



Teknik Isolasi dan Penentuan Struktur Mangiferin: Senyawa Aktif dari Tanaman Mangga (*Mangifera indica* L.)

Luluk Luqyana Zahrah Taqjudina Mahdiyah*, Ahmad Muhtadi, Aliya Nur Hasanah

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21 Jatinangor 45363
*Email : luluk16001@mail.unpad.ac.id
(Submit 8/5/2020, Revisi 6/6/2020, Diterima 3/8/2020)

Abstrak

Tanaman mangga (*Mangifera indica* L.) adalah tanaman berbuah musiman yang banyak terdapat di Indonesia. Secara umum, daun tanaman ini mengandung saponin, alkaloid, fenol, tannin, flavonoid, steroid, diterpene dan glikosida. Senyawa metabolit sekunder yang umum ditemukan dalam tanaman ini adalah mangiferin (2-C- β -D-glucopyranosyl-1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone), yang termasuk dalam golongan polifenol. Mangiferin memiliki beberapa aktivitas seperti antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, dan antihiperlipidemia. Artikel ini membahas teknik isolasi mangiferin dan elusidasi strukturnya yang dilakukan dengan kombinasi spektrofotometri infra merah, Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/LC-MS*), dan spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (*Nuclear Magnetic Resonance/NMR*) baik berupa ^1H -NMR ataupun ^{13}C -NMR. Metode yang digunakan adalah review pustaka dengan pustaka yang digunakan sebanyak 34 artikel yang berasal dari jurnal internasional. Hasil yang didapatkan yaitu isolasi mangiferin dari tanaman mangga dapat dilakukan dengan metode refluks, soxhletasi, partisi tiga fase atau dengan bantuan microwave. Dari hasil tersebut, ditemukan bahwa ekstraksi dengan bantuan microwave memberikan persentase mangiferin lebih tinggi dari metode lain. Tetapi, penggunaan skala besar masih jarang dilakukan karena kemampuan penetrasi microwave yang rendah sehingga ada kemungkinan pemanasan kurang merata.

Kata Kunci: Tanaman mangga, mangiferin, isolasi, elusidasi struktur
Outline

- Pendahuluan
- Metode
- Hasil dan Pembahasan
- Kesimpulan
- Daftar Pustaka

Pendahuluan

Tanaman mangga berasal dari kingdom Plantae, divisi Tracheophyta, klas Magnoliopsida, ordo Sapindales dan famili Anacardiaceae. Tanaman ini merupakan bagian dari genus *Mangifera* dan memiliki nama spesies *Mangifera indica* L.¹.

Tanaman mangga berasal di Asia Selatan kemudian menyebar ke seluruh Asia Tenggara. Pohon mangga dapat mencapai tinggi hingga 10-40 m. Batangnya tegak dengan percabangan kuat dan dedaunan lebat yang membentuk tajuk. Batang pohon mangga tebal dan kasar serta membentuk sisik pada sisa-sisa tangkai daun².

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menentukan senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun tanaman mangga. Salah satunya adalah penelitian Jutivobbonsuk and Sardsaenjung (2010), pada penelitian tersebut diketahui bahwa daun mangga mengandung flavonol, asam fenolat, ester fenolat, and mangiferin (C-glucoxanthones)³. Penelitian lain dari Laulloo *et al* (2018) menunjukkan bahwa daun ekstrak daun mangga mengandung saponin, alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, glikosida, and diterpen⁴.

Ekstrak daun mangga sendiri telah diteliti memiliki efek farmakologis sebagai antioksidan, antiinflamasi, analgesik, imunomodulator, hepatoprotektor antidiabetes, dan antihiperlipidemia⁵⁻⁶. Banyaknya aktivitas farmakologi dari ekstrak tersebut menyebabkan perlunya diketahui senyawa mana dalam ekstrak daun mangga yang memiliki aktivitas tersebut. Dengan diketahuinya senyawa tersebut, maka dapat ditentukan mekanisme aktivitasnya dalam tubuh dan dilanjutkan penelitiannya sampai menjadi sediaan obat. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa salah satu senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun tanaman mangga adalah mangiferin. Mangiferin memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia, neuroprotektif, pengobatan diabetes, antiinflamasi, dan antikanker⁷. Sampai saat ini belum ada artikel yang membahas berbagai teknik isolasi untuk memperoleh mangiferin dan bagaimana strukturnya ditentukan. Pada artikel review ini akan dibahas berbagai teknik isolasi mangiferin dan penentuan strukturnya yang dirangkum dari berbagai pustaka terkait mangga dan mangiferin.

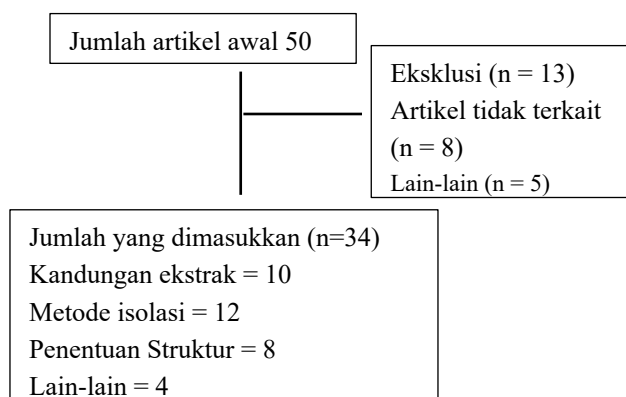
Metode

Review artikel dilakukan dengan metode studi pustaka yang merupakan metode penulisan artikel ilmiah dengan mengumpulkan artikel ilmiah primer ataupun sekunder. Studi pustaka dilakukan dengan mengumpulkan artikel, jurnal atau buku menggunakan media internet dari situs seperti NCBI, *Pubmed*, dan *Google Scholar*.

Pencarian literatur dilakukan menggunakan beberapa kata kunci seperti "*Mangiferin isolation from Mangifera indica leaves*", "*Mangiferin structure elucidation*" serta "*Mangifer spectra*". Dari beberapa artikel yang diperoleh, dipilih 44 artikel yang sesuai dengan tema.

Pembahasan

Penelitian mengenai penapisan fitokimia daun mangga telah banyak dilakukan, salah satunya oleh Laulloo *et al* yang melakukan penapisan dari ekstrak etanol, ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol. Dari penapisan tersebut, diketahui bahwa kandungan glikosida lebih larut dalam pelarut heksana. Senyawa seperti saponin, alkaloid, fenol, tannin, dan flavonoid lebih larut dalam etil asetat, sedangkan steroid hanya larut di etanol dan metanol⁴.

Gambar 1. Bagan Alir *Review Artikel*

Pembahasan

Penelitian mengenai penapisan fitokimia daun mangga telah banyak dilakukan, salah satunya oleh Laulloo *et al* yang melakukan penapisan dari ekstrak etanol, ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol. Dari penapisan tersebut, diketahui bahwa kandungan glikosida lebih larut dalam pelarut heksana. Senyawa seperti saponin, alkaloid, fenol, tannin, dan flavonoid lebih larut dalam etil asetat, sedangkan steroid hanya larut di etanol dan metanol^[4].

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun mangga⁴

Tipe	Etanol	Heksana	Etil asetat	Metanol
Saponin	+	-	+	+
Alkaloid	+	-	+	+
Fenols	+	-	+	+
Tanin	+	-	+	+
Flavonoid	+	-	+	+
Steroid	+	-	-	+
Diterpen	+	+	+	-
Glikosida	+	+	-	-
Pati	-	-	-	-
Antosianin	-	-	-	-
Kumarin	-	-	-	-

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun mangga telah ditentukan jenisnya oleh banyak peneliti. Beberapa senyawa tersebut antara lain dari golongan senyawa fenolat adalah asam galat dan turunannya, asam elagik, dan protokatekuat. Dari golongan xanthone, yang paling banyak terkandung dalam tanaman mangga adalah mangiferin. Sedangkan dari golongan flavonoid adalah kuersetin, rhamnetin dan turunan dari kedua senyawa tersebut^{4, 8-18}.

Tabel 2. Beberapa senyawa yang terkandung dalam daun tanaman mangga (*Mangifera indica* L.)

Golongan	Nama Senyawa	Sumber
Senyawa fenolat	Asam Galat dan turunannya	(Laulloo et al, 2018; Elzaawely & Tawata, 2010; Masibo & He, 2008; Barreto et al, 2008)
	Asam Elagik	(Laulloo et al, 2018; Masibo & He, 2008; Barreto et al, 2008)
	Protokatekuat	(Laulloo et al, 2018; Saleem et al, 2013)
Xanthone	Mangiferin dan turunannya	(Laulloo et al, 2018; Vo et al, 2017; Bhuvaneswari et al, 2013; Salomon et al, 2014; Masibo & He, 2008)
Flavonoid	Kuersetin dan turunannya	(Laulloo et al, 2018; Masibo & He, 2008; Barreto et al, 2008; Schulze-Kaysers et al, 2015)
	Rhamnetin dan turunannya	(Laulloo et al, 2018; Masibo & He, 2008)
Benzofenon	Maclurin dan turunannya	(Laulloo et al, 2018; Barreto et al, 2008; Prommajak et al, 2004)
	Iriflofenon glikosida dan turunannya	(Laulloo et al, 2018; Prommajak et al, 2014; Barreto et al, 2008; Ndoeye et al, 2019)
Terpenoid	Lupeol	(Laulloo et al, 2018; Lerma-Torres et al, 2019; Soujanya, 2017)

Mangiferin (1,3,6,7-tetrahidroxanthone-C-2-b-D-glukosida) adalah senyawa fitokimia aktif yang dilaporkan terdapat dalam berbagai tanaman angiosperma dan paku-pakuan. Salah satu tanaman yang merupakan sumber mangiferin adalah tanaman mangga (*Mangifera indica* L.). Mangiferin adalah xanthon c-glukosida alami dengan rumus molekul $C_{19}H_{18}O_{11}$, berat molekul 422.35, dan titik leleh anhidrat pada 271°C ¹⁹.

Isolasi Mangiferin

Isolasi senyawa mangiferin dapat dilakukan dengan beberapa cara. Dalam artikel ini akan dibahas empat metode isolasi mangiferin, yaitu metode soxhletasi, metode refluks, metode partisi tiga fase (PTF) dan ultrasonik, serta metode *Microwave assisted extraction* (MAE).

Tabel 3. Perbandingan hasil rendemen mangiferin

Metode Ekstraksi	Rendemen Mangiferin	Lama Proses	Sumber
Soxhletasi	1.2%	>1 hari	(Bhuvaneswari, 2013)
Refluks	0.803%	>1 hari	(Vo et al, 2017)
Partisi tiga fase dan ultrasonik	49.2%	25 menit	(Kulkarni & Rathod, 2014)
Microwave assisted extraction	64%	5 menit	(Salomon et al, 2014)

Metode Soxhletasi

Pada metode soxhletasi, bahan simplisia yang telah halus diletakkan pada suatu kantong ekstraksi dalam alat gelas yang bekerja kontinu dengan pelarut yang terus menerus dibalikkan oleh pendingin balik yang kemudian menetes melalui simplisia dan dikumpulkan dalam labu yang berada di bawahnya²⁰.

Penelitian yang dilakukan oleh Bhuvaneswari (2013) diawali dengan menghilangkan lemak dari 100 gr simplisia daun mangga kering yang telah dihaluskan. Penghilangan lemak dilakukan menggunakan petroleum eter pada suhu 60-80°C. Setelah lemak dihilangkan, kemudian simplisia disoxhletasi menggunakan etanol selama 21 jam dan dikentalkan dengan tekanan rendah untuk mendapatkan bentuk semisolid. Zat yang didapatkan kemudian diresuspensi menggunakan 50 mL etanol 50% dan dipartisi dengan 100 mL diklorometana sebanyak 4 kali. Fase etanol dihidrolisis dengan asam sulfat 2N pada pH 3 selama 1 jam menggunakan metode refluks. Kemudian, setelah didinginkan hingga mencapai suhu ruangan, campuran dipartisi dengan 100 mL etil asetat sebanyak tiga kali. Lapisan etil asetat diambil dan dikeringkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*¹².

Fraksi etil asetat yang telah kering dilarutkan dalam etanol dan dibiarkan dalam kulkas selama satu malam. Endapan yang terbentuk diambil dan diisolasi menggunakan filtrasi. Untuk kristalisasi, endapan dilarutkan menggunakan larutan etanol 70% dan didiamkan di kulkas (4-8°C) selama satu malam. Kristal mangiferin yang berwarna kuning pucat dan berbentuk jarum lalu diisolasi dan dikeringkan. Hasil dari penelitian Bhuvaneswari (2013) ini didapatkan kristal mangiferin sebanyak 1,2 gr dari 100 gr simplisia¹².

Metode refluks

Ekstraksi dengan metode refluks merupakan proses ekstraksi padat-cair pada suhu konstan dengan penguapan dan kondensasi pelarut berulang. Proses ini dilakukan dalam rentang waktu tertentu dan tanpa kehilangan pelarut²¹.

Pada umumnya, ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut organik seperti metanol, aseton, etanol, atau campurannya. Tetapi, penggunaan pelarut tersebut harus hati-hati karena mudah terbakar dan toksik. Selain dengan pelarut organik, mangiferin dapat diekstraksi menggunakan air karena mangiferin merupakan xanthone terglisosilasi yang mudah larut dalam air panas. Meskipun begitu, ekstraksi simplisia daun mangga dengan air panas dapat menghasilkan 1,19% - 2,23% mangiferin sebagai produk tidak murni, tergantung kualitas simplisia^[22].

Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan kadar mangiferin yang terekstraksi dengan metode refluks yaitu menggunakan kosolven. Penelitian yang dilakukan oleh Vo *et al* (2017) mencampurkan air dengan propan-2-ol. Rasio yang digunakan yaitu propan-2-ol:air 20:80; 40:60; 60:40; dan 80:20. Dari rasio-rasio tersebut, didapatkan bahwa rasio dengan hasil paling baik adalah propan-2-ol:air 60:40 dengan kadar mangiferin yang didapatkan sebanyak 0.803% dari 100 gr simplisia kering dengan kemurnian mangiferin sebesar 98.2%²².

Isolasi mangiferin yang dilakukan oleh Vo *et al* diawali dengan melakukan refluks daun mangga yang telah dihaluskan menggunakan 800 mL pelarut dari campuran propan-2-ol dan air (60:40) selama 1 jam. Ekstrak kemudian dikentalkan dan dibersihkan dengan 200 mL n-heksana sebanyak 3 kali. Sisanya kemudian ditambahkan dengan 1M H₂SO₄ hingga pH 2 dan direfluks selama 1 jam. Larutan yang terbentuk lalu dikentalkan hingga 40 mL dan ditambahkan 40 mL dioksan dan 0,5 gr karbon aktif. Campuran yang dihasilkan lalu dididihkan selama 5 menit kemudian disaring dan didiamkan selama 24 jam pada suhu 4°C. Endapan yang terbentuk dikumpulkan dengan filtrasi, dicuci dengan 30 mL etanol dingin sebanyak tiga kali dan dikeringkan selama 3 jam pada suhu 100°C. Dari prosedur ini, didapatkan 1.46 gr mangiferin teknis dengan tingkat kemurnian 88.6%²².

Mangiferin teknis yang didapat lalu direkristalisasi dengan 75 mL campuran propan-2-ol dan air (50:50 v/v). Campuran dididihkan sambil diaduk selama 5 menit. Larutan kemudian disaring, didinginkan, dan disimpan selama 24 jam pada suhu 4°C. Endapan yang terbentuk dikumpulkan dengan filtrasi dan dicuci dengan 30 mL etanol dingin sebanyak 3 kali lalu dikeringkan selama 3 jam pada suhu 100°C sehingga didapatkan mangiferin yang telah dimurnikan sebanyak 1.1 gr dengan tingkat kemurnian 98.2%²².

Metode partisi tiga fase (PTF) dan ultrasonik

Metode partisi tiga fase melibatkan penambahan garam (amonium sulfat) ke dalam suspensi aqueous ekstrak mentah, kemudian diikuti dengan penambahan t-butanol. Campuran kemudian didistribusikan ke dalam dua fase cair yang tak tercampurkan misalkan air dan pelarut organik seperti t-butanol. Kedua lapisan ini nantinya akan terpisahkan oleh lapisan ketiga yang disebabkan oleh pengendapan protein karena garam²³.

Dalam PTF, pada umumnya lemak, enzim dan pigmen terakumulasi dalam fase t-butanol di atas sedangkan molekul polar akan terkonsentrasi di fase air di bawah. Untuk mangiferin, ketika ditambahkan garam pada fase air, terjadi reaksi dehidrasi yang menyebabkan mangiferin terdorong ke fase t-butanol. T-butanol sendiri digunakan karena tidak mudah terbakar dibandingkan dengan heksan, aseton, metanol dan etanol yang biasanya digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi konvensional²⁴.

Penelitian Kulkarni *et al* (2014) menggunakan pembanding ekstraksi soxhlet. Untuk PTF dilakukan optimasi untuk jenis garam yang digunakan, yaitu amonium sulfat, magnesium sulfat dan natrium sulfat. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa amonium sulfat memberikan hasil maksimum untuk mendorong mangiferin ke dalam fase organik. Hal ini disebabkan karena efek dehidratif ion sulfat menyebabkan perubahan kelarutan mangiferin sehingga tidak mudah larut dalam fase air dan mendorong mangiferin ke dalam fase organik. Optimasi juga dilakukan dengan waktu dan frekuensi sonikasi. Waktu divariasi antara 0-40 menit, sedangkan frekuensi yang diuji pada 25 kHz dan 40 kHz. Dari hasil optimasi tersebut, didapatkan bahwa hasil maksimum diperoleh pada waktu sonikasi 25 menit dan frekuensi 25 kHz.

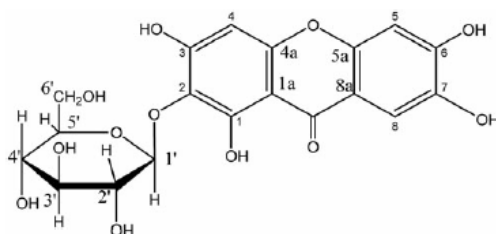
Penelitian dilanjutkan menggunakan hasil optimasi tersebut. Didapatkan bahwa menggunakan metode soxhlet, didapatkan mangiferin sebanyak 57 mg/gr dalam 5 jam sedangkan metode FTP menghasilkan 72% (sekitar 41 mg/gr) dari hasil ekstraksi soxhlet dalam waktu 25 menit. Sehingga metode PTF dapat disebut sebagai metode yang cepat, murah dan menjanjikan untuk mempersingkat proses²³. Metode ini seringkali digunakan untuk memisahkan protein atau makromolekul dari ekstrak.

Metode Microwave assisted extraction (MAE)

Gelombang mikro (microwave) memanaskan molekul melalui dua mekanisme, konduksi ionik dan rotasi dipol²⁵. Target pemanasan dalam simplisia tanaman adalah sisa-sisa cairan yang terdapat dalam sel tanaman. Pemanasan cairan yang disebabkan oleh efek gelombang mikro menyebabkan evaporasi dan menghasilkan tekanan besar pada dinding sel. Dinding sel terdorong ke luar karena tekanan dan akhirnya pecah. Hal ini menyebabkan pengeluaran konstituen aktif dari sel yang pecah sehingga menghasilkan peningkatan kadar fitokonstituen yang didapatkan²⁶. Beberapa faktor dapat mempengaruhi MAE seperti jenis dan volume pelarut, kekuatan mikrowave, lama ekstraksi, suhu, dan sifat matriks²⁷⁻²⁸.

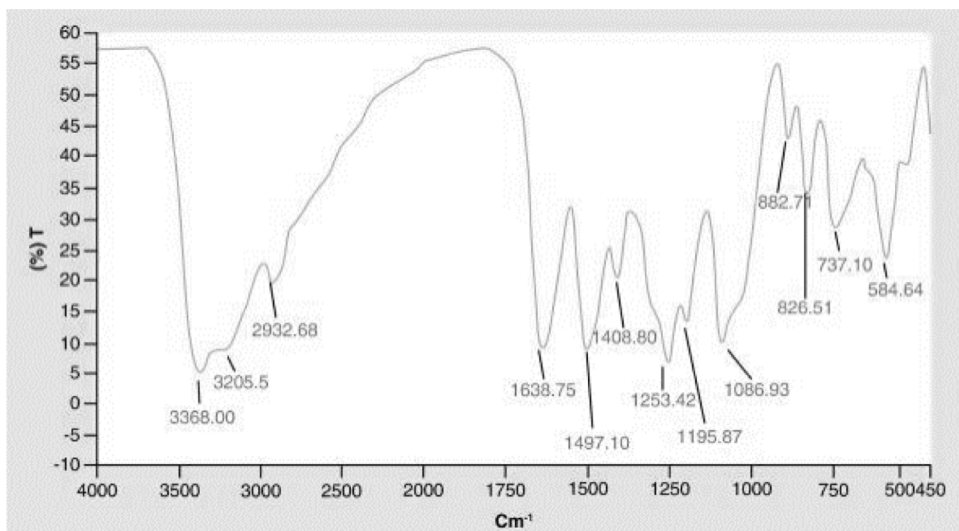
Penelitian yang dilakukan oleh Salomon et al (2014) mengekstraksi mangiferin menggunakan MAE. Dalam penelitian tersebut, digunakan kontrol menggunakan ekstraksi refluks dan dibandingkan dengan hasil MAE. Variabel yang digunakan untuk MAE yaitu daya microwave 900 W, waktu ekstraksi 5 menit, dan rasio pelarut terhadap simplisia 10:1. Dari variabel ini, didapatkan hasil dari MAE sebanyak 63,22%. Hasil yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan metode refluks, yaitu mendekati nilai 64%. Tetapi bila dibandingkan dengan metode refluks, MAE lebih efisien karena konsumsi pelarut lebih rendah dan lama ekstraksi yang lebih sebentar¹³. Metode MAE merupakan metode yang sering digunakan di laboratorium, namun untuk penggunaan skala besar masih terdapat beberapa masalah seperti sulitnya mencapai pemanasan yang merata karena gelombang mikro memiliki kekuatan penetrasi rendah. Permasalahan lain yang timbul yaitu tidak semua peralatan pencampuran dapat digunakan dalam lingkungan microwave, karena bahan-bahan tertentu seperti metal dapat memantulkan gelombang mikro^[34].

Elusidasi Struktur



Gambar 2. Struktur Mangiferin

IR Spektrometri

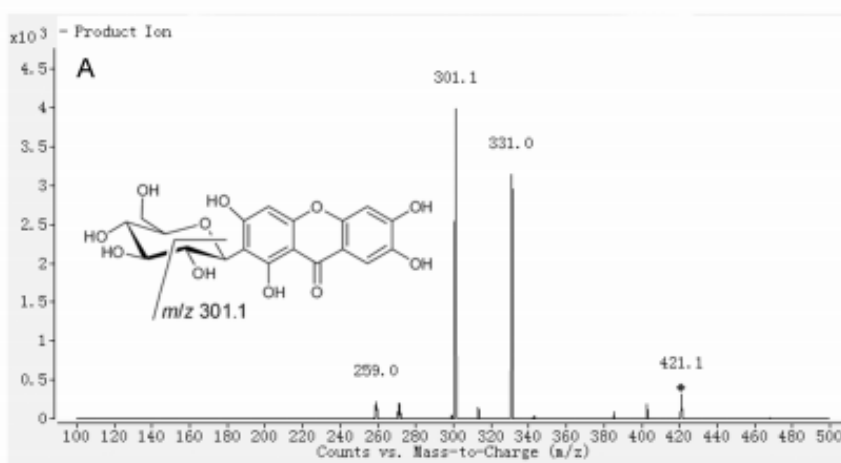


Gambar 3. Spektra IR Mangiferin

Pengujian FTIR mangiferin yang dilakukan oleh Khurana *et al* (2017) menunjukkan mangiferin memiliki gugus fungsi pada puncak 3399 cm^{-1} (O-H_{str}), $2932,8\text{ cm}^{-1}$ (C-H_{str} alifatik), $1636,75\text{ cm}^{-1}$ (C=O_{str}), $1497,10\text{ cm}^{-1}$ ($\text{CH-CH}_{\text{str}}$) dan $1253,42\text{ cm}^{-1}$ (C-O_{str}). Terdapat puncak khas pada $1023,22\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya peregangannya C-C pada struktur mangiferin²⁹.

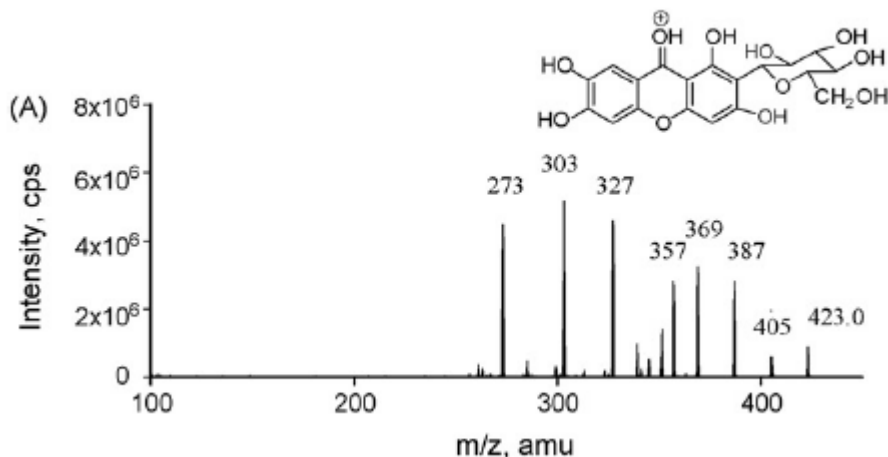
Kromatogram LC-MS

Kombinasi antara kromatografi cair dan spektrofotometri massa sangat membantu dalam identifikasi suatu senyawa. Kolom KCKT dapat memisahkan hampir seluruh senyawa yang terdapat dalam campuran dan spektrometer massa dapat mengionisasi tiap puncak yang terpisah dalam kolom KCKT dan menyediakan berat molekul dari tiap puncak senyawa. Secara umum, sistem KC-SM terdiri dari sistem pompa KCKT, injektor, dan kolom yang kemudian dipasangkan dengan spektrometer massa³⁰.



Gambar 4. Spektrum ion negatif LC-MS/MS Mangiferin

Mangiferin, dalam mode ionisasi elektropray negatif umumnya membentuk ion molekul terdeprotonasi ($M-H$)⁻ pada m/z 421,1 dalam spektrum massa pemindaian penuh. Setelah optimasi tegangan pemecah dan energi tabrakan, ion hasil yang dominan dari mangiferin adalah m/z 301,¹³¹.



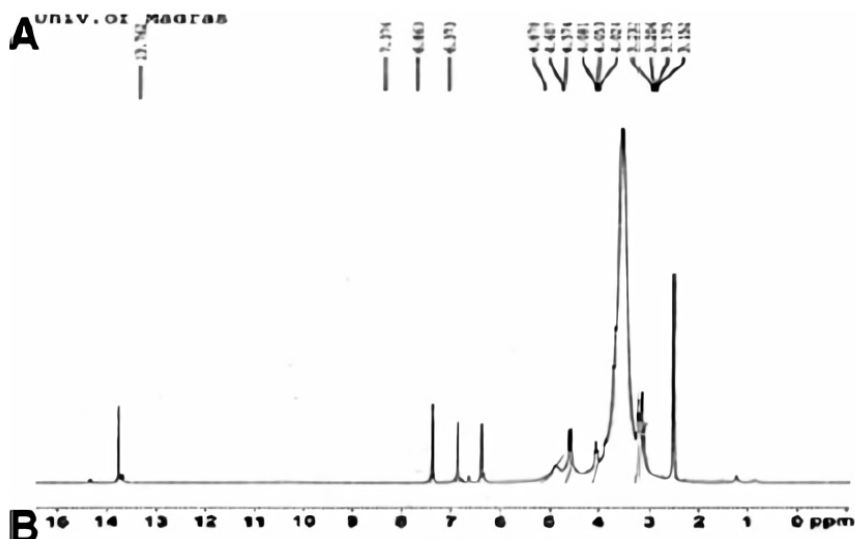
Gambar 5. Spektrum MS/MS ion positif Mangiferin

Dalam mode ion positif, mangiferin menghasilkan ion terprotonasi pada m/z $[M+H]^+$ dan tambahan sodium pada m/z $[M+Na]^+$. Tetapi, pembagian sinyal antara Natrium dan ion terprotonasi mengganggu sensitivitas. Suryawanshi *et al* (2007) menyelidiki kemungkinan adanya pembentukan protonasi kuat atau tambahan amonium, sehingga digunakan dapat amonium asetat dengan kombinasi asetronitril³².

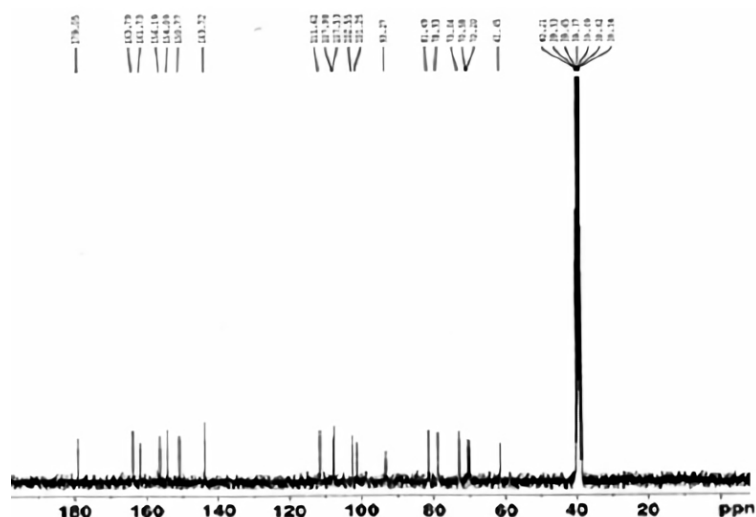
Mangiferin, dalam penelitian menggunakan LC/ESI-MS positif menunjukkan kecenderungan tinggi untuk membentuk *adduct* natrium dalam asetronitril:air. *Adduct* natrium $[M+Na]^+$ merupakan puncak utama yang diharapkan dalam spektra glikosida senyawa fenol. Penelitian Suryawanshi *et al* (2007) dilanjutkan dengan kondisi MS yang optimal dan dilakukan *Multiple Reaction Monitoring* (MRM). Fragmentasi senyawa dilakukan menggunakan *Collisionally Activated Dissociation* (CAD) untuk menginduksi fragmentasi ion. Dari gambar 5 spektrum ion positif Mangiferin, ion pada m/z 423 menunjukkan fragmentasi ion pada m/z 405 dan 387 yang menggambarkan hilangnya dua unit air $[M+H-18]^+$ dan $[M+H-36]^+$ yang kemudian diikuti dengan hilangnya gugus formaldehid $[-HCHO]$ sehingga menghasilkan pecahan ion pada m/z 357. Spektra menunjukkan pecahan ion pada m/z 303 sesuai dengan hilangnya 120 unit massa karena pemecahan pada unit C-glikosida³².

¹H NMR dan ¹³C NMR

Pengujian ¹H NMR mangiferin yang dilakukan oleh Sellamuthu *et al* menunjukkan adanya multiplet yang muncul pada 3.15-3.23 ppm. Puncak ini muncul karena adanya 3 proton mangiferin pada posisi (H-3'), (H-4'), dan (H-5'). Multiplet lainnya muncul pada 3.8 ppm yang disebabkan oleh dua proton (H-6'). Doublet ganda pada 4.05 ppm disebabkan oleh satu proton (H-2'). Doublet yang muncul pada 4.59 ppm disebabkan oleh proton (H-1'). Singlet yang muncul pada 6.37, 6.86, dan 7.37 ppm masing-masing disebabkan oleh proton (H-4), (H-5) dan (H-8)^[33].



Gambar 6. Spektrum ^1H NMR Mangiferin



Spektrum ^{13}C NMR dari mangiferin menunjukkan adanya puncak pada 61.4 ppm yang disebabkan oleh atom karbon (C-6'). Selain itu, puncak lain yang muncul yaitu pada 70.2 dan 70.5 ppm disebabkan oleh atom karbon (C-3', 4'), puncak pada 73.0 ppm disebabkan oleh karbon (C-5'), pada 81.4 ppm diakibatkan oleh karbon (C-1'). Selain itu puncak pada 73.2 ppm disebabkan oleh atom (C-4), 101.2 ppm (C-1a), 102.5 ppm karena atom (C-5), 107.5 ppm karena atom (C-2), 107.9 ppm karena atom karbon (C-8), 111.6 ppm (C-8a), 143.7 ppm (C-7), 150.7 (C-5a), 154.1 ppm disebabkan oleh karbon (C-6), puncak pada 156.2 ppm disebabkan oleh atom (C-4a), pada 161.7 ppm disebabkan karbon (C-1), puncak pada 163.8 ppm disebabkan karbon (C-3), dan puncak pada 179.0 ppm disebabkan oleh karbon (C-0)³³.

Kesimpulan

Isolasi mangiferin dapat dilakukan dengan beberapa cara. Di antaranya adalah metode refluks, soxhletasi, partisi tiga fase dan ultrasonik, dan dengan bantuan microwave.

Diantara ke empat cara tersebut, ekstraksi dengan bantuan microwave menghasilkan kadar mangiferin tertinggi. Tetapi, penggunaan untuk skala besar masih sulit dilakukan karena gelombang mikro memiliki kemampuan penetrasi sampel yang rendah sehingga pemanasan yang merata sulit dicapai. Permasalahan lain yang timbul yaitu tidak semua peralatan pencampuran dapat digunakan dalam lingkungan microwave, karena bahan-bahan tertentu seperti logam dapat memantulkan gelombang mikro. Elusidasi struktur mangiferin dapat dilakukan dengan menggunakan instrumen seperti spektrofotometri IR, LC-MS, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$.

Daftar Pustaka

1. Mehta, I. History of mango – ‘King of Fruits’. *Int J Eng Sci*. 2017; 6(7): 20-4.
2. Kostermans, AJGH, Bompard JM. The mangoes: their botany, nomenclature, horticulture and utilization. London: Academic Press; 1993.
3. Jutivobbonsuk, A & Sardsaenjung C. Mangiferin in leaves of three thai mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Indian J Pharm Sci*. 2010; 6(3): 122-9.
4. Laulloo, SJ, Bhowon MG, Soyfoo S & Chua LS. Nutritional and biological evaluation of leaves of *Mangifera indica* from mauritius. *J Chem*. 2018; [9 p.]
5. Parvez, GMM. Pharmacological activities of mango (*Mangifera Indica*): A Review. *J Parmacogn Phytochem*. 2016; 5(3): 01-07.
6. Ediriweera, MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. A review on ethnopharmacological applications, pharmacological activities, and bioactive compounds of *Mangifera indica* (Mango). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017; [24 p.]
7. Imran, M, Arshad MS, Butt MS, Kwon JH, Arshad MU, Sultan MT. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids Health Dis*. 2017; 16(84): [17 p.]
8. Elzaawely, AA, Tawata S. Preliminary phytochemical investigation on mango (*Mangifera indica* L.) leaves. *World Journal of Agriculture Sciences*. 2010; 6(6): 735-9.
9. Masibo, M & Q He. Major mango polyphenols and their potential significance to human health. *Compr Rev Food Sci F*. 2008; 7: 309-319.
10. Barreto, JC, Trevisan MTS, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein B, Wurtele G, Spiegelhalder B, Owen RW. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *J Agric Food Chem*. 2008; 56(14): 5599-610.

11. Saleem, K, Perveen S, Sarwar N, Latif F, Akhtar KP, Arshad HMI. Identification of phenolics in mango leaves extract and their allelopathic effect on canary grass and wheat. *Pak J Bot.* 2013; 45(5): 1527-35.
12. Bhuvaneswari, K. Isolation of mangiferin from leaves of *Mangifera indica* L. var alphonso. *Asian J Pharm Clin Res.* 2013; suppl 2; 6: 173-4.
13. Salomon, S, Sevilla I, Betancourt R, Romero A, Nuevas-Paz L, Acosta-Esquivarosa J. Extraction of mangiferin from *Mangifera indica* L. leaves using microwave-assisted technique. *Emir J Food Agric.* 2014; 26(7): 616-22.
14. Schulze-Kaysers, N, Feuereisen MM, Schieber A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family – a review. *RSC Adv.* 2015; 5(89): 73301-14.
15. Prommajak, T, Kim SM, Pan CH, Kim SM, Surawang S, Rattanapone N. Identification of antioxidants in young mango leaves by LC-ABTS and LC-MS. *CMU J Nat Sci.* 2014; 13(3): 317-30.
16. Ndoeye, SF, Fraisse D, Akendengue B, Gueye RS, Sall C, Gainche M, Seck I, Felgines C, Seck M, Senejoux F. Bio-guided identification of antiglycative constituents from the leaves of *Mangifera indica* L. *J Med Plants Res.* 2019; 13(6): 129-34.
17. Lerma-Torres, J, Navarro-Ocana A, Calderon-Santoyo M, Hernandez-Vazquez L, Ruiz-Montanez G, Raguzzo-Sanchez JA. Preparative scale extraction of mangiferin and lupeol from mango (*Mangifera indica* L.) leaves and bark by different extraction methods. *J Food Sci Technol.* 2019; 56(10): 4625-31.
18. Soujanya, B, Kumar AK, Sreedhar M, Aparna K, Reddy KR. Quantification of lupeol in selected commercial coloured cultivars of mango (*Mangifera indica* L.) cultivated in Telangana region. *Int J Pure App Biosci.* 2017; 5(4): 2141-6.
19. Biswas, T, Sen A, Roy R, Maji S, Maji HS. Isolation of mangiferin from flowering buds of *Mangifera indica* L and its evaluation of in vitro antibacterial activity. *J Pharm Anal.* 2015; 4(3): 49-56.
20. Najib, A., *Ekstraksi senyawa bahan alam*. Yogyakarta: Deepublisher. 2018.
21. Wang, D, Liu W, Chen G. A simple method for the isolation and purification of resveratrol from *Polygonum cuspidatum*. *J Pharm Anal.* 2013; (3): 241-7.
22. Vo, THT, Nguyen TD, Nguyen QH, Ushakova NA. Extraction of mangiferin from the leaves of the mango tree *Mangifera indica* and evaluation of its biological activity in terms of blockade of α -glucosidase. *Pharm Chem J.* 2017; 51(9): 806-10.
23. Kulkarni, VM, Rathod VK. Extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves using three phase partitioning coupled with ultrasound. *Ind Crop Prod.* 2014; 52: 292-7.

24. Vetal, MD, Shirpurkar ND, Rathod, VK. Three phase partitioning coupled with ultrasound for the extraction of ursolic acid and oleanolic acid from *Ocimum sanctum*. *Food Bioprocess*. 2014; 92(4): 402-8.
25. Smith, BL, Carpentier MH. *The Microwave Engineering Handbook*, Microwave Technology Series. Vol. 1-3. London: Chapman and Hall; 1993.
26. Tatke, P, Jaiswal Y. An overview of microwave assisted extraction and its applications in herbal drug research. *Res J Med Plants*. 2011; 5(1): 21-31.
27. Mandal, V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave assisted extraction – an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacogn Rev*. 2007; 1(1):7-18.
28. Chan, CH, Yusoff R, Ngoh GC, Kung FWL. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J Chromatogr A*. 2011; 1218(37): 6213–25.
29. Khurana, RK, Kaur R, Kaur M, Kaur R, Kaur J, Kaur H, Singh B. Exploring and validating physicochemical properties of mangiferin through GastroPlus® software. *Future Sci OA*. 2017; 3(1): FSO167.
30. McMaster, MC. *LC/MS: A Practical User's Guide*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2005.
31. Cai, F, Sun L, Gao S, Zhan Q, Wang W, Chen W. An improved LC-MS/MS method for the determination of mangiferin in rat plasma and its application in nonlinear pharmacokinetics. *Pharmazie*. 2014; 69(3): 168-72.
32. Suryawanshi, S, Asthana RK, Gupta RC. Simultaneous estimation of mangiferin and four secoiridoid glycosides in rat plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic study of herbal preparation. *J. Chromatogr. B Biomed. Appl*. 2007; 858(1-2): 211-9.
33. Sellamuthu, PS, Aruselman P, Muniappan BP, Fakurazi S, Kandasamy M. Mangiferin from *Salacia chinensis* Prevents Oxidative Stress and Protects Pancreatic β -Cells in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *J Med Food*. 2013; 16(8): 719-2.
34. Li, Y, Radoiu M, Fabiano-Tixier A, Chemat F. From laboratory to industry: scale-up of microwave-assisted reactors, quality and safety consideration for microwave-assisted extraction. In: Chemat F, Cravotto G, editors. *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice*. New York: Springer; 2013.