

Flavonoids Production Capability Test of Tea Mistletoe (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) Endophytic Bacteria Isolates

Jepri Agung Priyanto¹, Sri Pujiyanto^{1,*}, Isworo Rukmi¹

¹Biology Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Tembalang, Semarang 50275 Telepon (024)7474754; Fax. (024)76480690

*corresponding author's email: spujiyanto@hotmail.com

ABSTRACT

Tea Mistletoe (*S. Atropurpurea* BL. Dans) is a medicinal plant species used as anticancer because it contains some flavonoids compounds are chalcones, c-glycoflavonols, chatechin and quercetin. The ability of endophytic bacteria to produce similar bioactive compounds with its host plant is potential source to get flavonoids compounds. This research aims to know ability of endophytic bacteria in produce flavonoids compounds *in vitro*. Each isolate was fermented in submerged culture with 0.1% soluble starch, 0.5% pepton, and 0.15% yeast extract medium for 5 days, then extracted with ethyl acetate. Flavonoid content of the extract then was tested qualitatively and confirmation test used thin layer chromatography. Qualitative test results showed that crude extract from isolates B₄, B₅, B₁₀, B₁₇, and B₁₉ positive containing flavonoids. The most potent extract were B₁₀ and B₁₉ tested by thin layer chromatography. Two of these extracts had the same R_f value with quercetin, thus endophytic bacteria from tea mistletoe can produce flavonoids *in vitro*.

Keywords: Tea mistletoe (*S. Atropurpurea* BL. Dans), endophytic bacteria, flavonoids, quercetin.

ABSTRAK

Benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) merupakan tanaman obat yang dimanfaatkan sebagai antikanker karena mengandung beberapa senyawa flavonoid yaitu kalkon, flavonon, c-glycoflavonol, katekin dan kuersetin. Kemampuan bakteri endofit untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya merupakan sumber yang potensial untuk mendapatkan senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endofit dari benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) dalam menghasilkan senyawa flavonoid secara *in vitro*. Setiap isolat dikultur pada media cair dengan komposisi: 0,1 % *soluble starch*, 0,5 % pepton, dan 0,15 % *yeast extract* selama 5 hari dan supernatan diekstraksi dengan pelarut etil asetat. Ekstrak diuji kandungan flavonoidnya secara kualitatif melalui reaksi warna. Uji penegasan dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil uji kualitatif flavonoid menunjukkan bahwa lima dari dua belas isolat positif menghasilkan flavonoid yaitu isolat B₄, B₅, B₁₀, B₁₇, dan B₁₉. Kandungan flavonoid paling tinggi adalah ekstrak B₁₀ dan B₁₉. Kromatografi lapis tipis dari kedua ekstrak tersebut menunjukkan salah satu nilai R_f dari kedua ekstrak sama dengan kuersetin standar yaitu 0,69 dan 0,68, sehingga mengindikasikan bahwa ekstrak metabolit sekunder isolat B₁₀ dan B₁₉ mengandung flavonoid kuersetin.

Kata kunci: Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans), bakteri endofit, flavonoid, kuersetin.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman obat, salah satunya adalah benalu teh (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans), tanaman ini merupakan tanaman pengganggu yang hidup pada tanaman teh (*Thea sinensis* L.) yang sangat potensial sebagai

sumber obat-obatan. Penggunaan tanaman ini secara tradisional dilakukan dengan cara merebus daun benalu teh kering dan meminum air hasil rebusannya[1]. Menurut Widyastuti [2] tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai obat kanker, antara lain: kanker rahim, kanker payudara, kanker usus dan kistal.

Daun benalu teh mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu kalkon, flavonon, c-glycoflavonol, dan katekin [2]. Ikawati dkk. [3] menjelaskan bahwa daun tanaman ini juga mengandung kuersetin dengan kadar sebesar 9,6 mg/g. Senyawa-senyawa tersebut termasuk golongan flavonoid yang merupakan senyawa fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ [4].

Pemanfaatan benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) sebagai sumber obat memiliki keterbatasan ketika akan dikembangkan dalam skala industri. Berbagai kendala yang ditemukan adalah tanaman ini membutuhkan inang yang spesifik, jumlah tumbuhan yang terbatas (sulit ditemukan), membutuhkan lahan yang luas untuk produksi, siklus hidup tumbuhan yang relatif lama dan produksi senyawa aktif dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Srikandance dkk. [5] menambahkan bahwa peraturan pemerintah maupun internasional yang melindungi kelestarian alam menyebabkan pengambilan tumbuhan maupun usaha pengembangan kultivar tumbuhan keluar dari daerah asalnya mengalami hambatan.

Salah satu cara untuk memproduksi metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit, bakteri ini merupakan mikroorganisme yang sebagian atau seluruh siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit [6]. Tan & Zou [7] menyatakan bahwa mikroorganisme endofit yang hidup di dalam tanaman dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder sama dengan inangnya yang diduga sebagai akibat koevolusi dan transfer gen (*genetic recombination*) dari tanaman inang ke mikroorganisme tersebut. Beberapa penelitian telah memperkuat pendapat ini, antara lain: bakteri endofit *Streptomyces diastaticus* dari tanaman brotowali (*Tinospora crispa*) mampu memproduksi senyawa flavonoid auron [8]; bakteri endofit *Bacillus polymixa* dari tanaman anuma (*Artemisia annua*) mampu memproduksi artemisin yang merupakan senyawa bioaktif antimalaria [9]; bakteri endofit *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp., *Bacillus cereus* strain ChST, dan *Lysinibacillus* sp. dari tanaman *Miquelia dentata* Bedd. mampu memproduksi *Camptothecin* [10].

Benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) merupakan tanaman obat yang mengandung beberapa jenis

flavonoid. Bakteri endofit yang hidup di dalam tanaman ini kemungkinan memiliki kemampuan yang sama untuk memproduksi flavonoid, sehingga perlu dilakukan pengujian untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit tersebut dalam memproduksi flavonoid secara *in vitro*.

Pemanfaatan bakteri endofit sebagai sumber senyawa bioaktif memiliki beberapa keuntungan, antara lain: tidak memerlukan lahan yang luas untuk tumbuh dan membutuhkan waktu yang lebih pendek untuk dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder bila dibandingkan dengan menumbuhkan tanaman inangnya [6] menghasilkan senyawa bioaktif dengan mutu yang seragam [11]. Keuntungan-keuntungan tersebut sangat baik dari segi ekonomi, sehingga dapat diterapkan untuk skala industri.

Bahan dan Metode

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2013 – Mei 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang. .

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: isolat bakteri endofit benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) dari Perkebunan Teh Medini, Kendal-Jawa Tengah, *soluble starch*, pepton, *yeast extract*, spirtus, akuades, alkohol, etil asetat, kuersetin, cat Gram A, Gram B, Gram C dan Gram D, NA (*Nutrient Agar*), silika gel F₂₅₄ (Merck), serbuk magnesium, asam klorida, amil alkohol, kloroform, metanol, tisu, label, kapas, kertas, plastik.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: erlenmeyer, corong pemisah, mikropipet 100-1000 µl, mikropipet 10-100 µl, tip biru dan tip kuning, cawan petri, *hot plate*, gelas ukur, pipa kapiler, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *spirtus burner*, *rotary evaporator*, *oven*, jarum ose bulat, *autoclave*, *sentrifuge*, *rotary shaker*, inkubator, lampu UV, gelas beker, batang pengaduk, botol fial, *stopwatch*, neraca, sendok, pinset, penggaris.

Cara Kerja

Peremajaan Isolat Bakteri Endofit

Peremajaan isolat bakteri endofit dilakukan dengan cara mengambil koloni bakteri sebanyak satu ose dan menggoreskannya pada media *nutrient agar* (NA) miring di dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Isolat yang tumbuh diamati morfologi koloninya dan dilakukan karakterisasi morfologi selnya.

Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri

Pengecatan gram dilakukan dengan membuat apusan isolat bakteri, isolat bakteri selanjutnya ditetesi dengan larutan cat Hucker's Crystal violet selama satu menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Apusan selanjutnya ditetesi larutan Mordan Lugol's Iodine selama satu menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Apusan selanjutnya ditetesi alkohol 96% selama 30 detik, lalu dibilas dengan air dan dikeringanginkan. Apusan isolat selanjutnya diwarnai dengan larutan Safranin selama dua menit dan dibilas kembali dengan air mengalir, lalu dikeringanginkan. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

Persiapan Kultur

Isolat yang telah diremajakan pada media NA diambil sebanyak satu ose dan digoreskan pada tabung reaksi yang berisi media YSA miring dengan komposisi: 0,1% *soluble starch*, 0,5% pepton dan 0,15% *yeast extract*, agar 1,5%.

Kultur Bakteri Endofit

Bakteri endofit ditumbuhkan di dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml media cair dengan komposisi: 0,1% *soluble starch*, 0,5% pepton dan 0,15% *yeast extract* dengan pH 7, disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit, kemudian diinkubasi selama 5 hari dengan agitasi 120 rpm pada suhu ruang [12].

Ekstraksi Metabolit Sekunder Bakteri Endofit

Kultur bakteri dimasukkan ke dalam tabung steril, lalu di sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan bagian pellet dan supernatan, kemudian supernatan diberi etil asetat

(rasio 1:1 v/v). Etil asetat digunakan karena bersifat semi polar sehingga memiliki rentang polaritas yang lebar dari non polar hingga polar, dengan demikian dapat melarutkan senyawa flavonoid yang bersifat polar. Campuran selanjutnya dikocok terus menerus di dalam corong pemisah selama 15 menit, hingga terbentuk tiga lapisan. Lapisan atas diambil dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak yang mengandung metabolit sekunder bakteri [13]. Ekstrak tersebut selanjutnya digunakan untuk diuji kandungan flavonoidnya.

Uji Kualitatif Flavonoid

Sebanyak 0,01 gr ekstrak ditambahkan 1 ml akuades, kemudian dikocok. Ekstrak selanjutnya diberi serbuk magnesium sebanyak 0,05 gr dan 0,5 ml HCl, kemudian diberi amil alkohol sebanyak 0,5 ml. Warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid [14]. Kuersetin standar sebanyak 0,01 gr digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif dibuat dengan mengekstrak media produksi steril yang tidak diinokulasikan bakteri endofit, kemudian diuji dengan larutan yang sama.

Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak metabolit sekunder bakteri endofit dengan kandungan flavonoid paling tinggi dilakukan uji konfirmasi dengan menggunakan KLT. Plat KLT silika gel F₂₅₄ diaktifkan dengan pemanasan di dalam oven pada suhu 110°C selama 15 menit. Sebanyak 0,01 gr ekstrak metabolit sekunder bakteri dan kuersetin standar, masing-masing dilarutkan dengan 0,5 ml etil asetat, kemudian ditotolkan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, kemudian dikeringkan dan dielusi dengan eluen kloroform: metanol (1:4). Elusi dilakukan dengan cara meletakkan plat KLT secara vertikal di dalam gelas tertutup. Elusi dihentikan setelah eluen sampai pada garis batas atas. Bercak noda pada permukaan plat diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 365 nm, kemudian dihitung R_f-nya [15]

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh komponen}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

Hasil dan Pembahasan

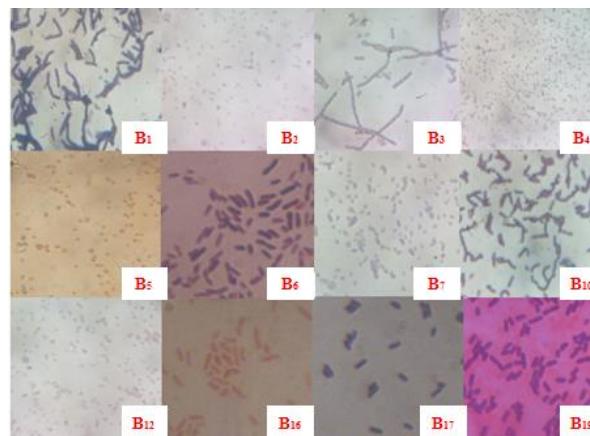
Isolat bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolasi dari benalu teh (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) di Perkebunan Teh Medini, Kendal- Jawa Tengah yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya [16]. Isolat yang telah didapatkan diremajakan dan dikarakterisasi kembali untuk melihat karakter dari masing-masing isolat. Hasil karakterisasi menunjukkan terdapat dua belas isolat dengan morfologi koloni dan sel yang berbeda yaitu isolat B₁, B₂, B₃, B₄, B₅, B₆, B₇, B₁₀, B₁₂, B₁₆, B₁₇ dan B₁₉.

kesamaan yaitu berbentuk *irregular*, sedangkan dari segi tepian, elevasi dan permukaan isolat B₁, B₃, B₇ dan B₁₇ memiliki kesamaan koloni yaitu tepian *undulate*, dengan elevasi *raised* dan permukaan mengkilap. Isolat B₂ dan B₁₉ memiliki tepian *undulate*, dengan elevasi *raised* dan permukaan tidak mengkilap. Isolat B₄ dan B₁₂ memiliki tepian *undulate*, dengan elevasi *flat* dan permukaan mengkilap. Isolat B₅ dan B₆ memiliki tepian *lobate*, elevasi *raised* dan permukaan tidak mengkilap. Isolat B₁₀ dan B₁₆ memiliki tepian *lobate*, elevasi *raised* dan permukaan mengkilap. Seluruh isolat memiliki perbedaan dari segi warna dan karakteristik optik.

Tabel 1 menunjukkan bahwa dari segi bentuk koloni seluruh isolat bakteri secara umum memiliki

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Endofit Benalu Teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans)

Isolat Bakteri	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Karakteristik Optik	Permukaan	Gram (+/-)	Bentuk Sel
B ₁	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan	<i>Opaque</i>	Mengkilap	+	Diplobasil
B ₂	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Tidak Mengkilap	-	Monokokus
B ₃	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Mengkilap	-	Streptobasil
B ₄	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>	Putih Bening	<i>Transparent</i>	Mengkilap	-	Monokokus
B ₅	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Tidak Mengkilap	-	Monokokus
B ₆	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Opaque</i>	Tidak Mengkilap	+	Monobasil
B ₇	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Mengkilap	-	Monokokus
B ₁₀	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Mengkilap	+	Diplobasil
B ₁₂	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Mengkilap	-	Monokokus
B ₁₆	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Raised</i>	Putih	<i>Translucent</i>	Mengkilap	-	Monobasil
B ₁₇	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan	<i>Translucent</i>	Mengkilap	+	Monobasil
B ₁₉	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan	<i>Translucent</i>	Tidak Mengkilap	+	Monobasil



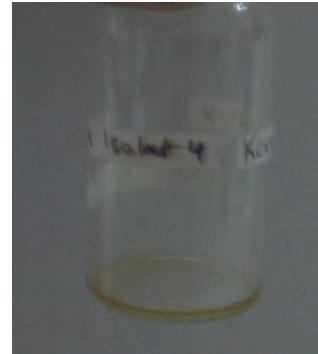
Gambar 1. Morfologi sel isolat bakteri bakteri endofit benalu teh (*S. Atropurpurea* BL.Dans) perbesaran 1000 kali.

Gambar 1. memperlihatkan bentuk sel dan reaksi pewarnaan gram yang menunjukkan bahwa lima isolat merupakan bakteri gram positif dan tujuh isolat lainnya merupakan bakteri gram negatif, dengan bentuk sel yang bervariasi (Tabel 1.).

Semua isolat bakteri endofit yang didapatkan merupakan bakteri yang dapat dikulturkan dan tidak dapat mewakili semua populasi mikroorganisme endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans). Menurut Sharma *et al.* [17] lebih dari 99% bakteri adalah *unculturable* atau tidak dapat ditumbuhkan pada media sintetik.

Dua belas isolat selanjutnya dikultur dan diekstraksi metabolit sekundernya dengan menggunakan metode Ahamed [13]. Hasil ekstraksi memperlihatkan bahwa seluruh isolat menghasilkan ekstrak berwarna kuning

pekat (Gambar 2.), dengan berat ekstrak yang bervariasi (Tabel 2.)



Gambar 2. Ekstrak metabolit sekunder dari bakteri endofit benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans)

Tabel 2. Hasil uji kualitatif flavonoid pada ekstrak metabolit sekunder bakteri endofit (*S. Atropurpurea* BL. Dans)

Ekstrak	Berat ekstrak (mg) /100 ml kultur	Flavonoid	Warna	Senyawa Aktif
Kuersetin	10	++	Kuning kuat	Kuersetin
Media	-	-	Putih bening	-
B ₁	20	-	Putih bening	-
B ₂	10	-	Putih bening	-
B ₃	20	-	Putih bening	-
B ₄	20	+	Kuning	Kuersetin
B ₅	18	+	Kuning	Kuersetin
B ₆	19	-	Putih bening	-
B ₇	20	-	Putih bening	-
B ₁₀	20	++	Merah muda	Katekin
B ₁₂	19	-	Putih bening	-
B ₁₆	15	-	Putih bening	-
B ₁₇	18	+	Kuning	Kuersetin
B ₁₉	20	++	Kuning kuat	Kuersetin

*Keterangan: (+): intensitas warna lemah; (++): intensitas warna kuat; (-): tidak terdeteksi

Uji kualitatif flavonoid yang dilakukan menurut metode Harborne [14] menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder dari isolat B₄, B₅, B₁₀, B₁₇ dan B₁₉ positif mengandung flavonoid (Tabel 2). Ekstrak B₁₉ menunjukkan reaksi positif yang sama dengan kuersetin, maka kemungkinan ekstrak B₁₉ mengandung kuersetin, sedangkan ekstrak B₁₀ diduga mengandung flavonoid katekin karena menghasilkan reaksi warna yang sama dengan katekin. Sukadana [18] menguji kandungan flavonoid pada buah

belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) dan hasilnya menunjukkan warna merah muda yang diidentifikasi sebagai senyawa flavonoid katekin.

Prekursor senyawa flavonoid adalah glukosa dan fenilalanin. Glukosa dapat diperoleh dari hasil pemecahan amilum menjadi glukosa dan maltosa oleh enzim amilase. Menurut Pandey & Sohng [19] glukosa akan memasuki jalur glikolisis dan siklus krebs. Salah satu produk dari siklus krebs yaitu asam

sitrat akan diubah menjadi malonil-CoA, sedangkan fenilalanin yang merupakan asam amino dapat diperoleh dari pepton dan *yeast extract*. Fenilalanin kemudian diubah menjadi 4-coumaril-CoA melalui jalur fenilpropanoida yang selanjutnya berkondensasi dengan malonyl-CoA, sehingga terbentuk kalkon yang merupakan senyawa intermediet dalam biosintesis flavonoid.

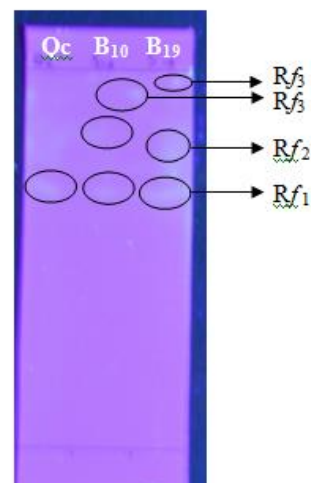
Tujuh isolat bakteri endofit lainnya, yaitu B₁, B₂, B₃, B₆, B₇, B₁₂ dan B₁₆ tidak dapat memproduksi flavonoid kemungkinan karena tidak memiliki enzim amilase, sehingga tidak dapat menggunakan pati sebagai sumber karbon, dengan demikian sumber karbon diperoleh dari pepton dan *yeast extract*, sehingga hanya cukup untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan bakteri tersebut dan tidak dapat memproduksi flavonoid. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan glukosa sebagai sumber karbon untuk dapat melihat kemampuan bakteri endofit dalam memproduksi flavonoid.

Hasil pengujian ini memperkuat dugaan keterkaitan antara metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman inang dengan mikroorganisme endofit yang hidup di dalamnya. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak tanaman benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) mengandung flavonoid jenis kuersetin [20]; empat senyawa flavan yaitu *catechin*, *epicatechin*, *epicatechin-3-O-gallate* dan *epigallocatechin-3-O-gallat* [21].

Senyawa flavonoid dari benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) dilaporkan memiliki fungsi sebagai obat-obatan, antara lain: meningkatkan kadar nitrit oksida (NO) arteri dan menurunkan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus hipertensi yang berperan penting pada disfungsi endotel dan stress oksidatif [22]; aktivitas antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* [23]; antikanker dengan efek profilaksis maupun kuratif terhadap karsinogenesis nasofaring pada mencit C₃H [24]; aktivitas antioksidan [25]; inhibitor terhadap invasi sel kanker [21].

Kandungan flavonoid yang paling tinggi dapat dilihat dari intensitas warna yang dihasilkan pada lapisan amil alkohol. Menurut Harborne [14] intensitas warna yang lebih pekat menunjukkan kadar flavonoid

yang lebih tinggi. Ekstrak yang mengandung flavonoid paling tinggi adalah ekstrak B₁₀ dan B₁₉. Ekstrak ini selanjutnya diuji kembali dengan kromatografi lapis tipis untuk menegaskan hasil yang didapat dari uji kualitatif flavonoid. Hasil analisis kromatografi ekstrak B₁₀ dan B₁₉ pada panjang gelombang 365 nm dapat dilihat pada Gambar 3. dan Tabel 3.



Gambar 3. Hasil KLT ekstrak bakteri endofit pada sinar UV (λ 365 nm)

Tabel 3. Nilai Rf noda KLT

Rf	Kuersetin	B ₁₀	B ₁₉
Rf ₁	0,69	0,69	0,68
Rf ₂	-	0,75	0,71
Rf ₃	-	0,85	0,94

Gambar 3. memperlihatkan bercak noda berwarna hijau pada plat KLT dengan penyinaran pada panjang gelombang 365 nm. Menurut Wagner *et al.* [15] senyawa golongan flavonoid akan menunjukkan bercak noda berupa fluoresen hijau kuning di bawah UV 366 nm. Senyawa kuersetin hanya memiliki satu bercak noda karena merupakan senyawa murni, sedangkan ekstrak B₁₀ dan B₁₉ memiliki tiga bercak noda. Hal ini disebabkan kedua ekstrak tersebut merupakan ekstrak kasar, sehingga masih mengandung senyawa-senyawa lain.

Tabel 3. menunjukkan nilai Rf dari masing-masing sampel, nilai ini digunakan sebagai perbandingan

relatif antar sampel. Lipy [26] menyatakan bahwa nilai R_f dapat dijadikan sebagai bukti dalam mengidentifikasi senyawa. Senyawa-senyawa dengan nilai R_f yang sama menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Salah satu bercak noda dari ekstrak B₁₀ memiliki nilai R_f yang sama dengan kuersetin standar yaitu 0,69. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak B₁₀ mengandung flavonoid kuersetin. Ekstrak B₁₉ menghasilkan tiga bercak noda, salah satu diantaranya memiliki nilai R_f sebesar 0,68 yang relatif sama dengan kuersetin standar sehingga ekstrak B₁₉ juga kemungkinan mengandung kuersetin.

Penemuan isolat bakteri endofit dari benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) yang mampu memproduksi flavonoid secara *in vitro* dapat memperkuat pendapat Tan & Zou [7] yang menyatakan bahwa setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroorganisme endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder sama dengan inangnya yang diduga sebagai akibat koevolusi dan transfer gen (*genetic recombination*) dari tanaman inang ke mikroorganisme tersebut.

Bakteri endofit dari benalu teh (*S. Atropurpurea* BL. Dans) yang mampu memproduksi senyawa flavonoid secara *in vitro* memiliki prospek yang sangat baik dibidang industri. Produksi senyawa ini dapat dilakukan tanpa harus mengambil benalu teh untuk dijadikan sebagai simplisia.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh bahwa ekstrak metabolit sekunder isolat bakteri endofit benalu teh (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) B₄, B₅, B₁₀, B₁₇ dan B₁₉ positif menunjukkan adanya flavonoid. Ekstrak B₁₀ dan B₁₉ memiliki kandungan flavonoid paling tinggi karena menghasilkan reaksi positif dengan intensitas warna yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak metabolit sekunder bakteri lainnya. Analisis kromatografi lapis tipis mengindikasikan bahwa ekstrak B₁₀ dan B₁₉ mengandung flavonoid kuersetin.

Daftar Pustaka

- [1] Bayu Satya, (2013), *Koleksi Tumbuhan Berkhasiat*, Yogyakarta: Rapha Publisihing, 155
- [2] A. Widyastuti, (2013), *Terapi Herbal Ragam Kanker pada Wanita*, FlashBooks, Yogyakarta
- [3] Muthi' Ikawati, Andy Eko Wibowo, Navista Sri Octa U, Rosa Adelina, (2008), *Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen Antikanker*, in, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- [4] N. V. Yanishlieva-Maslarova, J. Pokorny, N. Yanishljeva, M. H. Gordon, (2001), *Antioxidants in food: practical applications*, Antioxidants in food: practical applications,
- [5] Y. Srikandance, Y. Hapsari, P. Simanjuntak, (2007), *Seleksi Mikroba Endofit Curcuma zedoaria dalam Memproduksi Senyawa Kimia Antimikroba*, Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5 (2), 77-84
- [6] Gary Strobel, Bryn Daisy, (2003), *Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products*, Microbiology and molecular biology reviews, 67 (4), 491-502
- [7] R. X. Tan, W. X. Zou, (2001), *Endophytes: a rich source of functional metabolites*, Natural product reports, 18 (4), 448-459
- [8] Sri Pujiyanto, Rejeki Siti Ferniah, (2010), *Aktifitas Inhibitor Alpha-Glukosidase Bakteri Endofit PR-3 yang Diisolasi dari Tanaman Pare (momordica charantia)*, Bioma, 12 (1), 1-5
- [9] P Simanjuntak, Otovina DM Bustanussalam, M Rahayuningsih, EG Said, (2004), *Isolasi dan identifikasi artemisinin dari hasil kultivasi mikroba endofit dari tanaman Artemisia annua.[studi mikroba endofitik tanaman Artemisia spp.]*, Majalah Farmasi Indonesia, 15 (2), 68-74
- [10] S Shweta, J Hima Bindu, J Raghu, HK Suma, BL Manjunatha, P Mohana Kumara, G Ravikanth, KN Nataraja, KN Ganeshaiiah, R Uma Shaanker, (2013), *Isolation of endophytic bacteria producing the anti-cancer alkaloid camptothecine from Miquelia dentata Bedd.(Icacinaceae)*, Phytomedicine, 20 (10), 913-917

- [11] DN Susilowati, R Saraswati, E Yuniarta, (2003), *Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik dan Penghasil Zat Pamacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung*, in: Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Balai penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, pp. 128-143.
- [12] Haimin Chen, Xiaojun Yan, Wei Lin, Li Zheng, Weiwei Zhang, (2004), *A New Method for Screening α -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms*, *Pharmaceutical biology*, 42 (6), 416-421
- [13] Niyaz Ahamed MI, (2012), *Isolation and identification of secondary metabolites producing organisms from marine sponge*, *Discovery*, 1 (1), 14-17
- [14] Jeffrey B. Harborne, (2006), *Pharmacological Application of Plant Phytochemicals*, *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3rd Edn., Chapman. Hall, London, 211-217
- [15] Hildebert Wagner, Sabine Bladt, Eva Maria Zgainski, (1984), *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*,
- [16] J. A. Priyanto, J. Syaifullah, D. Pusari, N. R. S. Triyana, T. A. Gumilar, (2013), *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibiotik dari Bakteri Endofit Benalu Teh (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) di Perkebunan Teh Medini, Kendal*, in, Universitas Diponegoro, Semarang.
- [17] Rakesh Sharma, Ravi Ranjan, Raj Kishor Kapardar, Amit Grover, (2005), *Unculturable bacterial diversity: an untapped resource*, *Current Science*, 89 (1), 72-77
- [18] I M Sukadana, (2009), *Senyawa antibakteri golongan flavonoid dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn. L)*, *Journal of Chemistry*, 3 (2),
- [19] Ramesh Prasad Pandey, Jae Kyung Sohng, *Genetics of flavonoids*, in: *Natural Products*, Springer, 2013, pp. 1617-1645.
- [20] Fitrya, (2011), *Fitrya. 2011. Flavonoid Kuersetin dari Tumbuhan Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* BL. Dans)*. *Jurnal Penelitian Sains*, 14 (4), 33-37
- [21] Kazuyoshi Ohashi, Hendig Winarno, Mutsuko Mukai, Masahiro Inoue, Made Sri Prana, Partomuan Simanjuntak, Hirotaka Shibuya, (2003), *Indonesian Medicinal Plants. XXV. Cancer Cell Invasion Inhibitory Effects of Chemical Constituents in the Parasitic Plant *Scurrula atropurpurea* (Loranthaceae)*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51 (3), 343-345 10.1248/cpb.51.343
- [22] N. Athiroh, E. Sulistyowati, (2013), *Scurrula atropurpurea Increases Nitric Oxide and Decreases Malondialdehyde in Hypertensive Rats*, *Univ. Medic*, 32 (1), 109-116
- [23] Sayantan Tripathi, Souradut Ray, Pijush Kanti Das, Amal Kumar Mondal, Nagendra Kumar Verma, (2013), *Antimicrobial Activities of Some Rare Aerial Hemi Parasitic Taxa of South West Bengal, India*, *International Journal of Phytopharmacology*, 4 (2), 106-112
- [24] H. Sulisty, (2008), *Inhibisi Aktivitas Proliferasi Sel dan Perubahan Histopatologic Epitelial Mukosa Nasofaring Mencit C3H dengan Pemberian Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula atropurpurea*)*. Tesis. Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik, Universitas Diponegoro, Semarang., in: Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik, Universitas Diponegoro, Semarang.
- [25] Siti Irma Rahmawati, Nobuyuki Hayashi, (2012), *The effects of batch reactor extraction on antioxidant activity from *Scurulla atropurpurea**, *American Journal of Applied Sciences*, 9 (3), 337
- [26] Peter Lipsy, (2010), *Thin Layer Chromatography Characterization of the Active Ingredients in Excedrin and Anacin*, in, Department of Chemistry and Chemical Biology, Stevens Institute of Technology, Castle Point on Hudson.