

ISOLASI FLAVONOID DAUN MURBEI (*MORUS ALBA L.*) SERTA UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI PENURUN TEKANAN DARAH ARTERI PADA ANJING TERANESTESI

THE FLAVONOID ISOLATION OF MULBERRY (*MORUS ALBA L.*) LEAVES AND THE STUDY OF ITS ACTIVITY AS DECREASING ARTERIAL BLOOD PRESSURE ON ANESTHETIZED DOG

Siti Aminah dan Suwijiyu Pramono

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Daun murbei (*Morus alba* Linn.) secara tradisional digunakan untuk menurunkan tekanan darah dan pada penelitian terdahulu endapan fraksi airnya telah terbukti memiliki efek penurunan tekanan darah arteri anjing teranestesi dan didalamnya terdeteksi senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi flavonoid yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penurunan tekanan darah pada anjing teranestesi. Endapan air dekokta daun murbei difraksinasi dengan eter, etil asetat dan air. Isolasi flavonoid masing-masing fraksi dilakukan secara kromatografi kertas dengan fase gerak campuran tersier butanol, toluene, asam asetat, dan air dalam berbagai perbandingan. Pengujian aktivitas penurunan tekanan darah dilakukan dengan memberikan larutan isolat aktif 1% dalam larutan NaCl fisiologis secara intravena. Identifikasi isolat aktif dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis. Hasil menunjukkan bahwa daun murbei mengandung 3 isolat yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penurunan tekanan darah arteri anjing teranestesi, yaitu biflavonoid yang tersusun oleh flavon dengan 3', 4' dihidroksi dan auron dengan 5,4' dihidroksi (21,66 % penurunan), senyawa kumarin yang struktur parsialnya mengarah pada eskuletin (24,30 %) dan flavonoid rutin (35,95 %).

Kata kunci : daun murbei (*Morus alba L.*), flavonoid, kumarin, aktivitas hipotensi

ABSTRACT

Morus alba L. leaves are traditionally used as hypotensive remedy and its residue of aqueous fraction of decoction showed hypotensive activity on anesthetized dog and it contained flavonoids. The aim of this study was to isolate and identify the active flavonoid decreasing arterial blood pressure on anesthetized dog. The residue of aqueous fraction of decoction of Morus alba L. leaves fractionated with diethyl ether, ethyl acetate, and water. Isolation of each fractions were done by preparative paper chromatography using tertier buthanol, toluene, acetic acid, and water in various composition. Arterial blood pressure were measured before and after intra venous treatment of 1 % isolate in NaCl 0,9% stock solution. Identification of active substances were done by UV-Vis spectrophotometric method. The result showed that Morus alba L. leaves contained 3 substances having hypotensive activity i.e. biflavonyl consisted of flavone and aurone (21,66% of hypotensive activity), a coumarinic substance which was probably aesculetin (24,30%) and flavonoid rutin (35,95%).

Key words : *Morus alba L. leaves, flavonoids, coumarin, hypotensive activities*

PENDAHULUAN

Tanaman murbei (*Morus alba* L.) merupakan tanaman yang banyak ditanam orang di halaman dan dikedub sebagai tanaman buah-buahan atau untuk memelihara ulat sutera. Tumbuhan ini dapat juga digunakan untuk mengobati demam, kencing manis, kencing nanah, tekanan darah tinggi (daunnya), sakit gigi, datang haid tidak teratur (akarnya). (Heyne, 1950; Mardiswojo, 1965; Perry, 1980). Menurut Chang dan But (1987), murbei mengandung beberapa golongan kandungan kimia antara lain flavonoid, minyak atsiri, asam amino, asam organik, vitamin dan mineral. Diantara berbagai kandungan kimia tersebut, berdasarkan literatur, yang mempunyai kemungkinan berefek antihipertensi adalah flavonoid (Paris *et al.*, 1977). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang larut dalam etil asetat jika terdapat dalam bentuk glikosida dengan satu molekul gula dan larut dalam eter jika terdapat dalam bentuk aglikon (Markam, 1982). Kuersetin yang juga merupakan flavonoid diketahui memiliki sifat penting sebagai vasorelaksan pada arteri terisolasi dan menurunkan tekanan darah pada tikus hipertensi spontan (Duarte *et al.*, 1993) serta dapat mengurangi tekanan darah pada subjek yang mengalami hipertensi (Edwards *et al.*, 2007).

Metode terbaik untuk mengisolasi dan memisahkan flavonoid antara lain adalah kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis, karena hanya membutuhkan jumlah sampel yang relatif sedikit. Pemilihan fase gerak dan fase diam yang paling umum digunakan adalah poliamid dan selulosa mikrokristal (Markham, 1982).

Identifikasi awal yang digunakan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid adalah dengan reaksi warna. Jika tidak tercampur dengan pigmen lain maka flavonoid dapat dideteksi dengan uap ammonia (Robinson, 1955). Flavonoid merupakan senyawa fenol yang agak asam sehingga dapat larut dalam basa, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia, jadi mudah dideteksi dengan kromatogram atau dalam larutan. Identifikasi flavonoid dapat dilakukan secara spektrofotometri UV, NMR dan Massa (Markham, 1982; Harborne, 1987).

Tekanan darah arteri secara garis besar ditentukan oleh vasodilatasi pembuluh darah perifer, frekuensi denyut jantung, dan kekuatan kontraksi otot jantung (Berne dan Levy, 1984). Pengaruh sari daun murbei terhadap pembuluh darah perifer pada anjing telah diteliti. Hasil menunjukkan bahwa pemberian sari daun murbei i.v. 0,1 cc/kg berat badan menunjukkan kenaikan vasodilatasi pembuluh darah perifer yang sangat bermakna ($p < 0,01$). Penelitian terhadap fraksi aktif daun murbei dalam menurunkan tekanan darah arteri pada anjing teranestesi sudah dilakukan (Aminah, dan Pramono, 2004), namun belum

diketahui kandungan aktif yang bertanggung jawab menurunkan tekanan darah arteri tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cara isolasi flavonoid daun murbei, flavonoid yang mempunyai aktivitas terbesar dalam menurunkan tekanan darah, dosis isolat aktif yang mempunyai aktivitas menurunkan tekanan darah dan struktur kimia flavonoid daun murbei yang aktif sebagai penurun tekanan darah.

METODE PENELITIAN

Bahan

Daun murbei (*Morus alba* Linn.) dari daerah Gunung Kidul, anjing (*Canis canis*) dari kedua jenis kelamin dengan berat badan 5,0 – 8,0 kg, ketalar injeksi, alfa khloralose, larutan borax 5 %, heparin injeksi 5.000 I.U./ml, NaCl (E. Merck, p.a.), Toluena (E. Merck, p.a.), Etanol 95 %, tersier butanol, asam asetat, metanol, kloroform, amoniak, kertas whatman, dietil eter, eter asetat, natrium hidroksida, natrium asetat, asam borat, aluminium khlorida, asam khlorida.

Alat

Drop recorder (Folkow), manometer air raksa, kymograph (Arthur H. Thomas Co.), satu set alat destilasi, EKG (Cardiofax), meja operasi, alat-alat gelas.

Jalan Penelitian

1. Pembuatan dekokta dan endapan fraksi air

Daun murbei dicuci, dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Kemudian diserbuk, diayak dengan menggunakan ayakan 25 mesh dan ditetapkan kadar airnya dengan penyulingan menggunakan toluena. Seratus gram serbuk daun murbei, dimasukkan dalam air infusa, ditambah 1,2 liter air suling, dipanaskan selama 30 menit dihitung setelah penangas air mendidih kemudian disaring menggunakan kain flanel selagi panas. Sari dekokta diuapkan hingga kental diatas penangas air, ditambah berkali-kali etanol 95 % sambil diaduk. Sari etanol setiap kali diuapkan hingga sari terakhir tidak berwarna. Residu ditambah air suling, kemudian didinginkan dalam almari es. Akan diperoleh larutan fraksi air dan endapan fraksi air.

2. Fraksinasi flavonoid endapan fraksi air

Endapan fraksi air dilarutkan dalam air suling 100 ml kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Ekstraksi dilakukan dengan dietil eter, dua kali 100 ml. Fase eter dipisahkan, diuapkan, dan dilarutkan kembali dalam metanol untuk dipisahkan lebih lanjut. Fase air dimasukkan kembali dalam corong pisah dan diekstraksi dengan etil asetat dua kali 100 ml. Fase etil asetat dipisahkan. Ketiga fraksi yang diperoleh diperiksa dengan kromatografi lapis tipis. Sistem kromatografi yang digunakan adalah dengan fase diam kertas dan fase gerak tersier

butanol-toluena-asam asetat-air (1:3:1:5, v/v, fase atas).

3. Isolasi senyawa flavonoid fraksi eter

Fraksi eter hasil pemisahan endapan ditotolkan pada kertas dalam bentuk pita dan dielusi dengan toluene-asam asetat-air (4:1:5, v/v, fase atas). Deteksi dilakukan di bawah sinar UV 366 nm, UV 254 nm dan setelah diuapi amoniak. Pita yang dominan dikerok dan dilarutkan kembali dalam methanol p.a. dan diuji kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan fase kertas, fase gerak pertama toluene-asam asetat-air (4:1:5, v/v, fase atas) dan fase gerak kedua kloroform-metanol (97:3 v/v). Deteksi dilakukan di bawah sinar UV 366 nm, UV 254 nm, sebelum dan setelah diuapi amoniak.

4. Isolasi senyawa kumarin fraksi etil asetat

Fraksi etil asetat hasil pemisahan endapan ditotolkan pada kertas dalam bentuk pita dan dielusi dengan fase gerak toluene-asam asetat air (2:2:1:5, v/v, fase atas). Deteksi dilakukan di bawah sinar UV 366 nm, UV 254 nm sebelum dan setelah diuapi amoniak. Pita yang dominan dikerok dan dilarutkan kembali dalam methanol p.a. dan diuji kemurniannya secara kromatografi dua dimensi pada kertas dengan fase gerak pertama tersier butanol-toluena-asam asetat-air (2:2:1:5, v/v, fase atas) dan fase gerak kedua kloroform-metanol (95:5, v/v). Deteksi dilakukan di bawah sinar UV 366 nm dan UV 254 nm sebelum dan setelah diuapi amoniak.

5. Isolasi flavonoid fraksi air

Fraksi air hasil pemisahan endapan ditotolkan pada kertas dalam bentuk pita dan dielusi dengan fase gerak tersier butanol-asam asetat-air (4:1:5, v/v, fase atas). Deteksi dilakukan di bawah sinar UV 366 nm, UV 254 nm, sebelum dan setelah diuapi amoniak. Pita yang dominan dikerok dan dilarutkan kembali dalam methanol p.a. dan diuji kemurniannya dengan kromatografilapis tipis dua dimensi dengan fase gerak pertama tersier butanol-asam asetat-air (4:1:5, v/v, fase atas) dan fase gerak kedua kloroform-metanol-air (65:25:4,v/v).

6. Penentuan tekanan darah arteri, vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung

Rancangan percobaan yang digunakan adalah *Pretest-Posttest Control Group Design*. Hewan uji yang digunakan 16 ekor, dibagi menjadi 4 kelompok dan penempatan ke dalam kelompok tersebut secara acak. Masing-masing kelompok diberi isolat daun murbei A, B, C dan larutan NaCl 0,9 % dengan dosis yang sama. Anjing ditimbang, diberi anestesi induksi ketalar 10 mg/kg berat badan i.m. Setelah tertidur, anestesi dilanjutkan dengan alfa khloralose 50-100 mg/kg berat badan dalam larutan borax 5 % i.v. melalui *v. mediana cubiti*. Dilakukan trakheotomi dan tube trakhea dimasukkan trakhea. Jaringan di sekitar *a. carotis communis* disiangi, kanula plastik

dimasukkan ke dalam *a. carotis communis* yang sebelumnya telah diisi dengan heparin.

Isolat daun murbei diberikan pada hewan uji melalui *v. mediana cubiti*. Tekanan darah arteri dicatat melalui *a. carotis communis* dengan menggunakan manometer air raksa dan direkam pada kertas angus yang dipasang pada kimograf. Setiap hewan uji pada kelompok kontrol diberi larutan NaCl 0,9 % dengan dosis yang sama. Pencatatan tekanan darah arteri, vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung dilakukan sebelum dan sesudah pemberian isolat serta larutan NaCl 0,9 %.

7. Identifikasi isolat

Isolat flavonoid yang diperoleh diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis dua arah dengan fase gerak pertama butanol-asam asetat-air (4:1:5, v/v, fase atas) dan fase gerak kedua asam asetat 15 %. Adanya bercak tunggal setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat menunjukkan kemurnian flavonoid. Setelah diketahui murni, flavonoid yang diperoleh diukur spektranya pada spektrofotometer UV-Vis dalam methanol dan dengan penambahan pereaksi diagnostik NaOH, NaOAc, H₃BO₃, AlCl₄ dan AlCl₄/HCl untuk mendeteksi posisi gugus OH pada molekul.

Analisis data

Data hasil percobaan pada hewan uji dianalisis secara statistik dengan analisa kovariansi. Data pemeriksaan kandungan aktif dianalisis dengan membandingkan data pada pustaka.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penetapan kadar air di dalam serbuk daun murbei adalah $4,99 \pm 0,006\%$.

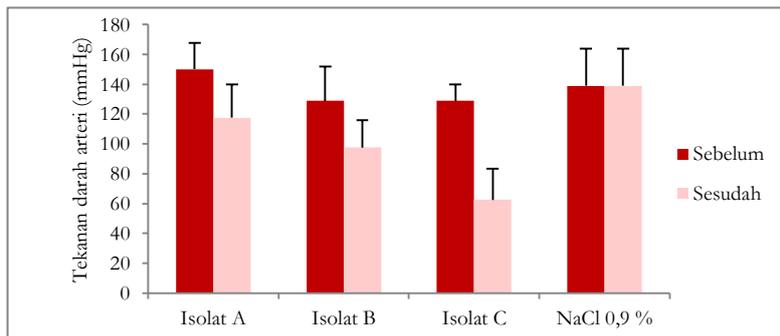
Hewan uji yang telah dipersiapkan untuk direkam dapat dilihat pada gambar 1.

Hasil penentuan tekanan darah arteri, vasodilatasi pembuluh darah perifer, frekuensi denyut jantung pada kelompok hewan uji sebelum dan sesudah pemberian 0,1 cc/kg berat badan isolat A, isolat B, isolat C dan larutan 0,9% NaCl dapat dilihat pada gambar 2, gambar 3 dan gambar 4.

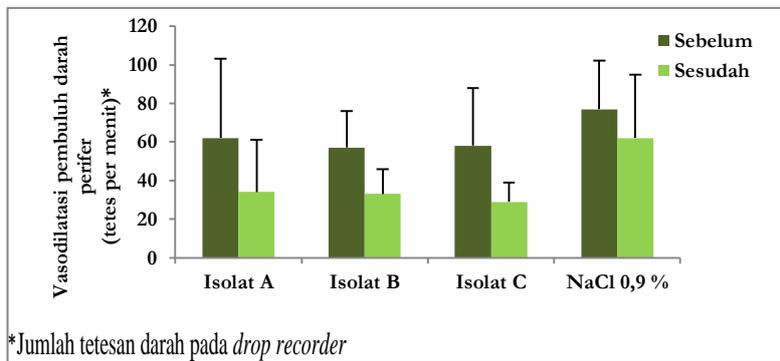
Dari data di atas diketahui bahwa tekanan darah arteri pada kelompok subyek dengan pemberian isolat A 0,1 cc/kg berat badan dibandingkan dengan tekanan darah arteri pada kelompok kontrol menunjukkan adanya penurunan yang sangat bermakna ($p < 0,01$). Faktor-faktor yang menentukan tekanan darah arteri secara garis besar adalah vasodilatasi pembuluh darah perifer, frekuensi denyut jantung, dan kekuatan kontraksi otot jantung. Pada pemberian isolat A terlihat vasodilatasi pembuluh darah perifer menurun secara bermakna ($p < 0,01$), frekuensi denyut jantung menunjukkan peningkatan tetapi tidak bermakna ($p > 0,05$). Penurunan tekanan darah arteri pada pemberian isolat A mungkin disebabkan karena menurunnya kekuatan kontraksi otot jantung. Hal



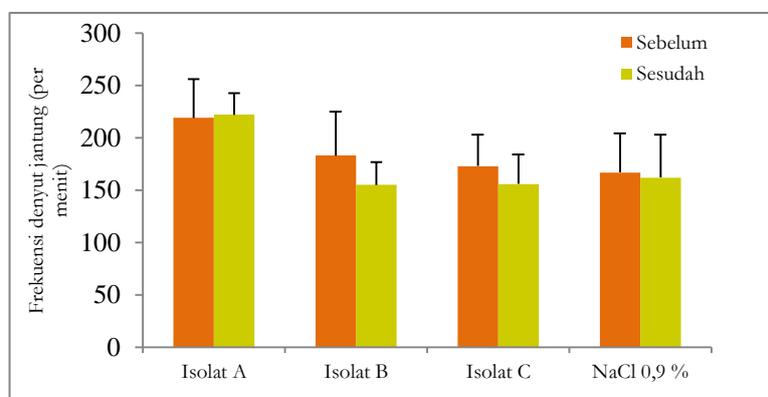
Gambar 1. Hewan Uji Siap Untuk Direkam



Gambar 2. Tekanan Darah Arteri Sebelum dan Sesudah Pemberian Isolat A, Isolat B, Isolat C Dan Larutan Nacl 0,9 %



Gambar 3. Vasodilatasi Pembuluh Darah Perifer Sebelum dan Sesudah Pemberian Isolat A, Isolat B, Isolat C dan Larutan Nacl 0,9%



Gambar 4. Frekuensi Denyut Jantung Sebelum dan Sesudah Pemberian Isolat A, Isolat B, Isolat C dan Larutan Nacl 0,9%

Tabel I. Persentase Penurunan Tekanan Darah Arteri Sebelum dan Sesudah Pemberian 0,1 Cc/Kg Berat Badan Isolat A, Isolat B dan Isolat C

Macam isolat	Persentase penurunan tekanan darah arteri (%)
Isolat A	21,66
Isolat B	24,30
Isolat C	35,95

vasodilatasi pembuluh darah perifer yang dilukiskan dengan menurunnya jumlah tetesan darah pada *drop recorder* dan meningkatnya frekuensi denyut jantung, masih menyebabkan menurunnya tekanan darah.

Tekanan darah arteri pada kelompok subyek dengan pemberian isolat B dibandingkan dengan tekanan darah arteri pada kelompok kontrol menunjukkan adanya penurunan yang bermakna ($p < 0,05$). Vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung pada kelompok subyek dibandingkan dengan vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung pada kelompok kontrol menunjukkan penurunan yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Penurunan tekanan darah arteri pada pemberian isolat B mungkin disebabkan yang paling dominan adalah menurunnya kekuatan kontraksi otot jantung, hal ini mengingat bahwa dengan tidak adanya perubahan vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung mampu menurunkan tekanan darah arteri.

Tekanan darah arteri pada kelompok hewan uji dengan pemberian isolat C dibandingkan dengan tekanan darah arteri pada kelompok kontrol menunjukkan adanya penurunan yang sangat bermakna ($p < 0,01$). Penurunan tekanan darah arteri pada pemberian isolat C mungkin disebabkan yang paling berperan adalah menurunnya kekuatan kontraksi otot jantung. Hal ini mengingat bahwa vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung pada kelompok subyek dibandingkan dengan vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung pada kelompok kontrol menunjukkan penurunan namun tidak bermakna ($p > 0,05$). Dengan demikian faktor yang

mempengaruhi penurunan tekanan darah arteri pada pemberian isolat C terutama tidak dipengaruhi oleh vasodilatasi pembuluh darah perifer dan frekuensi denyut jantung.

Persentase penurunan tekanan darah arteri sebelum dan sesudah pemberian isolat A, isolat B dan isolat C dapat dilihat pada tabel I.

Dari tabel I dapat dilihat bahwa isolat C menunjukkan persentase terbesar dalam menurunkan tekanan darah arteri, diikuti isolat B dan isolat A.

Identifikasi isolat aktif A

Data kromatografi : Rf TBA= 0,95; Rf Asam asetat= 0,05; warna dan fluoresensi.

Bercak :-Sinar tampak :kuning intensif,-Uap amoniak : merah, -Sinar UV 366 : kuning,- Uap amoniak : kuning. Hasil hidrolisis : tidak terjadi hidrolisis. Data spektra UV-Vis pada isolat A dapat dilihat pada tabel II.

Berdasarkan harga Rf pada kedua jenis fase gerak yang digunakan yaitu 0,95 pada TBA dan 0,05 pada asam asetat 15% senyawa ini merupakan flavonoid golongan flavon, flavonol, biflavonil, calkon atau auron. Namun demikian jika dilihat warna fluoresensi bercak baik pada sinar tampak maupun UV 366 nm yaitu kuning intensif dan menjadi merah dengan amoniak menunjukkan bahwa senyawa tersebut termasuk golongan auron. Hal ini sesuai dengan data spektra UV-Vis yaitu adanya pita I dalam methanol pada 435 nm. Walaupun demikian ternyata pada pita I terdapat puncak lain yang lebih intensif yaitu pada 325 nm yang khas untuk flavon. Hal ini menunjukkan adanya dua kemungkinan yaitu bahwa bercak senyawa tersebut sesungguhnya terdiri dari dua senyawa yang menumpuk dan sulit dipisahkan atau bahwa senyawa tersebut merupakan biflavonoid yang tersusun oleh senyawa flavon dan auron.

Adanya pergeseran batokromik sebesar 50 nm dan 40 nm pada pita I spectra dengan NaOH dibanding dalam metanol menunjukkan adanya gugus 4'OH pada flavon maupun auron. Tidak adanya pergeseran batokromik pada pita I spektra dengan AlCl₃-HCl dibanding spektra dalam metanol

Tabel II. Data Spektra UV-Vis pada Isolat A

Pereaksi	Pita II	Pita I	$\Delta\lambda_{II}$	$\Delta\lambda_I$	Keterangan
Metanol	282	325 435 ^{sh}			Flavon atau auron
NaOH	282	375 475 ^{sh}		+50, +40	4'OH
AlCl ₃	282	325 370 460		+45, +25	Orto di OH pada flavon
AlCl ₃ -HCl	282	325 460		+0, +25	Tidak ada 5-OH pada flavon
Na asetat	279	325 375	-3		Tidak ada 7-OH pada flavon
Asam borat	279	337		+12	Orto di OH pada flavon

Tabel III. Data Spektra UV-Vis pada Isolat B

Pereaksi	Pita II	Pita I		$\Delta\lambda I$	Keterangan
Metanol	277	300	322		Kumarin
NaOH	277	300	372	+50	OH fenolik
AlCl ₃	277	300	322 370	+48	Orto di OH
AlCl ₃ -HCl	277	300	322	+0	Tanpa hidroksi karbonil
Na asetat	277	300	322 382	+60	OH fenolik
Asam borat	272	300	322 348	+26	Orto di OH

Tabel IV. Data Spektra UV-Vis pada Isolat C

Pereaksi	Pita II	Pita I		$\Delta\lambda II$	$\Delta\lambda I$	Keterangan
Metanol	272	299 ^{sh}	363			Flavonol
NaOH	275	320 ^{sh}	415		+52	4'OH
AlCl ₃	275	304 ^{sh}	335 ^{sh} 430		+67	Orto di OH
AlCl ₃ -HCl	275	304 ^{sh}	363 ^{sh} 403		+40	5-OH
Na asetat	380	428		+8		7-OH
Asam borat	272	388			+25	Orto di OH

Tabel V. Aglikon Hasil Hidrolisis

Pereaksi	Pita II	Pita I		$\Delta\lambda II$	$\Delta\lambda I$	Keterangan
Metanol	272	374				Flavonol
NaOH	325	425 (dekomposisi)				3,4'OH
AlCl ₃	275	304 ^{sh}	446		+72	Orto di OH
AlCl ₃ -HCl	275	300 ^{sh}	360 ^{sh} 428		+54	3,5 di OH
Na asetat	278	328	400	+6		7-OH
Asam borat	278	290	388		+14	Orto di OH

Kromatografi gula (deteksi dengan pereaksi kalium permanganat basa)

Rf TBA=0,1 dan 0,5 (sama dengan Rf glukosa dan Rhamnosa pembanding).

menunjukkan tidak adanya gugus OH bebas pada posisi 5 baik pada flavon maupun auron. Adanya pergeseran hipsokromik sebesar 45 nm pada spectra AlCl₃-HCl dibanding AlCl₃ menunjukkan adanya gugus orto dihidroksi pada flavon dan dikonfirmasi oleh adanya pergeseran batokromik sebesar 12 nm pada spektra dengan asam borat dibanding dalam metanol. Tidak adanya pergeseran batokromik pada pita II spektra dengan Na asetat dibanding dalam metanol menunjukkan tidak adanya gugus OH bebas pada posisi 7.

Berdasarkan data kromatografi dan spektroskopi UV-Vis, kemungkinan yang dapat disimpulkan adalah bahwa isolat A yang memiliki efek hipotensif tersebut adalah senyawa flavon tanpa 5 dan 7 OH dan dengan 3',4' orto dihidroksi yang tercampur atau berikatan sebagai biflavonil dengan senyawa auron yang memiliki gugus OH bebas pada posisi 5 dan 4.

Identifikasi isolat aktif B

Data kromatografi : Rf TBA=0,8; Rf Asam asetat 15%=0,1. Warna dan fluoresensi bercak: - Sinar tampak : tidak berwarna, -Uap amoniak : tak berwarna, -Sinar UV 366 : biru, -Uap amoniak : hijau. Hasil hidrolisis : tidak terjadi hidrolisis. Data spektra UV-Vis pada isolat B dapat dilihat pada tabel III.

Adanya dua puncak yang setara pada 300 nm dan 322 nm menunjukkan serapan khas untuk kumarin. Adanya pergeseran batokromik pita I sebesar 50 nm pada spektra dengan NaOH dan sebesar 60 nm pada spektra Na asetat dibanding spektra dalam metanol menunjukkan adanya gugus OH fenolik. Tidak adanya pergeseran batokromik pada spektra dengan AlCl₃-HCl dibanding spektra dalam metanol menunjukkan tidak adanya gugus hidroksi karbonil. Adanya pergeseran hipsokromik sebesar 48 nm pada spektra dengan AlCl₃-HCl dibanding AlCl₃ menunjukkan gugus ortodihidroksi pada cincin benzena. Hal ini dikonfirmasi oleh adanya pergeseran batokromik sebesar 26 nm pada

spektra dengan asam borat dibanding spektra dalam metanol. Berdasarkan data kromatografi dan spektrofotometri UV-Vis yang dianalisis, kemungkinan struktur parsial isolat B adalah kumarin dengan gugus OH bebas pada posisi 6 dan 7 atau eskuletin.

Identifikasi isolat aktif C

Data kromatografi : Rf TBA= 0,44; Rf asam asetat=0,56. Warna dan fluoresensi bercak:-Sinar tampak : kekuningan, -Uap amoniak : kuning, -Sinar UV 366 : ungu gelap,-Uap amoniak : kuning. Hasil hidrolisis : Rf TBA=0,57; Rf Asam asetat= 0,03; Warna dan fluoresensi bercak :- Sinar tampak : kekuningan,-Uap amoniak : kuning,-Sinar UV 366 : kuning,-Uap amoniak : kuning. Data spektra UV-Vis pada isolat C dan aglikon hasil hidrolisis dapat dilihat pada tabel IV dan tabel V.

Berdasarkan data kromatografi baik glikosida maupun aglikon hasil hidrolisis menunjukkan bahwa isolat C merupakan senyawa flavonoid. Fluorosensi glikosida yang ungu gelap menunjukkan flavonoid dengan 5 OH bebas tetapi tanpa 3-OH bebas, sedangkan fluoresensi aglikon yang kuning dibawah UV 366 nm menunjukkan suatu flavonol dengan 3 dan 5 OH bebas. Hal ini menunjukkan bahwa gula terikat pada posisi 3 dan dapat dikonfirmasi melalui data spektra UV-Vis berikut.

Pita I spektra glikosida dalam metanol yaitu 363 nm menunjukkan golongan flavonol. Pergeseran batokromik pita I sebesar 40 nm yang ditunjukkan oleh spektra dengan $AlCl_3-HCl$ menunjukkan adanya pembentukan kompleks khelat antara gugus karbonil dengan gugus OH pada posisi 5. Pergeseran hipsokromik sebesar 27 nm pada pita I spektra dengan $AlCl_3-HCl$ dibanding $AlCl_3$ menunjukkan adanya gugus orto dihidroksi pada 3',4'. Hal ini dikonfirmasi oleh adanya pergeseran batokromik sebesar 14 nm pada pita I dengan asam borat dibanding spektra dalam metanol. Pergeseran batokromik pita II spektra dengan Na asetat sebesar 8 nm dibanding spektra dalam metanol menunjukkan adanya gugus OH bebas pada posisi 7.

Pada spektra aglikon hasil hidrolisis, terjadinya dekomposisi spektra dengan NaOH menunjukkan adanya gugus OH pada posisi 3 dan 4'. Adanya gugus OH bebas pada posisi 3 telah ditunjukkan sebelumnya dengan fluoresensi bercak aglikon yaitu kuning di bawah UV 366 nm. Selain itu, adanya pergeseran batokromik pita I sebesar 54 nm pada spektra dengan $AlCl_3-HCl$ dibanding spektra dalam methanol menunjukkan adanya gugus OH bebas pada posisi 3 dan 5. Hal ini juga memberikan konfirmasi bahwa gugus gula pada glikosida terikat pada posisi 3. Adanya gugus orto dihidroksi pada 3' dan 4' ditunjukkan oleh pergeseran hipsokromik sebesar 18 nm pada spektra dengan $AlCl_3-HCl$ dibanding $AlCl_3$ dan adanya

pergeseran batokromik sebesar 14 nm pada spektra dengan asam borat dibanding spektra dalam metanol. Pergeseran batokromik sebesar 6 nm pada pita II spektra dengan Na asetat dibanding spektra dalam metanol menunjukkan adanya gugus hidroksi bebas pada posisi 7.

Berdasarkan data spektra UV-Vis baik glikosida maupun aglikon hasil hidrolisis dan juga data kromatografi baik Rf maupun fluorosensi dapat disimpulkan bahwa isolat C memiliki struktur parsial sebagai 5,7,3',4' tetrahidroksi flavonol 3-O glukosil rhamnosida atau rutin dan setelah dibandingkan dengan rutin pembandingan dari sigma menunjukkan kesamaan data baik kromatografi maupun spektrofotometri UV-Vis.

KESIMPULAN

Kandungan aktif daun murbei yang mempunyai aktivitas menurunkan tekanan darah arteri dapat diisolasi secara kromatografi kertas dengan fase gerak bervariasi menggunakan campuran tersier butanol, toluene, asam asetat dan air. Isolat C memiliki aktivitas menurunkan tekanan darah arteri paling besar diikuti isolat B dan isolat A. Dosis isolat aktif daun murbei yang memiliki aktivitas menurunkan tekanan darah arteri adalah 0,1 cc/kg berat badan. Isolat aktif daun murbei memiliki kemungkinan struktur parsial sebagai berikut : isolat A adalah biflavonoid dengan penyusun flavon 3',4' di OH tanpa 5 OH dan auron dengan 5,4' OH. Isolat B adalah senyawa kumarin yaitu eskuletin. Isolat C adalah flavonoid rutin.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, S., Pramono, S., 2004, Penelusuran Fraksi Aktif Daun Murbei (*Morus alba* Linn.) dalam Menurunkan Tekanan Darah Arteri pada Anjing Teranestesi, *Penelitian Pilihan Pangan Kesehatan*, Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 24 -26.
- Berne, R.M., Levy, M.N., 1984, *Cardiovascular Physiology*, 4th Ed., The C.V. Mosby Company, London.
- Chang, HM, But, P.PH, 1987, *Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapura.
- Duarte J, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Jimenez J, and Tamargo J., 1993, Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, 239, 1-7.
- Edwards, R.L., Lyon, T., Litwin, S.E., Rabovsky, A. and Symons, J.D. , 2007, Quercetin Reduces Blood Pressure in Hypertensive Subjects, *J.Nutr.*, 137, 2405 – 2411.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*,

- diterjemahkan Kosasih Padmawinata, Edisi II, Penerbit ITB, Bandung, 71-72.
- Heyne, 1950, *De Nuttige Planten van Indonesie*, Deel I 3 e Druk, N.V. Uitgeverij van Halve's-Gravenhage, Bandung, 546 – 547.
- Mardisiswojo, S. dan Radjasmangunsudarso, H., 1965, *Tjabe Pujang Warisan Nenek Mojang*, Cetakan I, Prapantja, Jakarta, 51.
- Markham, K. R., 1982, *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press Inc., London.
- Paris, R., Plat, M., Giono-Barber, Linhard, J., and Laurens, A., 1977, *Recherche chimique et pharmacologique sur les feuilles d'Anacardium occidentale L. (Anacardiacees)*, Bull. Soc. Med. Afr. Noire, 22, 275-281.
- Perry, L.M., 1980, *Medicinal Plants of East and South-east Asia*, The MIT Press, London
- Robinson, T., 1955, *Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 192 -193.