

Isolasi dan Identifikasi Jenis Senyawa Flavonoid dalam Fase *n*-Butanol Daun Murbei (*Morus alba* L.) secara Spektrofotometri

Isolation and Identification of Flavonoid Compounds in *n*-Butanol Phase Mulberry Leaves (*Morus alba* L.) using Spectrophotometry

RATNA DJAMIL*, FATIMAH BAKRIYYAH

Unit Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640, Indonesia.

Diterima 14 Mei 2015, Disetujui 8 Agustus 2015

Abstrak: Murbei (*Morus alba* L.), suku Moraceae adalah salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia dan banyak digunakan dalam pengobatan secara tradisional. Daun murbei banyak mengandung senyawa kimia seperti flavonoid yang menunjukkan berbagai khasiat farmakologi dan aktivitas biologi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa flavonoid yang terdapat pada daun murbei. Berdasarkan hasil pemeriksaan penapisan fitokimia dari fase *n*-butanol daun murbei menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, tanin dan kumarin. Telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam fase *n*-butanol dari ekstrak metanol daun murbei dengan cara kromatografi kertas menggunakan eluen *n*-butanol-asam asetat-air (4:5:1). Hasil identifikasi dengan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak diduga mengandung senyawa flavonoid, yaitu isolat NB III merupakan senyawa flavonol dengan gugus OH pada posisi 5, 4', dan *o*-diOH pada cincin A serta gugus prenil pada posisi 6. Isolat NB IV merupakan senyawa flavonol dengan gugus OH pada posisi 5, 4', dan *o*-diOH pada cincin A serta gugus prenil pada posisi 6. Isolat NB V merupakan senyawa flavonol dengan gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8). Isolat NB VI merupakan senyawa dihidroflavonol dengan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dan gugus OH pada posisi 4'.

Kata kunci: Murbei (*Morus alba* L.), flavonoid, *n*-butanol, spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak.

Abstract: Mulberry (*Morus alba* L.), Moraceae, is one of plant in Indonesia that widely utilized in traditional medicine. Mulberry leaf contains many chemical compounds such as flavonoids, which shows a variety of biological activities and pharmacological properties. The purpose of this research is to investigate the flavonoid compounds contained in mulberry leaves. The *n*-butanol phase phytochemical screening showed the presence of compounds of flavonoids, saponins, tannins and coumarin. Isolation and identification of flavonoid compound from *n*-butanol phase in methanol extract of mulberry leaves has been done with paper chromatography method using *n*-butanol-acetic acid-water (4:1:5) eluent. The result of identification with visible- ultraviolet spectrophotometer suspected contains flavonoids, which NB III isolates is a flavonol compounds with OH group at 5, 4' position, and *o*-diOH on A rings and prenil group at position 6. NB IV isolates are flavonol compounds with OH group at 5, 4' position, and *o*-diOH on A rings and prenil group at position 6. NB V isolates are flavonol compounds with *o*-diOH on the A rings (6,7 or 7,8). NB VI isolates are dihydroflavonol with groups of *o*-diOH on A rings (6,7 or 7,8) and OH group at 4' position.

Keywords: Murbei (*Morus alba* L.), flavonoid, *n*-butanol, ultraviolet-visible spectrophotometer.

* Penulis korespondensi: Hp: 08128170958
e-mail: ratnadj_ffup@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

FLAVONOID adalah salah satu golongan fenol alam terbesar yang terdapat pada semua tumbuhan hijau dan merupakan metabolit sekunder yang menunjukkan berbagai khasiat⁽¹⁾. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai dalam bentuk tunggal dalam jaringan tumbuhan⁽²⁾. Telah dilaporkan bahwa senyawa turunan fenol merupakan kandungan utama genus *Morus* yang diantaranya mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antitumor, antiinflamasi, antimalaria, antihipertensi dan antivirus. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Ferlinahayati, 2012), dalam murbei hitam (*Morus nigra*) yang merupakan salah satu tanaman murbei di Indonesia mengandung senyawa flavon terprenilasi yaitu morusin⁽³⁾.

Daun murbei (*Morus alba* L.) banyak mengandung senyawa kimia seperti flavonoid seperti rutin, moracetin, isoquarsetin, senyawa polifenol dan saponin. Daun murbei juga merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan dalam masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit seperti demam, batuk, sakit kepala, darah tinggi, kencing manis, kaki gajah, sakit kulit dan gangguan pencernaan^(4,5,6,7,8).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui dan mengidentifikasi jenis senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun murbei menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak. Penelitian yang dilakukan meliputi penapisan fitokimia terhadap serbuk simplisia, pembuatan ekstrak daun murbei dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol⁽⁹⁾. Kemudian ekstrak metanol dipartisi berturut-turut dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol, terhadap ekstrak *n*-butanol dilakukan isolasi flavonoid secara kromatografi kertas preparatif dan identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak^(1,2).

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Simplisia daun murbei, metanol, *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol, amonia 25%, kloroform, pereaksi Dragendorff, asam klorida (1:10 v/v), pereaksi Meyer, serbuk magnesium, asam klorida pekat, amil alkohol, asam klorida 2 N, air suling, besi (III) klorida 1%, pereaksi Stiasny (formaldehid 30%-asam klorida pekat 2:1), natrium asetat, natrium hidroksida 1 N, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, amonia 10%, petroleum eter, etanol 95 %, serbuk seng, asam borat, asam oksalat, asam asetat glasial, asam asetat 15%.

Alat. Timbangan analitik, timbangan kasar,

penangas air, kompor listrik, *blender*, *rotavapor*, peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium, kertas Whatman No.3, spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak.

METODE. Pengumpulan Sampel. Sampel daun murbei diperoleh dari Balitro, Bogor, Jawa Barat. Sampel diidentifikasi di Pusat Penelitian Biologi-Herbarium Bogoriense di Cibinong Bogor, Jawa Barat. Sampel dikeringkan di udara panas untuk proses analisis lebih lanjut.

Penyiapan Ekstrak. Pembuatan Ekstrak. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara mengekstraksi serbuk simplisia secara maserasi menggunakan pelarut metanol, maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapor sampai diperoleh ekstrak kental metanol⁽⁹⁾.

Partisi Ekstrak. Ekstrak kental metanol dipartisi berturut-turut dalam corong pisah dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol. Kemudian fase *n*-butanol dipekatkan dengan rotavapor sampai diperoleh ekstrak kental *n*-butanol⁽²⁾.

Skrining Fitokimia⁽¹⁰⁾. Penapisan fitokimia merupakan pemeriksaan terhadap kandungan golongan senyawa kimia dari simplisia dan ekstrak *n*-butanol daun murbei meliputi identifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid dan triterpenoid, kumarin dan minyak atsiri.

Isolasi Senyawa Flavonoid⁽¹⁾. Isolasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara kromatografi kertas preparatif. Mula-mula ekstrak kental *n*-butanol ditambahkan dengan metanol secukupnya. Kemudian ekstrak tersebut ditotolkan dengan arah memanjang seperti pita pada batas awal eluasi pada kertas Whatman no. 3 sampai jenuh. Selanjutnya kertas preparatif dieluasi menggunakan fase gerak yaitu BAA (*n*-butanol-asam asetat glasial-air dengan perbandingan 4:1:5), setelah mencapai batas eluasi kertas preparatif diangkat dan dikeringkan. Kemudian masing-masing pita yang terbentuk digunting menjadi potongan-potongan kecil dan diekstraksi dengan metanol.

Identifikasi Senyawa Flavonoid. Identifikasi golongan dan jenis senyawa flavonoid dilakukan dengan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak. Selanjutnya dilakukan penambahan pereaksi geser seperti natrium hidroksida, aluminium klorida, asam klorida, natrium asetat dan asam borat lalu amati pergeseran panjang gelombang maksimum sesudah dilakukan penambahan pereaksi geser.

HASIL DAN PEMBAHASAN

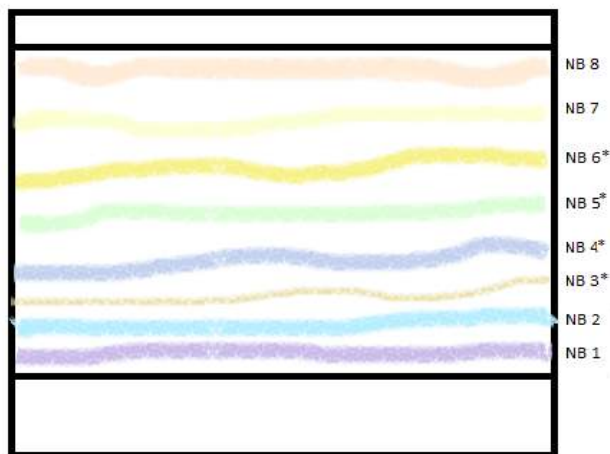
Ekstraksi. Hasil ekstraksi dari 500,7 g simplisia daun murbei secara maserasi kinetik dengan menggunakan

pelarut metanol sebanyak 18 kali, didapatkan maserat yang kemudian diuapkan dengan vakum rotavapor sehingga didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 80,5423 g.

Partisi. Sebanyak 40,1467 g ekstrak kental metanol yang didapat, dipartisi secara berturut-turut dengan menggunakan pelarut *n*-heksan etil asetat dan *n*-butanol. Fase *n*-butanol yang didapat kemudian dipekatkan dengan menggunakan vakum rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental *n*-butanol sebanyak 6,03 g.

Skrining Fitokimia. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia yang menunjukkan bahwa simplisia daun murbei mengandung flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, tanin, minyak atsiri, dan kumarin. Sedangkan pada ekstrak *n*-butanol dari daun murbei mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan kumarin.

Isolasi Senyawa Flavonoid Secara Kromatografi Kertas Preparatif. Isolasi senyawa flavonoid dari ekstrak kental *n*-butanol dilakukan secara kromatografi kertas preparatif dengan cairan pengembang BAA (*n*-butanol-asam asetat glasial-air) dengan perbandingan 4:1:5 yang menghasilkan delapan pita dibawah sinar ultraviolet (panjang gelombang = 366 nm) sebelum diuapi amonia. Kedelapan pita dapat tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram kertas preparatif dari ekstrak *n*-butanol daun murbei (bentuk pita dibawah sinar 366 nm sebelum diberi uap ammonia). Fase gerak: BAA (*n*-butanol-asam asetat glasial-air= 4:1:5); fase diam: kertas Whatman No. 3; deteksi: di bawah sinar UV 366 nm.

Kemudian terhadap masing-masing pita tersebut dipotong kecil-kecil, dan dilarutkan dengan metanol lalu diidentifikasi secara spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak dan diperoleh hasil seperti yang tertera pada Tabel 1.

Dari hasil spektrum yang diperoleh ternyata senyawa flavonoid ditunjukkan oleh isolat NB III yang memberikan panjang gelombang serapan maksimum

Tabel 1. Panjang gelombang serapan maksimum isolat NB I–VIII fase *n*-butanol ekstrak daun murbei.

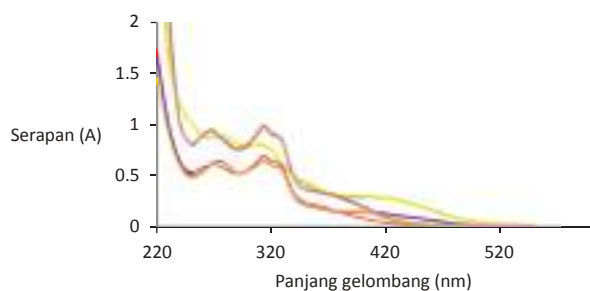
Isolat	Panjang gelombang	
	Pita I (nm)	Pita II (nm)
NB I	-	284
NB II	-	266
NB III	314	269
NB IV	312,5	279,5
NB V	322	268,5
NB VI	327	281
NB VII	326,5	296,5
NB VIII	501,5 398,5	-

314 nm untuk pita I dan 269 nm untuk pita II. NB IV pita yang memberikan panjang gelombang serapan maksimum 312,5 nm untuk pita I dan 279,5 nm untuk pita II. NB V pita yang memberikan panjang gelombang serapan maksimum 322 nm untuk pita I dan 268,5 nm untuk pita II. NB VI pita yang memberikan panjang gelombang serapan maksimum 327 nm untuk pita I dan 281 nm untuk pita II. Sedangkan pita-pita lainnya selain NB III, NB IV, NB V, dan NB VI bukan merupakan senyawa flavonoid karena panjang gelombang serapan maksimumnya tidak termasuk rentang 300-550 nm untuk pita I dan 240-285 nm untuk pita II. Lalu pita-pita NB yang mengandung flavonoid ditentukan strukturnya dan diamati pergeseran panjang gelombang serapan maksimum dengan penambahan pereaksi geser.

Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer Ultraviolet-Cahaya Tampak^(1,11). Setelah isolat diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak kemudian ditentukan pergeseran panjang gelombang serapan maksimumnya dengan penambahan pereaksi geser. Adapun macam-macam pereaksi geser seperti natrium hidroksida (NaOH), aluminium klorida (AlCl₃), AlCl₃/asam klorida (HCl), natrium asetat (NaOAc), dan asam borat (H₃BO₃). Hasil identifikasi masing-masing isolat yang diperoleh dapat dilihat pada uraian dibawah ini.

Isolat NB III. Hasil spektrum isolat NB III fase *n*-butanol dengan pereaksi geser, dapat dilihat pada Gambar 2 dan pergeseran panjang gelombang maksimum isolat dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap isolat NB III mengarah dugaan pada flavon atau flavonol tersulih 3-O mempunyai 5-OH tetapi tanpa 4'-OH bebas atau beberapa 6- atau 8- OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-O serta mengandung 5-OH, atau isoflavon, dihidroflavonol, biflavonil dan beberapa



Gambar 2. Spektrum isolat NB III fase *n*-butanol dengan pereaksi geser. Keterangan: — MeOH — AlCl₃/HCl — NaOH — NaOAc — NaOH 5' — NaOAc 5' — AlCl₃ — NaOAc/H₃BO₃

Tabel 2. Pergeseran panjang gelombang isolat NB III.

Pereaksi geser	Panjang gelombang maksimum		Pergeseran	
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)
Metanol	314	269	-	-
Metanol + NaOH	307	277	7	8
Metanol + NaOH 5'	307	277	7	8
Metanol + AlCl ₃	313	274	1	5
Metanol + AlCl ₃ /HCl	313,5	273,5	0,5	4,5
Metanol + NaOAc	314	268	0	1
Metanol + NaOAc 5'	314	267	0	2
Metanol+NaOAc/H ₃ BO ₃	314	267	0	2

flavanon yang mengandung 5-OH atau khalkon mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas. Hal ini didasarkan pada warna bercak lembayung gelap sebelum diuapi amonia dan terjadi perubahan warna sedikit setelah diuapi amonia.

Pada identifikasi menggunakan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak dalam pelarut metanol (MeOH), isolat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 314 nm untuk pita I dan 269 nm untuk pita II. Hasil tersebut mengarah dugaan bahwa isolat adalah golongan flavon dan isoflavon.

Pada penambahan natrium hidroksida (NaOH) serapan maksimum pita I 307 nm terjadi pergeseran hipsokromik sebesar 7 nm dan terjadi penurunan kekuatan setelah 5 menit. Berdasarkan data ini menunjukkan adanya gugus OH pada posisi 3,4' dan gugus *o*-diOH pada cincin A; pada cincin B: 3-OH yang berdampingan dari golongan flavon.

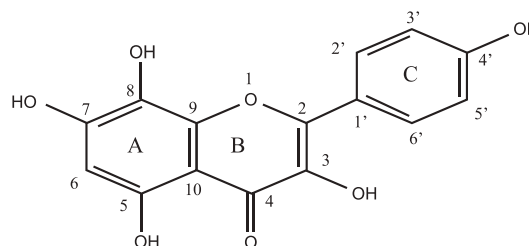
Pada penambahan aluminium (III) klorida (AlCl₃) terjadi pergeseran hipsokromik sebesar 1 nm pada pita I. Berdasarkan data ini tidak ada yang dapat ditafsirkan. Setelah penambahan asam klorida (HCl) baik pada pita I mengalami pergeseran sebesar 0,5

nm (dianggap tidak berubah). Berdasarkan data ini memungkinkan adanya gugus OH pada posisi 5 dengan gugus prenil pada posisi 6 dari golongan flavon.

Pada penambahan natrium asetat (NaOAc) serapan maksimum pita II mengalami pergeseran hipsokromik sebesar 1 nm, dan setelah pendiaman selama 5 menit terjadi penurunan kekuatan. Dari data ini menunjukkan adanya gugus yang peka terhadap basa, misalnya 6,7 atau 7,8 atau 3,4' -diOH dari golongan flavon.

Pada penambahan asam borat (H₃BO₃), serapan maksimum pada pita I tidak mengalami pergeseran. Dari data ini tidak ada yang bisa ditafsirkan.

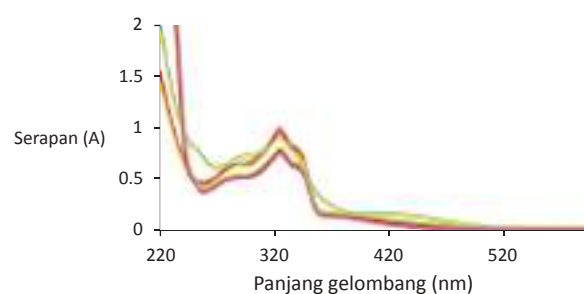
Berdasarkan uraian data diatas diduga bahwa isolat NB III adalah senyawa flavonol dengan 3,4' -OH, *o*-diOH pada cincin A; pada cincin B: 3-OH yang berdampingan, dan 5-OH dengan gugus prenil pada posisi 6. Praduga struktur flavonol tersebut disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Praduga struktur flavonol dengan gugus OH pada posisi 5, 4', dan *o*-diOH pada cincin A serta gugus prenil pada posisi 6.

Isolat NB IV. Hasil spektrum isolat NB IV fase *n*-butanol dengan pereaksi geser dapat dilihat pada Gambar 4 dan tpergeseran panjang gelombang maksimum isolat dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap isolat NB IV mengarah dugaan pada flavon atau flavonol tersulih 3-O mempunyai 5-OH tetapi tanpa 4'OH bebas atau beberapa 6- atau 8- OH flavon dan flavonol



Gambar 4. Spektrum isolat NB IV fase *n*-butanol dengan pereaksi geser. Keterangan: — MeOH — AlCl₃/HCl — NaOH — NaOAc — NaOH 5' — NaOAc 5' — AlCl₃ — NaOAc/H₃BO₃

Tabel 3. Pergeseran panjang gelombang isolat NB IV.

Pereaksi geser	Panjang gelombang maksimum		Pergeseran	
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)
Metanol	312,5	279,5	-	-
Metanol + NaOH	312,5	289	0	9,5
Metanol + NaOH 5'	312,5 396	289	0	9,5
Metanol + AlCl ₃	312,5	279,5	0	0
Metanol + AlCl ₃ /HCl	312,5	280	0	0,5
Metanol + NaOAc	313	279,5	0,5	0
Metanol + NaOAc 5'	313	279,5	0,5	0
Metanol+NaOAc/H ₃ BO ₃	313	280	0,5	0,5

tersulih pada 3-O serta mengandung 5-OH, atau isoflavan, dihidroflavanol, biflavanil dan beberapa flavanon yang mengandung 5-OH atau khalkon mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas. Hal ini didasarkan pada warna bercak lembayung gelap sebelum diuapi amonia dan terjadi perubahan warna sedikit setelah diuapi amonia.

Pada identifikasi menggunakan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak dalam pelarut metanol (MeOH) isolat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 312,5 nm untuk pita I dan 279,5 nm untuk pita II. Hasil tersebut mengarah dugaan bahwa isolat adalah golongan flavon, isoflavan, flavanon dan dihidroflavanol.

Pada penambahan natrium hidroksida (NaOH) serapan maksimum pita I tidak mengalami perubahan, tetapi terjadi penurunan kekuatan setelah 5 menit. Berdasarkan data ini menunjukkan adanya gugus OH pada posisi 3,4', dan gugus *o*-diOH pada cincin A; pada cincin B: 3-OH yang berdampingan dari golongan flavon.

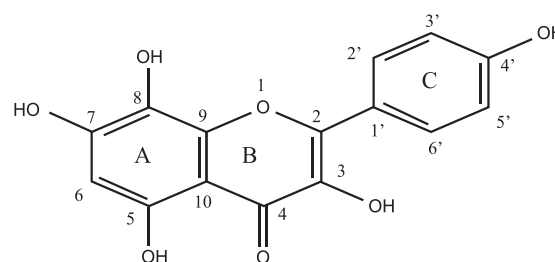
Pada penambahan aluminium (III) klorida (AlCl₃) serapan maksimum pita I tidak mengalami perubahan (tetap) yakni 312,5 nm. Berdasarkan data ini tidak ada yang dapat ditafsirkan. Dan setelah penambahan asam klorida (HCl) pada pita I tidak mengalami pergeseran. Hal ini menunjukkan adanya 5-OH dengan gugus prenil pada posisi 6 dari golongan flavon.

Pada penambahan natrium asetat (NaOAc) serapan maksimum pita II tidak mengalami dan terjadi penurunan kekuatan setelah 5 menit. Dari data ini menunjukkan adanya gugus yang peka terhadap basa, misalnya 6,7 atau 7,8 atau 3,4' -diOH dari golongan flavon.

Pada penambahan asam borat (H₃BO₃), serapan maksimum pada pita I mengalami pergeseran batokromik sebesar 0,5 nm. Dari data ini menunjukkan

adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dari golongan flavon.

Berdasarkan uraian data diatas diduga bahwa isolat NB IV adalah senyawa flavonol dengan 3,4' -OH, *o*-diOH pada cincin A; pada cincin B: 3-OH yang berdampingan, 5-OH dengan gugus prenil pada posisi 6 dan gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) pada Gambar 5.

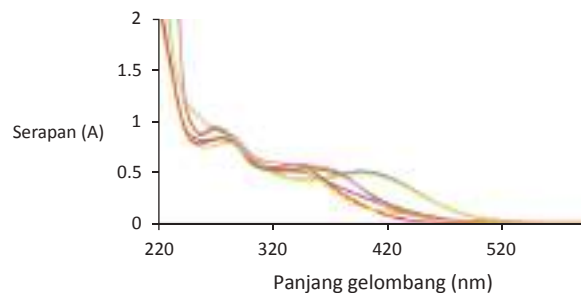


Gambar 5. Praduga struktur flavonol dengan gugus OH pada posisi 5, 4', dan *o*-diOH pada cincin A serta gugus prenil pada posisi 6.

Isolat NB V. Spektrum isolat NB V fase *n*-butanol dengan pereaksi geser, disajikan pada Gambar 6 dan pergeseran panjang gelombang maksimum isolat dapat disajikan pada Tabel 4.

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap isolat NB V mengarah dugaan pada auron yang tidak mengandung 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas atau flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan disertai atau tanpa 5-OH bebas. Hal ini didasarkan pada warna bercak hijau sebelum diuapi amonia dan tidak mengalami perubahan setelah diuapi amonia.

Pada identifikasi menggunakan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak dalam pelarut metanol (MeOH) isolat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 322 nm untuk pita I dan 268,5 nm untuk pita II. Hasil tersebut mengarah dugaan bahwa isolat adalah golongan flavon, isoflavan, isoflavan (5-deoksi-6,7- dioksigenasi), flavanon dan dihidroflavanol.



Gambar 6. Spektrum isolat NB V fase *n*-butanol dengan pereaksi geser. Keterangan:

— MeOH — AlCl₃/HCl
 — NaOH — NaOAc
 — NaOH 5' — NaOAc 5'
 — AlCl₃ — NaOAc/H₃BO₃

Tabel 4. Pergeseran panjang gelombang isolat NB V.

Pereaksi geser	Panjang gelombang maksimum		Pergeseran	
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)
Metanol	322	268,5	-	-
Metanol + NaOH	374,5	-	52,5	-
Metanol + NaOH 5'	372,5	-	50,5	-
Metanol + AlCl ₃	-	269	-	0,5
Metanol + AlCl ₃ /HCl	325	272,5	3	4
Metanol + NaOAc	332	262	10	6,5
Metanol + NaOAc 5'	333	262,5	11	6
Metanol+NaOAc/H ₃ BO ₃	330,5	262	8,5	6,5

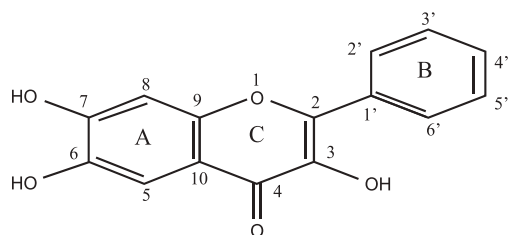
Pada penambahan natrium hidroksida (NaOH) serapan maksimum pita I 374,5 nm terjadi pergeseran batokromik sebesar 52,5 nm dan terjadi penurunan kekuatan setelah 5 menit. Berdasarkan data ini menunjukkan adanya 3-OH dan tidak ada 4'-OH bebas dari golongan flavon dan flavonol.

Pada penambahan aluminium (III) klorida (AlCl₃) tidak terdapat serapan maksimum pada pita I. Dan setelah penambahan asam klorida (HCl) terukur serapan maksimum pada 325 nm. Berdasarkan data tersebut tidak ada yang dapat ditafsirkan.

Pada penambahan natrium asetat (NaOAc) serapan maksimum pada pita II mengalami pergeseran hipsokromik sebesar 6,5 nm dan mengalami penurunan kekuatan setelah 5 menit. Dari data ini menunjukkan adanya gugus yang peka terhadap basa, misalnya 6,7 atau 7,8 atau 3,4' -diOH dari golongan flavon dan flavonol.

Pada penambahan asam borat (H₃BO₃), serapan maksimum pada pita I mengalami pergeseran lebih kecil yaitu 8,5 nm. Dari data ini menunjukkan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dari golongan flavon dan flavonol.

Berdasarkan uraian data diatas diduga bahwa isolat NB V adalah senyawa flavonol dengan gugus OH pada posisi 3 dan gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) (Gambar 7).

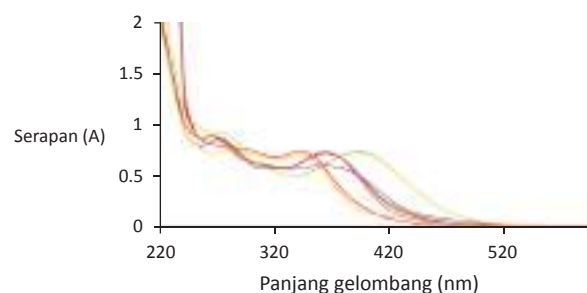
**Gambar 7. Praduga struktur flavonol dengan gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8).**

Isolat NB VI. Spektrum isolat NB VI fase *n*-butanol dengan pereaksi geser, disajikan pada Gambar 8 dan pergeseran panjang gelombang maksimum isolat disajikan pada Tabel 5.

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap isolat NB VI mengarah dugaan pada flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang berasal dari dihidroflavonol). Hal ini didasarkan pada warna bercak kuning flourosensi jingga sebelum diuapi amonia dan terjadi perubahan warna sedikit setelah diuapi amonia.

Pada identifikasi menggunakan spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak dalam pelarut metanol (MeOH) isolat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 327 nm untuk pita I dan 281 nm untuk pita II. Hasil tersebut mengarah dugaan bahwa isolat adalah golongan flavanon dan dihidroflavonol.

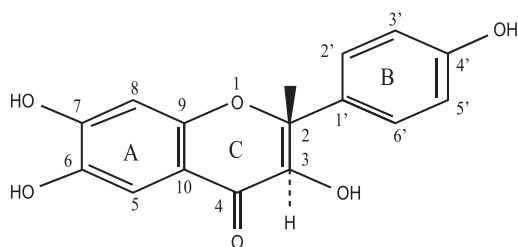
Pada penambahan natrium hidroksida (NaOH) serapan maksimum pita II 269 nm terjadi pergeseran hipsokromik sebesar 12 nm dan tidak terjadi penurunan kekuatan setelah 5 menit. Berdasarkan data ini tidak ada yang dapat ditafsirkan.

**Gambar 9. Spektrum isolat NB VI fase *n*-butanol dengan pereaksi geser. Keterangan:**

— MeOH — AlCl₃/HCl
 — NaOH — NaOAc
 — NaOH 5' — NaOAc 5'
 — AlCl₃ — NaOAc/H₃BO₃

Tabel 5. Pergeseran panjang gelombang isolat NB VI.

Pereaksi geser	Panjang gelombang maksimum		Pergeseran	
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)
Metanol	327	281	-	-
Metanol + NaOH	371	269	44	12
Metanol + NaOH 5'	369,5	269	42,5	12
Metanol + AlCl ₃	340	267	13	14
Metanol + AlCl ₃ /HCl	328,5	279	1,5	2
Metanol + NaOAc	345	260	18	21
Metanol + NaOAc 5'	346,5	259,5	19,5	21,5
Metanol+NaOAc/H ₃ BO ₃	346	259,5	19	21,5



Gambar 9. Praduga struktur dihidroflavonol dengan adanya guguso-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dan gugus OH pada posisi 4'.

Pada penambahan aluminium (III) klorida (AlCl_3) didapatkan serapan maksimum pada pita II 267 nm menunjukkan terjadinya pergeseran hipsokromik sebesar 14 nm. Dan setelah penambahan asam klorida (HCl) terjadi pergeseran batokromik dari hasil serapan maksimum pada pita II menjadi 279 nm. Dari data tersebut menunjukkan adanya *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dari golongan flavanon dan dihidroflavonol.

Pada penambahan natrium asetat (NaOAc) serapan pada pita II mengalami pergeseran hipsokromik sebesar 21 nm dan setelah 5 menit mengalami penurunan kekuatan. Dari data ini menunjukkan gugus yang peka terhadap basa, misalnya 6,7 atau 7,8 atau 3,4' -diOH dari golongan flavanon dan dihidroflavonol.

Pada penambahan asam borat (H_3BO_3), serapan pada pita II mengalami pergeseran hipsokromik sebesar 21,5 nm. Dari data ini tidak ada yang dapat ditafsirkan.

Berdasarkan uraian data diatas diduga bahwa isolat NB VI adalah senyawa dihidroflavonol dengan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dan gugus OH pada posisi 4'.

SIMPULAN

Penapisan fitokimia pada fase *n*-butanol daun murbei menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, tanin dan kumarin. Berdasarkan hasil identifikasi spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak dalam fase *n*-butanol dari ekstrak metanol daun murbei dihasilkan beberapa senyawa flavonoid dengan perbedaan letak gugusnya, yaitu isolat NB III diduga adalah senyawa flavonol dengan gugus OH pada posisi 5, 4' dan *o*-diOH pada cincin A serta gugus prenil pada posisi 6. Isolat NB IV diduga adalah senyawa flavonol

dengan gugus OH pada posisi 5, 4' dan *o*-diOH pada cincin A serta gugus prenil pada posisi 6. Isolat NB V diduga adalah senyawa flavonol dengan gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8). Isolat NB VII diduga adalah senyawa dihidroflavonol dengan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8) dan gugus OH pada posisi 4'.

DAFTAR PUSTAKA

1. Markham KR. Cara mengidentifikasi flavonoid. Diterjemahkan oleh Padmawinata K. Bandung: Penerbit ITB; 1998. 1-3, 10, 15-21, 38-39, 41-47.
2. Harbone JB. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan obat. Edisi II. Diterjemahkan oleh Padmawinata K. Bandung: Penerbit ITB; 1987. 8-11, 17, 69-70.
3. Ferlinahayati, Hakim EF, Syah YM, Juliawaaty LD. Senyawa morusin dari tumbuhan murbei hitam (*Morus nigra*). Jurnal Penelitian Sains. 2012. 15(2):15214-72.
4. Syamsulhidayat SS, Hutapea JR. Inventaris tanaman obat Indonesia Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1991. 394-5.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Materia edika Indonesia Jilid V. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 1989. 523-5, 553.
6. Dalimartha S. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Jilid I. Jakarta: Trubus Agriwidya; 2001. 90-2.
7. Jung JW, Park JH, Seo KH, Back YS, Lee DY. Isolation and identification of phenolic compounds from the root bark of *Morus alba* L. Journal Appl Biol Chem. 2015. 58(2):153-5.
8. Choi SW, Jang JY, Lee YJ, Leem HH. Analysis of functional constituents in mulberry (*Morus alba* L) twigs by different cultivar, producing area and heat processing. Preventive Nutrition and Food Science. 2013. 18(4):256-62.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Teknologi ekstrak. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 2000. 1-2, 10-12.
10. Farnsworth NR. Biological and phytochemical screening of plant. Journal of Pharmaceutical. 1966. 55(3):28-64.
11. Jannie PJ, Marais, Vours BD, Dixon RA, Ferreira D. The stereochemistry of flavonoids. In: Grotewold E, editor. The Science of Flavonoids. USA: Springer; 1-4.
12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995. 7, 1002.
13. Gritter RJ, Bobbit JM, Schwarting AE. Pengantar kromatografi. Edisi II. Diterjemahkan oleh Padmawinata K. Bandung: Penerbit ITB; 1991. 1, 14-15, 157.