

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FLAVONOID TUMBUHAN BENALU MANGGA (*Dendrothoe petandra* Miq)

Ema Ratna Sari¹, Vera Febriyana

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang
Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan
e-mail : ¹ema_ratnasari3@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan skrining empat spesies benalu, yaitu benalu kopi (*Dendrothoe frutesces*), benalu jengkol (*Loranthaceae dendrothoe* sp), benalu duku (*Loranthus chyshantus* Bi) dan benalu mangga (*Dendrothoe petandra* Miq). Dari hasil skrining, benalu mangga menunjukkan kandungan flavonoid tertinggi, kemudian isolasi flavonoid tumbuhan benalu mangga (*Dendrothoe petandra* Miq) tersebut memberikan hasil isolasi berupa kristal berbentuk serbuk amorf berwarna kuning sebanyak 274,14 mg. Dari analisa kromatografi kertas dua dimensi, uji reaksi warna, dengan sianidin test dan NaOH dan analisa spektrum UV dengan penambahan pereaksi geser MeOH, NaOAc, NaOAc+H₃BO₃, NaOMe menunjukkan golongan flavonoid isoflavon (Afromoksin dan Tektorigenin). Analisa spektrum IR menunjukkan bahwa terdapat regang OH (3289 cm⁻¹) regang C=O (1655 cm⁻¹), regang C=C (1604 cm⁻¹), ulur C-H (1498 cm⁻¹), ulur C-O(1272 cm⁻¹) ulur C=C-H aromatik (963 cm⁻¹).

Kata kunci : Benalu mangga (*Dendrothoe petandra* Miq), isolasi dan karakterisasi.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Back to nature atau *kembali ke alam* merupakan suatu istilah yang seringkali terdengar akhir-akhir ini dalam dunia kesehatan dan kecantikan. Sejarah pengobatan menunjukkan, alam merupakan sumber dari bermacam-macam bahan obat. Organisasi Kesehatan Dunia atau WHO memperkirakan hampir 75% dari seluruh masyarakat dunia memiliki metode pengobatan dengan obat-obat herbal, dan telah terdokumentasikan lebih dari 85.000 spesies tumbuhan yang digunakan sebagai bahan pengobatan (Liu Y, 2008). Benalu merupakan tumbuhan parasit yang pada awalnya dianggap tidak bermanfaat ternyata berpotensi sebagai obat berbagai penyakit. Tumbuhan benalu mengandung senyawa flavonoid cukup tinggi 9,8 mg/g, 25,8 mg/g hingga 39,8 mg/g (Sri *et al.* 2010) jika dilihat dari kadar flavonoidnya yang

tinggi tumbuhan benalu berpotensi sebagai antioksidan (Ikawati *et al.*, 2008).

Beberapa spesies benalu sejak dahulu telah digunakan untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Benalu digunakan masyarakat sebagai obat antara lain digunakan untuk mengobati sakit pinggang, penghentian pendarahan setelah melahirkan, obat batuk (antitusif), untuk pengobatan gondong (parotitis), TBC, kulit dengan pembesaran kelenjar getah bening (skrofuloderma), sakit kuning, sukar buang air besar (sembelit), disentri, cacangan, cacar air, diare, liver (Mardiswoyo, 1965), kencing nanah, mimisan, anti inflamasi, bengkak, berak darah, reumatik (leukore), luka karena infeksi bakteri, diuretik, anti diabetes, mumulihkan organ dalam tubuh yang mengalami luka, memperbaiki kontraksi otot reumatik, penawar racun, ginjal, anti virus (Flu, HIV), imunostimulan, antioksidan (Pitoyo, 1996). Ada beberapa spesies benalu yang seringkali di gunakan sebagai obat

antara lain, Benalu mangga, benalu kopi, dan benalu duku (Anonim, 1999). Kemampuan benalu menghambat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas berkaitan dengan aktivitas bahan aktif pada benalu sebagai antioksidan. Daun dan batang tanaman ini mengandung alkaloid, flavonoid, saponin yang berperan sebagai antioksidan. Potensi flavonoid sebagai antioksidan dan kemampuannya mengurangi aktivitas radikal hidroksi, anion superoksida dan radikal peroksida lemak menjadikan flavonoid berperan penting dan sangat eratkaitanya dengan proses epidemiologi penyakit (Labier dan Leclerc 1992). Flavonoid adalah senyawa polifenol yang banyak terdapat pada sayuran dan buah-buahan. Flavonoid telah menunjukkan perannya sebagai antioksidan, antimutagenik, antineoplastik dan aktifitas vasodilatator (Miller, 1996). Berdasarkan berbagai penelitian, senyawa dalam benalu yang diduga memiliki aktifitas anti kanker adalah flavonoid yang bersifat inhibitor terhadap enzim DNA topoisomerase sel kanker (Anonim,1996).

Kandungan kimia dari benalu antara flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, tanin dan minyak atsiri (Hutapea, 2009).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak tersebar luas, sekitar 5-10% metabolit sekunder adalah flavonoid, terdapat pada semua bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, buah dan biji). Senyawa flavonoid sangat bermanfaat dalam makanan karena, berupa senyawa fenolik yang bersifat antioksidan yang kuat. Banyak kondisi penyakit yang diketahui bertambah parah oleh adanya radikal bebas dan flavonoid memiliki kemampuan untuk menghilangkan pengoksidasi yang merusak ini (Djamal, 2009). Benalu mangga (*Dendrophoe petandra*. Miq), benalu duku (*Loranthaceae dendrophoe Sp*), benalu kopi (*Dendrophoe frutescens L*) dan benalu jengkol (*Loranthus chryshantus Bi*). Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian lebih intensif sehingga potensi benalu sebagai bahan baku obat dapat lebih dikembangkan. Maka pada penelitian ini

akan dilakukan skrining senyawa flavonoid dari beberapa spesies benalu.



Gambar 1. Tumbuhan (A) Benalu Kopi (*Dendrophoe frutescens*) (B) Benalu Mangga (*Dendrophoe petandra* Miq), (C) Benalu Jengkol (*Loranthaceae Dendrophoe sp*) dan (D) Benalu Duku (*Loranthus chyhantus Bi*)

Tahap awal skrining senyawa flavonoid dari beberapa spesies benalu, dilakukan uji fitokimia secara keseluruhan dari berbagai spesies benalu tahap selanjutnya benalu yang memiliki kandungan flavonoid terbesar, dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom dan kromatografi kertas dua dimensi. Penentuan kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis preparatif, kemudian dilakukan kristalisasi. Senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektrofotometri ultraviolet dan spektrofotometri inframerah. Kandungan kimia dari benalu antara flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, tanin dan minyak atsiri (Hutapea, 2009). Mengingat pentingnya

senyawa aktif flavonoid dan penggunaan tradisional, maka penulis tertarik untuk melakukan skrining beberapa spesies benalu, dan selanjutnya melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa flavonoid dari spesies benalu dengan kandungan flavonoid tertinggi.

METODE PENELITIAN

Identifikasi sampel

Keempat spesies benalu diidentifikasi di Herbarium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas, Limau Manis, Padang.

Alat

Alat-alat yang digunakan : seperangkat alat destilasi, seperangkat alat *rotary evaporator* Rotavor R-210 (BUCHI), botol coklat, benang, jarum, gunting, bejana kromatografi, kolom kromatografi, timbangan analitik (AND GR-200), plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), bejana KLT (chamber), pipet tetes, plat tetes, kertas saring, spatel, pinset, vial, botol semprot, pengering rambut (hair dryer), beker glass, corong kaca, corong pisah, gelas ukur, elemeyer, kapas, kertas saring, plat silika GF₂₅₄, lampu UV (Betacher Camag), spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu) dan spektrofotometri Infra red (Perkin Elmer NO17-1159).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan : tanaman segar benalu, metanol, etanol, etil asetat, butanol, asam sulfat pekat, asam klorida pekat (HCl), asam asetat anhidrat, natrium hidroksida (NaOH), natrium metoksida (NaOMe), natrium asetat (NaOAc), aluminium klorida (AlCl₃), asam borat (H₃BO₃), asam sitrat, amoniak, logam magnesium, pereaksi Mayer, pereaksi Drogendroff, pereaksi besi (III) klorida, pereaksi sitroborat, natrium sulfat anhidrat, silika gel 60 (Merck), plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Silika gel GF₂₅₄ (Merck).

Prosedur

Pengambilan Sampel

Sampel diambil di perkebunan mangga desa Penanggung Kabupaten OKU Selatan Sumatera Selatan.

Skrining Kandungan Senyawa Flavonoid dan Uji Fitokimia

Pemeriksaan flavonoid, steroid, terpenoid, saponin dan fenolik menggunakan metode Simes dkk (Simes et.al, 1959) dan pemeriksaan alkaloid menggunakan metode Culvenor-Fritzigerall (Culvenor-Fitzgerald, 1963).

Ekstraksi dan Fraksinasi Benalu Mangga (*Dendrothoe petandra*)

Tanaman segar benalu mangga berdasarkan skrining yang mengandung flavonoid terbesar dirajang sebanyak 2 kg dimasukkan ke dalam botol gelap, lalu diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3 x 5 hari. Selanjutnya maserat diuapkan pelarutnya dengan bantuan destilasi vakum dan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental difraksinasi menggunakan pelarut heksan, etil asetat dan air, lalu masing-masing fraksi diuapkan *in vacuo* hingga didapatkan fraksi kental heksan, etil asetat dan air. Kemudian ketiga fraksi diidentifikasi kandungan flavonoidnya menggunakan metode Sianidin Test, dan fraksi air yang menunjukkan positif flavonoid.

Isolasi dan Pemurnian Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Kental Fraksi Air Benalu Mangga (*Dendrothoe patandra* Miq)

Fraksi kental air sebanyak 72 gram dikromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60. Silika gel disuspensikan dengan pelarut etil asetat, diaduk homogen, kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang ujungnya telah diberi alas dengan kapas. Fraksi air dipreabsorpsi dengan cara dilarutkan dalam sedikit etil asetat kemudian tambahkan silika gel, kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator*

hingga kering, sampel yang telah dipreabsorpsi dengan silika gel 60 sampai kering, dimasukkan ke dalam kolom kromatografi secara merata kemudian dielusi menggunakan fasa gerak dengan kepolaran bertingkat menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dengan berbagai perbandingan. Lalu eluen diganti ke tingkat yang lebih polar saat tidak terjadi lagi pergerakan pita pada kolom kromatografi menggunakan pelarut metanol, amoniak dengan berbagai perbandingan.

Fraksi yang keluar ditampung dengan vial kemudian dimonitor dengan KLT GF₂₅₄ dengan penampak bercak sitroborat dan dilihat di lampu UV. Diperoleh fraksi I (vial 1-108), dilakukan uji sianidin test dengan mengambil 2 tetes hasil kolom dari tiap vial, diperoleh fraksi II (vial 26-108) yang positif flavonoid, hasil dari fraksi II didiamkan beberapa lama, terbentuk kristal berwarna kuning berbentuk kristal serbuk yang larut dalam metanol. Kristal tersebut dilarutkan, lalu direkristalisasi secara berulang sehingga diperoleh senyawa murni berbentuk kristal serbuk berwarna kuning sebanyak 542,12 mg. Preabsorpsi kristal flavonoid dilarutkan dengan etil asetat tambahkan silika gel, etil asetat diuapkan dengan rotary evaporator. Lakukan rekrom dengan dimasukkan ke dalam kolom kromatografi secara merata kemudian dielusi menggunakan fasa gerak dengan kepolaran bertingkat menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dengan berbagai perbandingan. Lalu eluen diganti ke tingkat yang lebih polar saat tidak terjadi lagi pergerakan pita pada kolom kromatografi menggunakan metanol dan amoniak dengan berbagai perbandingan. Subfraksi yang keluar ditampung dengan vial sub fraksi I (vial 1-24) kemudian dimonitor dengan KLT GF₂₅₄ dan penampak bercak sitroborat dan dilihat di lampu UV, kelompokan R_f yang sama. Diperoleh fraksi II (vial 10-24), hasil dari fraksi II didiamkan beberapa lama, terbentuk kristal berwarna kuning berbentuk kristal serbuk yang larut dalam metanol. Kristal tersebut dilarutkan, kemudian direkristalisasi dengan metanol secara berulang sehingga

diperoleh senyawa murni berbentuk kristal serbuk berwarna kuning sebanyak 271,34 mg.

Identifikasi Organoleptik

Identifikasi organoleptik dari benalu mangga meliputi warna, bau, bentuk dan kelarutan.

Identifikasi Flavonoid dengan Pereaksi Warna

Identifikasi flavonoid dengan pereaksi warna dalam dilakukan dengan uji reaksi warna. Ambil sedikit sampel yang dikerok dari KLT, larutkan dengan metanol, kemudian saring agar silika dan metanol terpisah, metanol letakkan pada plat tetes, tambahkan NaOH, amati reaksi warna yang terjadi, kemudian ambil sampel dari plat KLT yang telah dikerok, letakkan pada plat tetes tambahkan HCL pekat tambahkan serbuk magnesium, amati reaksi yang terjadi. Kemudian dengan reaksi warna yang terjadi, dapat ditentukan golongan flavonoid.

Identifikasi Flavonoid dengan Kromatografi Kertas Dua Dimensi

KKt dua dimensi dilakukan untuk menentukan golongan flavonoid yang disolasi, dengan dua pengembang BAA (butanol:asam asetat:air) dan asam asetat 15%. Lalu dilakukan elusi secara dua dimensi. Setelah kering, kertas kromatografi disemprot dengan penampak bercak sitroborat, kemudian lihat posisi noda pada lampu UV, untuk menentukan golongan flavonoid.

Identifikasi Flavonoid dengan Spektrometri UV dan IR

Pemeriksaan spektrometri ultraviolet dilakukan dalam pelarut metanol dan dengan penambahan beberapa pereaksi geser seperti natrium hidroksida 2 N, aluminium klorida 5% b/v, asam klorida 30% v/v, serbuk natrium asetat dan serbuk asam borat. Pemeriksaan spektrum inframerah dilakukan dengan spektrofotometer inframerah menggunakan pelet KBr.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia empat spesies benalu dan pendahuluan flavonoid dari keempat spesies benalu, benalu mangga (*Dendrophoe petandra* Miq) mengandung flavonoid tertinggi dengan menunjukkan warna merah panta (Markham, 1988).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia dari Empat Spesies Benalu

| Nama | alkaloid | Flavonoid | saponin | Fenolik | Terpenoid | Steroid |
|----------------|----------|-----------|---------|---------|-----------|---------|
| Benalu duku | + | + | + | + | + | + |
| Benalu jengkol | + | + | - | - | - | - |
| Benalu mangga | + | + | + | + | + | + |
| Benalu kopi | + | + | - | + | + | + |



Gambar 2. Hasil Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid (A) Benalu kopi, (B) Benalu Jengkol, (C) Benalu Duku, (D) Benalu Mangga dengan Sianidin Test

Dari 2 kg benalu mangga segar yang sudah dimaserasi, diperoleh sebanyak 129 gram ekstrak kental metanol berwarna coklat kehijauan dan berbau khas seperti bau teh (Rendemen = 6,45%). Dari 2 kg benalu mangga yang telah di fraksinasi diperoleh, fraksi heksan 20 gram dan fraksi etil asetat 30 gram dan fraksi air 72 gram. Dari ketiga fraksi yaitu, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air, fraksi air yang menunjukkan positif flavonoid, dengan warna yang khas yaitu memberikan warna merah panta yang menunjukkan kandungan flavonoid.

Tabel 2. Hasil Uji Senyawa Flavonoid Dengan Sianidin Test dari Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-heksan Benalu Mangga.

| Fraksi | Kandungan Flavonoid |
|--------------------|---------------------|
| Fraksi n-heksan | - |
| Fraksi etil asetat | - |
| Fraksi air | + |



Gambar 3. Uji Senyawa Flavonoid dengan Sianidin Test dari (A) Ekstrak Total, (B) Fraksi Air, (C) Fraksi Etil Asetat dan (D) Fraksi n-Heksan.

Dari kromatografi kolom gravitasi fraksi air (BM-a26) menggunakan silica gel 60 didapat bercak tunggal pada kromatografi lapis tipis dengan bercak tunggal Rf 0,58 menggunakan fase gerak etil asetat:methanol (8:2). Dari analisa kromatografi kertas dua dimensi kristal flavonoid tersebut dengan pengembang BAA dan asam asetat 15% diduga senyawa flavonoid adalah golongan isoflavon (Markham, 1988). Pada pemeriksaan identifikasi kristal flavonoid benalu mangga menunjukkan warna kuning, bau khas teh, kristal bentuk serbuk, dan larut dalam pelarut polar. Pada uji reaksi warna kristal flavonoid benalu mangga dengan sianidin test dan NaOH memberikan warna kuning diduga flavonoid tersebut adalah golongan isoflavon.



Gambar 4. Reaksi warna (A) dengan HCl dan Logam Mg (Sianidin Test) dan (B) dengan NaOH

Tabel 3. Identifikasi Organoleptik Kristal Flavonoid Benalu Mangga Meliputi Warna, Bau, Bentuk, dan Kelarutan

| Warna | Bau | Bentuk | Kelarutan |
|--------|---------|---------------|---------------------------|
| Kuning | Bau teh | Kristal amorf | Larut dalam pelarut polar |

Kristal flavonoid berwarna kuning berbentuk serbuk amorf.



Gambar 5. Foto Kristal Flavonoid (BM-a26)

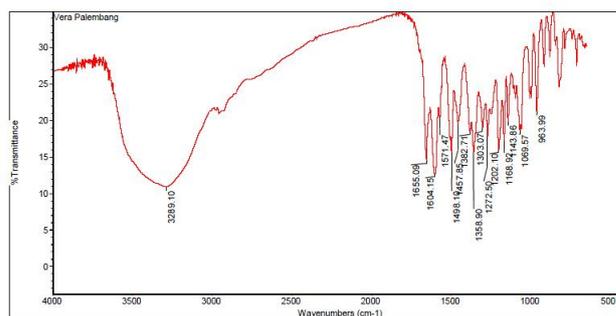
Dari analisa spektrum UV kristal flavonoid benalu mangga dengan penambahan pereaksi geser λ_{max} pita I 220 nm dan pita II 450 nm, sehingga flavonoid tersebut diduga golongan flavonoid isoflavan (Markham, 1988) (Mainnah, 2010) (Asih, 2009).

Tabel 4. Pita Serapan Kristal Flavonoid Benalu Mangga Setelah Penambahan Pereaksi Geser. Senyawa Hasil Isolasi (200 mg) Berupa Serbuk Kuning Memberi Serapan UV λ_{max} (log ϵ) Pada Pita I 220 nm dan Pita II 450 nm.

| Pita (nm) | MeOH | NaOAc | NaOAc+As.Boraks | AlCl ₃ | AlCl ₃ +HCL | NaOMe |
|-----------|------|-------|-----------------|-------------------|------------------------|-------|
| I | 256 | 267 | 261 | 272 | 271 | 271 |
| II | 350 | 372 | 371 | 424 | 424 | 395 |

Dari analisa spektrum IR kristal flavonoid benalu mangga menunjukkan bilangan gelombang 3289 cm^{-1} , merupakan renggan O-H, bilangan gelombang 1271-1143 cm^{-1} adanya gugus -C-O, pita serapan 1498-1303 cm^{-1} menunjukkan gugus -C-H, bilangan gelombang 1655 cm^{-1} menunjukkan gugus -C=C, pita serapan 1571 cm^{-1} menunjukkan gugus -C=C, pita serapan 1571-963 cm^{-1} menunjukkan gugus H yang bertetangga dengan cincin aromatik (Lampiran 11 Tabel 5) (Dachriyanus, 2004), (Lampiran 13 Tabel 5). Dari analisa tersebut diduga senyawa flavonoid yang diisolasi dari Kristal flavonoid

benalu mangga adalah isoflavan golongan afroformoksin dan tektorigenin (Markham, 1988).



Gambar 5. Spektrum IR Kristal Flavonoid Benalu Mangga.

Tabel 5. Karakterisasi gugus-gugus dari spektrum IR kristal flavonoid benalu mangga senyawa hasil isolasi (Dachriyanus, 2004), (Mainnah, 2010).

| Bil. gelombang (cm^{-1}) | Bentuk pita | Intensitas | Gugus dugaan |
|-------------------------------------|-------------|------------|---------------|
| 3289 | Lebar | Kuat | Reggang O-H |
| 1655 | Tajam | Kuat | Regang C=O |
| 1604 | Tajam | Kuat | Regang C=C |
| 1571 | Tajam | Sedang | Regang C=C |
| 1498-1303 | Tajam | Sedang | Ulur C-H |
| 1272-1143 | Tajam | Sedang | Ulur C-O |
| 963 | Tajam | Sedang | Ulur C=C-H Ar |

Dilakukan skrining kandungan flavonoid dari keempat spesies benalu yaitu benalu mangga (*Dendrophthoe petandra. Miq*), benalu kopi (*Dendrophthoe frutescens L*), benalu jengkol (*Loranthus chryshantus Bl*), dan benalu duku (*Loranthaceae dendrophthoe Sp*) dan diperoleh benalu mangga yang menunjukkan flavonoid tertinggi dengan memberikan warna merah panta, semakin pekat warna maka semakin tinggi pula kandungan flavonoidnya (Djamal, 2009). Pemeriksaan pendahuluan bertujuan untuk mengetahui golongan kimia apa yang terdapat pada suatu tanaman. Benalu mangga yang memiliki kandungan flavonoid tertinggi dilakukan proses ekstraksi dengan dengan cara maserasi. Metode maserasi dipilih karena pengerjaannya yang aman untuk semua metabolit sekunder yang tidak tahan pemanasan. Dalam metode maserasi ini digunakan pelarut metanol karena merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan banyak senyawa organik. Alkohol alifatik sampai dengan 3 atom karbon (metanol, etanol, propanol) atau campurannya dengan air, merupakan pelarut dengan daya ekstraksi terbesar untuk semua bahan alam yang berbobot molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Djamal, 2009). Tanaman segar benalu mangga berdasarkan skrining, yang mengandung flavonoid terbesar dirajang sebanyak 2 kg dimasukkan ke dalam botol maserasi (botol gelap) tambahkan metanol hingga terendam semua. Kemudian botol ditutup rapat dan disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari untuk menghindari terjadinya degradasi molekul terutama senyawa yang kurang stabil terhadap cahaya, sambil sesekali diaduk. Biarkan selama 5 hari kemudian ekstrak tersebut disaring dan dimasukkan ke dalam botol lain, ulangi maserasi ini sebanyak 3 kali dengan cara yang sama sehingga zat bekhasiat didalam tumbuhan benalu mangga tersari dengan sempurna. Kemudian hasil maserasi diuapkan pelarutnya dengan bantuan destilasi vakum, (untuk menurunkan tekanan uap pelarut), akibatnya pelarut dapat menguap dibawah titik didihnya sehingga dapat mengurangi resiko kerusakan senyawa

termolabil (tidak tahan pemanasan) yang terkandung dalam maserat, proses penguapan dapat berlangsung lebih cepat. Kemudian hasil vakum *dirotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental metanol.

Ekstrak kental metanol hasil *rotary evaporator* diperoleh sebanyak 129 gram difraksinasi dengan menambahkan air suling 100 ml kocok, dengan corong pisah menggunakan pelarut heksan (bersifat non-polar) bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen metabolit sekunder yang larut dalam senyawa non polar. Terbentuk dua lapisan yaitu lapisan heksan dan lapisan air, fraksi heksan, uapkan pelarutnya hingga diperoleh fraksi kental n-heksan sebanyak 20 gram. Sedangkan fraksi air (ampas terdapat pada lapisan bawah), tambahkan etil asetat kocok, pisahkan dengan corong pisah, lakukan hingga pemisahan antara fraksi air dan etil asetat menjadi bening. Fraksi etil asetat (bersifat semi polar), diuapkan pelarutnya hingga diperoleh fraksi kental etil asetat sebanyak 30 gram, yang bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen metabolit sekunder pada ekstrak yang bersifat semi polar. Fraksi air diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh fraksi kental air sebanyak 72 gram. Dari ketiga fraksi yang didapat, dilakukan uji sianidin test untuk mengetahui fraksi mana yang mengandung flavonoid. Sedikit ekstrak kental dari masing-masing dari ketiga fraksi tersebut larutkan dengan menggunakan pelarut metanol, masukkan dalam vial 10 ml, lakukan uji sianidin test. Dari pemeriksaan yang telah dilakukan dari ketiga fraksi, fraksi yang mengandung flavonoid adalah fraksi air.

Untuk pemisahan senyawa, digunakan kromatografi kolom gravitasi. Kromatografi kolom ini merupakan metode pemisahan paling umum digunakan untuk sampel dalam jumlah banyak. Kecepatan alir pelarut di dalam kolom dibuat perlahan agar pemisahan senyawa lebih baik. Sistem elusi yang umumnya digunakan pada ini ialah sistem elusi dengan kepolaran bertingkat *Step Gradien Polarity* (SGP) yang merupakan teknik mengelusi dengan meningkatkan kepolaran secara perlahan sehingga

mendapatkan pemisahan yang baik dimulai dari pelarut non polar hingga polar. Silika gel 60 disuspensi dengan pelarut etil asetat, kemudian silika yang telah disuspensi masukkan kedalam kolom kromatografi yang ujungnya telah diberi alas kapas. Fraksi air dipreabsorpsi dengan cara dilarutkan dalam sedikit etil asetat, hingga menjadi bubuk silika, kemudian pelarut etil asetatnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga kering, bubuk silika yang telah di *rotary evaporator* masukkan ke dalam kolom kromatografi secara merata kemudian dielusi menggunakan fase gerak dengan kepolaran bertingkat. Eluen diganti ke tingkat yang lebih polar saat tidak terjadi lagi pergerakan pada kolom kromatografi, hasil fraksi yang keluar ditampung didalam vial 10 ml, diperoleh sebanyak 108 vial (BM-a1), ambil 2 tetes setiap vial, kemudian lakukan uji sianidin test, dari hasil uji sianidin test diperoleh vial 26-108 vial (BM-a2) yang menunjukkan positif flavonoid dengan memberikan warna yang khas, vial 26-108 dimonitor dengan KLT dengan penampang bercak sitroborat. Hasil vial BM-a2 diuapkan pelarutnya hingga diperoleh kristal flavonoid berbentuk serbuk amorf sebanyak 542,12 mg. Setelah dilakukan kromatografi kolom pertama lakukan kembali rekolom yang bertujuan untuk mendapatkan senyawa yang benar-benar murni dengan menggunakan eluen yang sama seperti pada kromatografi kolom gravitasi yang pertama. Hasil kromatografi rekolom ditampung kedalam vial-vial dan didapatkan vial sebanyak 24 vial, vial 1-24 dimonitor dengan sianidin test dan dengan menggunakan KLT dengan penampang bercak sitroborat, Rf yang sama digabung, vial 18-24 (BM-a26) menunjukkan Rf 0,58. Bm-a26 diuapkan pelarutnya dan didapatkan kristal flavonoid benalu mangga berbentuk serbuk amorf sebanyak 271,34 mg, kristal BM-a26 direkristalisasi dengan cara dilarutkan dengan metanol, kemudian uapkan dengan oven pada suhu 10-30°C didapatlah kristal flavonoid benalu mangga berbentuk serbuk amorf berwarna kuning sebanyak 267, 14 mg.

Kristal flavonoid (BM-a26) larutkan dalam metanol untuk selanjutnya akan

dilakukan KKt dua dimensi (Markham, 1988), menggunakan dua pengembang yaitu BAA (butanol:asam asetat:air) dan asam asetat 15%. Bahan yang digunakan adalah kertas saring. Flavonoid ditotolkan pada kertas Kkt di suatu titik kira-kira 8 cm dari tepi kertas dan 3 cm. Pengeringan bercak dibantu dengan menggunakan pengering rambut, dielusi dengan eluen pertama yaitu BAA. Campurkan butanol, asam asetat dan air, lalu kocok, kemudian didiamkan. Akan terbentuk dua lapisan, lapisan atas yang merupakan lapisan butanol, dan lapisan bawah yang merupakan lapisan air. Ambil lapisan atas (butanol), masukkan kedalam chamber kromatografi, lalu jenuhkan selama 1 jam. Setelah eluen jenuh, masukkan kertas kromatografi kedalam chamber untuk dielusi. Dibutuhkan waktu selama 5-6 jam untuk pengelusiannya, kemudian angkat, kertas hasil kromatografi hasil pertama dikeringkan dengan *hair dryer* kering, kertas dimasukkan kembali kedalam chamber dengan cara membalik kertas tersebut, pengelusi yang digunakan berisi larutan asm asetat 15% untuk dielusi kembali. Dibutuhkan waktu 1-2 jam untuk pengelusan, kertas kemudian diangkat, kemudian dikeringkan. Setelahn kertas kering, kertas kromatografi disemprot dengan penampang bercak sitroborat, kemudian lihat posisi noda pada lampu UV, hasil KKt dua dimensi diduga menunjukkan golongan flavonoid Isoflavon.

Pemeriksaan uji reaksi warna dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel yang dikerok dari KLT, larutkan dengan metanol, saring silika dan metanol, ambil metanol letakkan pada plat tetes, tambahkan NaOH, amati reaksi warna yang terjadi, kemudian ambil sampel dari plat KLT yang telah dikerok, letakkan pada plat tetes tambahkan HCL pekat tambahkan serbuk Mg amati reaksi yang terjadi. Kemudian amati reaksi warna yang terjadi, tentukan golongan flavonoid yang diisolasi, dari hasil uji reaksi warna diduga golongan flavonoid isoflavon. Senyawa hasil isolasi (200 mg) kristal flavonoid benalu mangga berupa serbuk kuning, larut dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimal pita I pada

panjang gelombang 220 dan pada pita II 450, kekuatan serapan yang rendah pada pita I menunjukkan pola oksigenisasi yang setara (Markham *et al.*, 1988). Penambahan natrium asetat (NaOAc) pada senyawa hasil isolasi menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik sebesar 11 nm (pita II) dengan kekuatan serapan yang menurun menunjukkan adanya 7-OH menunjukkan adanya OH pada atom karbon no 7, penambahan bahan pereaksi geser NaOAc+As boraks menyebabkan pergeseran batokromik 5 nm pada (pita I) dan pergeseran batokromik 21 nm (pita II) menunjukkan gugus O-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) terbentuk kompleks dengan asam. Penambahan pereaksi geser natrium metoksida (NaOMe) menyebabkan pergeseran batokromik (pita I) 15 nm dan pergeseran 45 (pita II) menunjukkan adanya gugus OH pada cincin A. Berdasarkan hasil data spektrum UV diduga golongan flavonoid isoflavon (Markham, 1988; Asih, 2009).

Pengukuran serapan senyawa hasil isolasi dengan spektrum IR menunjukkan serapan karakterisasi pada bilangan gelombang. Spektrum IR hasil isolasi memberikan informasi adanya puncak serapan gugus hidroksil pada bilangan gelombang 3289 cm^{-1} . Gugus hidroksil ini merupakan regang-OH terikat (dapat berikatan dengan hidrogen), OH terikat terlihat pada bilangan gelombang $3750\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ yang membentuk pita lebar dengan intensitas yang kuat adanya gugus hidroksil ini juga diperkuat dengan munculnya ulur -C-O- pada daerah $1271\text{-}1143\text{ cm}^{-1}$. Serapan Pita serapan $1498\text{-}1303\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ulur C-H adanya regang karbonil -C=O ditunjukkan oleh bilangan gelombang 1655 cm^{-1} . Pita serapan bilangan gelombang 1604 cm^{-1} menunjukkan adanya regang -C=C- pita serapan pada bilangan gelombang 1571 cm^{-1} mengidentifikasi bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa aromatik diperkuat dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 963 cm^{-1} mengidentifikasi adanya dua H yang bertetangga dalam cincin aromatik (Dachriyanus, 2004).

SIMPULAN

Dari isolasi senyawa flavonoid tumbuhan benalu mangga (*Dendrothoe petandra* Miq) diperoleh Kristal flavonoid berbentuk serbuk amorf sebanyak 267,14, dari hasil analisa kromatografi kertas dua dimensi, uji reaksi warna dan hasil analisa spectrum UV diduga adalah golongan isoflavon yaitu afromoksin dan tektorigenin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1999. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia ed V*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Anonim, 1996. *Laporan Pengkajian Tahun Anggaran 1996/1997, Kapsululasi ekstrak Daun Benalu di Daerah Isrimewa Yogyakarta*, Sentra P3T Propinsi D.I. Yogyakarta.
- Asih, 2009. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (Glycine max)* Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.
- Djamal, R. 2009. *Prinsip-prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Universitas Baiturahmah. Sumatra Barat.
- Dachriyanus, 2004. *Analisa Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Andalas University. Sumatra Barat.
- Harborne, J.B and T.J. 1974. *The Flavonoids*. Chapman & Hall. London.
- Harborne, J.B. 1989. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan Kedua*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Hutapea, J.R., 1999, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Jilid II, Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Ikawati M, Andy E, Navista S, Rosta A. 2008. *Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen Anti Kanker*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

- Liu Y, wang M.W. 2007. *Botanical Drugs; challenges and apporunities. Contribution to Lineaus Symposium 2007*. Life Sci. 2008.
- Lazuari M, 2007. Aktifitas antiproliferatif ekstrak kloroform benalu duku (*Loranthaceae dendrophoe. Spec*) terhadap sel kanker. *Jurnal Ofmalogi Indonesia*.
- Markham, K.R. 1988. *Tecniques Of Flavonoid Identification* (Cara Identifikasi Flavonoid), Diterjemahkan oleh Padmawinata. Edisi II. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Mainnah, M. 2010. *Kuersertin Senyawa Flavonoid dari Tumbuhan Benalu Teh (Scurulla atropurple BL.Dans)* Skripsi Sajana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Pitoyo, S. 1996. *Mistletoe Holticulture, Control and Utilisation* Trubus Agriwijaya.
- Ruggiero, R.J.,D. Pharm,dan e.l frances.2002.*Journal Of Midwefery Woment's Healty*. Estrogen : Physiologi. Pharmacology, and Formulation For Reflancemen Therapy.
- Roostantia. I, Bazardi. M, Ratna. M, 2000. *Perbandingan daya hambat pertumbuhan sel mirelena antara maserasi benalu duku dan benalu teh*.
- Sari, 2008. *Skrining, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antimikroba Dari Daun Tumbuhan Sidaguri*. Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat.
- Sri R., Ai E.S., dan Diana N.P. 2010. Program Kreativitas Mahasiswa. *Teh Celup Benalu Mangga (Dendrophthoe petandra): Minuman Sehat Penunjang Terapi Kanker*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.