

ISOLASI DAN KARAKTERISASI FLAVONOID ANTIOKSIDAN DARI HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.)

Harrizul Rivai¹, Diyah Permata Sari², dan Zet Rizal²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Andalas (UNAND), Padang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM), Padang

ABSTRACT

The isolation of flavonoid substance from Meniran has been performed. Of 100 grams of Meniran's dried powder, 4.286 grams (4.286%) of thick extract, 1.76 grams of n-hexane fraction, 1.91 grams of CHCl₃ fraction, 1.8 grams of ethyl acetate fraction, 2.12 grams of butanol fraction and 24.86 grams of residual fraction has been derived. After preparative chromatography, which is to isolate flavonoid, had been performed, it acquired four blotches which were marked as A,B,C and D. And afterwards it was evaporated which resulted 26.9 mg of flavonoid A, 30.4 mg of flavonoid B, 34.6 mg of flavonoid C and 35.4 mg of flavonoid D. Characterization was focused on flavonoid C as it has the highest antioxidant activities which was recognized from its high inhibition percentage which was attained following a DPPH test. flavonoid C is amorf, yellow coloured, and dissipated at 161.8° – 163.2° C. Based on UV spectrum with slide reactor and infrared spectrum, it was assumed that flavonoid C is an aglicone isoflavone which has an –OH on the 5th position and an *o*-diOH in ring A (6.7 or 7.8).

Keywords : *preparative chromatography, flavonoid, Phyllanthus niruri* L.

PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting untuk kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit seperti kanker, diabetes, hiperurisemia, aterosklerosis, dan penyakit jantung koroner. Penyakit ini dikenal juga sebagai penyakit degeneratif (Tuminah, 1999; Amrun & Umiyah, 2005).

Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan seperti superoksida (O₂[•]), peroksil (ROO[•]), hidroksil (OH[•]) dan alkoksil (RO[•]). Radikal bebas merupakan hasil sampingan dari berbagai proses kimia kompleks di dalam sel-sel tubuh (Winarsi, 2007). Berbagai kebiasaan seperti merokok, konsumsi alkohol, paparan sinar matahari, dan polusi udara dapat menyebabkan produksi radikal bebas meningkat. Untuk mengatasi hal tersebut dibutuhkan suplai antioksidan dari luar tubuh. Beberapa antioksidan dihasilkan oleh tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, β -karoten, golongan fenol terutama flavonoid yang

diketahui berpotensi mengurangi resiko penyakit degeneratif (Trilaksani, 2003 ; Mosquera, *et al.*, 2007).

Pencarian sumber antioksidan lebih diarahkan pada antioksidan alami khususnya yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Antioksidan alami mempunyai tingkat keamanan yang lebih baik. Flavonoid merupakan salah satu antioksidan yang banyak tersebar luas di dalam tumbuh-tumbuhan (Winarsi, 2007). Salah satu tanaman liar yang khasiatnya luar biasa adalah meniran (*Phyllanthus niruri* L.).

Secara klinis, ekstrak meniran telah terbukti bersifat imunostimulan atau merangsang daya tahan tubuh seseorang, sehingga kebal terhadap serangan penyakit. Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) atau yang dikenal juga dengan nama sidukung anak adalah salah satu jenis tumbuhan obat Indonesia yang telah digunakan secara turun temurun untuk pengobatan berbagai jenis penyakit seperti diare, malaria, sariawan, sebagai diuretik, hepatoprotektor dan imunostimulator. Khasiat meniran yang beragam ini berkaitan erat dengan zat atau senyawa

yang dikandungnya yaitu lignan, terpen, steroid, alkaloid, tanin, vitamin K, dan flavonoid. Kandungan flavonoid yang terdapat pada meniran menunjukkan aktivitas antioksidan antara lain dalam sistem proteksi hati dan peningkat sistem imun (Kardinan & Kusuma, 2004).

Untuk pengawasan mutu ekstrak herba meniran diperlukan senyawa penanda yang mempunyai aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dicoba mengkarakterisasi senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan, sehingga dapat dipakai sebagai senyawa penanda.

METODE PENELITIAN

Alat

Seperangkat alat rotary evaporator, seperangkat alat destilasi, desikator, timbangan analitik (Denver Instrument®), oven (Gallen Kamp®), corong pisah, waterbath, chamber, lampu UV, seperangkat alat spektrofotometer UV 1700 (Shimadzu®), kertas Whatman, spektrofotometer IR Perkin Elmer 735, Fisher Jhon Melting Point Apparatus.

Bahan

Herba Meniran, aquadest, metanol (Brataco®), n-heksan (Brataco®), kloroform (Brataco®), etil asetat (Brataco®), butanol (Brataco®), amoniak (Merck®), asam asetat (Brataco®), serbuk magnesium/Mg (Merck®), asam klorida pekat/HCl_p (Merck®), besi klorida/FeCl₃ (Merck®), dipenilpikril hidrazil/DPPH (sigma®), asam borat/H₃BO₃ (Merck®), natrium metoksida/NaOMe (Merck®), aluminium klorida/AlCl₃ (Merck®), natrium asetat/NaOAc (Merck®).

Prosedur Kerja

1. Pengambilan sampel

Sampel herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diambil sebanyak 2,5 kg di daerah Kelurahan Ujung Gurun, Kecamatan Padang Barat, Sumatera Barat. Sampel yang digunakan adalah herba segar, kemudian sampel dicuci dengan air bersih, tiriskan dan kering anginkan pada suhu kamar 20-30° C, kemudian diblender dan saring sehingga didapat serbuk halus.

2. Determinasi Meniran

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dideterminasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.

3. Susut pengeringan

Sepuluh gram serbuk simplisia kering dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105° C dalam krus selama 1 jam dan ditimbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%.

4. Ekstraksi dan fraksinasi

Serbuk herba Meniran kering ditimbang 100 gram, lalu dimaserasi dengan metanol : air (9 : 1) sebanyak 400 mL dan didiamkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk, saring dengan kertas saring Whatman No. 1 (filtrat 1).

Sisa ampas dimaserasi kembali dengan metanol : air (1 : 1) sebanyak 400 mL dan didiamkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk, saring dengan kertas saring Whatman No. 1 (filtrat 2). Filtrat 1 dan 2 digabung kemudian diuapkan dengan rotary evaporator sampai terbentuk ekstrak kental.

Ekstrak kental sebanyak 100 mL difraksinasi dalam corong pisah dengan n-heksan sebanyak 3x pengulangan (3x100

mL), kocok kuat sehingga terbentuk 2 lapis cairan yaitu fraksi heksan di bagian atas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi heksan yang didapat kemudian diuapkan sampai kering. Fraksi air difraksinasi kembali dalam corong pisah dengan kloroform sebanyak 3x pengulangan (3x100 mL), kocok kuat sehingga terbentuk 2 lapis cairan yaitu fraksi kloroform pada bagian bawah dan fraksi air pada bagian atas. Fraksi kloroform yang didapat kemudian diuapkan sampai kering. Fraksi air difraksinasi kembali dalam corong pisah dengan etil asetat sebanyak 3x pengulangan (3x100 mL), kocok kuat sehingga terbentuk 2 lapis cairan yaitu fraksi etil asetat pada bagian atas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi etil asetat yang didapat kemudian diuapkan sampai kering. Fraksi air difraksinasi kembali dalam corong pisah dengan butanol (3x100 mL), kocok kuat sehingga terbentuk 2 lapis cairan yaitu fraksi butanol pada bagian atas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi butanol dan fraksi air (fraksi sisa) diuapkan sampai kering. Kemudian larutkan semua fraksi dengan metanol \pm 5 mL.

5. Penentuan daya antioksidan dengan metoda DPPH

a. Pembuatan pereaksi DPPH (Dipenilpikril Hidrazil)

Ditimbang DPPH sebanyak 10 mg, larutkan dalam 100 mL metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas. Dipipet 35 mL dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 35 μ g/mL.

b. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Dipipet sebanyak 4 mL larutan DPPH 35 μ g/mL yang dibuat, masukkan dalam vial dan tambahkan 2 mL metanol : air (1 : 1), lalu diamkan selama 30 menit di tempat

gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

c. Pemeriksaan aktivitas antioksidan

Fraksi heksan, kloroform, etil asetat, butanol, dan fraksi air yang telah diuapkan ditimbang sebanyak 10 mg masing-masingnya dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 10 mL sehingga didapat larutan induk dengan konsentrasi 1 mg/mL. Dari larutan induk ini kemudian diencerkan dengan konsentrasi 0.5 mg/mL; 0.25 mg/mL; 0.125 mg/mL dan 0.0625mg/mL. Dengan cara pipet 5 mL dari larutan induk kemudian masukkan ke dalam vial dengan konsentrasi 0,5 mg/mL dan tambahkan metanol sebanyak 5 mL, kemudian pipet lagi dari konsentrasi 0,5 mg/mL masukkan ke dalam vial dengan konsentrasi 0,25 mg/mL sebanyak 5 mL dan tambahkan metanol sebanyak 5 mL. Dari vial konsentrasi 0,25 mg/mL pipet lagi sebanyak 5 mL masukkan ke dalam vial dengan konsentrasi 0,125 mg/mL dan tambahkan metanol sebanyak 5 mL. Dari vial konsentrasi 0,125 mg/mL pipet lagi sebanyak 5 mL masukkan ke dalam vial dengan konsentrasi 0,0625 mg/mL. Setelah semua pengenceran selesai, pipet sebanyak 2 mL masukkan ke dalam vial lain lalu tambahkan 4 mL larutan induk DPPH (35 μ g/mL) yang telah diencerkan sebelumnya. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Sebagai kontrol, digunakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan 2 mL larutan metanol : air (1 : 1), tambahkan 4 mL larutan induk DPPH (35 μ g/mL). Ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kemudian hitung % inhibisi dari masing-masing larutan, dengan cara:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100 \%$$

Abs. kontrol = serapan DPPH (35 µg/mL) pada panjang gelombang 519 nm.

Abs. sampel = serapan DPPH (35 µg/mL) pada panjang gelombang 519 nm dengan penambahan sampel.

6. Isolasi dan pemurnian

Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan masing-masing fraksi menunjukkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terbesar. Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan kromatografi kertas (Kkt) dua arah, sebagai fasa diam dipakai kertas Whatman 3 mm, sedangkan fasa gerak pertama digunakan larutan BAA (butanol : asam asetat : air) (4 : 1 : 5) dan fasa gerak kedua larutan asam asetat 15%. Dengan cara menotolkan fraksi etil asetat pada kertas Whatman dengan ukuran 20 x 20 cm lalu dimasukkan dalam chamber yang berisi larutan fasa gerak pertama, setelah itu baru larutan fasa gerak kedua. Sebagai pembanding digunakan quersetin dengan cara ditotolkan pada kertas kromatografi berukuran 20 x 3 cm. quersetin ditotolkan sejajar dengan fraksi etil asetat.

Proses kromatografi preparatif dengan menggunakan kertas Whatman ukuran 22 x 32 cm dan eluen yang digunakan berupa asam asetat 25%. Fraksi etil asetat ditotolkan pada kertas kromatografi 3-5 kali membentuk pita panjang, kemudian masukkan dalam chamber yang berisi eluen asam asetat 25%. Lalu lihat pita-pita di bawah lampu UV 254 nm, jika pita tidak terlihat lewatkan kertas di atas amoniak. Setelah didapat banyak pita, gunting kecil-kecil dan maserasi dengan metanol, kelompokkan masing-masing pita sesuai dengan kelompoknya (misal: pita A, B). Setelah dibiarkan 1 x 24 jam, sambil kadang-kadang dikocok kemudian disaring. Lakukan sebanyak 3 x

pengulangan, lalu ekstrak digabung dan diuapkan sampai kering dengan *rotary evaporator*. Dari proses pengeringan ini akan diperoleh flavonoid murni.

7. Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kimia, penentuan titik leleh, pemeriksaan kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer inframerah.

1. Pemeriksaan organoleptis

Pemeriksaan ini meliputi bentuk, warna dan bau senyawa hasil isolasi. Pemeriksaan ini berguna untuk karakterisasi awal senyawa hasil isolasi.

2. Pemeriksaan kimia

Pemeriksaan ini dilakukan dengan mereaksikan senyawa hasil isolasi dengan pereaksi kimia tertentu yang menunjukkan golongan senyawa kimia utama seperti FeCl₃, NH₄OH, HCl/Mg dan sitroborat untuk mendeteksi flavonoid.

3. Pemeriksaan titik leleh

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat pengukur titik leleh *Fischer Johns Melting Point Apparatus*. Beberapa butir senyawa diletakkan di antara dua kaca objek, kemudian diletakkan di bawah pemanas kaca pembesar dan diatur kenaikan suhunya. Amati perubahan fisik senyawa dan catat suhu awal terurai sampai terurai sempurna, sehingga diperoleh jarak lebur senyawa tersebut. Senyawa yang murni biasanya mempunyai jarak leleh yang tajam dengan selisih 1° sampai 2° C.

4. Pemeriksaan KKt dan pemeriksaan kemurnian.

Pemeriksaan KKt dilakukan untuk menunjukkan kemurnian dan penentuan R_f dari senyawa hasil isolasi dengan fasa gerak yang sesuai. Sebagai penampak noda

digunakan lampu UV 254 nm. Noda dinyatakan murni bila terdapat satu noda. Noda yang terlihat dibawah lampu UV ditentukan Rf-nya. Untuk senyawa yang tidak memiliki gugus kromofor (tidak terlihat dibawah bawah lampu UV), pemeriksaan kemurnian dilakukan dengan menggunakan penampak noda seperti sitroborax atau amoniak.

5. Penentuan spektrum ultraviolet

Pemeriksaan spektrum UV dilakukan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Senyawa hasil isolasi dilarutkan dalam metanol kemudian diukur serapannya. Pemeriksaan pereaksi geser dilakukan dengan penambahan sepuluh mg NaOMe untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil bebas pada atom C-3', C-4' dan C-7. AlCl_3 untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil pada C-3 dan C-5. AlCl_3/HCl untuk mendeteksi adanya gugus orto-dihidroksi pada cincin A dan B. NaOAc untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil bebas pada atom C-7 dan NaOAc/ H_3BO_3 untuk mendeteksi gugus orto-dihidroksi terutama untuk flavon dan flavonol.

6. Spektrofotometer inframerah

Spektrum IR diukur dengan menggunakan alat Infrared Spectrophotometer Perkin Elmer Spectrum One. Dengan cara 1 mg sampel digerus homogen dengan 100 mg kalium bromida. Campuran dikempa dengan kekuatan 10 ton/cm. Sehingga terbentuk sebuah pelet yang tipis dan transparan kemudian diukur serapannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Dari 2,5 kg herba meniran segar diperoleh 1 kg serbuk kering Herba Meniran yang mempunyai rata-rata kadar air 9,41%

Tabel 1. Hasil Perolehan Susut Pengerinan Sampel Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

No	Pengulangan Sampel	Susut Pengerinan	Rata-rata
1	Perlakuan 1	9,5%	9,14 %
2	Perlakuan 2	9,16%	
3	Perlakuan 3	9,58%	

2. Dari 100 gr serbuk kering herba meniran didapat ekstrak kental sebanyak 4,286 gram (4,286 %). Fraksi n-heksan sebanyak 1,76 gram, fraksi kloroform sebanyak 1,91 gram, fraksi etil asetat sebanyak 1,8 gram, fraksi butanol sebanyak 2,12 gram, dan fraksi sisa sebanyak 24,86 gram.

3. Dari hasil uji aktivitas antioksidan masing-masing fraksi memberikan persen inhibisi sebesar yaitu fraksi n-heksan 44,234% dan SD 5,9942; fraksi kloroform 47,546% dan SD 6,0169; fraksi etil asetat 48,385% dan SD 6,2319; fraksi butanol 47,001% dan SD 4,5264; fraksi sisa 47,588% dan SD 4,9208 .

4. Dari hasil analisa data secara statistik % inhibisi dari masing-masing fraksi tidak memberikan perbedaan yang signifikan (Tabel 3; Tabel 4; Tabel 5).

Tabel 2. Persen Inhibisi dari Masing-Masing Fraksi Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

No	Larutan	Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC 50
1	Kontrol (Larutan DPPH)		0,477			
2	DPPH + Fraksi Heksan	1 0,5 0,25 0,125 0,0625	0,225 0,252 0,269 0,288 0,296	52,830 47,169 43,605 39,622 37,945	$y = 38.276 + 15.374x$	0.762
3	DPPH + Fraksi Khloroform	1 0,5 0,25 0,125 0,0625	0,219 0,231 0,243 0,268 0,290	54,088 51,572 49,056 43,815 39,203	$y = 42.251 + 13.665x$	0.567
4	DPPH + Fraksi Etil Asetat	1 0,5 0,25 0,125 0,0625	0,209 0,227 0,246 0,265 0,284	56,184 52,410 48,427 44,444 40,461	$y = 42.496 + 15.197x$	0.493
5	DPPH + Fraksi Butanol	1 0,5 0,25 0,125 0,0625	0,223 0,244 0,253 0,263 0,281	53,249 48,846 46,960 44,863 41,090	$y = 42.653 + 11.221x$	0.654
6	DPPH + Fraksi Sisa	1 0,5 0,25 0,125 0,0625	0,213 0,245 0,254 0,263 0,275	55,345 48,637 46,750 44,863 42,348	$y = 42.653 + 12.735x$	0.576

Tabel 3. Uji Anova Satu Arah % Inhibisi dari Masing-masing Fraksi

Descriptives								
% Inhibisi								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
DPPH + Fraksi Hexan	5	44,23420	5,99423	2,68070	36,79138	51,67702	37,945	52,830
DPPH + Fraksi Chloroform	5	47,54680	6,01690	2,69084	40,07583	55,01777	39,203	54,088
DPPH + Etil Asetat	5	48,38520	6,23193	2,78701	40,64723	56,12317	40,461	56,184
DPPH + Fraksi Butanol	5	47,00160	4,52643	2,02428	41,38130	52,62190	41,090	53,249
DPPH + Fraksi Sisa	5	47,58860	4,92080	2,20065	41,47863	53,69857	42,348	55,345
Total	25	46,95128	5,29821	1,05964	44,76429	49,13827	37,945	56,184

Tabel 4. Keceragaman Variansi dari Masing-masing Fraksi**Test of Homogeneity of Variances**

% Inhibisi			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,326	4	20	,857

Tabel 5. Anova**ANOVA**

% Inhibisi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51,010	4	12,753	,410	,800
Within Groups	622,695	20	31,135		
Total	673,705	24			

5. Pemurnian fraksi etil asetat herba Meniran didapatkan senyawa flavonoid A sebanyak 26,9 mg berupa serbuk amorf, berwarna kuning muda, dan tidak berbau. Flavonoid B sebanyak 30,4 mg berupa serbuk amorf, berwarna kuning, dan tidak berbau. Flavonoid C sebanyak 34,6 mg berupa serbuk amorf, berwarna kuning, dan tidak berbau dan melebur pada suhu 161,8°-163,2° C, Kkt dengan eluen asam asetat 25% memberikan Rf 0,653 dan larut dalam metanol. Flavonoid D sebanyak 35,4 mg berupa serbuk amorf, berwarna kuning, dan tidak berbau.

Tabel 6. Hasil Pemeriksaan Organolepti Flavonoi C

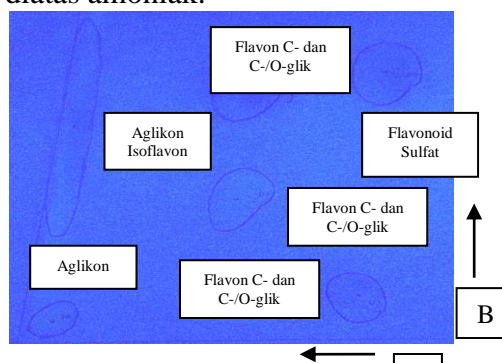
No	Karakteristik	Keterangan
1	Bentuk	Serbuk Amorf
2	Warna	Kuning
3	Bau	Tidak Berbau
4	Kelarutan	Larut dalam metanol
5	Suhu Lebur	161,8-163,2 °C

6. Flavonoid A memberikan aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi 9,433%. Flavonoid B memberikan aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi 10,901%. Flavonoid C memberikan aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi 54,716%, dan flavonoid D memberikan aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi 33,962%.

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Dari Senyawa Hasil Isolasi

No	larutan	absorban	% Inhibisi
1	Kontrol (Larutan DPPH)	0,477	
2	DPPH+ Flavonoid A	0,432	9,433 %
3	DPPH+ Flavonoid B	0,425	10,901 %
4	DPPH+ Flavonoid C	0,216	54,716 %
5	DPPH+ Flavonoid D	0,315	33,962 %

7. Pemeriksaan Kkt 2 arah senyawa C dengan eluen BAA (4:1:5) dan asam asetat 15% menunjukkan adanya bercak pada daerah aglikon (isoflavon) berwarna kuning di bawah lampu UV panjang gelombang 254 nm setelah dilewatkan diatas amoniak.

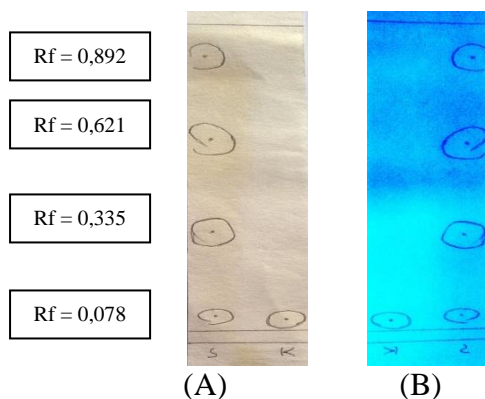


Gambar 1. Kkt Dua aArah

Keterangan (Gambar 1) :

- A. Pengembang Pertama : Butanol – asam asetat – Air (4 : 1 : 5)
- B. Pengembang Kedua : Asam Asetat 15%

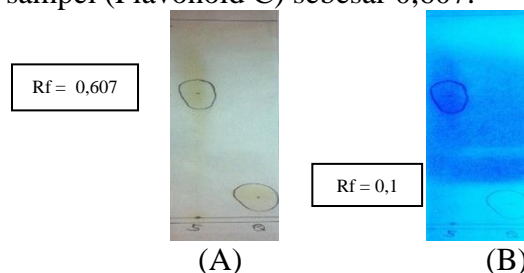
8. Dari pola kromatografi fraksi etil asetat eluen asam asetat 25% secara menurun pembanding quersetin dan penampak noda amoniak dengan sinar tampak (A) dan sinar UV 254 nm (B) didapatkan empat pita dengan Rf 1 sebesar 0,078, Rf 2 sebesar 0,335, Rf 3 sebesar 0,621, Rf 4 sebesar 0,892 dan Rf quersetin sebagai pembanding sebesar 0,071.



Gambar 2. Pola Kromatografi Kertas Satu Arah Fraksi Etil Asetat Eluen Asam Asetat

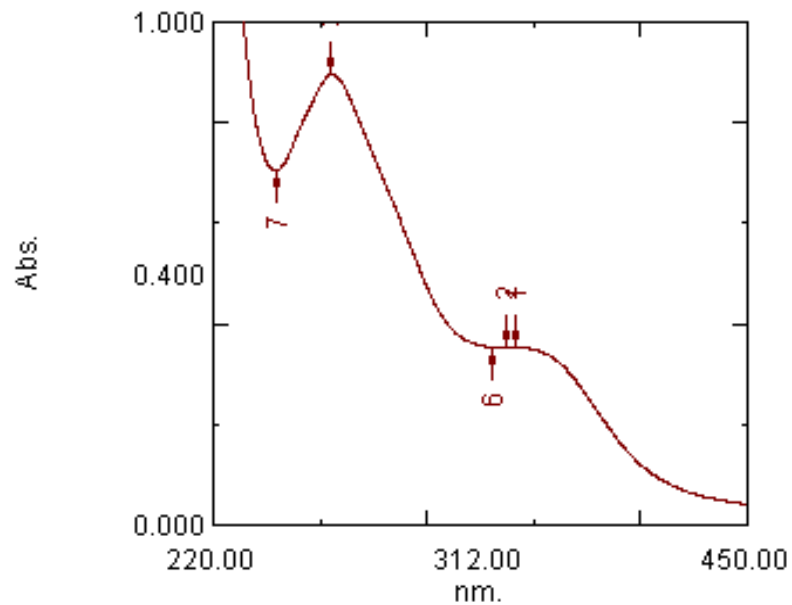
25% Pembanding Quersetin dan Penampak Noda Amoniak dengan Sinar Tampak (A) dan Sinar UV 254 nm (B)

9. Dari pola kromatografi kertas senyawa flavonoid C eluen asam asetat 25% secara menurun pembanding kuersetin dan penampak noda amoniak dengan sinar tampak (A) dan sinar UV 254 nm (B) diperoleh Rf kuersetin sebesar 0,1 dan Rf sampel (Flavonoid C) sebesar 0,607.



Gambar 3. Pola Kromatografi Kertas Senyawa Flavonoid C Eluen Asam Asetat 25% secara Menurun Pembanding Quersetin dan Penampak Noda Amoniak dengan Sinar Tampak (A) dan Sinar UV 254 nm (B).

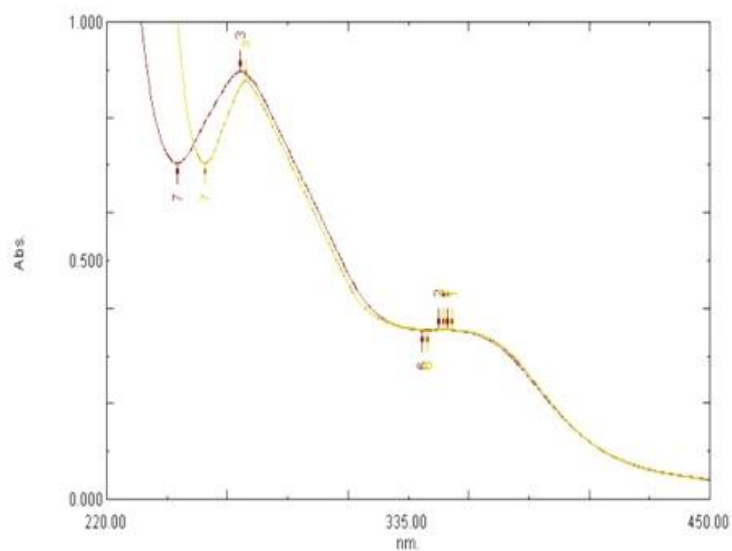
10. Spektrum UV flavonoid C memberikan pita I pada 346,40 nm dan pita II 270,80 nm. Dengan penambahan NaOMe mengalami penurunan serapan sekitar -10 nm pada pita II, hal ini menunjukkan adanya gugus o-diOH pada cincin A. Penambahan AlCl_3 memberikan pergeseran batokromik pada pita II, sekitar 15 nm. Hal ini mengidentifikasikan adanya gugus O-di OH pada cincin A (6,7 atau 7,8). Penambahan AlCl_3/HCL memberikan pergeseran batokromik sekitar 13 nm pada pita II yang menunjukkan adanya gugus OH pada posisi 5. Penambahan NaOAc memperlihatkan adanya pergeseran batokromik pada pita II sekitar 16 nm, hal ini menunjukkan adanya OH pada posisi 7. Penambahan NaOAc/ H_3BO_3 juga memperlihatkan adanya pergeseran batokromik pada pita II, hal ini menunjukkan gugus O-di OH pada cincin A (6,7 atau 7,8).



Gambar 4. Spektrum UV larutan Flavonoid C dalam Metanol

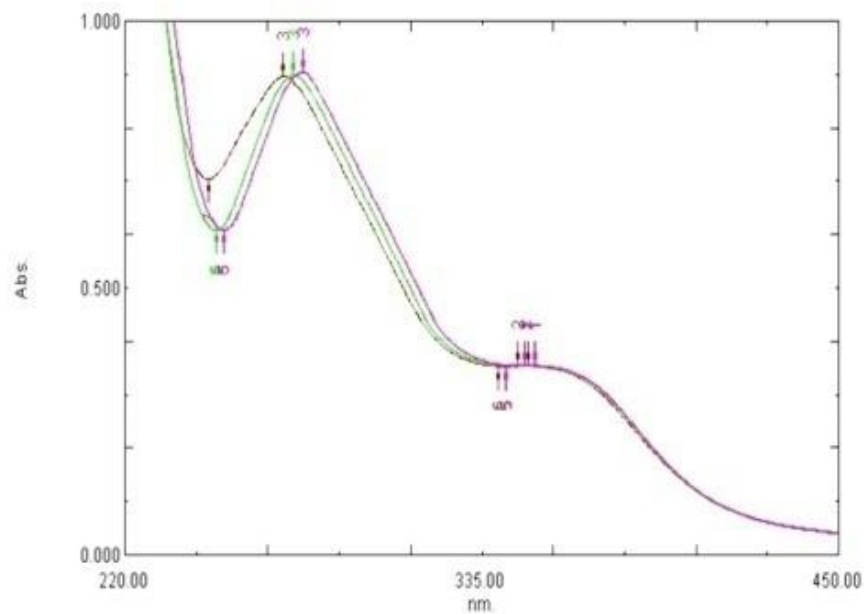
Tabel 8. Data panjang gelombang serapan maksimum senyawa C

Pelarut	λ maks (nm)	absorban
Metanol	346,40	0,355
	270,80	0,896



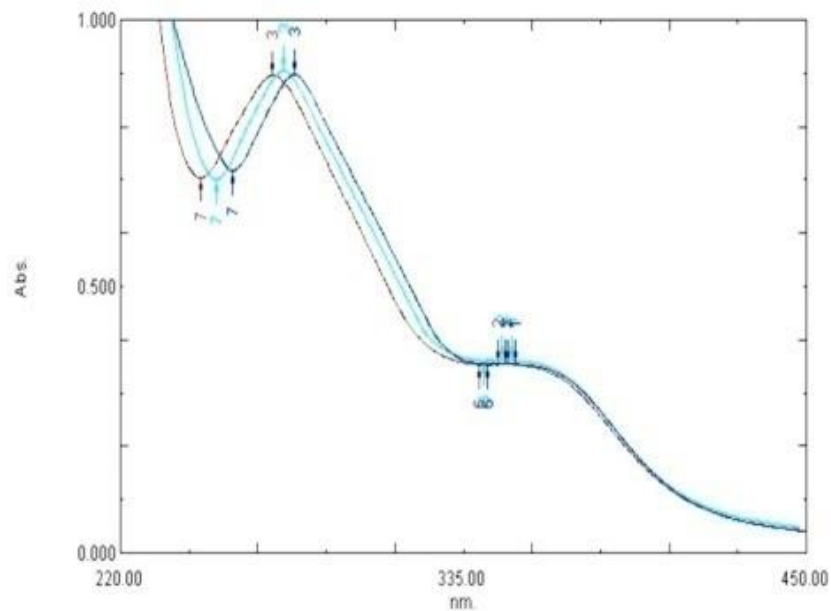
Merah : MeOH
Coklat Muda : NaOMe

Gambar 5. Spektrum UV flavonoid A dalam metanol dan setelah penambahan pereaksi geser NaOMe



Merah : MeOH
 Ungu : AlCl₃
 Hijau : AlCl₃/HCL

Gambar 6. Spektrum UV flavonoid C dan metanol setelah penambahan pereaksi geser AlCl₃/HCl



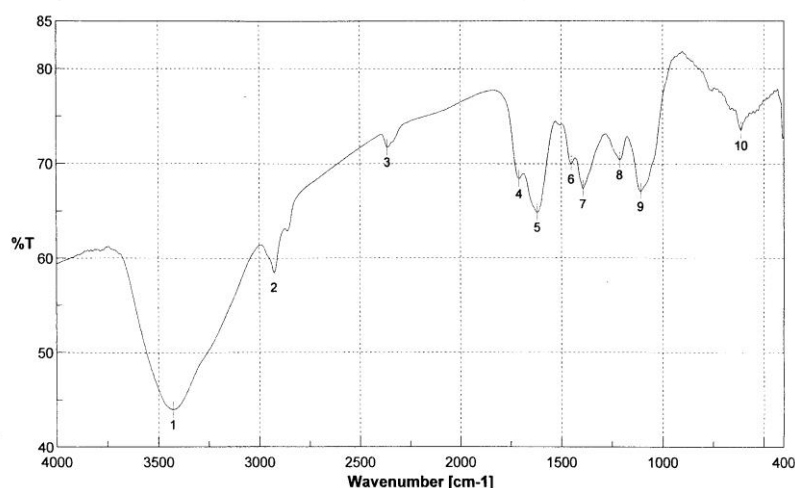
Merah : MeOH
 Biru tua : NaOAc
 Biru muda : NaOAc/H₃BO₃

Gambar 7. Spektrum UV flavonoid C dan metanol setelah penambahan pereaksi geser NaOAc/H₃BO₃

Tabel 9. Data λ Maksimum Senyawa Flavonoid C dengan Pereaksi Geser

No	Pereaksi	Pita I (nm)	geseran	Pita II (nm)	geseran	Penafsiran
1.	Metanol	346,40	-	270,80	-	Isoflavon
2.	Metanol + NaOMe	341,40	-5 nm	260,80	-10 nm	o-di OH pada cincin A
3.	Metanol + AlCl ₃	346,60	+0,2 nm	283,80	+13 nm	o-di OH pada cincin A (6,7 atau 7,8)
4.	Metanol + AlCl ₃ + HCl	347,70	+1,3 nm	283,80	+13 nm	5-OH
5.	Metanol + NaOAc	346,50	+0,1 nm	286,80	+16 nm	7-OH
6.	Metanol + NaOAc + H ₃ BO ₃	346,60	+0,2 nm	283,80	+13 nm	o-di OH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

11. Dari hasil pengukuran spektrum IR flavonoid C memberikan serapan-serapan penting yaitu 3428,81 cm⁻¹ ditafsirkan sebagai regang OH, 2927,41 cm⁻¹ ditafsirkan sebagai regang C-H, 1619,91 cm⁻¹ ditafsirkan sebagai C=C aromatis, dan 1108,87 cm⁻¹ ditafsirkan sebagai C-O regang.



No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3428.81	43.9963	2	2927.41	58.543	3	2362.37	71.7744
4	1708.62	68.4378	5	1619.91	64.8901	6	1450.21	70.0143
7	1392.35	67.3914	8	1212.04	70.4753	9	1108.87	67.117
10	614.217	73.5606						

Gambar 8. Spektrum Inframerah Senyawa Flavonoid

Tabel 10. Data Bilangan Gelombang Spektrum IR senyawa Flavonoid C

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Interpretasi
1	3428,81	Regang OH
2	2927,41	Regang C-H
3	1619,91	C=C aromatis
4	1108,87	C-O regangan

12. Hasil pemeriksaan flavonoid C dengan pereaksi warna FeCl₃ hijau, NH₄OH kuning, HCL/Mg merah, dan sitroborat kuning.

Tabel 11. Hasil Pemeriksaan Kimia Flavonoid C dengan Berbagai Pereaksi Warna

No	Pereaksi	Warna
1	FeCl ₃	Hijau
2	NH ₄ OH	Kuning
3	HCL/Mg	Merah
4	Sitroborax	Kuning

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap herba Meniran dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Dari 100 gram sampel herba Meniran didapatkan ekstrak kental 4,286 g (4,286 %) dengan flavonoid A sebanyak 26,9 mg, flavonoid B sebanyak 30,4 mg, flavonoid C sebanyak 34,6 mg, dan flavonoid D sebanyak 35,4 mg.
2. Flavonoid yang bersifat antioksidan paling tinggi adalah flavonoid C berupa

serbuk amorf, berwarna kuning, tidak berbau, larut dalam metanol dan suhu lebur 161,8-163,2°C.

3. Dari data kromatografi kertas, suhu lebur, reaksi warna, spektrum ultraviolet dengan beberapa pereaksi geser, spektrum IR serta hasil diduga flavonoid C yang diperoleh berupa senyawa golongan aglikon isoflavon.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrun, M., & Umiyah., 2005, Pengujian Antiradikal Bebas Dipenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Sekitar Jember. *Jurnal Ilmu Dasar*, 6 (2): 110-114.
- Kardinan, A & Kusuma, F.R., 2004, *Meniran, Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Mosquera, D.M., Correa, Y.M., Buitrago, D.C., & Nino, J, 2007, *Antioksidan Activity of Twenty Five Plants from Columbian Biodiversity*, 102 (5): 631-634.
- Trilaksani, W., 2003, *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran terhadap Kesehatan*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tuminah, S., 1999, Pencegahan Kanker dengan Antioksidan, *Cermin Dunia Kedokteran*, No. 122: 21-23.
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

