

**PENGARUH EKSTRAK METHANOL KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia mangostana L*) TERHADAP PERTUMBUHAN KULTUR
Mycobacterium tuberculosis GALUR LOMBOK TIMUR**

Pancawati Ariami¹ , Rohmi¹

¹Politeknik Kesehatan Kemenkes Mataram Jurusan Analis Kesehatan

Abstrak

Manggis (*Garcinia mangostana L*) mengandung bahan antioksidan tertinggi, salah satunya diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut methanol. Kulit manggis dan hasil olahannya telah dimanfaatkan dan dibuktikan menyembuhkan berbagai penyakit, termasuk TB paru yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian tentang ekstrak methanol kulit manggis melawan *M tuberculosis* masih terbatas, dan yang menggunakan galur lokal Lombok Timur belum ada. Penelitian ditujukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak methanol kulit manggis terhadap pertumbuhan kultur *M tuberculosis* galur Lombok Timur. Penelitian pre-eksperimen di laboratorium dengan menggunakan tiga sampel *M tuberculosis* galur Lombok Timur dan kontrol kuman virulen *M tuberculosis H37Rv*, diuji secara deskriptif. Isolasi kulit buah manggis menggunakan methanol menghasilkan 12 senyawa dengan 6 senyawa utama berupa Cyclopentadecanone, 2-hidroxy- (C₁₅H₂₈O₂); 9-octadecanoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethylester (CAS) -2-monoolein (C₂₁H₄₀O₄); octadecanoic acid (CAS) Stearic acid (C₁₈H₃₆O₂); hexadecanoic acid (C₁₆H₃₂O₂); hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1hidroxymethyl)ethyl-ester (CAS) 2-monopalmitin (C₁₉H₃₈O₄); dan (R)-(-)-14-methyl-8-hexadecyn-1-ol (C₁₇H₃₂O). Identifikasi hasil pertumbuhan *M tuberculosis* pada media LJ dan *M tuberculosis* dalam Middlebrook 7H9 broth yang diberi ekstrak methanol kulit manggis ditanam pada Middlebrook 7H10 agar. Sebanyak dua sampel terdapat pertumbuhan *M tuberculosis* (Resisten) sedangkan satu sampel tidak ditemukan (Sensitif) terhadap ekstrak methanol kulit manggis baik pada konsentrasi 100, 200, maupun 300 µg/mL.

Kata kunci : Ekstrak Methanol Kulit Manggis, Kultur *M Tuberculosis* Galur Lombok Timur

**EFFECT OF METHANOL EXTRACT SKIN FRUIT Mangosteen
(*Garcinia mangostana L*) ON THE GROWTH CULTURE
Mycobacterium tuberculosis STRAIN EAST LOMBOK**

Abstract

Mangosteen (*Garcinia mangostana L*) contain the highest antioxidant Xanthones, one of which is obtained by solvent extraction using methanol. Processed methanol extract of mangosteen peel have been used and proven to cure various diseases, including pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Research on the methanol extract of mangosteen peel against *M tuberculosis* is still limited, and the use of local strain Lombok Timur no. The study aimed to determine the effect of the methanol extract of mangosteen peel on the growth of *M tuberculosis* strains East Lombok cultured. Pre - experimental research in the laboratory using three samples of *M tuberculosis* strains East Lombok and controls germs *M tuberculosis H37Rv*, tested descriptively. Isolation mangosteen rind using methanol produce compound 12 with 6 main compound in the form of Cyclopentadecanone, 2 - hidroxy - (C₁₅H₂₈O₂) ; 9 - octadecanoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethylester (CAS)-2-monoolein (C₂₁H₄₀O₄), octadecanoic acid (CAS) Stearic acid (C₁₈H₃₆O₂), hexadecanoic acid (C₁₆H₃₂O₂), hexadecanoic acid, 2 - hydroxy - 1hidroxymethyl) - ethyl

ester (CAS) 2 - monopalmitin (C₁₉H₃₈O₄) and (R) - (-) - 14 - methyl - 8 - hexadecyn - 1 - ol (C₁₇H₃₂O) . Identify the growth of *M tuberculosis* results on LJ medium and *M tuberculosis* in Middlebrook 7H9 broth fed methanol extract of mangosteen peel grown on Middlebrook 7H10 agar. A total of two samples contained the growth of *M tuberculosis* (Resistant), whereas one sample was not found growing *M tuberculosis* (Sensitive) of the methanol extract of mangosteen peel well at concentrations of 100, 200, and 300 ug / ml.

Keywords : methanol extract of mangosteen peel , culture *M tuberculosis*, strains East Lombok

Pendahuluan

Tuberkulosis (Tbc) merupakan suatu penyakit yang terjadi karena adanya infeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri tersebut sering tumbuh di dalam organ paru paru, juga dapat menyerang organ tubuh lainnya, bahkan berpotensi menyebabkan kematian. Pengobatan dapat diberikan obat sintetis maupun obat herbal sebagai alternatif dalam mengobati penyakit tbc.

Manggis (*Garcinia mangostana L*) memiliki antioksidan yang menangkal radikal bebas dan mencegah kerusakan sel. Manggis mengandung antioksidan (Xanthone) yang paling banyak terdapat pada kulit buah. Kadarnya mencapai 123,97 mg/ml. Manggis merupakan salah satu buah yang memiliki kadar antioksidan tertinggi (Redaksi Trubus, 2011).

Xanthone sebagai antioksidan melebihi vitamin E dan vitamin C. Xanthone yang terdapat di manggis merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa *polyphenolic*. Peneliti dari Universitas Taichung di Taiwan telah mengisolasi xanthone dan derivatnya dari kulit buah manggis (*pericarp*) di antaranya yang diketahui adalah 3-isomangoestein, alpha mangostin, gamma-mangostin, garcinone A, garcinone B, C, D dan garcinone E, maclurin, mangostenol (Redaksi Trubus, 2011).

Xanthone berfungsi sebagai obat kanker, menetralkan radikal bebas. Di dalam Xanthone juga mempunyai sifat sebagai anti inflammasi, anti mikroba, menurunkan kolesterol, antiviral, antifungal, antiparasit, antiallergen, membantu menurunkan tekanan darah, membantu melawan kelelahan, mencegah sakit maag, menolong menurunkan berat badan, membentuk kekebalan terhadap penyakit, pelindung jantung, memerangi diare, peredam sakit, analgesik, anti-parkinson, anti-Alzheimer, *antidepressant*, menurunkan demam. Xanthone dalam kulit manggis juga ampuh mengatasi penyakit tuberculosis. Selain vitamin, polisakarida, *stilbenes*, manggis

mengandung bioaktif yang merupakan sekumpulan molekul biologi yang sangat aktif. Lebih dari 200 xanthone terdapat di alam dan 50 diantaranya terdapat dalam buah manggis, terutama dibagian kulit buah. Manggis, telah digunakan dalam pengobatan tradisional kuno yang tercatat dalam sejarah Dinasti Ming (Redaksi Trubus, 2011).

Beberapa penelitian kulit buah manggis dalam berbagai keperluan telah dibuktikan. Senyawa utama pada kulit yaitu α -mangostin, γ -mangostin dan *garcinone B*. Suksamrarn *et al.*, (2002) mengisolasi 3 xanthone baru dari kulit manggis yang berwarna hijau yaitu mangostenol, mangostenone A, dan mangostenone B. Tahun 2003, tim ini melaporkan tentang aktivitas *antimycobacterial xanthone* dari kulit manggis, juga seperti yang ditulis oleh Mardiana (2012) bahwa α -mangostin, γ -mangostin dan *garcinone B* pada senyawa Xanthone menghambat pertumbuhan *M tuberculosis*. Hal ini penting karena antibiotika untuk pengobatan penyakit ini semakin lama menjadi tidak efektif dengan timbulnya MDR (*multi drug resistance*). Penelitian xanthone di Indonesia juga telah berhasil mengisolasi xanthone dari manggis (*G.mangostana*) dan *Garcinia sp* dari kulit buah manggis diantaranya mangostanol dan α -mangostin (Cahyana, 2006).

Vaksin dan kemoterapi efektif melawan tuberkulosis (TB) selama lebih dari setengah abad, namun WHO menyatakan TB dalam darurat global pada tahun 1993. Data WHO tahun 2004, jumlah orang yang terinfeksi hampir 9 juta dan sekitar 1,7 juta orang meninggal karena TB. Kedua jumlah tertinggi kematian dan angka kematian tertinggi perkapita di wilayah Afrika (Szkardak *et.al.*, 2008). Di Indonesia, penanggulangan TB secara nasional dimulai sejak 1969 dengan pengobatan jangka panjang. Sejak tahun 1987 digunakan obat jangka pendek. Sampai tahun 1994 jumlah Puskesmas yang menanggulangi TB 3995 dari 6000,

dengan angka kesembuhan 40-60%. Tahun 1995 diterapkan strategi DOTS dengan angka sukses pengobatan 86,8%. Dari laporan para klinisi, kasus MDR maupun XDR sudah timbul, tapi besarnya belum jelas (Sjahrurachman, 2008).

WHO memperkirakan sepertiga penduduk dunia terinfeksi *M. tuberculosis*, dan pada tahun 2009 diperkirakan terdapat 9,27 juta kasus baru. TB merupakan penyakit infeksi terbesar nomor dua penyumbang angka mortalitas dewasa yang menyebabkan sekitar 1,7 juta kematian (WHO 2008). Negara dengan prevalensi TB terbesar adalah India, Cina, Afrika Selatan, Nigeria dan Indonesia. Di Indonesia, diperkirakan terdapat 528.000 kasus baru TB per tahun. TB juga menduduki peringkat 3 dari 10 penyebab kematian yang menyebabkan 146.000 kematian setiap tahun (Burhan, 2010).

Terapi modern yang direkomendasikan untuk TB terdiri dari isoniazid, rifampisin, pirazinamid, etambutol atau streptomisin, kadang-kadang diberikan obat alternatif lebih beracun termasuk menggunakan etionamid, asam aminosalisilat dan ofloksasin. Efek samping berupa hepatitis, intoleransi gastrointestinal, gagal ginjal, dermatologis, reaksi hematologi merupakan salah satu penyebab kegagalan OAT dan resistensi obat meluas. Evaluasi aktivitas beberapa derivat xanthone melawan *M. tuberculosis* dalam uji mikrobiologi primer dan sekunder. Aktivitas sitotoksik dari tiga senyawa utama jugadievaluasi dan menunjukkan 98%, 98% dan 94% menghambat pertumbuhan *M. Tuberculosis* (Szkarddek et.al., 2008)

G. mangostana dari kulit buah segar diekstraksi dan diisolasi dengan methanol, menghasilkan empat senyawa xanthone dan diidentifikasi lebih lanjut. Prosedur aktivitas *bioassay antimycobacterial* dinilai terhadap *M. tuberculosis H37Ra* menggunakan *Microplate Alamar Blue Assay*. Konsentrasi obat terendah yang mempengaruhi penghambatan sebesar 90%

dianggap MIC. MIC dengan nilai antara 6,25 – 200 µg/ml. Sedangkan obat standar rifampisin, isoniazid dan sulfat kanamisin masing-masing menunjukkan MIC 0,003-0,0047; 0,025-0,05 dan 1,25-2,5 µg/ml (Suksamrarn et. al., 2003).

Penelitian tentang manfaat xanthone telah banyak dilakukan. Hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* menggunakan senyawa xanthone telah dilakukan oleh Suksamrarn et.al. dan Szkarddek et.al. Tuberculosis di Nusa Tenggara Barat masih menjadi salah satu program utama pemberantasan penyakit. Salah satu kabupaten yang menduduki penderita tuberculosis cukup tinggi adalah Lombok Timur. Hanafi, dkk tahun 2011 menemukan adanya resistensi OAT di Lombok Timur, hal ini mendesak para klinisi maupun peneliti untuk segera bertindak dalam mengatasi resistensi OAT baik dengan menggunakan obat baru maupun bahan yang berkhasiat obat. Penelitian tentang efek penghambatan xanthone yang berasal dari ekstrak kulit manggis terhadap *M. tuberculosis* masih sangat terbatas, apalagi kultur yang berasal dari galur lokal, Lombok Timur. Berdasarkan kenyataan ini, kami ingin melakukan penelitian tentang “Pengaruh ekstrak methanol kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) terhadap pertumbuhan kultur *Mycobacterium tuberculosis* galur Lombok Timur”.

Penelitian ini ditujukan untuk mencari bahan aktif dalam ekstrak methanol kulit manggis dan menentukan pengaruh ekstrak methanol kulit manggis terhadap pertumbuhan kultur *M. tuberculosis* galur Lombok Timur.

Metode Penelitian

a. Tempat dan waktu penelitian

Tempat penelitian untuk ekstraksi kulit buah manggis dilakukan di laboratorium Kimia Analitik Fakultas MIPA Universitas Mataram. Kultur *M. tuberculosis* untuk mendapatkan kultur murni dilakukan di ruang Mikrobiologi Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes

Kemenkes Mataram. Pengaruh ekstrak methanol kulit manggis terhadap pertumbuhan *M tuberculosis* dilakukan di laboratorium Mikrobiologi (Laboratorium TB) *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian berlangsung selama 8 bulan yaitu dari bulan Maret s.d bulan Nopember 2013.

b. Jenis dan rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pre-eksperimen laboratorium dengan rancang penelitian yang digunakan adalah Rancang Acak kelompok (RAK).

Penentuan konsentrasi yang digunakan pada perlakuan dalam penelitian ini yaitu berdasarkan penelitian Suksamrarn, 2003 yang menemukan MIC antara 6,25 – 200 µg/ml pada kuman sensitif *M tuberculosis* H37Ra. Untuk uji kuman *M tuberculosis* galur Lombok Timur, maka dosis yang diberikan untuk pengujian adalah dosis maksimal tertinggi karena kandungan hasil ekstraksi dengan methanol masih merupakan ekstrak kasar. Konsentrasi ekstrak methanol kulit manggis yang digunakan adalah 100, 200, dan 300 µg/ml. Pemeriksaan dilakukan duplo.

c. Alat dan bahan penelitian

Alat penelitian: tabung dan plate untuk pembiakan, rak tabung, *Autoclave*, inkubator, lampu bunsen, *Yellow tip*, *Blue ti*, mikropipet, jarum penanam, *Laminar flow*, *Vortex*.

Bahan-bahan: ekstrak methanol kulit manggis, Isolat *M tuberculosis* galur Lombok Timur, Isolat virulent *M tuberculosis H37Rv* untuk kontrol, *Media Middlebrook 7H9 broth* dan *Middlebrook 7H10 agar*, air garam fisiologis steril, Standart kekeruhan 1 Mc. Farland.

d. Rincian cara kerja :

1) Pembuatan ekstrak methanol kulit buah manggis dengan cara ekstraksi kulit buah manggis dengan menggunakan pelarut Methanol

a) Alat dan Bahan: Rotafavor (Merk:Heidolph), Neraca analitik, gelas ukur 250 mL, Erlenmeyer 250 mL, gelas kimia 500 mL, Wadah maserasi (toples), Corong dan kain kasa, Methanol absolut, 95% (p.a)

b) Prosedur Kerja. Sampel kulit manggis dipotong kecil-kecil, dikeringkan pada suhu 60°C selama 4 jam. Sampel dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan pelarut methanol sebanyak 1000 mL, direndam dalam methanol selama 1 x 24 jam. Sampel kulit manggis disaring menggunakan kain kasa kemudian ekstrak sampel kulit manggis dipisahkan. Ekstrak methanol dimasukkan dalam labu evaporator kemudian dievaporasi sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh disebut sebagai ekstrak kasar xanthone. Ekstrak kental yang diperoleh disimpan untuk dilanjutkan pada identifikasi menggunakan kromatografi gas.

2) Pembuatan Media *Middlebrook 7H9 broth*. Suspensikan 4,7g serbuk media dalam 900mL aquadest yang mengandung 5mL *Tween80*. Aduk rata. Sterilasi pada *Autoclave*, 121°C selama 20menit. Tambahkan secara aseptik 100mL *Enrichment ADC Middlebrook* ke media pada saat suhu media 45-50°C (Difco, 2012).

3) Pembuatan standart kekeruhan 1Mc. *Farland*. Standart Mc. Farland dibuat dari campuran *Asam Sulfat* 1% sebanyak 9,90 ml dengan *Barium Chlorida* 1% sebanyak 0,10 mL. Diperkirakan jumlah kuman setara dengan 300 juta/mL (Soemarno, 2002).

4) Pembuatan Suspensi Isolat Murni *M tuberculosis* dengan kekeruhan 1 unit Mc. *Farland*, Isolat murni *M tuberculosis* diperbanyak dengan cara menanamnya pada media LJ,

inkubasi suhu 37°C selama 4-8 minggu. Diambil 1 ujung ose, koloni kuman yang tumbuh dan disuspensikan pada air garam fisiologis sampai kekeruhanya 1Mc. Farland. Salah satu cara untuk membandingkan kekeruhan suspensi dengan standar yaitu dengan memegang kedua tabung kemudian dibandingkan kekeruhan kedua tabung dengan latar belakang kertas putih yang diberi garis tebal dengan spidol berwarna. Bila kurang keruh tambahkan koloni dan bila terlalu keruh tambahkan garam fisiologis.

5) Uji ekstrak kasar kulit manggis pada biakan kuman *M tuberculosis*

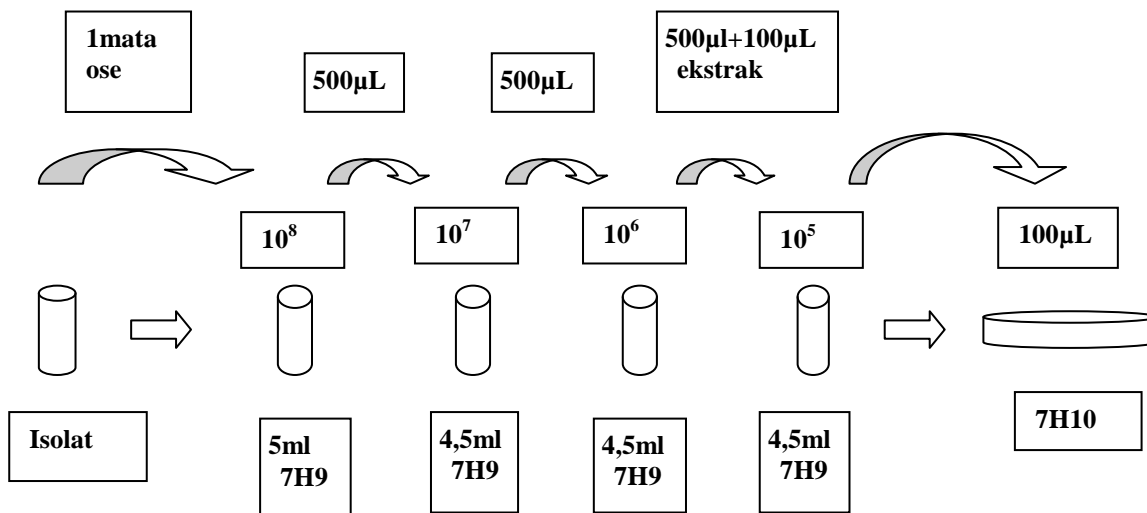
Prosedur kerja:

- a) Dibuat larutan induk ekstrak methanol kulit manggis dengan menimbang masing-masing sejumlah 10 mg ekstrak methanol kulit manggis dilarutkan dalam 1

mL methanol absolute 95% (Aisya, 2013). Dipipet 100 µL, 200 µL dan 300 µL masing-masing ditambahkan aquadest steril sampai 1000 µL, sehingga kadar larutan menjadi 100, 200 dan 300 µg/mL.

- b) Disiapkan masing-masing 4 pengenceran dengan 4 deret tabung (untuk 3 sampel dan 1 kontrol).
- c) Disusun tabung masing-masing pada tabung I berisi 5 ml media *Middlebrook 7H9 Broth*. Tabung II, III, dan IV masing-masing berisi 4,5 ml media *Middlebrook 7H9 Broth*.
- d) Dibuat standart 1McFarland untuk sampel dan standar, pengenceran 10^5 .

Ringkasan uji ekstrak methanol kulit buah manggis, dapat diamati pada skema berikut:



Skema pengujian ekstrak methanol kulit buah manggis terhadap pertumbuhan *M tuberculosis* galur Lombok Timur

- e) Dimasukkan masing-masing 1 mata ose isolat kuman dimasukkan ke dalam deret tabung I, dicampurkan merata. Kemudian dipipet secara aseptik 500 µL dari campuran di tabung deret I, dipindahkan ke dalam

- tabung deret II; begitu seterusnya sampai tabung deret IV.
- f) Ke dalam tabung deret IV untuk sampel masing-masing ditambahkan 100 µL konsentrasi 100, 200 dan 300 µg/mL.
- g) Dibiarkan selama 30 menit.

- h) Disiapkan media *Middlebrook 7H10 agar* dan dibuat sumuran, diberi label masing-masing *petridish* dengan no sampel 3, 6, dan 49, disertai konsentrasi ekstrak kasar kulit manggis 100, 200, dan 300 µg/mL.
- i) Dimasukkan kedalam sumuran masing-masing sejumlah 100 µL dari tabung deret IV pada point f).
- j) Dibuat juga sumuran untuk kontrol positif berisi isolat kuman sensitif *M tuberculosis H27Rv*, dan kontrol negatif berisi isolat kuman virulen *M tuberculosis H27Rv* dan Etambutol sebagai obat anti tuberculosis (OAT)
- k) Inkubasi pada inkubator CO₂ selama 3minggu.
- l) Hasil inkubasi dari masing-masing sumuran diambil dan dibuat preparat untuk dilakukan pengecatan BTA.
- m) Penemuan BTA positif berarti resisten karena ekstrak methanol kulit manggis tidak mampu menghambat pertumbuhan *M tuberculosis*. Dan tidak adanya pertumbuhan kuman *M tuberculosis*, berarti uji dinyatakan sensitif.
- e. Cara Pengolahan dan Analisa Data
Data yang diperoleh dari hasil penelitian di laboratorium kemudian dianalisis. Perlakuan dalam penelitian ini adalah konsentrasi 100, 200, dan 300 µg/mL ekstrak methanol kulit manggis. Data tentang hasil uji ekstrak methanol kulit manggis terhadap pertumbuhan *M tuberculosis* galur Lombok Timur yang diperoleh diolah secara deskriptif.

Hasil

Persiapan dan pembuatan ekstrak kulit manggis.
Pengumpulan dan pemilihan buah manggis dilakukan pada minggu ke-2 sampai minggu ke-3 bulan Maret 2013. Buah

manggis yang dipakai untuk diekstraksi adalah buah manggis segar dengan kematangan yang baik, warna kulit merata, tidak cacat, tidak tergores sehingga mengeluarkan getah. Buah manggis dibelah, daging kulit buah manggis dipisahkan dengan menggunakan sendok.

Ekstraksi kulit manggis menggunakan pelarut metanol dilakukan di laboratorium Kimia Analitik F-MIPA Universitas Mataram dilanjutkan dengan identifikasi ekstrak kasar menggunakan *Gas Chromatography* (GC) menghasilkan ekstrak methanol kulit manggis berwarna kekuningan. Kromatogram yang diperoleh diperjelas dengan *Massa Spectroscopy* (MS). Enam senyawa utama yang diketahui dihasilkan dari ekstrak methanol kulit manggis diperoleh berturut-turut dari konsentrasi tertinggi yaitu

- line-4* adalah *Cyclopentadecanone, 2-hidroxy-* (C₁₅H₂₈O₂)
- line-9* adalah 9-octadecanoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester (CAS)-2-monoolein (C₂₁H₄₀O₄)
- line-5* adalah *octadecanoic acid (CAS) Stearic acid* (C₁₈H₃₆O₂)
- line-1* adalah hexadecanoic acid (C₁₆H₃₂O₂)
- line-8* adalah hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1hidroxymethyl)ethyl-ester (CAS) 2-monopalmitin (C₁₉H₃₈O₄)
- line-7* adalah (R)-(-)-14-methyl-8-hexadecyn-1-ol (C₁₇H₃₂O).

Laporan hasil uji dan kromatogram GC dan MS dapat diamati pada Lampiran 1.

Pendataan dan pengumpulan isolat *Mycobacterium tuberculosis*.

Pendataan dan pengumpulan kuman *Mycobacterium tuberculosis*, koleksi tahun 2011 dari kultur kuman *M tuberculosis* yang dapat dilakukan kultur ulang adalah sebanyak 18 sampel. Kuman dikultur pada media LJ dan diinkubasi pada 37°C sampai 8 minggu. Hasil kultur ulang kuman *M tuberculosis* pada media Lowestein Jensen (LJ) sejak minggu I sampai minggu ke-5 tidak menunjukkan perkembangan pertumbuhan yang berarti dan banyak

timbul kontaminan. Untuk mengantisipasi keberhasilan kultur ulang *M tuberculosis* galur Lombok Timur, maka sampel baru dikumpulkan dari sputum penderita tuberculosis paru yang dinyatakan positif secara mikroskopis. Pengumpulan sampel dilakukan selama 2 minggu dan diperoleh sebanyak 8 (delapan) sampel.

Persiapan pembuatan media LJ dilakukan lagi untuk mengkultur 8 sampel yang diperoleh. Sampel sputum dihomogenisasi menggunakan NaOH 4 N. Hasil pengolahan sputum, diisolasi pada media LJ. Kultur diinkubasi pada 37°C sampai 8 minggu. Pada minggu III bulan Agustus, kultur yang dilakukan saat ini sudah berjalan 2 minggu dan belum ditemukan adanya pertumbuhan koloni kuman *M tuberculosis*. *M tuberculosis* termasuk pada kuman dengan pertumbuhan lambat, diperlukan waktu 4 – 8 minggu untuk dapat mengamati adanya pertumbuhan koloni kuman.

Hasil kultur ulang yang pertama sebanyak 18 sampel diperoleh isolat yang tumbuh adalah 5 sampel, dua diantaranya tumbuh subur. Delapan sampel baru yang dikultur sampai minggu ke-6, sebanyak 6 sampel tumbuh. Dari dua kali kultur, diambil tiga sampel yang paling baik pertumbuhannya, dikirim ke TDC Unair. Penelitian dilanjutkan pada uji sensitivitas zat aktif ekstrak methanol kulit manggis pada konsentrasi 100, 200, dan 300 µg/mL terhadap pertumbuhan *M tuberculosis* galur Lombok Timur yang dilarutkan dalam media *Middlebrook 7H9 broth* kemudian dipindahkan ke dalam media *Middlebrook 7H10 agar* di Laboratorium Mikrobiologi (laboratorium Tuberculosis) di *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya. Untuk kontrol digunakan kuman virulen *M tuberculosis H37Rv* (kontrol positif). Kontrol negatif kuman virulen *M tuberculosis H37Rv* ditambahkan dengan Etambutol untuk menghambat pertumbuhan kuman. Hasil uji pengaruh ekstrak methanol kulit manggis terhadap pertumbuhan kultur *M tuberculosis* galur Lombok Timur

Hasil uji pengaruh ekstrak methanol kulit manggis pada konsentrasi 100, 200, dan 300 µg/mL terhadap pertumbuhan kultur *M tuberculosis* galur Lombok Timur (OAT) adalah sebagai berikut:

Kode isolate/ Konsentrasi	3	6	49
100	R	R	S
200	R	R	S
300	R	R	S

Keterangan:

K (+) = Positif (+), diberi kultur kuman *M tuberculosis H37Rv*

K (-) = Negatif (-), diberi kultur kuman *M tuberculosis H37Rv* ditambah Etambutol

R = Resisten, dinyatakan adanya pertumbuhan kuman *M tuberculosis* yang dibuktikan dengan membuat sedimen dari hasil pertumbuhan dan diamati dibawah mikroskop.

S = Sensitif, dinyatakan dengan tidak ditemukan adanya pertumbuhan *M tuberculosis* dengan penambahan Etambutol.

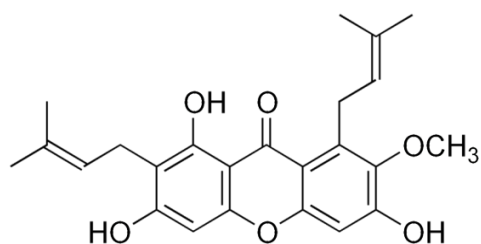
Pembahasan

Kulit buah manggis diekstraksi menggunakan pelarut methanol menghasilkan ekstrak yang mengandung senyawa-senyawa utama berturut-turut dari *peak* tertinggi yang timbul dengan menggunakan *gas chromatography-mass spectrophotometry (GC-MS)* yaitu pada *line-4* adalah *Cyclopentadecanone, 2-hidroxy-* (C₁₅H₂₈O₂), pada *line-9* adalah *9-octadecanoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester* (CAS)-2-monoolein (C₂₁H₄₀O₄), pada *line-5* adalah *octadecanoic acid (CAS) Stearic acid*(C₁₈H₃₆O₂), pada *line-1* adalah *hexadecanoic acid* (C₁₆H₃₂O₂), pada *line-8* adalah *hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-hydroxymethyl ethyl-ester*(CAS) 2-monopalmitin (C₁₉H₃₈O₄), dan pada *line-7* adalah (R)-(-)-14-methyl-8-hexadecyn-1-ol (C₁₇H₃₂O). Senyawa-senyawa ini diperoleh dari *instrument parameter* dengan suhu

column oven 40⁰C, suhu akhir oven pada 300⁰C, dan suhu injeksi 280⁰C, serta tekanan 149,6 kPa.

Senyawa–senyawa dalam ekstrak methanol kulit manggis ini dibuat pada konsentrasi 100, 200, maupun 300 µg/mL untuk dilakukan uji terhadap pertumbuhan *M tuberculosis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 3 sampel (no 3, 6, dan 49) galur Lombok Timur yang diujikan, sampel no 3 dan 6 kuman *M tuberculosis* galur Lombok Timur masih tumbuh pada media *Middlebrook 7H10 agar*. Sedangkan sampel no 49 yang telah diberi ekstrak methanol kulit manggis baik konsentrasi 100, 200, maupun 300 µg/mL tidak ada pertumbuhan *M tuberculosis* galur Lombok Timur, sehingga sampel no 49 dinyatakan sensitif.

Mangostin merupakan kristal padat kuning, rumus molekul C₂₄H₂₆O₆ dengan struktur inti mangostin, seperti dibawah ini



Nama IUPAC 3,6,8-Trihidroksi-2-metoksi-1,7-bis(3-metilbut-2-enil)xanten-9-on. Kecuali dinyatakan sebaliknya, data di atas berlaku pada suhu dan tekanan standar, yaitu pada 25⁰C, 100 kPa (Wikipedia, 2007).

Kulit buah manggis mengandung tanin dan resin serta kristal kuning sangat pahit, mangostin (C₂₀H₂₂O₅) atau mangosim. Mangostin diperoleh dengan merebus kulit dalam air, dan tannin dihilangkan dengan direbus lama dalam alkohol dan menguap. Produk yang dihasilkan adalah mangostin dan resin, resin diendapkan dengan *redissolving* dalam alkohol dan air, dan menguapkan air. Hal ini terjadi dalam skala kecil menghasilkan warna kuning, hambar netral, tidak larut dalam air, tetapi mudah

larut dalam alkohol dan eter (Dweck, 2013).

Xanthone adalah senyawa organik dengan rumus molekul dasar C₁₃H₈O₂. Turunan senyawa xanthone banyak terdapat di alam dan berdasarkan penelitian telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Xanthone terbuat dari ekstra kulit buah manggis yang bermanfaat sebagai obat karena mengandung xanthone yang sangat tinggi. Xanthone adalah kelompok senyawa bioaktif yang mempunyai struktur cincin 6 karbon dengan kerangka karbon rangkap. Struktur ini membuat xanthone sangat stabil dan serba guna. Xanthone tergolong derivat dari difenil-γ-pyrone, yang memiliki nama IUPAC 9H-xanthin-9-on (Repository IPB, 2010).

Penentuan α-mangostin dan jumlah xanthenes menurut Aisya, et.al (2011), analisis ekstrak menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) dilakukan dengan 10 µL α-mangostin atau ekstrak xanthone pada 1 mg / mL dalam metanol menimbulkan bercak dan bercak dikeringkan. Kromatogram dibuat dengan kondisi saturasi ruang dengan n-heksana: etil asetat: metanol pada 7:3:0.5 v / v Setelah kering, *plate* divisualisasikan pada 254 dan 366 nm. Identitas pita kromatografi sesuai dengan α-mangostin dalam sampel adalah dikonfirmasi dengan membandingkan nilai R_f yang sama dengan senyawa referensi.

Penelitian lain oleh tim di IPB, bahwa pengeringan kulit buah manggis dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 60 °C hingga bobot kulit konstan. Kulit manggis yang telah kering ditumbuk dan diblender kemudian disimpan ke dalam plastik kering, dirapatkan dan dapat disimpan. Sebanyak 10 gram serbuk diekstraksi dengan methanol p.a sebanyak dua kali dengan perbandingan sampel bahan dan metanol 1:1. Ekstrak yang dihasilkan dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 40⁰C agar metanol pelarut sampai membentuk karamel atau *crude extract* (CE). CE untuk analisis kandungan

fenol dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan Spektrofotometer (Repository IPB, 2010).

Ekstrak kulit manggis mengandung senyawa polifenol. Analisis senyawa fenolik hasil analisis sampel dibandingkan dengan asam galat sebagai standard dan dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Analisis senyawa fenolik digunakan reagen Folin-Ciocalteus dengan metode modifikasi dari Javanmardi *et.al.* 2003 (Repository IPB, 2010).

Ekstrak kulit buah manggis merupakan antioksidan yang paling tinggi diantara jenis buah-buahan yang ada. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan vitamin C sebagai standar secara spektrofotometer dan dinyatakan dengan nilai *Inhibition Corelation* (IC). Pengujian antioksidan dengan metode DPPH warna dari larutan sampel awal adalah ungu, reaksi penghambatan terhadap radikal bebas oleh zat antioksidan akan mereduksi DPPH sehingga menurunkan kepekatan warna ungu hingga berubah menjadi kuning (Repository IPB, 2010)

Pada jurnal lain juga ditemukan bahwa pembuatan ekstraksi kulit buah manggis dilakukan dengan cara maserasi sampel menggunakan 200 mL methanol, kemudian perlakuan yang sama terhadap pelarut air panas. Ekstrak disimpan pada suhu 40°C. Masing-masing ekstrak kemudian dilarutkan dalam methanol untuk ditentukan kandungan total fenolik dan antioksidan metode DPPH, seperti yang dilakukan pada Repository IPB (Stevi, et.al., 2013)

Senyawa- senyawa pada penelitian ini, yaitu yang ditemukan pada line 4, 9, 5, 1, 8, dan line 7 tidak sama seperti senyawa-senyawa xanthone dan derivatnya yang disebut dalam literatur di atas, sehingga belum diketahui apakah termasuk dalam xanthone atau derivatnya atau

senyawa yang sama sekali berbeda. Untuk menguji adanya senyawa polifenol dan antioksidan yang merupakan bagian dari xanthone perlu dilakukan uji seperti yang dilakukan IPB dan Stevi et.al. Proses ekstraksi dengan methanol kemungkinan sudah diperoleh seperti yang dilakukan pada penelitian yang telah dipublikasi, namun identifikasi senyawa polifenol dan antioksidan dilakukan secara spektrofotometri, bukan dengan GC-MS. Pada penelitian yang dilakukan oleh Suksamrarn dan Szkaradek, isolasi xanthone menggunakan pelarut methanol dilanjutkan dengan GC-MS, namun tidak diuraikan *conditioning* yang digunakan. Perbedaan yang timbul dapat disebabkan adanya perbedaan proses pengeringan suhu *column oven*, suhu akhir oven dan suhu injeksi yang terlalu tinggi atau tekanan yang digunakan, yaitu pada 149,6 kPa sedangkan yang disebutkan dalam Wikipedia (berlaku pada suhu dan tekanan standar, yaitu pada 25°C, 100 kPa).

Penelitian lain yang pernah dilakukan adalah penelitian dari Suksamrarn, penelitian tentang potensi antimycobacterial xanthone terpenilasi. Sejumlah xanthone terpenilasi dikumpulkan dan diisolasi dari kulit buah manggis. Kami melaporkan aktivitas penghambatan dari santon terpenilasi yang diperoleh dari buah *G. mangostana* terhadap *Mycobacterium tuberculosis* di dalam percobaan in vitro. Santon terpenilasi yang terisolasi dari kulit buah hijau *G. Mangostana*, antara lain menghasilkan senyawa-senyawa.

Aktivitas penghambatan pada 15 senyawa Xanthone terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Ra ditentukan dengan menggunakan lempeng *Microplate Alamar Blue Assay* (MABA). Isolasi dengan cara ekstraksi pada penelitian skala lebih besar yang diekstrak menggunakan methanol diperoleh dari kulit buah manggis segar hijau, dikenal empat senyawa xanthoneyaitu γ -mangostin, garcinone-D, mangostanin dan 1,7-dihidroksi-2-(methylbut-2-enil) -3-methoxyxanthone

diidentifikasi lebih lanjut, selain yang diperoleh sebelumnya. Semua senyawa diidentifikasi oleh perbandingan data spektroskopi (NMR dan MS). Konsentrasi obat terendah mempengaruhi suatu penghambatan 90% adalah dianggap MIC. Percobaan biasanya diselesaikan dalam waktu 10 hari. Obat standar yang digunakan adalah rifampisin, isoniazid dan sulfat kanamisin masing-masing menunjukkan MIC 0,003-0,0047, 0,025-0,05 dan 1,25-2,5 mg / ml (Suksamran, 2003).

Kesimpulan

Isolasi kulit buah manggis menggunakan methanol menghasilkan 12 senyawa dengan 6 senyawa utama, yaitu *Cyclopentadecanone, 2-hidroxy* ($C_{15}H_{28}O_2$); 9-octadecanoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester (CAS)-2-monoolein ($C_{21}H_{40}O_4$); octadecanoic acid (CAS) Stearic acid ($C_{18}H_{36}O_2$); hexadecanoic acid ($C_{16}H_{32}O_2$); hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-hydroxymethyl)ethyl-ester (CAS) 2-monopalmitin ($C_{19}H_{38}O_4$); dan (R)-(-)-14-methyl-8-hexadecyn-1-ol ($C_{17}H_{32}O$). *Mycobacterium tuberculosis* galur Lombok Timur dapat diperoleh dengan mengisolasi pada media LJ untuk mendapatkan biakan murni. *M tuberculosis* galur Lombok Timur yang diberi ekstrak methanol kulit manggis baik pada konsentrasi 100, 200, maupun 300 $\mu\text{g/mL}$ pada dua sampel Resisten dan satu sampel Sensitif.

Saran

Pada konsentrasi terkecil, 100 $\mu\text{g/mL}$ pada semua sampel masih ditemukan adanya pertumbuhan, sehingga konsentrasi hambatan minimal (MIC) dapat diketahui dengan melanjutkan penelitian sampai konsentrasi terkecil yang masih memberi pertumbuhan kuman *M tuberculosis*. Diharapkan penelitian (tahap II) dilanjutkan untuk menentukan apakah ketiga sampel yang diujikan termasuk sampel resisten terhadap obat anti

tuberculosis (OAT) karena masa inkubasi kuman yang panjang.

Daftar Pustaka

1. Aisha Abdalrahim F.A, Khalid M. Abu-Salah, Zeyad D.Nassar, Mohammad J. Siddiqui, Zhari Ismail, Amin Malik Shah Abdul Majid. 2011. *Antitumorigenicity of xanthones-rich extract from Garcinia mangostana fruit rinds on HCT 116 human colorectal carcinoma cells*. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 21(6): 1025-1034, Nov./Dec. 2011
2. Burhan, E. 2010. *Tuberculosis Multi Drug Resistance (TB-MDR)*. Majalah Kedokteran Indonesia, Volum: 60, Nomor: 12, Desember 2010.
3. Chantarasriwong O, Ayse Batova, Warinthorn Chavasiri, and Emmanuel A. Theodorakis. 2011. *Chemistry and Biology of the Caged Garcinia Xanthones*. Chemistry. NIH Public Access. Author manuscript; available in PMC 2011 September 3.
4. Difco, 2012. TMMiddlebrook 7H9 Broth, AOAC SMWW, Cat.No.271310
5. Dweck, Anthony C FLS FRSH FRSC. 2013. A review of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Linn. www.dweckdata.com/Published_papers/Garcinia_mangostana.pdf. Diunggah tanggal 4 Oktober 2013.
6. Hanafiah AK. 2010. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Edisi III. PT Rajawali Pers. Jakarta.
7. Mardiana, Lina dan Tim Penulis PS. 2012. *Ramuan dan khasiat kulit manggis*. Cetakan 3. Penebar Swadaya, Jakarta.
8. Mukherjee KL, 1989. *Medical Laboratory Teknology*, Vol II. Tata Mc Garw Hill. New Delhi. Dalam : Mahendra K. 2004. *Uji Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Senyawa Bioaktif Ekstrak Sambiloto terhadap Staphylococcus aureus*. Mataram.

9. Notoatmojo S, 2002. *Metedologi Penelitian Kesehatan*. Rienaka Cipta Jakarta.
10. Redaksi Trubus. 2011. *Kulit Manggis v.s Penyakit Maut*. Pt Trubus Swadaya. Jakarta.
11. Repository IPB, 2010. Pengaruh efek residu dan aktivitas antioksidan kulit buah manggis. IPB.ac.id. Dikutip dari <http://repository.ipb.ac.id>.
12. Sjahrurachman, Agus. 2008. Modul-Kultur dan Uji Kepekaan *M tuberculosis* terhadap OAT lini pertama. Departemen Kesehatan R I.
13. Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. AAK Yogyakarta. Yogyakarta.
14. Stevi G. Dungir, Dewa G. Katja, Vanda S. Kamu. 2013. Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurnal MIPA UNSRAT online1 (1) 11-15. Dikutip dari <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>
15. Suksamrarn S, Narisara Suwannapoch, Wong Phakhodee, Janthana Thanuhiranlert, Piniti Ratananukul, Nitirat Chimnoi, and Apichasrt . 2003. *Antimycobacterial Activity of Prenylated Xanthones from the Fruits of Garcinia mangostana*. Notes Chem. Pharm. Bull. 51(7) 857—859 (2003) 857
16. Szkaradek N, Karolina Stachura, Anna M Waszkielewicz, Marek Cegla, Edward Szneler, and Henryk Marona. 2008. *Synthesis and antimicrobial assay of some xanthone derivatives*. Acta Poloniae Pharmaceutica n Drug Research, Vol. 65 No. 1 pp. 21-28, 2008
17. Wikipedia, 2007. *Mangostin*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Mangostin>

