit pada panjang gelombang 240 nm (**Gambar 1b**). Fraksi 2 ini memiliki aktivitas antioksidan sedang pada nilai rerata $73,8 \mu\text{g/mL}$, sehingga merupakan kandidat baik untuk ditentukan lebih lanjut strukturnya, sebagai senyawa antioksidan berkekuatan moderat. **Gambar 2** adalah kromatogram proses fraksinasi menggunakan KCKTP dengan detektor sinar UV 240 nm, dan 280 nm. Fraksi yang ditampung berdasarkan kromatogram tersebut dan dianalisis aktivitas antioksidan, hanyalah fraksi yang puncaknya terdeteksi yaitu fraksi R-018, R-021-022, R-026, R-031, R-035 dan R-037. Dari keenam fraksi ini tidak satupun fraksi yang memberikan aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH yang berarti

(Tabel 2). Fraksi R-040 tidak ditentukan aktivitas antioksidannya, karena sudah terlalu non-polar, dan berdasarkan analisis dari KLTP, fraksi yang nonpolar atau kepolarannya rendah, tidak memberikan aktivitas antioksidan berarti.

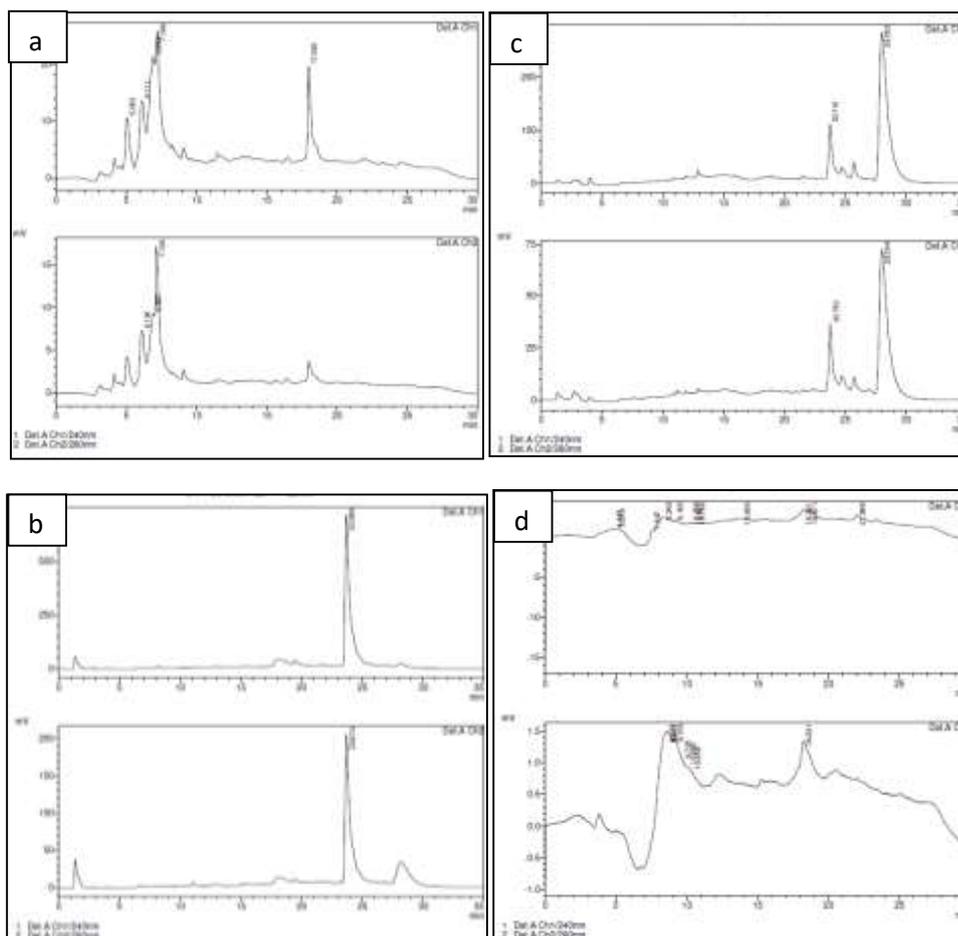
Tabel 1. Rf dan aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH fraksi-fraksi hasil KLT preparatif ekstrak etanol 50%-selulase kulit buah manggis

Sampel	Jumlah noda	Rf**	Rerata aktivitas antioksidan IC ₅₀ penangkapan DPPH (µg/mL)***
Ekstrak awal*	4	0,0;0,3;0,6;0,9	13.9 ± 4.6 (a)
Fraksi 1	1	0,0	45.6 ± 16.9 (ab)
Fraksi 2	1	0,3	73.8 ± 34.2 (b)
Fraksi 3	1	0,6	260.3 ± 90.4 (c)
Fraksi 4	1	0,9	>1000 (d)

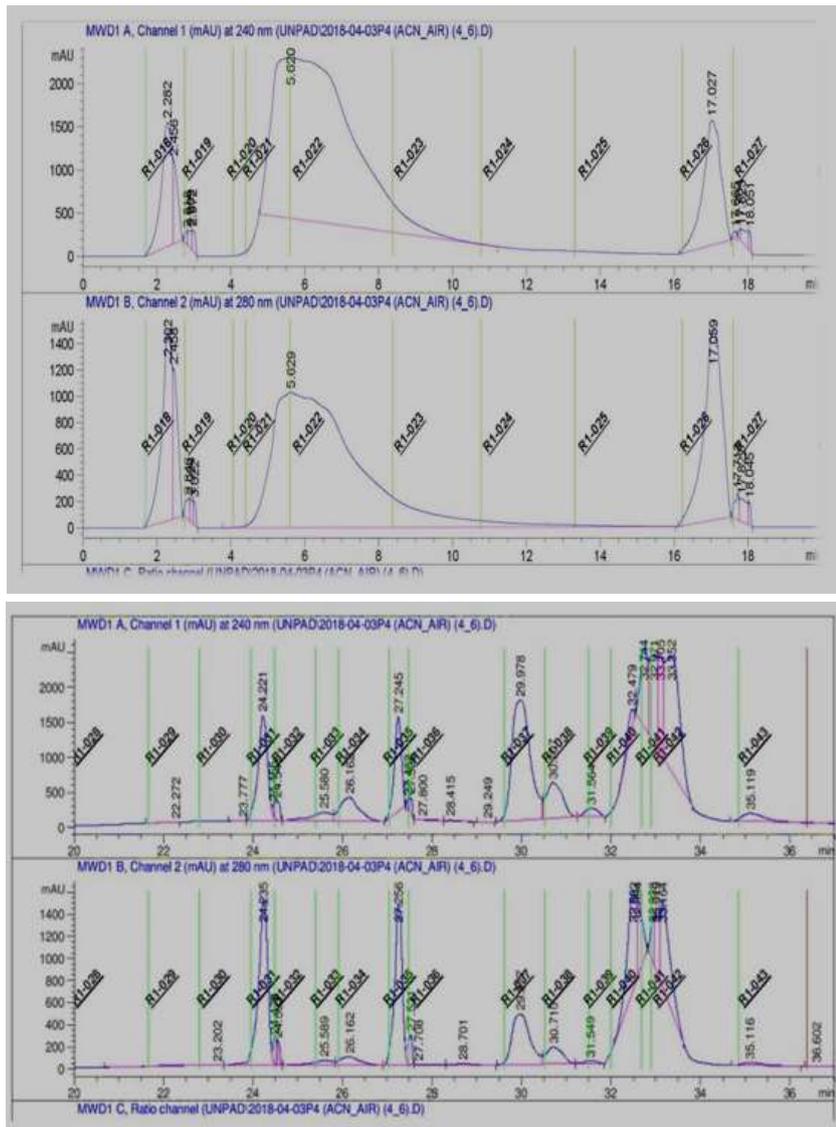
*Ekstrak awal adalah ekstrak etanol 50%-selulase kulit buah manggis yang belum difraksinasi.

**KLT analitik dengan fase diam Silika Gel G60 F₂₅₄, eluen n-heksan:etil asetat (6:4).

***Huruf dalam tanda kurung yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$) dari nilai rerata pada analisis Dunc.an Jarak Berganda.



Gambar 1. Kromatogram hasil fraksinasi menggunakan KCKT Preparatif: (a) Fraksi 1 (b)Fraksi 2 (c)Fraksi 3 (d)Fraksi 4, dan detektor UV panjang gelombang 240 nm (atas) dan 280 nm (bawah)



Gambar 2. Kromatogram KCKT preparatif ekstrak etanol 50 %-selulase kulit buah manggis menggunakan detektor berpanjang gelombang 240 nm dan 280 nm

Tabel 2. Aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH fraksi-fraksi KCKT preparatif ekstrak etanol 50 %-selulase kulit buah manggis.

Sampel	Rerata aktivitas antioksidan IC ₅₀ penangkapan DPPH (µg/mL)
R-018	826 ± 3.0
R-021-022	285 ± 0.3
R-026	>1000
R-031	>1000
R-035	>1000
R-037	>1000

Terdapat beberapa kemungkinan penyebab tak adanya aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi KCKTP yang ditampung. Salah satunya adalah pemilihan metode elusi

KCKTP yang kurang tepat, sehingga menyebabkan fraksi polar dengan aktivitas antioksidan tinggi terlalu cepat keluar, sehingga belum sempat terdeteksi, dan ditampung untuk analisis. Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah metode KCKTP fase terbalik, dengan fase diam nonpolar, dan gradient fase gerak yang berangsur ditingkatkan dari polar menjadi nonpolar. Di lain pihak, penelitian Zaili *et al.* (2017), menunjukkan bahwa pemisahan ekstrak selulase-50 % etanol kulit manggis menggunakan kolom kromatografi Flash SiO₂ yang dielusi dengan gradien eluen yang bertambah kepolarannya menghasilkan hanya satu fraksi dengan aktivitas antioksidan yang sepuluh kali lebih rendah dari aktivitas ekstrak semula sebelum proses kromatografi. Kemungkinan lainnya, yang juga didukung oleh data penelitian Zaili *et al.* (2017), adalah bahwa fraksi polar murni memiliki aktivitas yang lebih rendah dari aktivitas ekstrak awal, karena diperlukan efek sinergistik dari komponen-komponen polar kulit manggis untuk memberikan aktivitas antioksidan tinggi. Penelitian ini memberikan indikasi kuat, adanya efek sinergik tersebut.

Penelitian ini menunjukkan kesulitan yang tinggi untuk memisahkan komponen-komponen polar dari suatu ekstrak tanaman. Kesulitan memisahkan komponen-komponen polar dari ekstrak etanol 50 % kulit manggis juga disebutkan oleh Moongkarndi *et al.* (2014), yang juga tidak dapat memisahkan komponen polar beraktivitas antioksidan tinggi dari ekstrak kulit manggis, menggunakan kolom Hypersil BDS-C18 dan fase gerak gradient elusi air dan 0,1 % v/v asam format. Akibat tingginya tingkat kesulitan untuk memisahkan komponen-komponen polar yang beraktivitas antioksidan tinggi dalam penelitian ini, maka selain belum dapat ditentukan struktur dari masing-masing komponen penyumbang aktivitas antioksidan tinggi, juga belum dapat ditentukan penyebab atau peran selulase yang memberikan hasil ekstraksi aktivitas antioksidan lebih tinggi, dibanding bila tanpa selulase.

Dari hasil KLTP, setidaknya diperoleh satu fraksi yang menunjukkan kemurnian, dengan aktivitas antioksidan sedang, meskipun secara nyata ($p < 0,05$) aktivitas antioksidannya lebih rendah dari ekstrak awal. Hasil KLTP ini menjadi indikasi kuat bahwa kemungkinan aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak etanol 50%-selulase bukan disebabkan aktivitas satu senyawa polar tunggal, tetapi dari kerja sinergis beberapa senyawa polar.

SIMPULAN

KLTP ekstrak etanol 50 % dengan bantuan selulase dari kulit buah manggis menghasilkan 4 fraksi, dengan hanya 2 fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH. Dari keempat fraksi KLTP hanya 1 fraksi yang memberikan komponen murni, yang ditunjukkan dengan adanya satu puncak

kromatogram KCKT analitik. Fraksi tersebut memiliki kekuatan aktivitas antioksidan sedang, sebesar 74 µg/mL, yang secara nyata ($p < 0,05$) lebih rendah dari aktivitas antioksidan ekstrak awal sebelum permurnian. KCKTP dari ekstrak kulit buah manggis yang sama menghasilkan fraksi-fraksi yang tidak memiliki aktivitas antioksidan. Baik KLTP maupun KCKTP tidak berhasil memisahkan sebagian besar komponen senyawa antioksidan polar dari ekstrak etanol 50%-selulase kulit buah manggis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh dana DIPA Universitas Riau, melalui Program Hibah Penelitian Universitas Riau dengan skema Penelitian Guru Besar, tahun anggaran 2018, a.n. Prof. Dr. Titania T. Nugroho sebagai Ketua Tim Peneliti, dengan nomor kontrak 626/UN/19.5.1.3/PP/2018. Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Unang Supratman dan Ibu Ida Nurfrida yang telah memfasilitasi pemakaian alat untuk Kromatografi Cair Kinerja Tinggi di Laboratorim Central Universitas Pajajaran, Bandung.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, H.M., El-Bassossy, H.M., Mohamed, G.A., El-Halawany, A.M., Alshali, K.Z., Banjar, Z.M.,** 2016. Phenolics from *Garcinia mangostana* alleviate exaggerated vasoconstriction in metabolic syndrome through direct vasodilatation and nitric oxide generation. *BMC Complement. Altern. Med.* 16, 359. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1340-5>
- Aizat, W.M., Ahmad-Hashim, F.H., Syed Jaafar, S.N.,** 2019. Valorization of mangosteen, “The Queen of Fruits,” and new advances in postharvest and in food and engineering applications: A review. *J. Adv. Res.* 20, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.05.005>
- Ashton, M.M., Dean, O.M., Walker, A.J., Bortolasci, C.C., Ng, C.H., Hopwood, M., Harvey, B.H., Möller, M., McGrath, J.J., Marx, W., Turner, A., Dodd, S., Scott, J.G., Khoo, J.P., Walder, K., Sarris, J., Berk, M.,** 2019. The therapeutic potential of mangosteen pericarp as an adjunctive therapy for bipolar disorder and schizophrenia. *Front. Psychiatry* 10, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2019.00115>
- Chen, G., Li, Y., Wang, W., Deng, L.,** 2018. Bioactivity and pharmacological properties of alpha-mangostin from the mangosteen fruit: a review. *Expert Opin. Ther. Pat.* 28, 415–427. <https://doi.org/10.1080/13543776.2018.1455829>
- Chen, S., Xing, X., Huang, J., Xu, M.,** 2011. Enzyme-assisted extraction of flavonoids from *Ginkgo biloba* leaves: Improvement effect of flavonol transglycosylation catalyzed by *Penicillium decumbens* cellulase. *Enzyme Microb. Technol.* 48, 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2010.09.017>
- Mohamed, G.A., Al-Abd, A.M., El-Halawany, A.M., Abdallah, H.M., Ibrahim, S.R.M.,** 2017. New xanthenes and cytotoxic constituents from *Garcinia mangostana* fruit hulls against human hepatocellular, breast, and colorectal

- cancer cell lines. *J. Ethnopharmacol.* 198, 302–312.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.030>
- Moongkarndi, P., Jaisupa, N., Samer, J., Kosem, N., Konlata, J.,** 2014. Comparison of the biological activity of two different isolates from mangosteen. *Jpurnal Pharm. amd Pharmacol.* 66, 1171–1179.
<https://doi.org/10.1111/jphp.12239>
- Nugroho, T.T., Teruna, H.Y., Miranti, M.,** 2017. Proses produksi ekstrak antioksidan fenolik polar kulit buah manggis dengan menggunakan selulase. P00201709350.
- Oetari, R.A., Hasriyani, H., Prayitno, A., Sahidin, S.,** 2019. Gartanin compounds from extract ethanol pericarp mangosteen (*Garcinia mangostana* linn.). *Open Access Maced. J. Med. Sci.* 7, 3891–3895.
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.527>
- Ovalle-Magallanes, B., Eugenio-Pérez, D., Pedraza-Chaverri, J.,** 2017. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.): A comprehensive update. *Food Chem. Toxicol.* 109, 102–122.
<https://doi.org/10.1016/J.FCT.2017.08.021>
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., Kirtikara, K.,** 2007. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 51, 517–525.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>
- Rahmayanti, F., Miranti, Teruna, H.Y., Nugroho, T.T.,** 2018. Removal of cytotoxicity from a mangosteen polar antioxidant extract by gel filtration chromatography. *Int. J. Sci. Appl. Technol.* 3, 1–6.
- Suttirak, W., Manurakchinakorn, S.,** 2014. In vitro antioxidant properties of mangosteen peel extract. *J. Food Sci. Technol.* 51, 3546–3558.
<https://doi.org/10.1007/s13197-012-0887-5>
- Wang, L.-X., Huang, W.,** 2009. Enzymatic transglycosylation for glycoconjugate synthesis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13, 592–600.
<https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2009.08.014>
- Wang, X., Wu, Y., Zhou, Y.,** 2017. Transglycosylation, a new role for multifunctional cellulase in overcoming product inhibition during the cellulose hydrolysis. *Bioengineered* 8, 129–132.
<https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1215787>
- Wihastuti, T.A., Aini, F.N., Tjahjono, C.T., Heriansyah, T.,** 2019. Dietary ethanolic extract of mangosteen pericarp reduces vcam-1, perivascular adipose tissue and aortic intimal medial thickness in hypercholesterolemic rat model. *Open Access Maced. J. Med. Sci.* 7, 3158–3163.
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.717>
- York, W.S., Hawkins, R.,** 2000. Preparation of oligomeric β -glycosides from cellulose and hemicellulosic polysaccharides via the glycosyl transferase activity of a *Trichoderma reesei* cellulase 10, 193–201.
- Zaili, S.F., Eryanti, Y., Teruna, H.Y., Nugroho, T.T.,** 2017. Flash SiO₂ liquid chromatography fractionation of *Garcinia mangostana* cellulase-ethanol extracts & antioxidant activity of each fractions, in: *Proceedings to the International Conference on Biology and Environmental Science 2017*. UNRI Press, Pekanbaru, pp. 23–25.

- Zarena, A., Sankar, K.**, 2012. Phenolic Acids , Flavonoid Profile And Antioxidant Activity In Mangosteen (*Garcinia mangostana L .*) Pericarp. *J. Food Biochem.* 36, 627–633. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00575.x>
- Zhang, K.-J., Gu, Q.-L., Yang, K., Ming, X.-J., Wang, J.-X.**, 2017. Anticarcinogenic Effects of alpha-Mangostin: A Review. *Planta Med.* 83, 188–201. <https://doi.org/10.1055/s-0042-119651>
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D.A., Barrow, C.J.**, 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *J. Appl. Phycol.* 18, 445–450. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9048-4>