

ISOLASI FLAVONOID DAN UJI BIO AKTIVITAS DARI TERUNG PIRUS (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn)

Ellizar & Yustini Maaruf ^{*)}

ABSTRACT

*This research was a flavonoid isolation to determine the characteristics and the bioactivities of the *Cyphomandra betacea* (Cav) Sendtn. Flavonoid was known as a compound which contribute to physiological and pharmacological values to human. The compound was found in angiospermae, gymnospermae, and pteridopita. The flavonoid was also presumed can be used as a dyer and to protect human as medicines. The method of isolation by using maceration with methanol, then was fractionated by using n-hexane and ethyl acetate. Ethyl acetate fraction seperated column chromatography by silica-gel 60, treated n-hexane: ethyl acetate and ethyl acetate: methanol as eluen. The purity of fraction was identified by KLT and the melting point. Pure flavonoid (58.1 mg) as white yellow needle crystal obtained has the interval range melting point as much 168. 4 to 169.9⁰C. The bioactivity test of the flavonoid shows that the flavonoid function as antibacteria, but not function as antifungy. The flavonoid was assumed as O-glycoside flavon with OH at C-5, C-3', C-4' and prenil at C-6.*

Key words: flavonoid, dye, isolation, bioactivity & antibakteria

^{*)} Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang, e-mail :

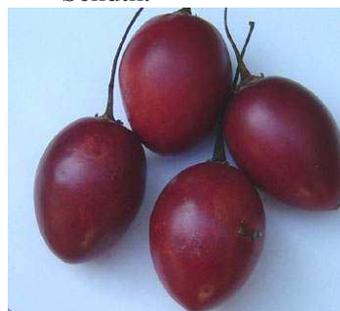
PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan salah satu senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder yang banyak terdapat di alam. Senyawa-senyawa ini berfungsi sebagai zat warna merah, ungu, biru dan sebagian warna kuning dalam tumbuhan. Flavonoid ini umumnya terdapat pada semua organ tumbuhan (terutama tumbuhan tinggi) pada akar, kulit, batang, daun, buah dan biji (Achmad, 1986). Selain sebagai zat warna, pada manusia flavonoid juga mempunyai bioktifitas yang beragam seperti antihipertensi, antialergi, antikanker, antiviral, antitumor, antidiabetes, diuretik dan sebagainya (Bakhtiar, 1992). Flavonoid yang berfungsi sebagai antikanker contohnya kaemferol, galangin, dan quercetin, sedangkan untuk antiviral contohnya rubinetin (Farkas, 2004).

Terung pirus (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.) atau yang dikenal juga dengan terung belanda bukanlah tanaman asli Indonesia melainkan berasal dari Peru. Berdasarkan data dari Herbarium Universitas Andalas (ANDA) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sub Class : Asteridae

Ordo : Solanales
Family : Solanaceae
Genus : *Cyphomandra*
Spesies : *Cyphomandra betacea* (Cav.)
Sendtn.



Gambar 1. Buah Terung Pirus

Pada survey Etnobotani di daerah Solok Sumatera Barat, buah terung pirus Senyawa flavonoid (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn) digunakan masyarakat sebagai obat tekanan darah tinggi dan obat penambah darah. Hasil uji pendahuluan terhadap terung pirus (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn) ini ternyata positif mengandung flavonoid, steroid dan saponin.

Senyawa Flavonoid dengan kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon dalam intinya, tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆,

yaitu dua cincin benzena dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Untuk memudahkan dalam mengenali senyawa flavonoid ini maka diberi tanda A, B, dan C untuk cincin, dan atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C dan angka beraksen untuk cincin B (Markham, 1988). Menurut Achmad (1986), istilah flavonoid yang diberikan untuk senyawa-senyawa fenol ini berasal dari kata flavon. Senyawa – senyawa flavon ini mempunyai kerangka 2-fenilkroman, dimana posisi orto dari cincin A dan atom karbon yang terikat pada cincin B flavonoid dihubungkan oleh jembatan oksigen, sehingga terbentuk heterosiklik yang baru (cincin C).

Sebagian besar flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan dalam bentuk campuran jarang sekali dijumpai berupa senyawa tunggal dimana flavonoid ini sering ditemukan bersamaan dengan antosianin yang merupakan pigmen berwarna yang umum terdapat pada bunga berwarna ungu, merah, dan biru. (Salisbury, 1995).

Senyawa antibakteri adalah bahan yang dapat membunuh atau menghambat aktivitas mikroorganisme terutama yang dapat merugikan manusia. Bahan yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme disebut bakterisida. Bakterisida mampu mengaktifasi fungsi sel yang penting seperti protein. Sel yang dikooagulasi dengan cara pemanasan atau penisilin dapat menyebabkan sintesa dinding dihambat sehingga pertumbuhan sel terhenti (Muslimin, 1996).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk mengisolasi dan melakukan uji bio aktivitas senyawa flavonoid dari buah terung pirus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur serta sifat senyawa yang diperoleh. Dengan diketahuinya struktur dan sifat senyawa yang diperoleh dapat dijadikan acuan bagi produsen obat-obatan dalam menentukan senyawa yang akan diisolasi dalam skala besar untuk keperluan industri.

METODE PENELITIAN

Metoda yang digunakan untuk mengisolasi flavonoid dari buah terung pirus (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.) adalah metoda maserasi, fraksinasi, dan dilanjutkan dengan

kromatografi kolom. Karakterisasi senyawa dengan reaksi warna, kromatografi kertas dua arah, hidrolisis asam, spektrofotometer Infra Merah, dan spektrofotometer UV-Vis dengan beberapa pereaksi geser. Uji bioaktivitas yang dilakukan adalah anti jamur dengan metoda penipisan lempeng agar dan anti bakteri dengan metoda pengenceran tabung. Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia FMIPA UNP pada bulan September sampai Desember 2006.

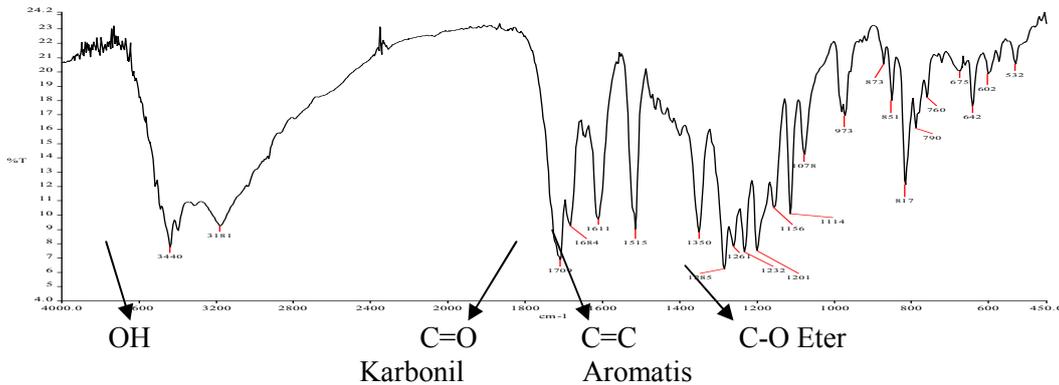
Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah buah terung pirus (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.) segar yang diambil di daerah Aia Dingin, Alahan Panjang, Kecamatan Lembah Gumanti, Kabupaten Solok, Sumatera Barat.

Tahap penelitian meliputi

- a. **Ekstraksi.** Tahap pertama dari penelitian adalah melakukan ekstraksi dengan metanol, ditambahkan air panas suhu 50 °C sehingga didapat ekstrak berair
- b. **Fraksinasi.** Ekstrak berair difraksinasi dengan n-heksana. Fraksi berair yang mengandung flavonoid difraksinasi dengan etil asetat, sehingga diperoleh fraksi pelarutnya etil asetat dan fraksi berair. Fraksi etilasetat diuapkan pelatutnya diperoleh ekstrak kental
- c. **Pemisahan Fraksi Etil Asetat.** Fraksi etil asetat dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen n-heksana, n-heksana:etil asetat dan etil asetat:metanol. Proses pemisahan komponen selanjutnya dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dan sebagai adsorben digunakan silika gel 60 (70-230 mesh) dan eluen n-heksana : etil asetat dan dilanjutkan dengan eluen etil asetat : metanol secara gradien.
- d. **Pemurnian** senyawa hasil isolasi dilakukan dengan pencucian dengan pelarut n-heksana, n-heksana:etil asetat dan etil asetat.
- e. **Uji Kemurnian** dilakukan dengan
 1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
 2. Penentuan Titik Leleh
- f. **Karakterisasi** Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi yang dilakukan meliputi pemeriksaan kimia dengan pereaksi warna, kromatografi kertas dua arah, hidrolisis asam, spektroskopi IR dan UV-Vis.

1. Reaksi Warna dilakukan dengan menggunakan Spektrum Inframerah Flavonoid Hasil Isolasi



Gambar 2. Spektra Inframerah Flavonoid Hasil Isolasi

gunakan larutan NaOH 10%, H₂SO₄ pekat, dan Mg-HCl. Reaksi akan memberikan warna yang spesifik tergantung dari jenis flavonoidnya.

- Kromatografi Kertas Dua Arah (KKt-2A)** dilakukan dengan waktu pengembangan lebih kurang 4 jam. dan 2 jam untuk pengembang ke dua.
- Hidrolisis Asam** menggunakan HCl 2N : MeOH (1:1).
- Spektroskopi Inframerah** dilakukan dengan membuat tablet atau cakram tipis dari serbuk yang mengandung kira-kira 1 mg sampel dan 10 mg KBr dan diaduk sampai homogen kemudian ditekan dengan keras sehingga terbentuk pelet tipis, lalu diukur dengan alat. Dari pengukuran tersebut akan didapatkan puncak serapan yang spesifik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 6 kg buah terung pirus (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn) diperoleh flavonoid murni berbentuk kristal jarum berwarna kuning muda sebanyak 58,1 mg dengan titik leleh 168,4 – 169,9 °C. Uji kemurnian dilakukan dengan KLT menggunakan beberapa eluen dan diperoleh noda tunggal dengan R_f seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil KLT Flavonoid Hasil Isolasi

| No | Eluen | Jumlah Noda | Harga R _f |
|----|-----------------------------|-------------|----------------------|
| 1. | n-heksana:etil asetat (3:7) | 1 | 0,025 |
| 2. | n-heksana:etil asetat (1:9) | 1 | 0,10 |
| 3. | Etil asetat (10) | 1 | 0,225 |
| 4. | etil asetat: metanol (9:1) | 1 | 0,275 |
| 5. | etil asetat: metanol (8:2) | 1 | 0,575 |

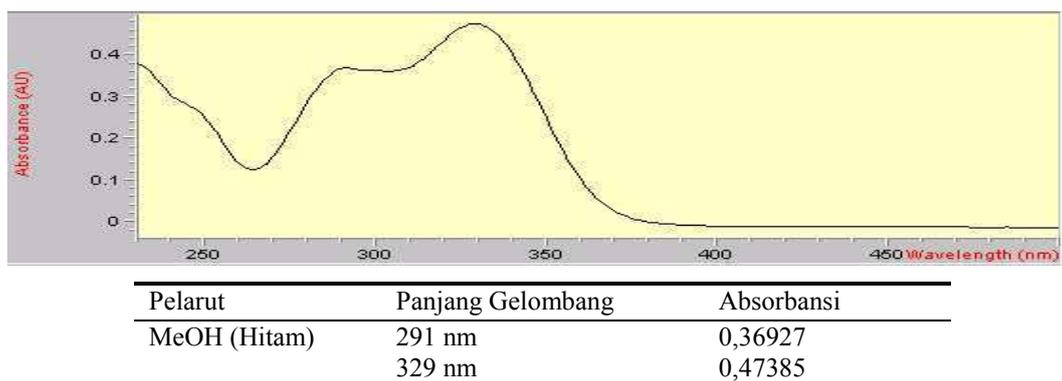
6. etil asetat:metanol (7:3) 1 0,425

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang diperoleh telah murni karena menghasilkan satu noda.

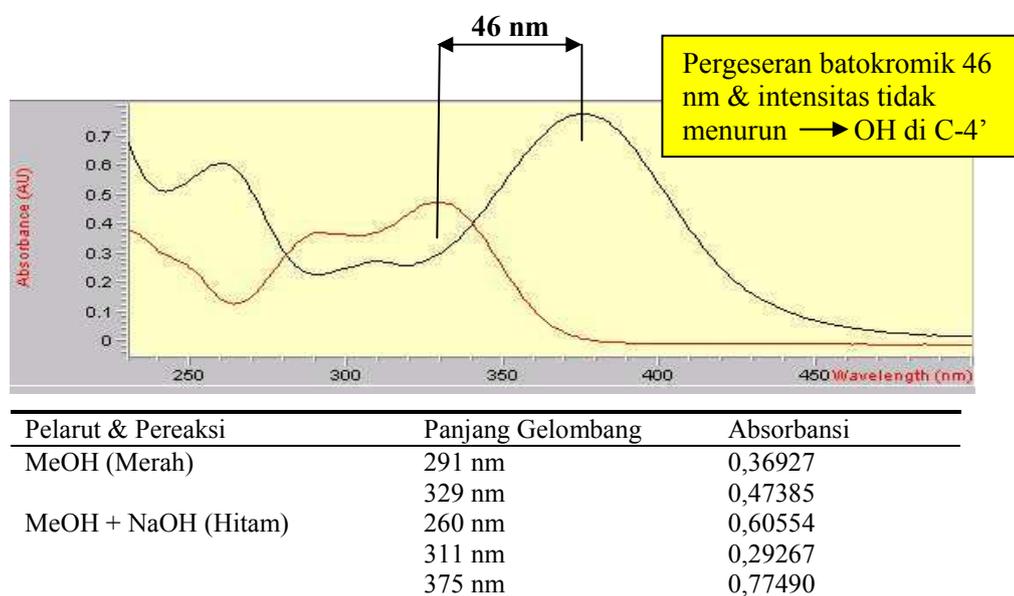
Karakterisasi senyawa flavonoid hasil isolasi dengan reaksi warna memberikan warna kuning dengan NaOH 10 %, warna kuning dengan H₂SO₄ pekat dan warna kuning dengan Mg-HCl. Dari data ini jika dibandingkan dengan data menurut Finar (1968) maka flavonoid hasil isolasi termasuk golongan flavon. Selanjutnya dengan kromatografi KKt-2A memperlihatkan noda tunggal berwarna lembayung dengan sinar UV tanpa NH₃ dan setelah diuapi dengan uap amoniak berubah menjadi warna kuning. Noda terletak pada kromatogram bagian kiri dengan R_f 0,73 dengan BAA dan 0,41 dengan eluen asam asetat 15 % R_f sebelum dihidrolisis 0,55. setelah dihidrolisis R_f = 0,30 Dari hasil pengukuran spektrum Inframerah senyawa flavonoid hasil isolasi (lampiran 8 hal 39). memberikan serapan pada daerah bilangan gelombang 3440 cm⁻¹, 1709 cm⁻¹, 1611 cm⁻¹, dan 1285 cm⁻¹.

Spektroskopi Ultraviolet

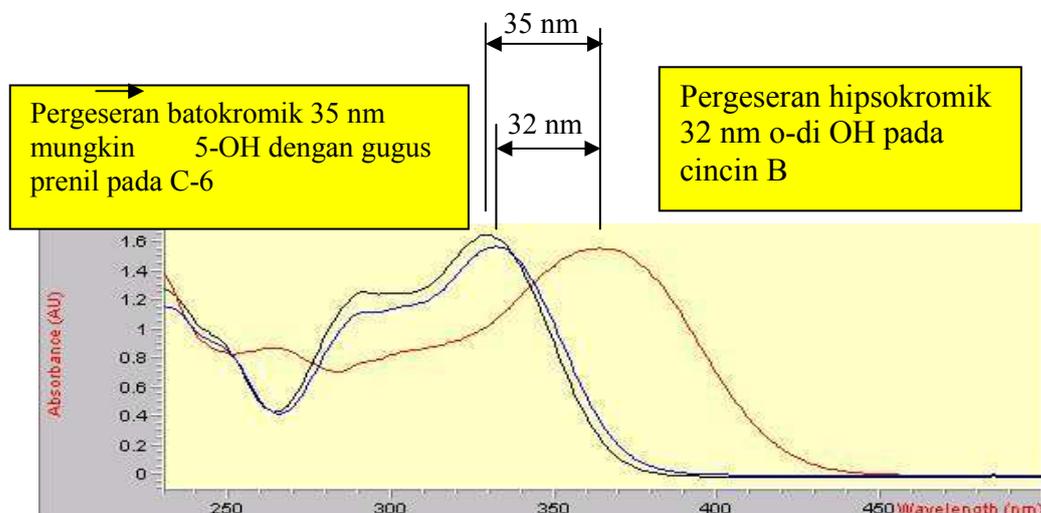
Sedikit flavonoid hasil isolasi dilarutkan dengan metanol p.a kemudian direkam dengan spektrofotometer UV-Vis secoman S.1000 yang lebih dahulu telah distandarasi dengan metanol p.a. Spektrum selanjutnya direkam dengan penambahan pereaksi geser (NaOMe, AlCl₃, AlCl₃/HCl, NaOAc, dan NaOAc/H₃BO₃). Kemudian spektrum diukur pada panjang gelombang 200-400 nm (Markham, 1988). Hasil yang diperoleh adalah :



Gambar 3. Spektrum UV-VIS Flavonoid Hasil Isolasi dengan Pelarut MeOH

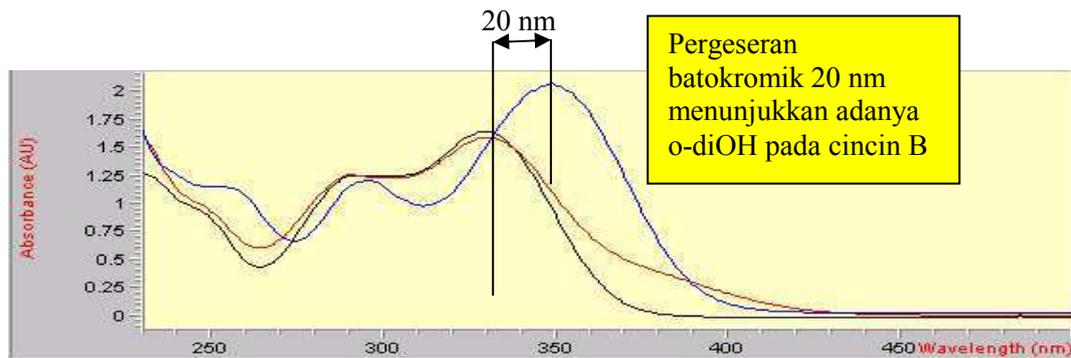


Gambar 4. Spektrum UV-VIS Flavonoid Hasil Isolasi dengan Penambahan Pereaksi Geser NaOH



| Pelarut & Pereaksi | Panjang Gelombang | Absorbansi |
|---------------------------------------|-------------------|------------|
| MeOH (Hitam) | 291 nm | 1,24980 |
| | 329 nm | 1,24980 |
| MeOH + AlCl ₃ (Merah) | 264 nm | 0,86973 |
| | 364 nm | 1,55140 |
| MeOH + AlCl ₃ + HCl (Biru) | 291 nm | 1,11060 |
| | 332 nm | 1,56530 |

Gambar 5. Spektrum UV-VIS Flavonoid Hasil Isolasi dengan Penambahan Pereaksi Geser AlCl₃ + HCl



| Pelarut & Pereaksi | Panjang Gelombang | Absorbansi |
|--|-------------------|------------|
| MeOH (Hitam) | 291 nm | 1,24980 |
| | 329 nm | 1,24980 |
| MeOH + NaOAc (Merah) | 291 nm | 1,25490 |
| | 331 nm | 1,58710 |
| MeOH + NaOAc/H ₃ BO ₃ (Biru) | 255 nm | 1,114000 |
| | 295 nm | 1,19860 |
| | 349 nm | 2,07160 |

Gambar 6. Spektrum UV-VIS Flavonoid Hasil Isolasi dengan Penambahan Pereaksi Geser NaOAc + H₃BO₃

Uji Bioaktivitas Senyawa Hasil Isolasi yang dilakukan adalah :

1. Uji Anti Bakteri
2. Uji anti jamur

Selanjutnya dengan kromatografi Kkt-2A memperlihatkan noda tunggal berwarna lembayung dengan sinar UV tanpa NH₃ dan setelah diuapi dengan uap amoniak berubah menjadi warna kuning. Noda terletak pada kromatogram bagian kiri dengan R_f 0,73 dengan BAA dan 0,41 dengan eluen asam asetat 15 % R_f sebelum dihidrolisis 0,55. setelah dihidrolisis R_f = 0,30 Dari hasil pengukuran spektrum Inframerah senyawa flavonoid hasil isolasi memberikan serapan pada daerah bilangan gelombang 3440 cm⁻¹, 1709 cm⁻¹, 1611 cm⁻¹, dan 1285 cm⁻¹. Spektrum UV-Vis flavonoid hasil isolasi dalam pelarut metanol memberikan serapan pada panjang gelombang

291 nm (pita II) dan 329 nm (pita I). Penambahan pereaksi geser NaOH memberikan serapan pada panjang gelombang 260 nm, 311 nm dan 364 nm. Pereaksi geser AlCl₃ memberikan serapan pada panjang gelombang 264 nm (pita II) dan 364 nm (pita I). Selajutnya penambahan AlCl₃/HCl memberikan serapan pada panjang gelombang 291 nm (pita II) dan 332 nm (pita I) Penambahan pereaksi geser NaOAc memberikan serapan pada panjang gelombang 291 nm (pita II) dan 331 nm (pita I). Penambahan pereaksi geser NaOAc/ H₃BO₃ memberikan serapan pada panjang gelombang 295 nm (pita II) dan 349 nm (pita I) Hasil uji bioaktivitas anti jamur dan anti bakteri ternyata senyawa hasil isolasi bersifat anti bakteri dan tidak sebagai anti jamur.

Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dengan KLT dengan menggunakan beberapa eluen diperoleh noda tunggal. jarak titik leleh yang

kecil dari 2 °C yaitu 1,5 °C. Dari kedua data ini membuktikan bahwa senyawa flavonoid tersebut telah murni. Berdasarkan hasil KKt-2A diduga senyawa ini adalah flavon C- dan C/O Glikosida (Markham, 1988). Data ini juga didukung oleh hasil pengujian dengan pereaksi warna, dimana flavonoid hasil isolasi memberikan warna kuning dengan pereaksi NaOH 10 %, warna kuning dengan pereaksi H₂SO₄ pekat dan warna kuning dengan pereaksi Mg-HCl yang menyatakan flavonoid ini termasuk golongan flavon. (Finar, 1968). Setelah dilakukan hidrolisis dengan asam, senyawa flavonoid hasil isolasi termasuk O-glikosida yang ditandai dengan R_f nya lebih kecil jika dibandingkan dengan R_f sebelum dihidrolisis dengan asam

Dari hasil pengukuran spektrum inframerah senyawa flavonoid hasil isolasi memiliki gugus fungsi OH pada serapan 3440 cm⁻¹. Hal ini didukung oleh adanya serapan pada daerah 1285 cm⁻¹ yang menunjukkan vibrasi ulur C-O alkohol dan juga menunjukkan vibrasi ulur C-O eter. Selain itu juga terdapat gugus fungsi C=O karbonil yang terkonjugasi ikatan rangkap yang memberikan serapan pada daerah 1709 cm⁻¹. Serapan pada daerah 1611 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=C aromatis.

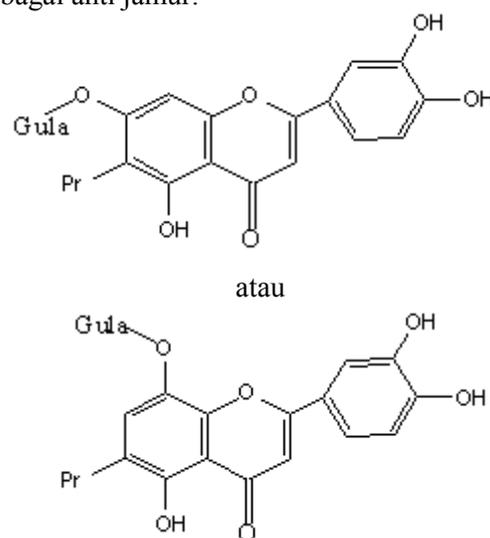
Data spektrum UV-Vis dengan metanol memperlihatkan adanya serapan pada panjang gelombang 291 nm (pita II) dan 329 nm (pita I) Pada pita I terdapat puncak yang tajam yang berada dalam rentangan flavon (310 -350 nm). Selain serapan yang dihasilkan dengan MeOH data yang mendukung senyawa ini termasuk golongan flavon adalah dari pereaksi warna untuk identifikasi flavonoid dan juga dari hasil pada KKt-2A. Penambahan pereaksi geser NaOH menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik 46 nm pada pita I yaitu dari 329 nm ke 375 nm, diiringi dengan naiknya intensitas serapan. Hal ini merupakan karakteristik OH pada C-4' (Markham, 1988). Penambahan pereaksi geser AlCl₃ memberikan serapan pada panjang gelombang 264 nm (pita II) dan 364 nm (pita I), menyebabkan pergeseran batokromik sebesar 35 nm terhadap spektrum metanol pada pita I yaitu 329 nm ke 364 nm. Setelah penambahan HCl terjadi pergeseran hipsokromik sebesar 32 nm terhadap spektrum AlCl₃ pada pita I yaitu 364 nm ke 332 nm, hal ini menunjukkan kemungkinan adanya OH pada C-5 dengan gugus prenil pada C-6 dan o-diOH pada cincin B (3',4'-diOH).

Penambahan pereaksi geser NaOAc mem-

berikan serapan pada panjang gelombang 291 nm (pita II) dan 330 nm (pita I). Tidak ada pergeseran yang berarti pada kedua pita terhadap spektrum metanol, hal ini mempertegas tidak adanya OH pada C-7. penambahan H₃BO₃ memberikan serapan pada panjang gelombang 295 nm (pita II) dan 349 nm (pita I), terjadi pergeseran batokromik 20 nm terhadap spektrum metanol pada pita I yaitu dari 329 nm ke 349 nm. Hal ini memperkuat adanya o-diOH pada cincin B (Markham, 1988).

Berdasarkan data di atas, flavonoid hasil isolasi diduga suatu flavon-O-Glikosida dengan gugus OH pada C-5, C-3', C-4', dan gugus prenil (Pr) pada C-6.

Uji bioaktifitas terung pirus terhadap anti jamur dan anti bakteri diperoleh terung pirus ini steril pada uji bakteri, ini menunjukkan kalau kristal flavonoid hasil isolasi dari terung pirus bisa bersifat sebagai anti bakteri. Sedangkan pada uji jamur diperoleh 10⁴/cc. Ini menunjukkan kalau kristal hasil isolasi tidak berfungsi sebagai anti jamur.



Gambar 7. Dugaan Struktur Flavonoid Hasil Isolasi

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Dari 6 kg buah terung pirus (*Cyphomandara betacea* (Cav.) Sendtn) diperoleh flavonoid murni dari fraksi etil asetat berbentuk kristal berwarna kuning sebanyak 58,1mg dan persentase hasil dari berat sampel segar 0.00105 % dengan range titik leleh 168,4 – 169,9 °C.
2. Dari pemeriksaan reaksi warna, data KKt-

2A, hidrolisis asam, spektrum IR dan UV-Vis maka flavonoid hasil isolasi termasuk golongan flavon-O-Glikosida yang mengandung OH pada C-5, C-3', C-4', dan gugus prenil pada C-6.

3. Dari uji bioaktivitas yang telah dilakukan diperoleh flavonoid hasil isolasi bersifat sebagai anti bakteri.

Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan struktur lengkap senyawa flavonoid dari buah terung pirus (*Cyphomandra betacea* (Cav.) sendtn) ini dengan spektroskopi ¹H-RMI, spektroskopi ¹³C-RMI dan spektroskopi massa, serta melakukan uji bioaktifitas lainnya.

DAFTAR RUJUKAN

- Achmad, S.A (1986). **Kimia Organik Bahan Alam**. Universitas Terbuka. Jakarta.
- Arbain, D. dan Tamin, R. (1995). **Survey Fitokimia, Salah Satu Cara Pendekatan**. Proyek HEDS USAID. Universitas Andalas. Padang
- Bakhtiar,A. (1992). **Diktat Kuliah Flavonoid**. Universitas Andalas. Padang
- Depkes, RI. (1991). **Petunjuk Pemeriksaan Mikrobiologi Makanan dan Minuman**. Jakarta
- Farkas,Orsalyo.dkk.(2004). *Antioxidant Activity Relationships of Flavonoid Coumpound*. **Journal Quantitative Structure-**. Chemical research center. Hungary
- Finar, I.L. (1968). **Organic chemistry: Stereochemistry and Natural Product**. Volume Two Fifth Edition. TheEnglish Languuage Society and Longman Group Limited. London
- Markham, K.R.(1988). **Cara mengidentifikasi Flavanoid**. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung
- Muslimin, Lucia. (1996). **Mikrobiologi Lingkungan**, Pembinaan Penelitian dan Pengabdian. Jakarta
- Salisbury, Frank B. (1995). **Fisiologi tumbuhan**. ITB. Bandung