

**METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI *n*-HEKSAN
BAGIAN KAYU AKAR TUMBUHAN PALIASA (*Kleinhovia
hospita* Linn.) YANG TIDAK AKTIF TERHADAP UDANG
Artemia salina Leach.**



**JAMIUS BIN STEPANUS, S.Si., M.T.
NIP. 198507202019031009**

**FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PAPUA
MANOKWARI
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Metabolit Sekunder Dari Fraksi *n*-Heksan Bagian Kayu Akar Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Yang Tidak Aktif Terhadap Udang *Artemia salina* Leach.

Bidang Fokus : Kimia Bahan Alam

Peneliti
Nama Lengkap : Jamius Bin Stepanus, S.Si., M.T.
NIDN/NIP : 0020118504 / 198507202019031009
Pangkat / Jabatan Fungsional : Penata Muda Tingkat I / Asisten Ahli
Program Studi : Teknik Elektro (*Homebase*)
Teknik Kimia (*background* pendidikan peneliti)

Fakultas : Fakultas Teknik (FT)
Email : j.stepanus@unipa.ac.id

Penggunaan : Laporan penelitian ini diharapkan menjadi bahan referensi bagi yang membutuhkannya dan digunakan sebagai Bukti Kinerja Dosen (BKD) serta melengkapi Daftar Usulan Penetapan Angka Kredit (DUPAK) jabatan akademik dosen.

Manokwari, 30 Juni 2022

Mengetahui,
Dekan Fakultas Teknik,

Peneliti,



Dr. Eng. Adelhard B. Rehiara, S.T., MS
NIP.19750626 200212 1003

A handwritten signature in black ink, which appears to read 'Jamius Bin Stepanus', is written over the text of the researcher's name.

Jamius Bin Stepanus, S.Si., M.T.
NIP.198507202019031009

ABSTRAK

Penelusuran secara etnobotani dan berdasarkan kajian kemotaksonomi serta filogenetik menunjukkan kayu akar tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn. (Paliasa) berpotensi menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur beragam dan bersifat bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan menentukan bioaktivitas metabolit sekunder pada fraksi *n*-heksan yang tidak aktif terhadap udang *Artemia salina* Leach dari kayu akar tumbuhan *K. hospita*. Metode isolasi yang digunakan terdiri dari ekstraksi, fraksinasi dan pemurnian. Identifikasi metabolit sekunder melalui analisis spektroskopi IR sedang uji bioaktivitas senyawa berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) menggunakan *A. salina*. Hasil penelitian diperoleh senyawa yang diduga sebagai steroid alkaloidal dengan nilai toksisitas (LC_{50}) 107,54 $\mu\text{g/mL}$.

Kata kunci : Sterculiaceae, *Kleinhovia hospita* Linn., *Artemia salina* Leach., spektroskopi IR, Steroid alkaloidal.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Uraian Umum Tumbuhan Sterculiaceae.....	4
2.2 Uraian Khusus tentang <i>Kleinhovia hospita</i> Linn.	5
2.2.1 Taksonomi.....	5
2.2.2 Khasiat dan Potensi Pengobatan	6
2.3 Pendekatan Kemotaksonomi.....	6
2.3.1 Terpenoid	6
2.3.2 Steroid	7
2.3.3 Senyawa Fenol dan Asam Fenolat	8
2.3.4 Fenilpropanoid	9
2.3.5 Flavonoid	9
2.3.6 Alkaloid	10
2.4 Pendekatan Filogenetik.....	10
2.5 Uji Bioaktivitas	12
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Bahan Penelitian.....	13
3.2 Alat Penelitian.....	13
3.3 Perlakuan dan Perancangan Percobaan	13

3.3.1 Pengumpulan Sampel	13
3.3.2 Isolasi	13
3.3.3 Identifikasi	14
3.3.4 Uji Toksisitas	14
3.4 Pengamatan	14
3.4.1 Fraksinasi	14
3.4.2 Analisis KLT	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	16
4.1.1 Maserasi dan Ekstraksi	16
4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian	16
4.1.3 Uji Toksisitas	19
4.1.4 Uji Golongan Senyawa	19
4.2 Pembahasan.....	19
4.2.1 Senyawa I.....	19
4.2.2 Nilai Toksisitas (LC ₅₀).....	21
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	22
5.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN... ..	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Bunga dan daun <i>Kleinhovia hospita</i> Linn.	5
2.2 Pohon <i>Kleinhovia hospita</i> Linn.	5
4.1 Kromatogram hasil analisis KLT fraksi O ₁ -O ₁₆	18
4.2 Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi gabungan O ₅₋₆	18
4.3 Hasil uji golongan senyawa I.....	19
4.4 Spektrum IR senyawa I	20

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Spesies Sterculiaceae dan bioaktivitasnya.....	4
2.2 Ekstrak akar spesies Sterculiaceae dan bioaktivitasnya	11
2.3 Senyawa yang diisolasi dari akar spesies Sterculiaceae dan Bioaktivitasnya	11
4.1 Nilai toksisitas (LC ₅₀) fraksi-fraksi dari ekstrak <i>n</i> -heksan.....	17
4.2 Nilai toksisitas (LC ₅₀) ekstrak dan senyawa hasil isolasi.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan isolasi metabolit sekunder ekstrak <i>n</i> -heksan kayu akar tumbuhan paliasa (<i>Kleinhovia hospita</i> Linn.).....	28
2. Kromatogram hasil fraksinasi ekstrak <i>n</i> -heksan	29
3. Bagan fraksi tidak aktif	30
4. Bagan isolasi senyawa I dari fraksi O	31
5. Prosedur uji bioaktivitas dengan metode Mayer	32
6. Bagan uji golongan senyawa	34

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gerakan kembali ke alam (*Back to Nature*) menunjukkan adanya kecenderungan upaya pengurangan penggunaan obat berbahan sintetik dan beralih ke pemanfaatan bahan alam sebagai bahan obat “fitofarmaka”. *World Health Organization* (WHO) dalam merealisasikan visi kesehatan dunia di abad 21 melalui deklarasi Alma-Ata mendukung pengobatan tradisional sebagai pemeliharaan kesehatan dunia (Ismail, 2000). Penggunaan bahan alam semakin diminati oleh masyarakat karena kurangnya efek samping dan memiliki beragam potensi pengobatan untuk berbagai penyakit (Wu *et al.*, 1999). Sebagai contoh penting tentang potensi pengobatan dari bahan alami adalah pare alias paria (*Momordica charantia*) mengandung alpha-momorchorin, beta-momorchorin dan MAP30 (momordica antiviral protein 30) yang bermanfaat sebagai anti HIV-AIDS (Grover dan Yadav, 2004). Sejumlah senyawa oligomer stilbenoid telah dilaporkan pula berpotensi sebagai antitumor, antiinflamasi, anti bakteri, dan anti HIV (Tanaka dkk., 2000).

Dengan demikian, penelitian kimia tumbuhan sebagai sumber bahan obat baru adalah salah satu alternatif untuk menjawab dan memecahkan permasalahan kesehatan. Penelitian ini didasarkan pada penyelidikan etnobotani yang didukung dengan sifat farmakologi dan potensi kimia tumbuhan (Ersam, 2004). Setiap spesies tumbuhan merupakan sumber bahan kimia hayati (*chemical resources*) (Achmad *et al.*, 2001) dimana bahan kimia tersebut banyak ditemukan sebagai senyawa bioaktif yang tergolong sebagai metabolit sekunder yang dapat menjadi sumber inovasi dalam penemuan dan pengembangan obat baru (Atun, 2005).

Hasil survei etnobotani memperlihatkan bahwa salah satu tumbuhan potensial yang banyak ditemukan di daerah Sulawesi Selatan adalah spesies tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn. dikenal dengan nama daerah paliasa (Makassar) atau aju pali (Bugis) (Heyne, 1987). *K. hospita* merupakan spesies tumbuhan berkhasiat dari famili Sterculiaceae (WHO, 2009). Daun *K. hospita* digunakan oleh sebagian masyarakat untuk pengobatan penyakit lever, kuning dan

hepatitis (Raflizar dkk., 2006). Kebiasaan masyarakat ini didukung oleh adanya beberapa penelitian yang menyatakan bahwa infus dari daun *K. hospita* mampu menurunkan kadar kolesterol, hipertensi dan kadar glukosa darah pada kelinci (Herlina, 1993; Hasni, 2002). Kambium *K. hospita* yang telah diolah oleh masyarakat Papua Nugini dapat menyembuhkan penyakit pneumonia (Latif, 1997).

Kandungan senyawa kimia yang beragam pada berbagai tumbuhan dijumpai secara tersebar ataupun terpusat pada jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, akar, atau batang (Hornok, 1992) dan spesifik untuk tumbuhan *K. hospita*, jaringan tumbuhan tersebut yang belum pernah diteliti sampai saat ini adalah bagian kayu akarnya. Kayu akar *K. hospita* berpotensi besar menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang beragam dan yang memiliki sifat bioaktif. Hal ini didukung oleh penyelidikan secara kemotaksonomi dan filogenetik, yaitu spesies-spesies tumbuhan dari famili yang sama memiliki anatomi dan morfologi yang mirip, akibatnya akan mengalami proses fisiologi yang mirip pula. Karena fisiologi berkaitan dengan sel, maka spesies-spesies tumbuhan dari famili yang sama berkemungkinan besar akan memiliki kandungan senyawa kimia yang sama pula.

Penelitian terhadap akar spesies tumbuhan lainnya dari famili Sterculiaceae memperlihatkan potensi senyawa bioaktif. Misalnya, ekstrak etanol dari akar *Hermania depressa*, bermanfaat sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* (Reid *et al.*, 2005). Ekstrak etanol akar *Helicteres isora* bermanfaat sebagai antidiabetes dan efek hipolipidemik (Chakrabarti *et al.*, 2002). Bagian akar tumbuhan *Helicteres angustifolia* menunjukkan aktivitas penghambat yang signifikan terhadap pertumbuhan sel-sel *in vivo* melanoma SK-MEL-28 yang akut (Chen *et al.*, 2006). Bahkan ekstrak *n*-heksan kulit akar *K. hospita* sendiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans* (Fandi, 2010).

Dari data tersebut menunjukkan bahwa kayu akar *K. hospita* diduga mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif, sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa pada tumbuhan tersebut serta uji bioaktivitasnya menggunakan udang *Artemia salina* Leach.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka masalah yang dapat dirumuskan adalah :

1. Metabolit sekunder apa yang terdapat pada fraksi *n*-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari kayu akar *K. hospita* ?
2. Bagaimana struktur molekul metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi *n*-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari kayu akar *K. hospita* ?
3. Bagaimana bioaktivitas metabolit sekunder di atas terhadap udang *A. salina* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengisolasi metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi *n*-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari kayu akar *K. hospita*.
2. Menentukan struktur molekul metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi *n*-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari kayu akar *K. hospita*.
3. Menguji bioaktivitas metabolit sekunder hasil isolasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai berikut :

1. Menambah informasi ilmiah dari segi struktur metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak *n*-heksan kayu akar *K. hospita*.
2. Memberikan kontribusi bagi ilmu pengetahuan dan menjadi referensi bagi peneliti yang berminat dalam bidang kimia organik bahan alam.
3. Memberikan pengalaman praktis maupun teoritis bagi peneliti.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Umum Tumbuhan Sterculiaceae

Penelusuran secara etnobotani menunjukkan bahwa tumbuhan famili Sterculiaceae memiliki khasiat pengobatan dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Misalnya, *P. celebicum* telah dimanfaatkan oleh masyarakat Sulawesi Selatan sebagai obat penyakit disentri, luka pada gusi dan sebagai obat gatal (Sossef *et al.*, 1998). Akar *P. diversifolium* telah digunakan sebagai racun ikan (Ogata *et al.*, 1995). Menurut Heyne(1987), daun *P. acerifolium* digunakan di Sulawesi Tengah sebagai obat gatal. Akar *Helicteres isora* digunakan untuk radang ginjal kronik, dan buahnya sebagai jamur untuk membasmi cacing pita (Kamiya *et al.*, 2001). Sementara itu, daun *Sterculia africana* digunakan sebagai obat kejang-kejang (Hamza *et al.*, 2006).

Tabel 2.1 Spesies Sterculiaceae dan bioaktivitasnya.

Spesies (Lokasi Sampling)	Bioaktivitas
<i>Cola greenwayi</i> [Kwazulu-Natal (Afrika Selatan)]	Daun dan ranting (ekstrak CH ₂ Cl ₂ dan etanol) : Anti Inflamasi menghambat COX-1(Reid <i>et al.</i> , 2005)
<i>Helicteres gardneriana</i> [Gresco de sul dan Sao Paulo (Brazilia)]	Ujung ranting (ekstrak etanol): Anti parasit terhadap <i>Leishmania braziliensis</i> (parasit yang menimbulkan noda pada kulit, selaput lendir)] (Truiti <i>et al.</i> , 2005)
<i>Helicteres isora</i> [Tamil Nadu dan Andhra Pradesh (India) dan Jawa (Indonesia)]	Batang (ekstrak H ₂ O) : Anti diabetes [penurunan kadar glukosa darah pada tikus Wistar albino jantan] (Kumar dan Murugesan, 2006)
<i>Kleinhovia hospita</i> Linn. [Sulawesi Selatan (Indonesia)]	Daun (ekstrak alkohol) : Anti radang hati [pada tikus betina Strain Wistar akibat CCl ₄] (Raflizar dkk., 2006) Infus daun : Anti hipertensi [pada kelinci] (Herlina, 1993), Anti diabetes [penghambat terhadap transport aktif glukosa pada usus halus marmot] (Hasni, 2002); Kambium batang :

Penelusuran etnobotani terhadap spesies-spesies tumbuhan Sterculiaceae didukung oleh penelitian kimiawi yang membuktikan adanya aktivitas biologis (etnofarmakologi) dari beberapa ekstrak tumbuhan. Beberapa spesies yang memiliki bioaktivitas tercantum pada **Tabel 2.1**.

2.2 Uraian khusus tentang *Kleinhovia hospita* Linn.

2.2.1 Taksonomi

Menurut USDA-NRCS (2000), klasifikasi tumbuhan *K. hospita*, yaitu :

Domain : Eukaryota
 Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Viridaeplantae
 Phylum : Tracheophyta
 Subphylum : Euphyllophytina
 Intrapylum : Radiatopes
 Kelas : Magnoliopsida / Dikotiledon
 Subkelas : Dilleniidae
 Superorder : Malvanae
 Order : Malvales
 Family : Sterculiaceae
 Subfamily : Byttnerioideae
 Tribe : Byttnerieae
 Genus : *Kleinhovia*
 Spesies : *Kleinhovia hospita* Linn.



Gambar 2.1 Bunga dan daun *Kleinhovia hospita* Linn. (WHO, 2009).



Gambar 2.2 Pohon *Kleinhovia hospita* Linn. (Fandi, 2010).

2.2.2 Khasiat dan Potensi Pengobatan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak metanol daun *K. hospita* memiliki pengaruh terhadap regenerasi sel-sel hati mencit. Hasil pengamatan histologik terhadap jaringan hati mencit menunjukkan bahwa ekstrak metanol tumbuhan tersebut pada konsentrasi 10% dan 15% b/v dapat meningkatkan daya regenerasi sel-sel mencit (Nurhaedah, 1993). Ekstrak etanol daun *K. hospita* menyebabkan toksisitas subkronik pada organ dan hati mencit yang didukung dengan meningkatnya nilai enzim SPGT (Rukiah, 2007) dan mempunyai efek depressi susunan saraf pusat dan relaksasi otot yang diikuti dengan efek stimulasi susunan saraf pusat dan kolinergik (Alwi, 2006).

Senyawa β -sitosterol adalah salah satu senyawa yang telah diisolasi dari *K. hospita* mampu menghambat kerja enzim yang mengkonversi testosteron menjadi dehidrotosteron (DHT) yang merupakan penyebab terjadinya kanker prostat (Safar, 2003 dalam Ruhmah, 2008). Selain itu, menurut Yuk *et al.* (2007), β -sitosterol merupakan senyawa yang efektif digunakan dalam penyembuhan penyakit asma, sehingga memungkinkan senyawa ini untuk dikembangkan sebagai obat terapi penyakit alergi.

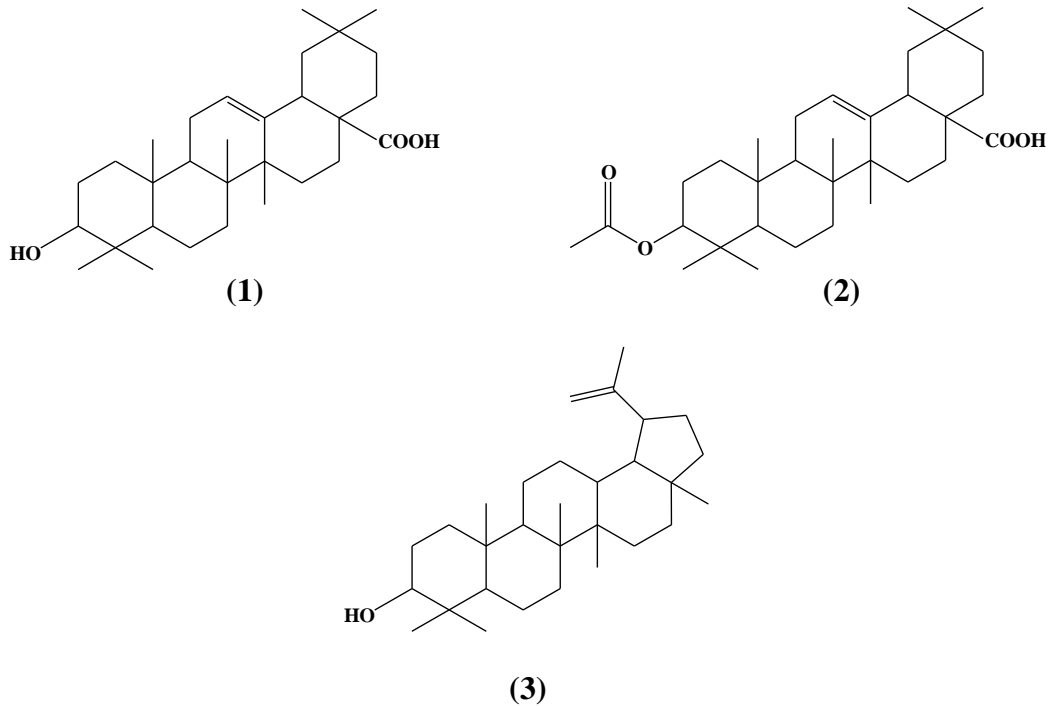
2.3 Pendekatan Kemotaksonomi

Pendekatan kemotaksonomi adalah didasarkan pada kedekatan kekerabatan tumbuhan yang telah diketahui memiliki kandungan kimia tertentu. Tumbuh-tumbuhan atau organisme lain dalam satu famili sering dijumpai memproduksi senyawa yang mirip secara alami (Anderson *et al.*, 1990 dalam Mamahit, 2008). Secara kemotaksonomi, spesies-spesies tumbuhan dari famili yang sama cenderung memberikan model molekul yang relatif sama. Adapun senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi dan diidentifikasi dari tumbuhan Sterculiaceae adalah terpenoid, steroid, fenol, asam fenolat, fenilpropanoid, flavonoid dan alkaloid.

2.3.1 Terpenoid

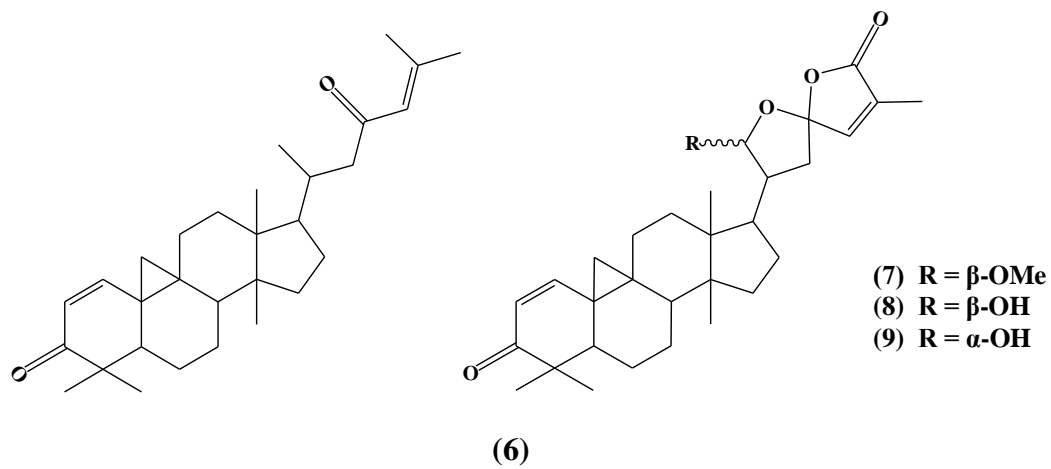
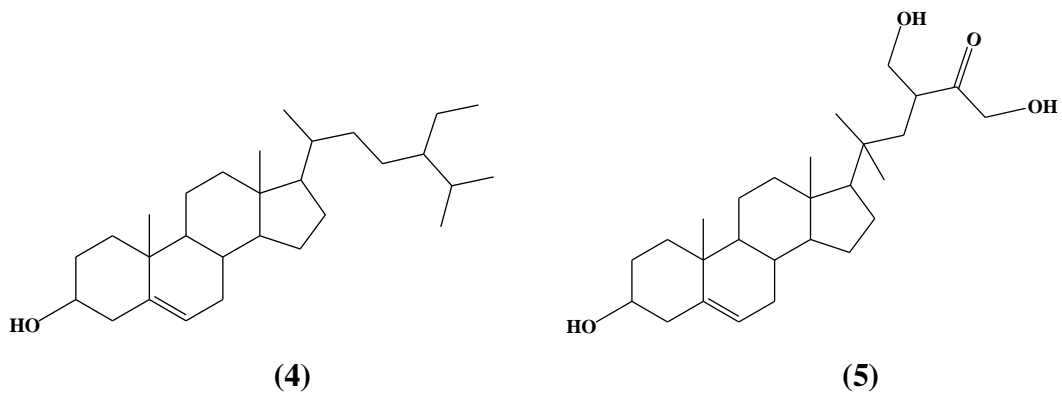
Adapun jenis-jenis terpen yang telah diisolasi dari *K. hospita* dan spesies tumbuhan lainnya dari famili Sterculiaceae adalah 3-hidroksi-12-oleanan-28-olat (**1**) yang diisolasi dari kulit akar *K. hospita* dalam ekstrak kloroform (Purwaningsih, 2010). Senyawa (**1**) juga ditemukan dalam ekstrak kloroform akar *Helicteres*

angustifolia (Chen *et al.*, 2006) dan ekstrak metanol kayu batang *S. thonneri* (Vardamides *et al.*, 2003). Senyawa 3-asetoksi-12-oleanan-28-olat **(2)** pula diisolasi dari ekstrak metilen klorida kayu batang *K. hospita* (Gaffar *et al.*, 2008). Selain itu, pada kulit batang *K. hospita* telah diisolasi lupeol **(3)** (Dini, 2005 dalam Ruhmah, 2008).



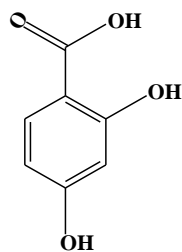
2.3.2 Steroid

Senyawa-senyawa steroid dari *K. hospita* dan famili Sterculiaceae yang telah diisolasi adalah β -sitosterol **(4)** dari ekstrak *n*-heksan kulit akar *K. hospita* (Ruhmah, 2008), ekstrak kloroform akar *H. angustifolia* (Chen *et al.*, 2006) dan ekstrak sikloheksan biji *Sterculia lynchophora* (Wang *et al.*, 2003); asam 4-(3-hidroksiandrostanil)-2-hidroksimetil-4,4-dimetilbutanoat **(5)** dari ekstrak *n*-heksan kulit akar *K. hospita* (Ruhmah, 2008). Empat senyawa baru yang telah diisolasi dari ekstrak EtOAc daun dan ranting *K. hospita* adalah sikloartan-1,24-dien-3,23-dion **(6)**, 21S,23R-21/23,23/27-diepoksi-21-metoksisikloartan-1,24-dien-3,27-dion **(7)**, 21S,23R-21/23,23/27-diepoksi-21-hidroksisikloartan-1,24-dien-3,27-dion **(8)** dan 21R,23R-21/23,23/27-diepoksi-21-hidroksisikloartan-1,24-dien-3,27-dion **(9)** (Gan *et al.*, 2009).

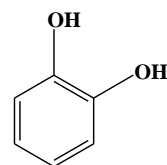


2.3.3 Senyawa Fenol dan Asam Fenolat

Senyawa fenol dan asam fenolat yang terdapat pada tumbuhan Sterculiaceae diantaranya adalah asam 2,4-dihidroksi benzoat (10) yang diisolasi dari ekstrak sikloheksan biji *S. lychnophora* (Wang *et al.*, 2003) dan katekol (11) yang diisolasi dari biji *Cola nitida* dan *Cola acuminata* (Hutchings *et al.*, 1996).



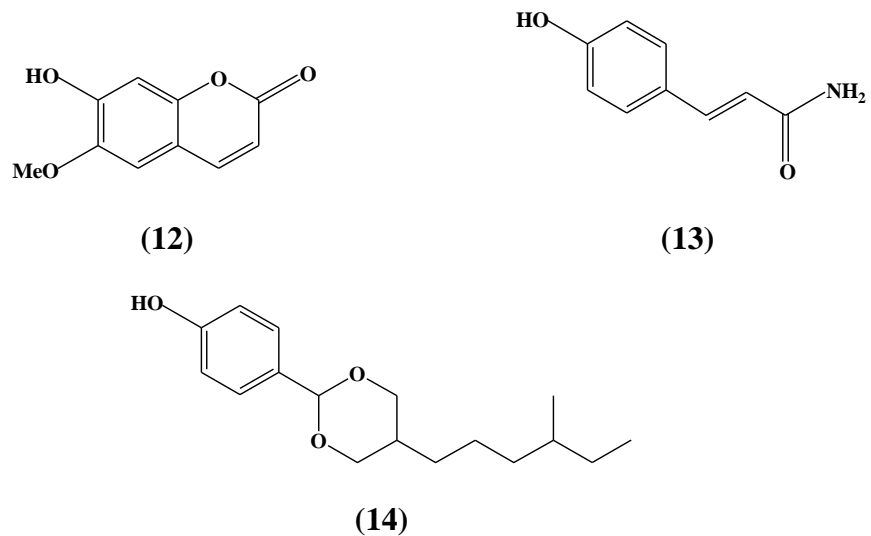
(10)



(11)

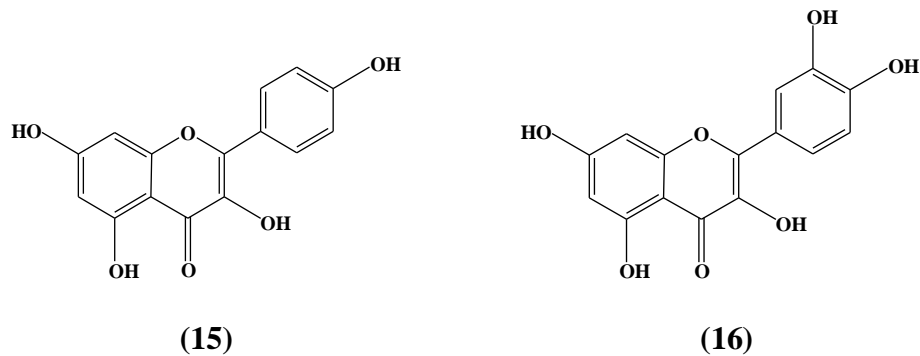
2.3.4 Fenilpropanoid

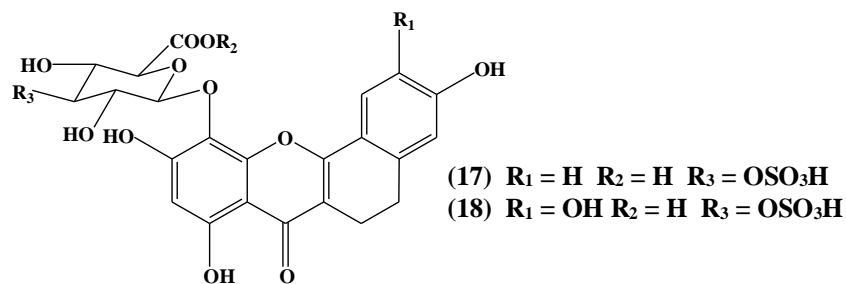
Pada daun dan kulit batang *K. hospita*, telah diisolasi senyawa golongan kumarin yaitu 7-hidroksi-6-metoksi kumarin (scopoletin) **(12)** (Soekamto, 2008). Selain itu, dua senyawa fenilpropanoid lainnya telah ditemukan dalam ekstrak EtOAc kulit akar *K. hospita* yaitu geranil-1'',3''-diokso-para-kresol **(13)** dan 4-hidroksi sinamida **(14)** (Ilyas, 2008).



2.3.5 Flavonoid

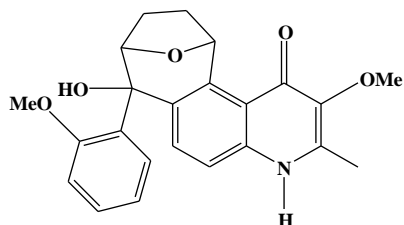
Adapun senyawa flavonoid yang telah diisolasi dari *K. hospita* yakni dari bagian daun adalah kaemferol **(15)** dan quercetin **(16)** (Latiff, 1997). Dua senyawa baru flavonoid yaitu, theograndin I **(17)** dan theograndin II **(18)** telah ditemukan pada ekstrak butanol *Theobroma grandiflorum* (Yang *et al.*, 2003).



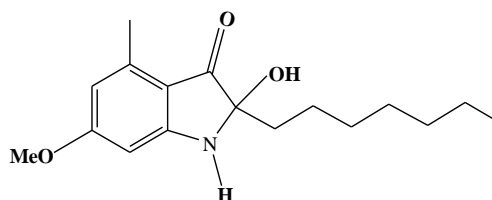


2.3.6 Alkaloid

Jenis senyawa alkaloid yang berhasil diisolasi dari famili Sterculiaceae adalah alkaloid kuinolon, yaitu waltherion A (19) dari ekstrak kloroform akar *M. chamaedrys* (Dias *et al.*, 2007). Satu jenis alkaloid indol yaitu melochicorin (20), telah diisolasi dari ekstrak kloroform ranting *M. corchorifolia* (Bhakuni *et al.*, 1991).



(19)



(20)

2.4 Pendekatan Filogenetik

Pendekatan filogenetik merupakan pendekatan didasarkan pada hubungan kekerabatan tumbuhan yang diketahui sebelumnya mengandung senyawa kimia yang bermanfaat (Soekamto, 2004 dalam Madaun, 2006). Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan Sterculiaceae memiliki potensi sebagai senyawa bioaktif yang telah dibuktikan melalui uji bioaktivitas seperti terlihat pada **Tabel 2.2** dan **Tabel 2.3**.

Tabel 2.2 Ekstrak akar spesies Sterculiaceae dan bioaktivitasnya

Spesies (Lokasi sampling)	Bioaktivitas
<i>Cola nitida dan Cola milleni</i> [Nigeria]	Kulit akar (ekstrak MeOH) : Antimikobakteria [terhadap <i>Mycobacterium bovis</i> dan <i>M. vaccae</i>] (Adeniyi <i>et al.</i> , 2004)
<i>Hermania depressa</i> [Kwazulu-Natal (Afrika Selatan)]	Akar (ekstrak CH ₂ Cl ₂) : Antiinflamasi [menghambat enzim COX-1] Akar (ekstrak etanol) : Anti bakteri [terhadap <i>Bacillus subtilis</i>] (Reid <i>et al.</i> , 2005)
<i>Helicteres isora</i> [Tamil Nadu dan Andhra Pradesh (India) dan Jawa (Indonesia)]	Akar (ekstrak etanol) : Anti diabetes dan efek hipolipidemik [pengurangan kadar glukosa plasma, trigliserida & insulin pada tikus C57BL/KsJdb] (Chakrabarti <i>et al.</i> , 2002)

Tabel 2.3 Senyawa yang diisolasi dari akar spesies Sterculiaceae dan bioaktivitasnya.

Nama Senyawa	Spesies Tumbuhan	Bioaktivitas
β -sitosterol	<i>H. angustifolia</i> <i>K. hospita</i>	- Anti inflamasi dan immunomodulator (Delporte <i>et al.</i> , 2005) - Menghambat kerja enzim yang mengkonversi testosteron menjadi dehidrotestosteron (DHT) yang merupakan penyebab kanker prostat (Safar, 2003 dalam Ruhmah, 2008)
Asam agustat	<i>A. Augusta</i>	- Sitotoksik [pada sel melanoma malignan (SK-MEL-28 <i>cell line</i>), IC ₅₀ 20.5 μ M] (Chen <i>et al.</i> , 2006)
Kumarin dan pregnan	<i>H. angustifolia</i>	- Aktivitas penghambat yang signifikan terhadap pertumbuhan sel-sel <i>in vitro</i> melano SK-MEL-28 yang akut (Chen <i>et al.</i> , 2006).
Waltherion A dan turunan oksimetilasi	<i>W. dourandhina</i> <i>M. chamaedrys</i>	- Aktivitas antibakteri (Hoelzel <i>et al.</i> , 2005)

Berdasarkan pada kedua pendekatan kemotaksonomi dan filogenetik tumbuhan Sterculiaceae, dapat diduga bahwa kayu akar *K. hospita* mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif selain memiliki struktur yang beragam.

2.5 Uji Bioaktivitas

Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa hasil isolasi adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). BST merupakan uji bioaktivitas primer yang lazim dilakukan pada ekstrak maupun senyawa-senyawa bahan alam. Uji aktivitas ini dilakukan terhadap larva udang *A. salina* (Mayer *et al.*, 1982). BST merupakan uji aktivitas yang mempunyai korelasi positif dengan uji-uji sekunder yang lain, misalnya sebagai antitumor, sel leukemia p-388 maupun anti kanker. Metode ini dapat dilakukan dengan cepat, murah dan mudah sehingga dapat digunakan sebagai salah satu metode uji bioaktivitas (Anderson *et al.*, 1990).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk kayu akar tumbuhan *K. hospita*, metanol teknis, *n*-heksan teknis, etil asetat (EtOAc) teknis, aseton teknis, kloroform p.a (*Mallinckrodt*), plat KLT (*silica gel 60 F₂₅₄ Merck*), kertas Whatman 42, CeSO₄ 2 % dalam H₂SO₄ 2 N, silika gel 60 (*Merck, 7730*), silika gel 60 (*Merck, 7733*), silika gel 60 (*Merck, 7734*), NaCl laut (*Sigma, no. catalog S-9883*), DMSO (*Merck, no. catalog 802912*), telur *A. salina*, aquabides dan aquades.

3.2 Alat Penelitian

Alat - alat yang digunakan antara lain alat gelas yang umum digunakan di dalam laboratorium, *rotary evaporator (Buchi)*, timbangan digital (*Ohaus*), perangkat destilasi *Vigreux*, kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom tekan (KKT), kromatografi kolom gravitasi (KKG), alat uji BST (wadah penetasan, mikropipet, mikroplat, tabung Ependorf), penyaring kristal, alat kromatografi lapis tipis (KLT) (*chamber, pipa kapiler, pensil, cutter dan mistar*), alat pengukur titik leleh (*Electrothermal Melting Point Apparatus*), lampu UV (*UVGL-58 Handheld UV Lamp*), spektrometer IR (*Shimadzu*) dan NMR (*Jeol ECA 500*).

3.3 Perlakuan dan Perancangan Penelitian

3.3.1 Pengumpulan Sampel

Kayu akar tumbuhan *K. hospita* diperoleh dari Desa Jambu, Kecamatan Bajo, Kabupaten Luwu, Sulawesi Selatan. Spesimen tumbuhan diidentifikasi oleh Herbarium Bogoriensis, LIPI Bogor.

3.3.2 Isolasi

Sampel tumbuhan yang telah digiling menjadi serbuk dimaserasi dengan pelarut metanol selama 1 x 24 jam sebanyak beberapa kali. Maserat kemudian dipisahkan untuk memisahkan pelarut metanol, lalu dipartisi dengan pelarut

n-heksan. Hasil partisi *n*-heksan selanjutnya difraksinasi melalui kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom tekan (KKT) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG) menggunakan eluen yang sesuai berdasarkan analisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan setiap hasil dari fraksinasi dimonitor kembali melalui analisis dengan KLT.

3.3.3 Identifikasi

Isolat tunggal/murni yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen dan pengukuran titik leleh. Penentuan golongan isolat tunggal dilakukan melalui uji golongan. Elusidasi struktur isolat melalui analisis data spektroskopi IR.

3.3.4 Uji Toksisitas

Fraksi dan isolat tunggal yang diperoleh diuji toksisitasnya terhadap udang *A. salina* (menggunakan metode Mayer) (**Lampiran 6**).

3.4 Pengamatan

3.4.1 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan 3 macam kromatografi kolom yaitu KKV, KKG dan KKT dengan menggunakan eluen yang bervariasi. Hasil fraksinasi dianalisis dengan KLT menggunakan eluen yang sesuai agar dapat menggabungkan fraksi-fraksi dengan nilai R_f yang sama.

3.4.2 Analisis KLT

Analisis dengan KLT dilakukan terhadap maserat, ekstrak hasil partisi, fraksi dan isolat tunggal menggunakan berbagai variasi pelarut/eluen. Eluen yang digunakan dapat berupa campuran dua atau tiga pelarut. Fase diam/absorben pada plat KLT berupa silika gel. Plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* berisi eluen yang telah dijenuhkan. Noda dari hasil totolan (pada *base line*) bergerak memanjat dinding plat KLT dengan kecepatan yang berbeda-beda tergantung dari kelarutan komponen senyawa dalam eluen dan kekuatan terabsorpsi pada absorben fasa diam. Kromatogram yang baik ditandai dengan terpisahnya masing-masing noda. Nilai masing-masing noda dihitung dengan menggunakan rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh noda (cm)}}{\text{Jarak tempuh eluen (cm)}}$$

Analisis ini dilakukan dengan prinsip *trial and error* untuk mengetahui apakah proses maserasi sudah cukup, mencari eluen yang sesuai yang akan digunakan pada tahap fraksinasi dan untuk menentukan kemurnian isolat tunggal. Senyawa murni harus menunjukkan noda tunggal pada tiga macam sistem eluen.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Maserasi dan Ekstraksi

Sampel berupa kayu akar *K. hospita* dihaluskan menjadi serbuk (5,09 kg) lalu dimaserasi dengan metanol selama 1 x 24 jam sebanyak 5 kali. Maserat metanol kemudiannya dievaporasi menghasilkan maserat metanol pekat sebanyak 76,84 g. Selanjutnya, maserat metanol pekat dipartisi dengan pelarut non polar yaitu *n*-heksan sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksan berupa residu berwarna hijau kehitaman (7,59 g).

4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian

Ekstrak *n*-heksan berwarna hijau kehitaman seberat 7,59 g difraksinasi melalui kromatografi kolom vakum (KKV) (diameter kolom 7 cm) dengan eluen *n*-heksan, *n*-heksan : EtOAc (eluen 99.5% *n*-heksan:0.5% EtOAc memberikan $R_f = 0,3$), aseton dan metanol dengan peningkatan kepolaran. Hasil fraksinasi diperoleh 26 fraksi utama dan berdasarkan kromatogram hasil analisis KLT (**Lampiran 3**), diperoleh 16 fraksi gabungan, A-P (**Lampiran 3**). Penggabungan fraksi-fraksi berdasarkan nilai R_f yang sama. Penentuan fraksi aktif dan tidak aktif (**Lampiran 4**) didasarkan metode BST dan nilai toksisitas (LC_{50}) masing-masing fraksi gabungan, A-P diperlihatkan pada **Tabel 4.1**.

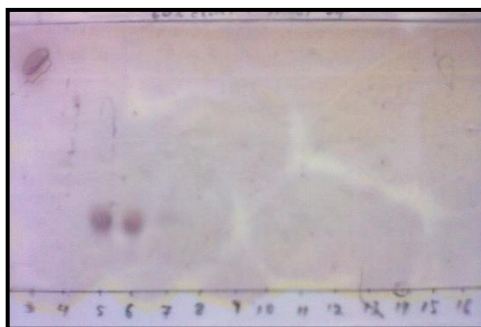
Tabel 4.1 Nilai toksisitas (LC₅₀) fraksi-fraksi dari ekstrak *n*-heksan

Fraksi	Nilai toksisitas (LC ₅₀) (µg/mL)
A	-
B	-
C	-
D	769,16
E	836,37
F	> 1000
G	682,67
H	> 1000
I	408,91
J	427,41
K	836,30
L	807,38
M	14,61
N	47,62
O	> 1000
P	665,41

Keterangan : (i) Fraksi dengan nilai LC₅₀ < 500 µg/mL bersifat toksik (fraksi aktif) dan fraksi dengan nilai LC₅₀ > 500 µg/mL bersifat tidak toksik (fraksi tidak aktif).

(ii) Nilai LC₅₀ fraksi A, B dan C tidak ditentukan karena merupakan fraksi berminyak dan sukar larut dengan pelarut uji.

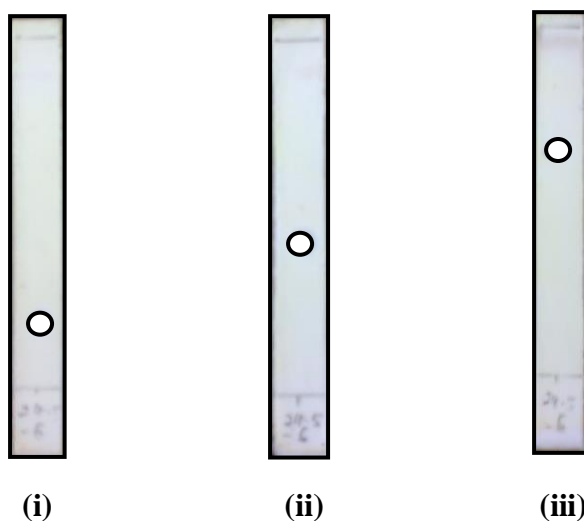
Fraksi O. *Crude crystal* fraksi O berwarna kuning dengan berat 50,9 mg difraksinasi melalui kromatografi kolom gravitasi (KKG) (diameter kolom 7,5 mm) dengan eluen *n*-heksan, 40% *n*-heksan : 60% EtOAc, aseton dan metanol. Hasil fraksinasi diperoleh 16 fraksi dan berdasarkan kromatogram hasil analisis KLT (**Gambar 4.1**) diperoleh 6 fraksi gabungan yaitu O₁₋₂ , O₃ , O₄ , O₅₋₆ , O₇₋₉ , O₁₀₋₁₆ (**Lampiran 5**).



(eluen 40% *n*-heksan : 60% EtOAc)

Gambar 4.1 Kromatogram hasil analisis KLT fraksi O₁-O₁₆

Noda-noda yang teramati pada kromatogram tidak berpendar di bawah lampu UV. Pada fraksi gabungan O₅₋₆, terbentuk endapan kuning seberat 28,9 mg. Kristalisasi dan rekristalisasi terhadap endapan dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, CHCl₃ dan aseton menghasilkan kristal berupa kepingan berwarna kuning yang kemudiannya diuji kemurnian melalui analisis KLT menggunakan tiga macam sistem eluen (**Gambar 4.2**).



- (i) 60% CHCl₃ : 40% EtOAc ($R_f = 0,2$)
- (ii) 30% *n*-heksan : 70% EtOAc ($R_f = 0,45$)
- (iii) 60% *n*-heksan : 40% aseton ($R_f = 0,625$)

Gambar 4.2 Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi gabungan O₅₋₆

Noda tunggal pada 3 kromatogram tersebut mengindikasikan bahwa kristal fraksi gabungan O₅₋₆ merupakan isolat murni yang selanjutnya dinyatakan sebagai

senyawa I. Senyawa I seberat 22,3 mg memiliki titik leleh sebesar 202-204°C. Uji golongan menggunakan pereaksi Liebermann-Buchard memberikan warna merah kebiruan sedang uji terhadap pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning. Adapun spektrum IR senyawa I dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.

4.1.3 Uji Toksisitas

Adapun nilai toksisitas (LC_{50}) bagi maserat metanol pekat, ekstrak *n*-heksan dan senyawa I dapat dilihat pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Nilai toksisitas (LC_{50}) ekstrak dan senyawa hasil isolasi.

Ekstak/Senyawa	Nilai toksisitas (LC_{50}) ($\mu\text{g/mL}$)
Maserat metanol pekat	0,21
Ekstrak <i>n</i> -heksan	> 1000
Senyawa I	107,54

4.1.4 Uji Golongan Senyawa

Hasil uji golongan senyawa I dengan pereaksi Liebermann-Buchard dan pereaksi Dragendorff diperlihatkan pada **Gambar 4.3**.



(a) Pereaksi Liebermann-Buchard



(b) Pereaksi Dragendorff

Gambar 4.3 Hasil uji golongan senyawa I

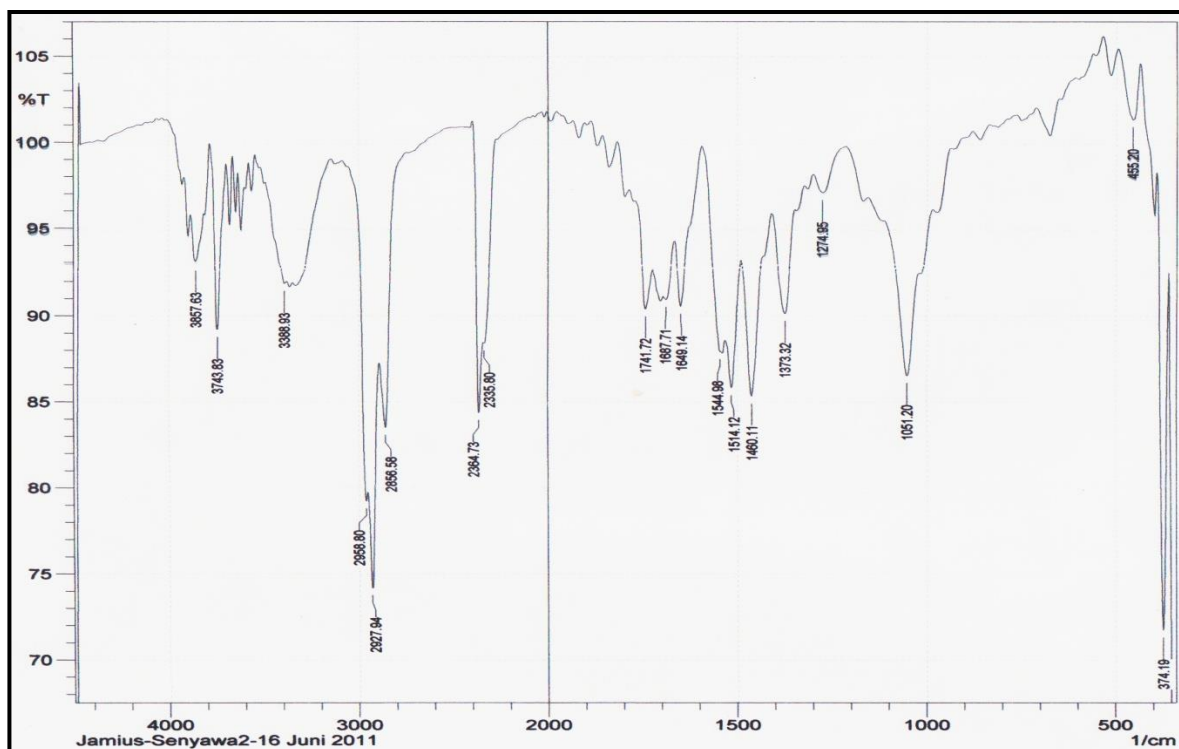
4.2 Pembahasan

4.2.1 Senyawa I

Senyawa I dengan berat 22,3 mg berupa kristal kepingan berwarna kuning, memiliki titik leleh 202-204 °C. Senyawa I tidak berpendar di bawah lampu UV melalui analisis KLT sedang hasil uji golongan dengan pereaksi Liebermann-Buchard memperlihatkan warna merah kebiruan yang menyatakan bahwa senyawa I positif steroid.

Spektrum IR (KBr) senyawa I dapat dilihat pada **Gambar 4.4**. Spektrum IR senyawa I memperlihatkan pita serapan (ν_{maks}) pada bilangan gelombang 3388

cm^{-1} (O-H *stretching*) yang mengidentifikasi gugus OH. Ini didukung oleh serapan pada 1051 cm^{-1} (C-O *stretching*) sebagai gugus CO. Selanjutnya, teramati gugus CH alifatik pada serapan 2958 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} dan 2854 cm^{-1} (C-H *stretching*) dan ini diperkuat oleh serapan dari gugus CH_3 dan CH_2 dengan masing-masing bilangan gelombang 1373 cm^{-1} (CH_3 *bending*) dan 1460 cm^{-1} (CH_2 *bending*). Gugus olefin teramati pada serapan 1649 cm^{-1} (C=C *stretching*).



Gambar 4.4 Spektrum IR senyawa I

Dua gugus karbonil yaitu C=O ester dan C=O karboksil masing-masing terlihat pada serapan 1741 cm^{-1} dan 1687 cm^{-1} (C=O *stretching*). Sementara itu, gugus C ikatan rangkap tiga N diperhatikan pada serapan tajam pada bilangan gelombang 2364 cm^{-1} dan ini didukung dengan adanya gugus C-N pada serapan 1544 cm^{-1} dan 1514 cm^{-1} . Dengan adanya gugus C-N pada spektrum, maka dilakukan uji golongan lainnya yaitu uji Dragendorff untuk penentuan kandungan senyawa alkaloid. Hasil uji Dragendorff terhadap senyawa I memberikan endapan berwarna kuning yang menyatakan bahwa senyawa I positif alkaloid. Berdasarkan data tersebut, diduga senyawa I adalah senyawa steroid alkaloidal.

4.2.2 Nilai Toksisitas (LC₅₀)

Anderson *et al.* (1990) melaporkan bahwa suatu ekstrak bersifat toksik jika nilai toksisitasnya (LC₅₀) adalah kurang dari 500 µg/mL sementara suatu senyawa murni bersifat toksik jika nilai toksisitasnya (LC₅₀) adalah kurang dari 200 µg/mL. Nilai LC₅₀ bagi senyawa I adalah 107,54 µg/mL. Berdasarkan nilai LC₅₀ tersebut, maka senyawa I tergolong sebagai senyawa yang bersifat toksik.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat dirumuskan dari penelitian ini adalah :

1. Hasil penelitian terhadap fraksi *n*-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari kayu akar *K. hospita* telah diisolasi satu metabolit sekunder yaitu senyawa I yang diduga sebagai senyawa steroid alkaloidal seberat 22,3 mg (0.29 %) untuk setiap gram ekstrak *n*-heksan.
2. Senyawa I mengandung gugus-gugus fungsi berikut : O-H, C-O, CH alifatik, C=C, C=O ester, C=O karboksil, C-N dan C ikatan rangkap tiga N.
3. Senyawa I bersifat toksik dengan nilai toksisitas (LC₅₀) 107,54 µg/mL.

5.2 Saran

Melalui penelitian ini, penulis memberikan saran sebagai berikut :

1. Senyawa bersifat toksik telah diisolasi dari fraksi tidak aktif, sehingga perlu dipahami bahwa dalam penelitian kimia organik bahan alam terkait penelitian isolasi senyawa, senyawa toksik tidak hanya ditemukan pada fraksi aktif sebaliknya juga pada fraksi tidak aktif.
2. Struktur molekul untuk senyawa I belum diketahui, sehingga perlu dilakukan elusidasi struktur melalui analisis data spektroskopi ¹³C-NMR dan ¹H-NMR.
3. Disarankan untuk melakukan uji bioaktivitas sekunder seperti sel leukimia P-388, antitumor atau antikanker terhadap senyawa I yang bersifat toksik terhadap benur udang *A. salina*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi, B.A., Groves, M.J. and Gangadharam, P.R., 2004, In Vitro Antimycobacterial Activities of Three Species of Cola Plant Extracts (Sterculiaceae), *Phytother Res* **18**: 414 – 418.
- Achmad, S.A., Hakim, E.H., Makmur, L., Mujahidin, D., Juliawati, L.D. and Syah, Y.M., 2001, *Discovery of Natural Products from Indonesian Tropical Rainforest Plants ; Chemodiversity of Artocarpus (Moraceae)*, Proceeding of the 3th IUPAC International Conference on Biodiversity (ICOB), Antalya, Turkey, November 3-4.
- Alwi, A., 2006, *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Pada Mencit (Mus musculus)*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Anderson, J.E., Goetz, C.M. and McLaughlin, J.L., 1990, A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreen, *Phytochemical analysis* **6**: 107-111.
- Atun, S., 2005, *Pengembangan Potensi Bahan Alam sebagai Sumber Penemuan Obat Baru*, Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Kimia, Universitas Negeri Yogyakarta, 24 September.
- Bhakuni, R.S., Shukla, Y.N. and Thakur, R.S., 1991, Melochicorine. A Pseudooxindole Alkaloid from *Melochia corchorifolia*, *Phytochemistry*, **30(9)**: 3159-3160.
- Chakrabarti, R., Vikramadithyan, R.K., Mullangi, R., Sharma, V.M., Jagadheshan, H., Rao, Y.N., Sairam, P. and Rajagopalan, R., 2002, Antidiabetic and Hypolipidemic Activity of *Helicteres Isora* in Animal Models, *Journal of Ethnopharmacology*, **81(3)**: 343-349.
- Chen, W., Tang, W., Lou, L. and Zhao, W., 2006, Pregnane, Coumarin and Lupane Derivatives and Cytotoxic Constituents from *Helicteres angustifolia*, *Phytochemistry*, **67(10)**: 1041-1047.
- Delporte, C., Backhouse, N., Erazo, S., Negrete, R., Vidal, P., Silva, X., Lopez-Perez, J.L., Feliciano, A.S. and Munoz, O., 2005, Analgesic-Anti-inflammatory Properties of *Proustia pyrifolia*, *Ethnopharmacology*, **99** : 119-124.
- Dias, G.C.D., Gressler, V., Hoenzel, S.C.S.M., Silva, U.F., Dalcol, I.I. and Morel, A.K., 2007, Constituents of The Roots of *Melochia Chamaedrys*, *Phytochemistry*, **68**: 668-672.

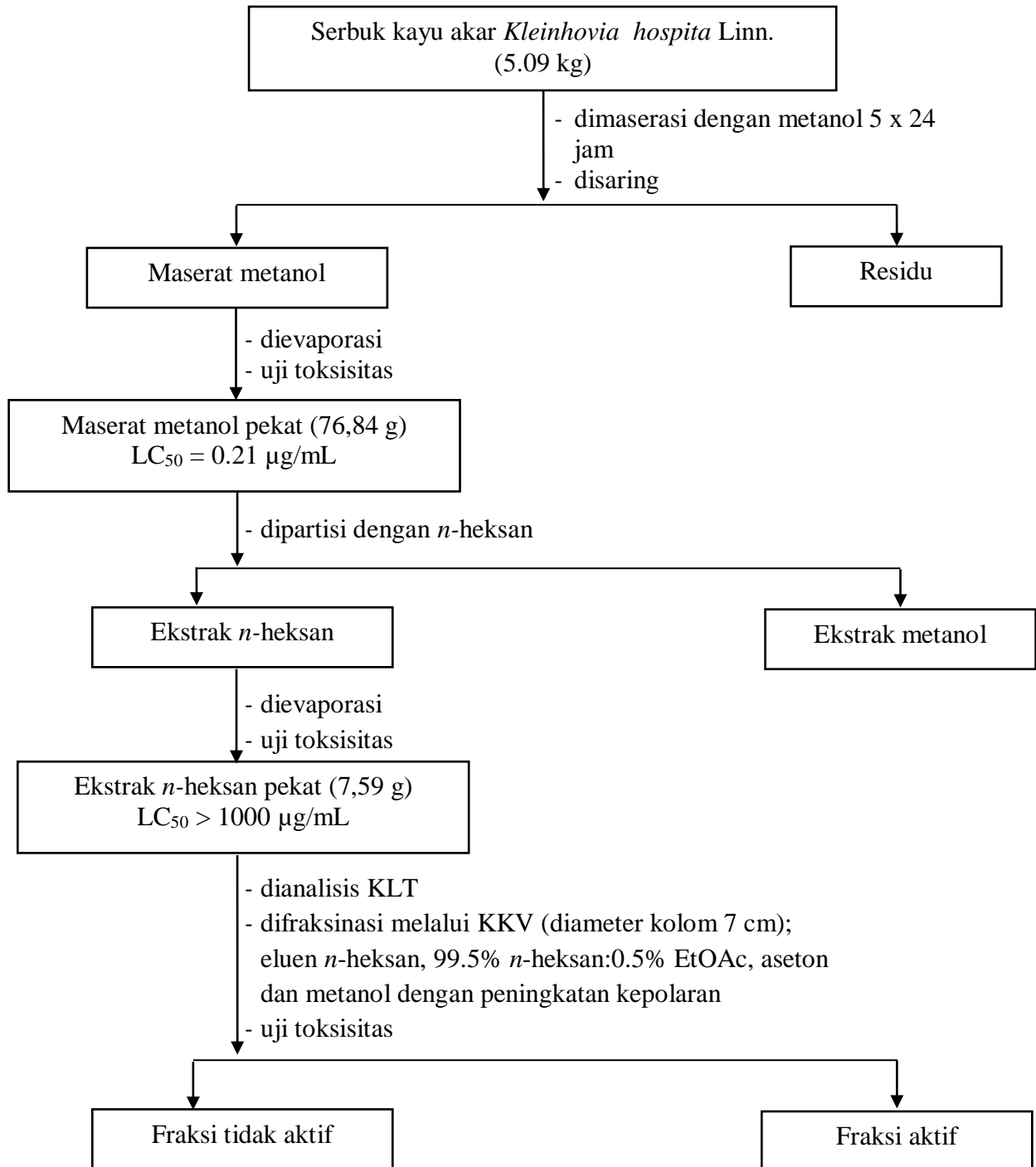
- Ersam., T., 2004, *Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami*, Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Kimia IV, Jurusan Kimia FMIPA ITS, Surabaya.
- Fandi, R., 2010, *Isolasi Senyawa Pada Fraksi n-heksan Kulit Akar Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus, Salmonella thypi Dan Streptococcus mutans*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Gan, L.S., Ren, G., Mo, J.X., Zhang, X.Y., Yao, W. and Zhou, C.X., 2009, Cycloartane Triterpenoids from *Kleinhovia hospita*, *J. Nat. Prod*, **72**: 1102–1105.
- Gaffar, I., Noor, A., Harlim, T., dan Soekamto, N.H., 2008, Senyawa Triterpenoid Asam-3-asetoksi-12-oleanan-28-oat dari Ekstrak Metilen Klorida pada Tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn., *Intek*, No.2, Tahun 14, 92-100.
- Grover, J.K. and Yadav, S.P., 2004, Pharmacological Actions and Potential Uses of *Momordica charantia*: A Review, *Journal of Ethnopharmacology*, **93(1)**: 123-32.
- Hamza, O.J.M., Beukel, C.J.P.V.D.B., Matee, M.I.N., Moshi, M.J., Mikx, F.H.M., Selemani, H.O., Mbwambo, Z.H., Ven, A.J.A.M.V.D. and Verweji, P.E., 2006, Antifungal Activity of Some Tanzanian Plants Used Traditionally for The Treatment of Fungal Infection, *Ethnopharmacology*, **108(1)**: 124-132.
- Hasni, 2002, *Pengaruh Infus Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Terhadap Transfort Aktif Glukosa Pada Usus Halus Marmut*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Herlina, 1993, *Pengaruh Infus Daun Kayu Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Kelinci*, *Cermin Dunia Kedokteran*, **8**: 94.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*, Terjemahan Oleh BalitBang Kehutanan, Yayasan Sarana Warna Jaya, Jakarta.
- Hornok, L., 1992, General Aspects of Medicinal Plants. Di dalam: Hornok L, editor. *Cultivation and Processing of Medicinal Plants*. New York: John Wiley & Sons. hlm 3-9.
- Hoelzel, S.C.S.M., Vieira, E.R., Glacomelli, S.R., Dalcol, I.I., Zanatta, N., and Morel, A.F., 2005, An Unusual Quinolinone Alkaloid from *Waltheria douradhina*, *Phytochemistry* **66(10)**: 1163-1167.
- Hutchings, A., Scott, A.H., Lewis, G., Cunningaham, A.B., 1996 dalam: Reid, K.A., Jager, A.K., Light, M.E., Mulholland, D.A. and Van staden, J.,

- 2005, Phytochemical and Pharmacological Compounds, *Journal of Ethnopharmacology*, **97(2)**: 285-291.
- Ilyas, A., 2008, *Isolasi Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Akar Tumbuhan Kleinhovia hospita Linn. (Paliasa) Dan Uji Toksisitas Terhadap Artemia salina Leach*, Tesis Tidak Diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Ismail Z. 2000. Herbal Medicine: The Dosage and Toxicological Issues. Di dalam: *Herbs. Proceedings of the International Conference and Exhibition; Malaysia, 9-11 Nov 1999*. Malaysia: Malaysian Agricultural Research and Development Institute. Hlm 24-25.
- Kamiya, K., Saiki, Y., Hama, T., Fujimoto, Y., Endang, H., Umar, M. and Satake, T., 2001, Flavonoid Glucuronides from *Helicteres isora*, *Phytochemistry* **57(2)**: 297-301.
- Kumar, G. and Murugesan, A.G., 2008, Hypolipidaemic Activity of *Helicteres Isora* L. Bark Extracts in Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *Journal Of Ethnopharmacology*, **116** : 161-166.
- Latif A. 1997. *Kleinhovia hospita* L. In: Hanum, I.F. dan L.G.J. van der Maesen (eds). *Plant Resources of South-East Asia No. 11. Auxiliary Plants*. Bogor: PROSEA.
- Madaun, L., 2006, *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman Keladi Tikus (Typhonium flagelliforme L.) Fraksi Etil Asetat*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Mamahit, L.P, 2008, *Metabolit Sekunder Dan Bioaktivitasnya Terhadap Sel Murin Leukemia P-388 Dari Daun Gedi (Abelmoschus manihot L. Medik) Asal Sulawesi Utara*, Disertasi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Mayer, N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, D.E., Nichols, D.E. and McLaughlin, J.L., 1982, *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*, Department of Medical Chemistry and Pharmacognocny, School of Pharmacy and Pharmacal Sciences, and Cell Culture Laboratory, Purdue Cancer Center, West Lafayette.
- Nurhaedah, 1993, *Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Paliasa (Kleinhovia hospital Linn.) terhadap Regenerasi Sel-Sel Hati Mencit*, Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Ogata, Y., 1995, *Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia Edisi II*, PT. Esai, Indonesia.

- Purwaningsih, E., 2010, *Isolasi Senyawa Pada Fraksi Kloroform Kulit Akar Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae Dan Escherichia coli*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Raflizar, Adimunca, C. dan Tuminah, S., 2006, Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Cermin Dunia Kedokteran*, **50**: 10-14.
- Reid, K.A., Jager, A.K., Light, M.E., Mulholland, D.A. and Staden, J.V., 2005, Phytochemical and Pharmacological Screening of Sterculiaceae Species and Isolation of Antibacterial Compounds, *Journal of Ethnopharmacology*, **97**: 285-291.
- Ruhmah, 2008, *Isolasi Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Dari Ekstrak n-heksan Kulit Akar Tumbuhan Kleinhovia hospita Linn. (Paliasa) Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Artemia salina Leach.*, Tesis tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rukiah, A., 2007, *Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Terhadap Organ Mencit (Mus musculus)*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Safar, A., 2003, *Uji Aktivitas Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Metabolit Sekunder dari Spons Biemna Triraphis dan Callyspongia Sp. Asal Pulau Kaposadang*, Tesis tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Soekamto, N.H., Alfian, N., Iwan, D, Rudyansyah and Merry, G., 2008, *Coumarin and Steroid Compound from Stem Bark of Kleinhovia hospita Linn.*, Proceeding on the International Seminar on Chemistry 2008, The Role of Chemistry in The Utilization of Natural Resources, Bandung, 30-31 October.
- Tanaka, T., Ito, T., Nakaya, K., Linuma, M. and Riswan, S., 2000, Oligostilbenoids in The Stem Bark of Vatica Rassak, *Phytochemistry*, **54**: 63-69.
- Truiti, M.C.T., Ferreira, I.C.P., Zamuner, M.L.M., Nakamura, C.V., Sarragiotto, M.H. and Souza, M.C., 2005, Antiprotozoal and Molluscicidal Activities of Five Brazilian Plants, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **38**: 1873-1878.
- USDA-NRCS, 2000, *Classification for Kleinhovia hospita Linn.*, (Online), (<http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=KLHO>, diakses 6 Oktober 2010).

- Vardamides, J.C., Azebaze, A.G.B., Nkengfack, A.E., Van Heerden, F.R., Fomum, Z.T., Ngando, T.M., Conrad, J., Vogler, B. and Kraus, W., 2003, *Scaphopetalone* and *Scaphopetalumate*, a lignan and a triterpene ester from *Scaphopetalum thonneri*, *Phytochemistry* **62(4)**: 647-650.
- Wang, R.P., Yang, X.W., Ma, C.M., Shang, M.Y., Liang, J.Y., Wang, X., Cai, S.Q. and Shoyama, Y., 2003, Alkaloids from The Seeds of *Sterculiaceae lychnophora* (Pangdhai), *Phytochemistry*, **63(4)**: 475 – 478.
- WHO, 2009, *Medicinal Plants in Papua New Guinea*, WHO Press, Switzerland.
- Yang, H., Protiva, P., Cui, B., Ma, C., Baggett, S., Hequet, V., Mori, S., Weinstein, I.B. and Kennelly, E.J., 2003, New Bioactive Polyphenols from *Theobroma grandiflorum* (“Cupuacü u”), *J. Nat. Prod.*, **66**: 1501-1504.
- Yuk, J.K., Woo, J.S., Yun, C.Y., Lee, J.S., Kim, J.H., Song, G.Y., Yang, E.J., Hur, I.K. and Kim, I.S., 2007, Effects of Lactose- β -sitosterol and β -sitosterol on Ovalbumin-Induced Lung Inflammation in Actively Sensitized Mice, *International Immunopharmacology*, **7**: 1517-1527.

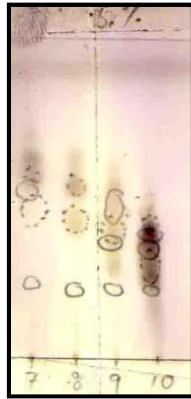
Lampiran 1. Bagan Isolasi Metabolit Sekunder Ekstrak *n*-Heksan Kayu Akar Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.)



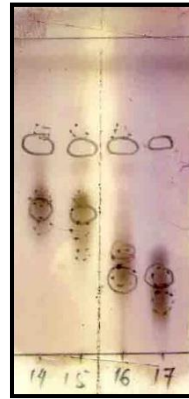
Lampiran 2. Kromatogram Hasil Fraksinasi Ekstak *n*-Heksan

Keterangan :

- : berpendar di bawah lampu (*shortwave*)
- ⊖ : berpendar di bawah lampu (*longwave*)
- : tidak berpendar di bawah lampu



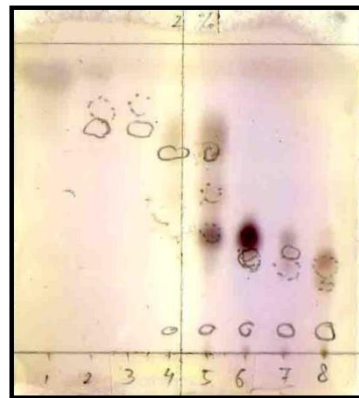
7 8 9 10



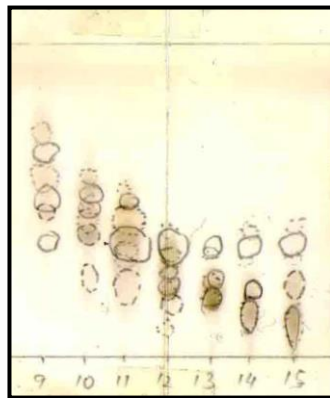
14 15 16 17



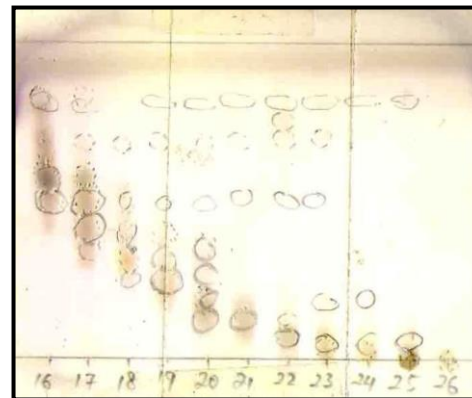
1 2 3 4



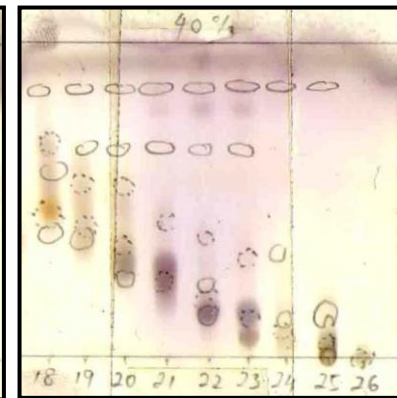
1 2 3 4 5 6 7 8
| | | | |
A B C D



9 10 11 12 13 14 15
| | | | |
E F G H I J

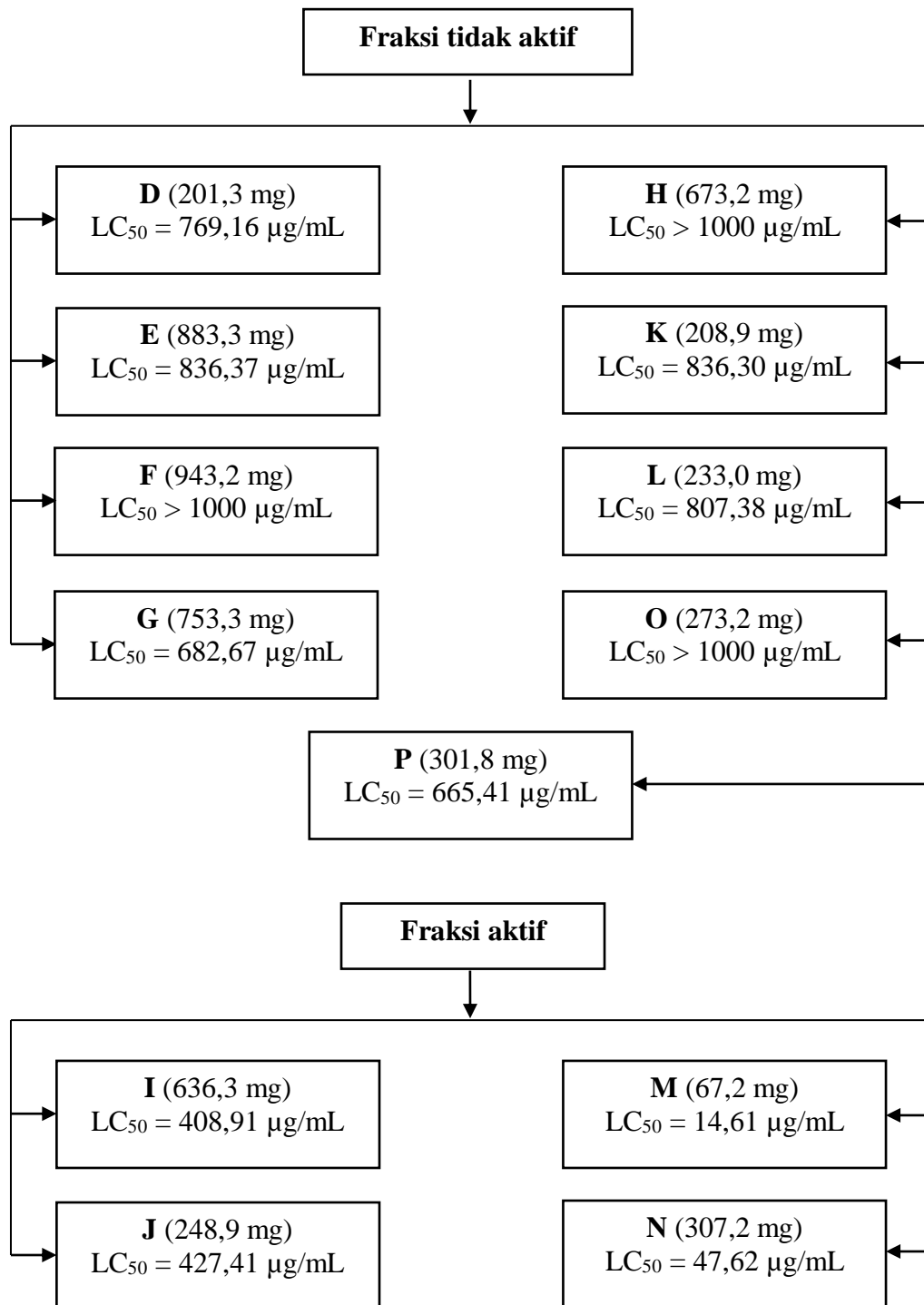


16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
| | | | | |
K L M N O P

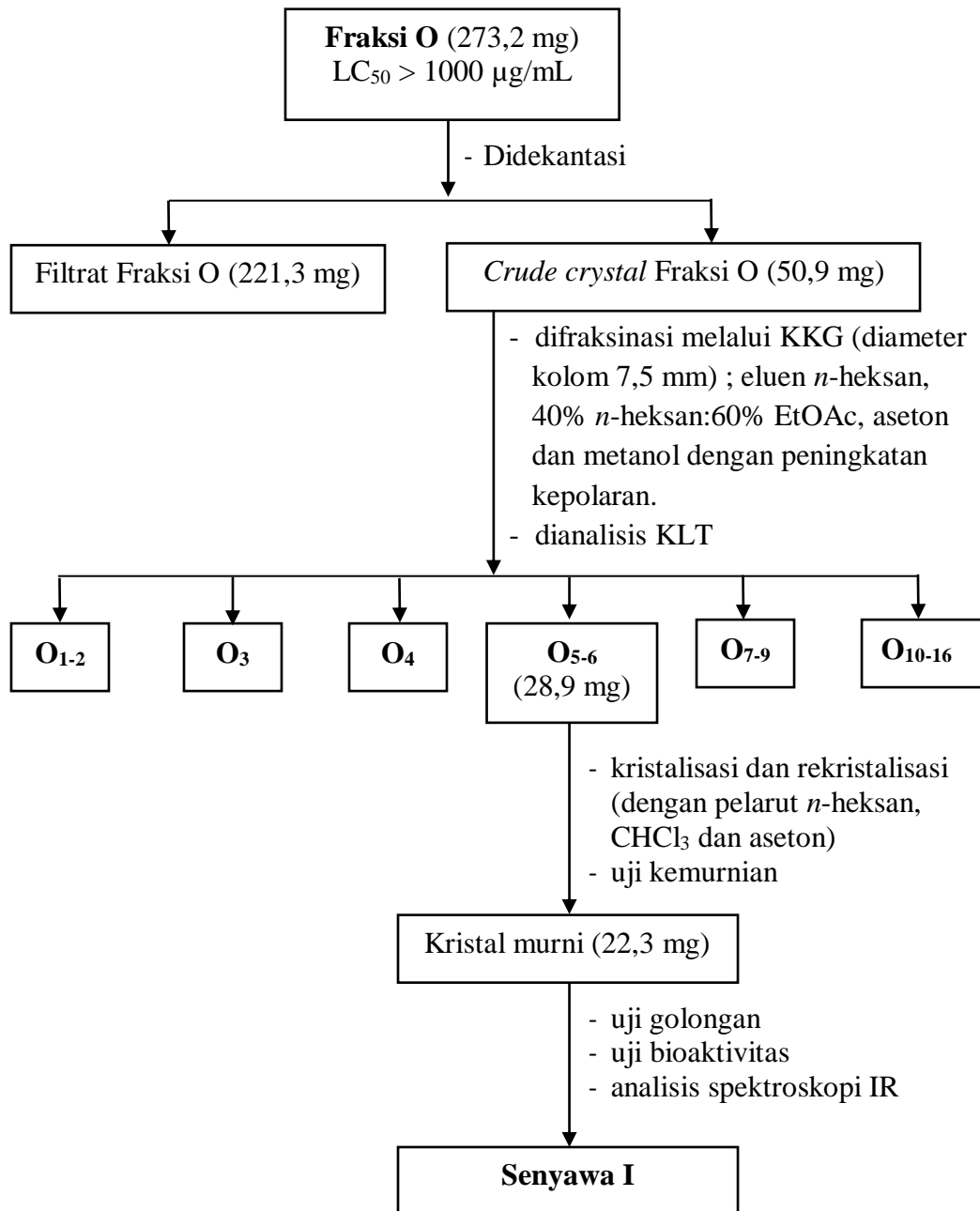


18 19 20 21 22 23 24 25 26

Lampiran 3. Bagan Fraksi Tidak Aktif



Lampiran 4. Bagan Isolasi Senyawa I dari Fraksi O.



Lampiran 5. Prosedur Uji Bioaktivitas dengan Metode Mayer

A. Penyiapan Larutan Sampel (1000 ppm)

1. Sampel (senyawa murni) ditimbang 1 mg, dilarutkan dalam 100 μL DMSO.
2. Diencerkan dengan 150 μL aquades sehingga volume total menjadi 250 μL . Selanjutnya diambil 200 μL larutan tersebut lalu diencerkan dengan 600 μL sehingga volume total menjadi 800 μL dan konsentrasi menjadi :

$$\frac{200 \mu\text{L} / 250 \mu\text{L} \times 1 \text{ mg}}{800 \mu\text{L}} = 0,8 \text{ mg} / 800 \mu\text{L} = 1 \mu\text{g} / \mu\text{L}$$

B. Penyiapan Larutan Kontrol

Larutan kontrol dibuat sama dengan prosedur di atas tanpa menggunakan sampel.

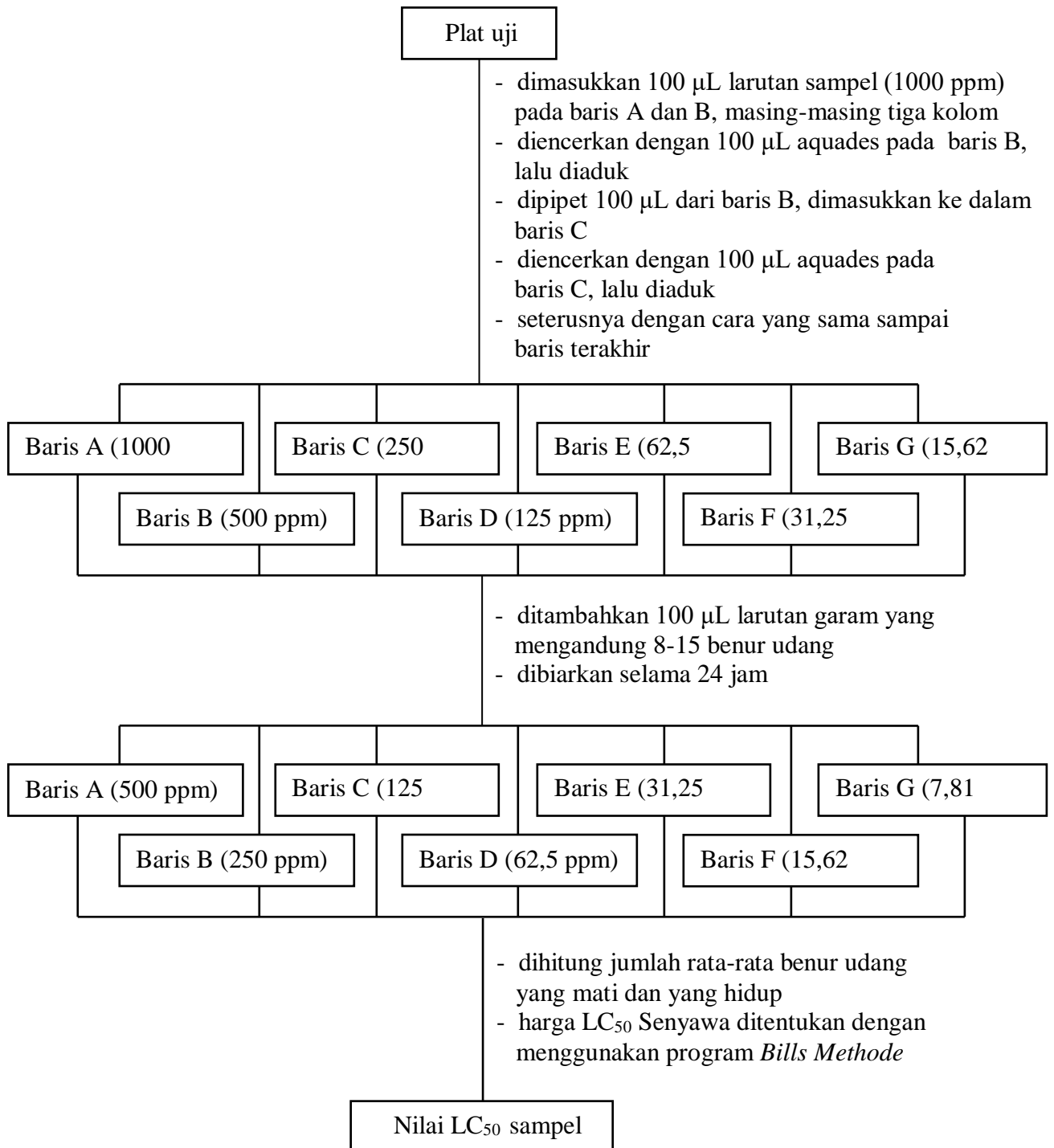
C. Penyemaian Benur Udang

Bibit udang (\pm 1000 bibit) disemaikan dalam 100 mL larutan garam (3,8 %) dalam aquades menggunakan bak penyemaian ini dilakukan selama 48 jam. Setelah itu benur udang siap digunakan untuk uji toksisitas.

D. Prosedur Uji Metode Mayer

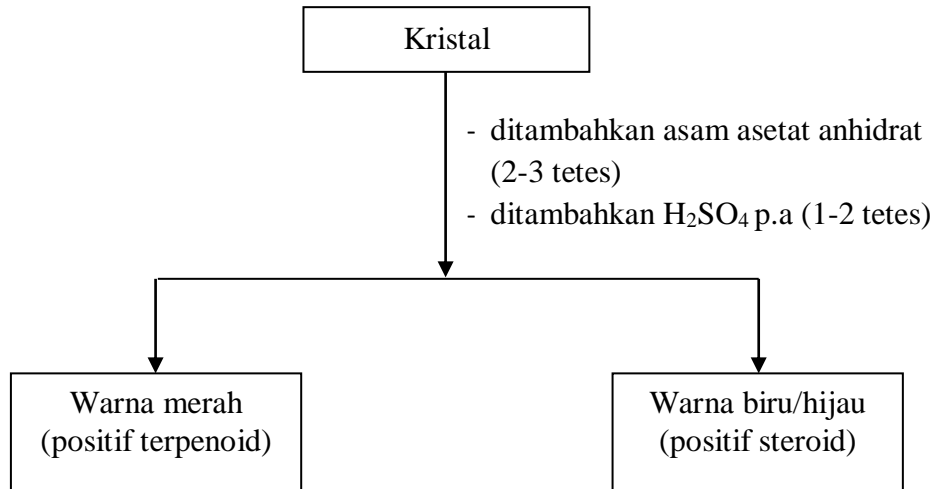
1. Disiapkan dua plat mikro standar masing-masing untuk plat uji dan plat kontrol.
2. Ke dalam baris A dan B masing-masing tiga kolom dimasukkan 100 μL larutan sampel pada plat uji dan 100 μL larutan kontrol pada plat kontrol.
3. Larutan pada baris B diencerkan dengan 100 μL aquades dan diaduk, kemudian dipipet kembali 100 μL dimasukkan ke dalam baris C diencerkan kembali dengan 100 μL aquades sambil diaduk dan seterusnya dengan cara yang sama sampai baris terakhir.
4. Selanjutnya, ke dalam larutan sampel pada plat uji dan larutan kontrol pada plat kontrol ditambahkan 100 μL larutan garam yang mengandung 8-15 benur udang, sehingga konsentrasi larutan untuk masing-masing baris sebagai berikut, baris A = 500 ppm, baris B = 50 % baris A, baris C = 50 % baris B dan seterusnya. Kemudian, dibiarkan selama 24 jam.
5. Setelah itu, dihitung jumlah rata-rata benur udang yang mati dan yang hidup untuk setiap baris dari plat uji.
6. Harga LC_{50} senyawa ditentukan dengan menggunakan program *Bills Methode*.

E. Bagan Uji Bioaktivitas Pada *A. salina* dengan Metode Mayer



Lampiran 6. Bagan Uji Golongan Senyawa

A. Uji Terpenoid dan Steroid (Pereaksi Liebermann-Buchard)



B. Uji Alkaloid (Pereaksi Dragendorff)

