

**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI N-HEKSAN YANG TIDAK
AKTIF TERHADAP *Artemia salina* DARI KAYU BATANG *Melochia
umbellata* (Houtt.) Stapf Var. *Visenia*. DAN UJI BIOAKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIBAKTERI**

ZULKARNAIM

H31111261



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2017**

**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI N-HEKSAN YANG TIDAK
AKTIF TERHADAP *Artemia salina* DARI KAYU BATANG *Melochia
umbellata* (Houtt.) Stapf Var. *Visenia*. DAN UJI BIOAKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIBAKTERI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh:

ZULKARNAIM

H31111261



MAKASSAR

2017

SKRIPSI

**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI N-HEKSAN YANG TIDAK
AKTIF TERHADAP *Artemia salina* DARI KAYU BATANG *Melochia
umbellata* (Houtt.) Stapf Var. *Visenia*. DAN UJI BIOAKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIBAKTERI**

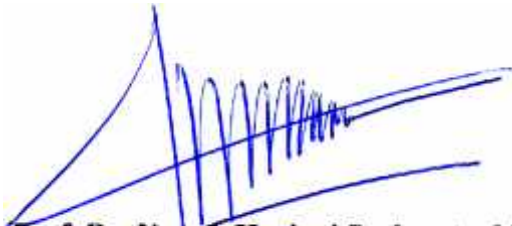
Disusun dan diajukan oleh:

ZULKARNAIM

H31111261

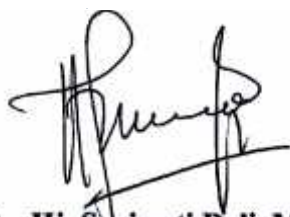
Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Nuruk Hariani Soekamto, MS.
NIP. 19601215 198702 2 001

Pembimbing Pertama



Dr. Hj. Seniwati Dali, M.Si
NIP. 19501231 198803 2 003

“Ya, Tuhanku berikanlah kepadaku ilmu dan masukkanlah aku kedalam golongan orang-orang saleh, dan jadikanlah aku buah tutur yang baik bagi orang-orang kemudian”

[Quran Surah Asy-Syu'ara' : 83-84]

Kupersembahkan tulisan sederhana ini sebagai salah satu baktiku untuk

“Ayah dan Ibu tercinta”

Semoga Allah Azza wa Jalla selalu melimpahkan rahmat dan ampunan-Nya kepada mereka

PRAKATA



Assalamu alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur kita panjatkan kehadiran Allah *Subhanahu wa Ta'ala* atas segala rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya berupa kesehatan, kesempatan, keimanan dan keislaman sehingga tulisan dengan judul **“Isolasi Metabolit Sekunder Fraksi N-Heksan Yang Tidak Aktif Terhadap Artemia Salina Dari Kayu Batang Melochia Umbellata (Houtt.) Stapf var. Visenia. dan Uji Bioaktivitasnya Sebagai Antibakteri”** dapat rampung menjadi sebuah skripsi yang mengantarkan penulis dalam meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) di Departemen Kimia Universitas Hasanuddin. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad *Sallallahu ‘Alaihi wa Sallam* sebagai penyampai risalah sehingga kita semua terbebas dari dunia kejahiliaan menuju dunia yang terang benderang.

Berbagai ujian dan tantangan mengiringi penulis dalam penyelesaian skripsi ini. Namun itu semua bukanlah sebuah beban ketika orang-orang disekitar selalu membantu dan melantunkan doa untuk kesuksesan penulis. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua tercinta, **Ayahanda dan Ibunda tercinta** yang telah menjadi motivasi dan inspirasi penulis, yang selalu mendoakan, mendukung dan memberikan nasehat-nasehat, serta mengasuh dan membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang. Beserta seluruh keluarga yang selama ini telah membantu penulis.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS.** sebagai Dosen Pembimbing Utama dan **Dr. Hj. Seniwati Dali, M.Si** sebagai Dosen Pembimbing Pertama yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk yang begitu berharga bagi penulis sejak awal penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Tim penguji sarjana **Dr. H. Yusafir Hala, M.Si, Dr. Asmawati, M.Si** dan **Dr. Fauzia, M.Si** atas kritik dan sarannya sehingga penulis dapat lebih memperbaiki diri.
3. Ketua dan Sekertaris Departemen Kimia serta bapak ibu dosen yang telah membagi ilmunya kepada penulis selama masa kuliah, terkhusus kepada **Dr. Rugaiyah M.Si** selaku pembimbing akademik penulis.
4. Teman-teman **Konformasi 2011 dan Kulit Kacang 2011** atas pengalaman yang terbaik dan tak terlupakan.
5. Keluarga Mahasiswa Kimia atas dukungan yang diberikan kepada penulis selaman ini

Wassalamu alaikum salam Wr. Wb.

Makassar, 27 September 2017

Penulis

ABSTRAK

Penelitian isolasi metabolit sekunder fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap *Artemia salina* dari kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* dan uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa dari fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dan menentukan aktifitas antibakterinya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut n-heksan kemudian difraksinasi dengan KKV. Hasil BST menunjukkan fraksi B, D, dan F tidak aktif terhadap *A. salina*. Berdasarkan hasil analisis spektroskopi IR dan uji fitokimia, senyawa yang berhasil diisolasi dari fraksi F merupakan senyawa golongan triterpenoid. Zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* dimiliki oleh fraksi D yaitu sebesar 9 mm dan terhadap bakteri *E. coli* dimiliki oleh fraksi B yaitu sebesar 10 mm.

Kata kunci: triterpenoid, antibakteri, A. salina, fraksi n-heksan, dan Melochia umbellata

ABSTRACT

Research on isolation of secondary metabolites of inactive n-hexane fraction against *Artemia salina* from stem wood *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia and bioactivity test as antibacterial has been done. This study aimed to isolate and identify compounds of inactive n-hexane fraction against *A. salina* and to determine the antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*. Extraction and fractionation was done by maceration using n-hexane then fractionated with VCC. BST results show the fractions B, D, and F are inactive against *A. salina*. Based on IR spectroscopic analysis and phytochemical test, the compound successfully isolated from fraction F is a triterpenoid. The largest inhibition zone against *S. aureus* is belong to fraction D is equal to 9 mm and against *E. coli* bacteria belong to fraction B is equal to 10 mm.

Keywords: *triterpenoid, antibacterial, A. salina, n-hexane fraction, and Melochia umbellata*

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Uraian Famili Malvaceae.....	5
2.1.2 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae.....	5
2.1.2 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae.....	7
2.2 Uraian Fitokimia Genus <i>Melochia</i>	12

2.3	Uraian <i>Melochia Umbellata</i>	15
2.4	Deskripsi <i>Artemia Salina</i>	17
2.5	Deskripsi Bakteri.....	18
2.5	<i>Escherichia coli</i>	18
2.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.5	Bioassay.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		22
3.1	Bahan Penelitian.....	22
3.2	Alat Penelitian.....	22
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian.....	22
3.4	Prosedur Peneliiian	23
3.4.1	Pengumpulan Sampel Tumbuhan.....	23
3.4.2	Preparasi Sampel.....	23
3.4.3	Isolasi.....	23
3.4.4	Uji Antibakteri.....	24
3.5	Pengamatan.....	25
3.5.1	Fraksinasi.....	25
3.5.2	Analisis KLT.....	25
3.5.3	Uji Fitokimia.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		27
4.1	Hasil	27
4.1.1	Maserasi, Fraksinasi dan Uji Bioaktivitas Terhadap <i>A. salina</i>	27
4.1.2	Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder	28

4.1.3 Uji Antibakteri	31
4.2 Pembahasan	31
4.2.1 Senyawa X.....	31
4.2.2 Aktivitas Antibakteri	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1 KESIMPULAN.....	35
5.2 SARAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur senyawa flavonoid dari genus <i>Melochia</i>	12
2. Struktur senyawa siklopeptida alkaloid dari genus <i>Melochia</i>	12
3. Struktur alkaloid kuinolon dari genus <i>Melochia</i>	13
4. Struktur senyawa melosatin dari genus <i>Melochia</i>	13
5. Struktur senyawa lakton dari genus <i>Melochia</i>	14
6. Struktur senyawa steroid dari genus <i>Melochia</i>	15
7. Kromatogram fraksi-fraksi dari ekstrak n-heksan	27
8. Kromatogram hasil fraksinasi fraksi F	29
9. Kromatogram senyawa X.....	29
10. Kromatogram 2 dimensi senyawa X	30
11. Data spektroskopi IR senyawa X.....	30
12. Struktur dasar senyawa triterpenoid.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Spesies dari famili Malvaceae dan bioaktivitasnya	6
2. Spesies dari famili Malvaceae dan Senyawa bioaktifnya.....	8
3. Berat dan nilai LC ₅₀ terhadap <i>A. salina</i> hasil fraksinasi ekstrak n-heksan kayu batang <i>M. umbellata</i>	28
4. Hasil uji fitokimia fraksi-fraksi yang tak aktif terhadap <i>A. salina</i> ekstrak n-heksan kayu batang <i>M. umbellata</i>	28
5. Data hasil uji antibakteri <i>S. aureus</i>	31
6. Data hasil uji antibakteri <i>E. coli</i>	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Kayu Batang Tumbuhan <i>Melochia umbellata</i> (Houtt.) Stapf Var. Visenia	42
2. Skema Kerja Uji Antikanker <i>Metode Brine Shrimp Lethality Test</i>	44
3. Skema Kerja Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram.....	46
4. Foto Tumbuhan <i>Melochia umbellata</i> (Houtt.) Stapf Var. Visenia.....	48
5. Dokumentasi Penelitian.....	49
6. Tabel dan Foto Hasil Uji Fitokimia.....	50
7. Tabel dan Foto Hasil Uji Antibakteri	50
8. Data Spektroskopi IR Senyawa X.....	52

DAFTAR SINGKATAN

BST	=	<i>Brine Shrimp Lethality</i>
CFU	=	<i>Colony Forming Unit</i>
DMSO	=	Dimetil sulfoksida
HIV	=	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IR	=	<i>Infrared</i>
KLT	=	Kromatografi Lapis Tipis
KKG	=	Kromatografi Kolom Graavitasi
KKT	=	Kromatografi Kolom Tekan
KKV	=	Kromatografi Kolom Vakum
LC ₅₀	=	<i>Lethal Concentration 50</i>
LD ₅₀	=	<i>Lethal Dose 50</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan penyakit meningkat dari tahun ke tahun, dan banyak obat yang beredar saat ini sudah tidak mampu lagi mengatasi jenis penyakit tersebut. Salah satunya yaitu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik merupakan masalah perlu diperhatikan. Salah satu alternatif yang dapat ditempuh adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terdapat dalam tanaman obat (Ventola, 2015).

Tumbuhan mengandung banyak komponen senyawa kimia aktif yang berkhasiat sebagai obat. Komponen senyawa kimia aktif yang berasal dari sumber alam ini akan menyusun suatu kelompok besar yang disebut produk alami atau lebih dikenal sebagai metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan digunakan untuk mempertahankan diri terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Hal ini mencerminkan bahwa senyawa metabolit sekunder dapat digunakan sebagai bahan obat. Banyak penelitian membuktikan adanya berbagai metabolit sekunder menunjukkan sifat bioaktivitas sebagai antibakteri, antijamur, antikanker, dan sebagai bahan obat berbagai penyakit degeneratif (Usman, 2012).

Indonesia yang beriklim tropis merupakan negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Sekitar 250.000 spesies tumbuhan dunia, diperkirakan sekitar 30.000 spesies terdapat diseluruh kepulauan Indonesia (Ahmad, 2006). Di Indonesia penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional telah dilakukan oleh masyarakat sejak ribuan tahun sebelum ditemukannya obat modern

(Dewoto, 2007). Salah satu tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat di Indonesia adalah paliasa (Tayeb dkk., 2007).

Paliasa merupakan salah satu tumbuhan dari famili Malvaceae yang digunakan oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Selatan sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver, hipertensi, diabetes, kolesterol tinggi dan hepatitis dengan cara meminum air rebusan daunnya (Raflizar dkk, 2006). Beberapa tumbuhan lain dari famili Malvaceae telah digunakan sebagai obat tradisional terhadap beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri. *Abutilon indicum* dan *Sida rhombifolia* digunakan oleh masyarakat di India untuk mengobati disentri (Sen dan Behera, 2007). Akar *Urena lobata* var. *Glauca* digunakan sebagai obat diare (Hanif dkk., 2009) dan bagian daunnya digunakan sebagai obat berbagai macam penyakit kulit (Ayyanar dan Ignacimuthu, 2005).

Terdapat dua jenis paliasa yang termasuk dalam genus *Melochia*, yaitu *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* dan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* (Tayeb dkk., 2007). Ekstrak kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* merupakan bagian jaringan yang paling aktif terhadap *A. salina* ($LC_{50} = 1.80 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan bagian jaringan lainnya (Lalo, 2003). Pada bagian jaringan kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* telah berhasil diisolasi senyawa golongan alkaloid yaitu waltherion C yang bersifat sangat toksik terhadap *A. salina* dan sel murin leukemia P-388 dan senyawa golongan flavonoid yaitu cleomiscosin yang tidak bersifat toksik baik terhadap *A. salina* (Raflizar dkk., 2006). Ekstrak n-heksan daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* sangat aktif menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 11.45 mm pada konsentrasi 20.000 ppm (Wullur dkk, 2015). Senyawa turunan oleanan 3-asetil-olean-12-en-28-olat diisolasi dari ekstrak n-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* bersifat kurang toksik terhadap *A. salina* ($LC_{50} = 1.80 \mu\text{g/mL}$), tetapi mampu menghambat pertumbuhan bakteri

B. subtilis dan *E. coli* (Usman dkk., 2015). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa dari fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* memiliki potensi sebagai antibakteri.

Beberapa penelitian mengenai tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai obat. Menurut Tayeb dkk., 2007, ekstrak metanol dari daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* memiliki sifat toksisitas terhadap larva *A. salina*. Menurut Lalo, 2002, ekstrak metanol *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dapat memperbaiki fungsi hati mencit jantan. Menurut Rusniati, 2001, infus daun *M. umbellata* (Hout) Stapf var. *Visenia* terhadap hewan uji mencit memiliki LD₅₀ 19,173 %/kg bobot mencit atau setara dengan 47,93% yang dikategorikan aman untuk dikembangkan sebagai fitofarmaka.

Mengacu pada beberapa hasil penelitian, telah dilakukan penelitian lebih lanjut tentang metabolit sekunder dari *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*. Walaupun telah dilakukan beberapa penelitian mengenai bioaktivitas dari *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* namun informasi tentang metabolit sekunder dari fraksi yang tak aktif terhadap *A. salina* dan bioaktivitasnya sebagai antibakteri belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengisolasi metabolit sekunder dari fraksi n-heksan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* yang tak aktif terhadap *A. salina* serta uji bioaktivitasnya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, masalah yang dapat dirumuskan pada penelitian ini yaitu:

1. metabolit sekunder apa yang dapat diisolasi dari fraksi n-heksan yang tak aktif terhadap *A. salina* dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*?
2. bagaimana aktivitas antibakteri fraksi n-heksan yang tak aktif terhadap *A. salina*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-heksan yang tak aktif terhadap *A. salina* dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* dan bioaktivitasnya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. mengisolasi metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-heksan yang tak aktif terhadap *A. salina* dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*
2. menguji aktivitas antibakteri fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. informasi ilmiah mengenai metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-heksan terhadap *A. salina* dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*
2. informasi ilmiah mengenai aktivitas ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* terhadap *A. salina*.
3. informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri fraksi yang tak aktif terhadap *A. salina* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Indonesia memiliki keanekaragaman alam hayati yang sangat luas dibandingkan negara-negara lain yang ada didunia. Sekitar 250.000 spesies tumbuhan dunia, diperkirakan sekitar 30.000 spesies terdapat diseluruh kepulauan Indonesia. Dengan berbagai jenis spesies tumbuhan tersebut, Indonesia berpotensi menjadi negara yang mampu memproduksi berbagai jenis obat dari bahan baku tumbuhan obat yang biasa digunakan oleh masyarakat secara tradisional. Hal ini dapat ditinjau berdasarkan kandungan senyawa-senyawa kimia dan bioaktivitas yang dimiliki oleh tumbuhan tersebut (Ahmad, 2006).

2.1 Uraian Famili Malvaceae

Famili Malvaceae merupakan salah satu tumbuhan tropis Indonesia yang cukup besar yang terdiri atas 70 genus dan 1.500 spesies (Gressler *dkk.*, 2008). Malvaceae merupakan kelompok tumbuhan berbunga, berupa pohon, semak-semak, dan kadang-kadang berupa liana (Watson dan Dalwitz, 1992).

2.1.1 Etnobotani tumbuhan famili Malvaceae

Etnobotani berasal dari kata "etno" yang berarti ras, orang, kelompok budaya, bangsa, dan dari "botani" sebagai ilmu tanaman, sehingga definisi dari etnobotani adalah "ilmu tentang interaksi masyarakat dengan tanaman". Etnobotani umumnya mempelajari tentang hubungan khusus antara klasifikasi dunia tanaman, signifikansi budaya tanaman, kegunaan tanaman dan nilai ekonomi tanaman. (Walujo, 2008).

Tabel 1. Spesies dari famili Malvaceae dan bioaktivitasnya

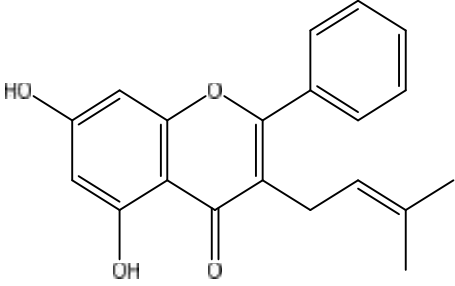
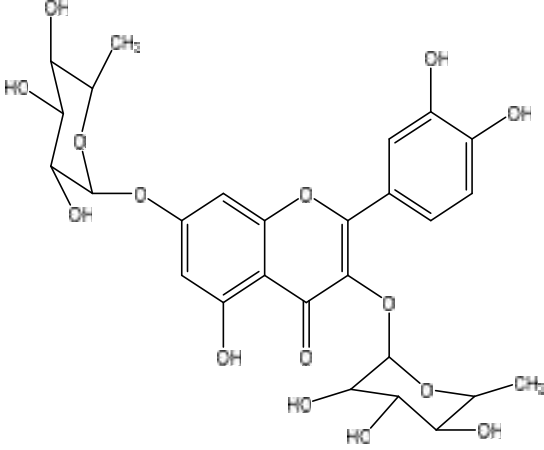
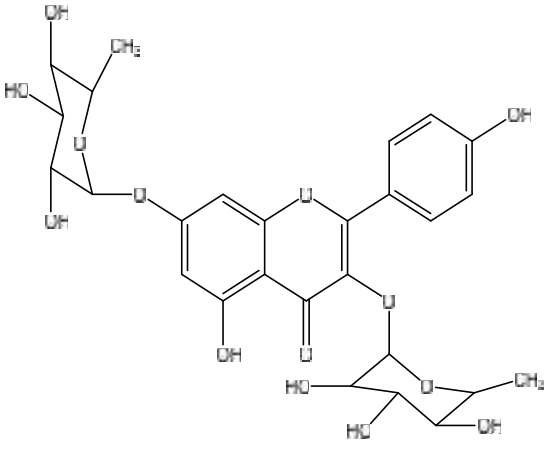
Spesies (Lokasi Sampling)	Bagian Yang Digunakan	Bioaktivitas
<i>Malva Sylvestris</i> L (Iran)	Bunga	Antibakteri (<i>S. aureus</i> , <i>S. agalactiae</i> , dan <i>Entrococcus faecalis</i>) dan sitotoksik terhadap sel MacCoy (Razavi dkk., 2011)
<i>M. neglecta</i> (Konalga, Turki)	Buah	Antioksidan (Turker dan Dalar, 2013)
<i>Sterculia striata</i> (Piaui, Brazil)	Kulit batang	Anti-inflamasi dan antinosisseptif (Silva dkk., 2013)
<i>Pterospermum canescens</i> (Tamil Nadu, India)	Daun	Antibakteri (<i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , dan <i>S. pnemoniae</i>) dan antijamur (<i>Aspergillus niger</i> dan <i>Candida albicans</i>) (Jaiganesh dan Arunachalam, 2011)
<i>Pterospermum acerifolium</i> (Maharashtra dan India)	Daun	Antioksidan dan antiinflamasi (Sannigrahi dkk., 2010)
<i>Sterculia apetala</i> (Mato Grosso do Sul, Brazil)	Kulit batang	Antijamur (Fontoura dkk., 2015)
<i>Pavonia xanthogloea</i> (Rio Grande do Sul, Brazil)	Batang	Antioksidan (Mostardeiro dkk., 2014)
<i>Helicteres angustifolia</i> (L.) (China Selatan)	Akar dan batang	Antiinflamasi dan antibakteri (Chen dkk., 2006)
<i>Bombax ceiba</i> (Dahaka, Bangladesh)	Akar	Antimikroba dan antijamur (Islam dkk., 2011)
<i>Abutilon Indicum</i> (Dahaka, Bangladesh)	Daun	Antimikroba dan sitotoksik terhadap larva udang <i>A. salina</i> (Abdul dkk., 2010)
<i>M. umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>Degrabrata</i> K (Makassar)	Kayu akar	Antijamur terhadap jamur <i>A. niger</i> (Ridhay, dkk., 2012)
	Daun	Antikanker terhadap larva <i>A. salina</i> (Tayeb R., dkk., 2007)
<i>Hibiscus rosa sinensis</i> (Kuala Lumpur, Malaysia)	Daun dan batang	Sitotoksik terhadap sel K-562 (Arullappan dkk., 2013)
<i>Abutilon indicum</i> (Tamil Nadu, India)	Daun	Larvasida (<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> dan <i>Culex quinquefasciatus</i>) (Arivoli dan Tennyson, 2011)

Tumbuhan famili Malvaceae telah lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, misalnya *Kleinhovia hospita* Linn yang dikenal dengan sebutan paliasa oleh masyarakat Sulawesi Selatan digunakan sebagai obat beberapa penyakit antara lain: hepatitis, kolesterol, dan hipertensi (Herlina, 1993). Daun *K. hospita* dapat digunakan untuk mengharumkan rambut dan mencuci mata. Masyarakat Papua Nugini dan Kepulauan Salomon menggunakan kambium *K. hospita* sebagai obat pneumonia dan penghilang kutu rambut (Latif, 1997). Daun dan akar *U. lobata* digunakan untuk mengobati kutu air, diare, malaria, gangguan hati dan kutu air (Hanif dkk., 2009). Serbuk daun dari *U. lobate* diunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit kulit (Ayyanar dan Ignacimuthu, 2005). Di India, *Abutilon indicum* dan *Sida rhombifolia* digunakan secara tradisional oleh masyarakat sebgai untuk mengobati disentri (Sen dan Behera, 2007). Beberapa spesies dari famili Malvaceae yang memiliki bioaktivitas tercantum dalam Tabel 1.

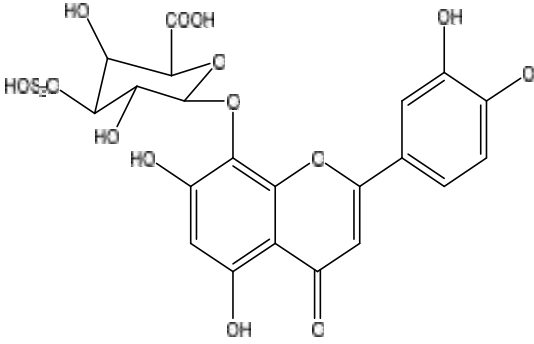
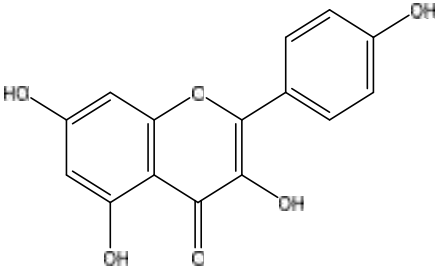
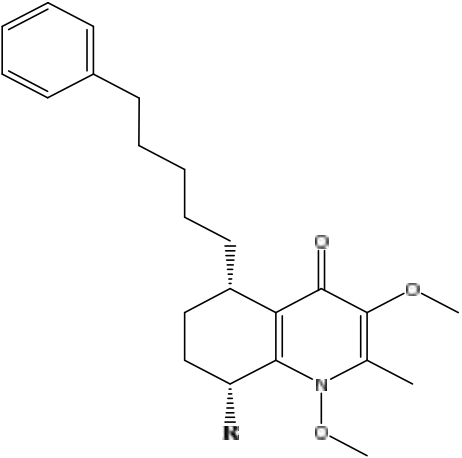
2.1.2 Kemotaksonomi tumbuhan famili Malvaceae

Kemotaksonomi adalah bidang interdisipliner ilmu yang mempelajari tentang kandungan kimia tanaman yang digunakan untuk menentukan karakter interspesifik dan intraspesifik antara tanaman (Hajnos dkk, 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 Malvaceae selain dari genus *Melochia* beserta bioaktvitasnya tercantum dalam Tabel 2.

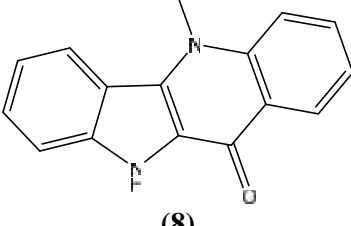
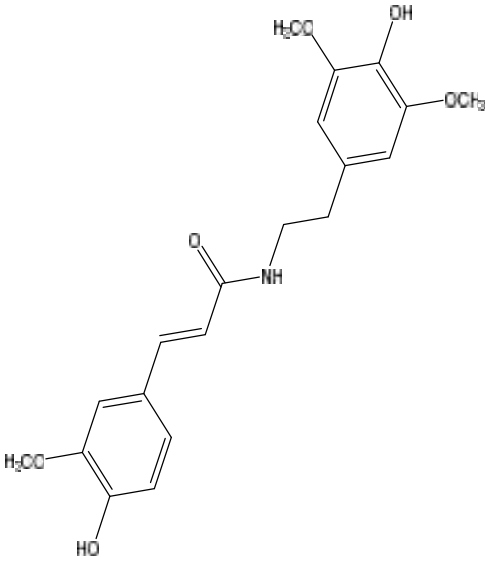
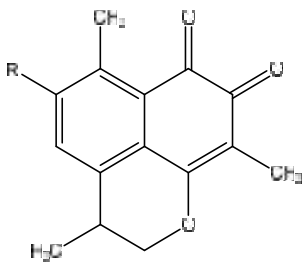
Tabel 2. Spesies dari famili Malvaceae dan Senyawa bioaktifnya

Spesies (Nama Senyawa)	Struktur Senyawa	Bioaktivitas
Golongan Flavonoid		
<p><i>Sida cadifolia</i> (5,7-dihidroksi-3-isoprenil flavon)</p>	 <p style="text-align: center;">(1)</p>	<p>Antiinflamasi (Sutradhar, dkk, 2008)</p>
<p><i>Hildergardia barterii</i> (quercetin-3,7-<i>o</i>-<i>-L</i> dirhamnosid dan kaempferol-3,7-<i>o</i>-<i>-L</i> dirhamnosid)</p>	 <p style="text-align: center;">(2)</p>  <p style="text-align: center;">(3)</p>	<p>Antijamur (Arif, dkk., 2009)</p>

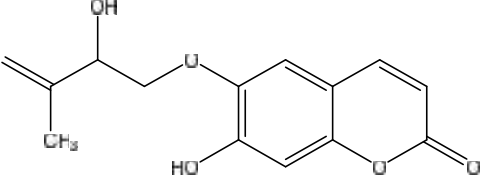
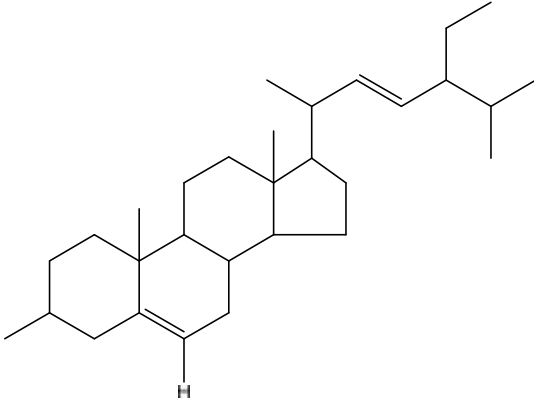
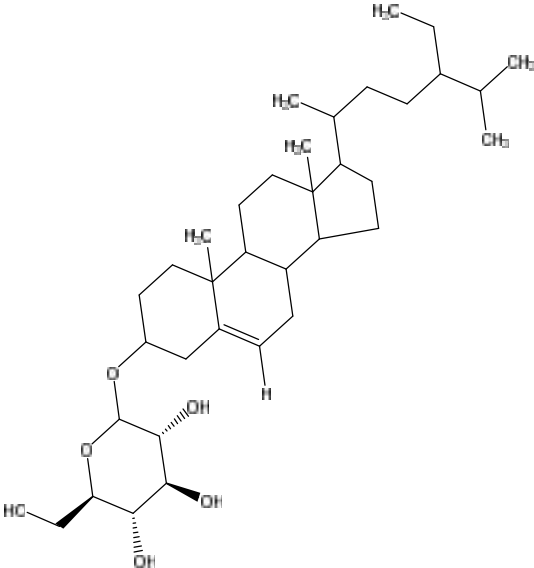
Lanjutan Tabel 2

Spesies (Nama Senyawa)	Struktur Senyawa	Bioaktivitas
<p><i>Theobroma grandiflorum</i> (theograndins II)</p>	 <p>(4)</p>	<p>Sitotoksik terhadap sel HCT-116 dan SW-480 (Yang, dkk., 2003)</p>
<p><i>Herissantia crispa</i> (3-O-β-D-(6''-E-p-kumaril-glukopiranosida)</p>	 <p>(5)</p>	<p>Sitotoksik terhadap larva udang <i>A. salina</i> (Costa, dkk. 2009)</p>
Golongan Alkaloid		
<p><i>Waltheria indica</i> L. (waltheriones G (7) dan waltheriones H (8))</p>	 <p>R 6 H 7 OCH₃</p>	<p>IC₅₀ terhadap <i>Trypanosoma cruzi</i> antara 0.02 and 0.04 μM. (Cretton dkk., 2014)</p>

Lanjutan Tabel 2

Spesies (Nama Senyawa)	Struktur Senyawa	Bioaktivitas
<p><i>Sida rhombifolia</i>. (13-hidroksi criptolepinon)</p>	 <p>(8)</p>	<p>Menurunkan tekanan darah (Chaves, dkk. 2013)</p>
<p><i>Hibiscus tiliaceus</i> (hibiscusamida)</p>	 <p>(9)</p>	<p>Sitotoksik terhadap Sel P-388 (Chen dkk., 2006)</p>
Golongan Fenilpropanoid		
<p><i>Mansonia gagei</i> <i>Drumm.</i> (3,8-Dimethyl-5-isopropyl-6-hydroxycoumarin)</p>	 <p>(10)</p>	<p>Toksik terhadap <i>A. salina</i> (Tiew, dkk., 2002)</p>

Lanjutan tabel 2

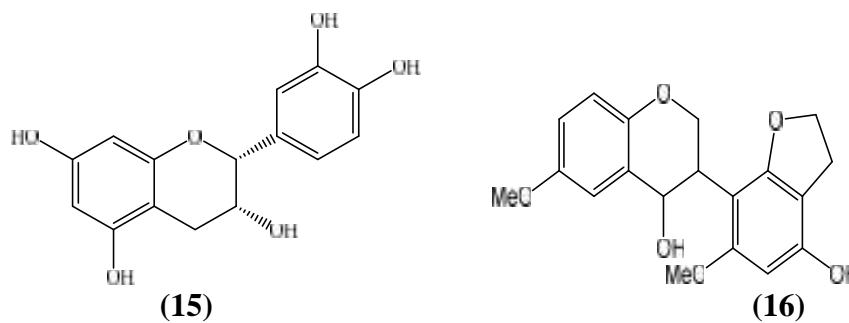
Spesies (Nama Senyawa)	Struktur Senyawa	Bioaktivitas
<p><i>Hibiscus tiliaceus</i> (hibiscusin)</p>	 <p>(11)</p>	<p>Sitotoksik terhadap Sel P-388 (Chen dkk., 2006)</p>
Golongan Steroid		
<p><i>Abroma augusta</i> (stigmast-5,22-dien-3-α-D-glukopiranos)</p>	 <p>(12)</p>	<p>Antijamur (Khan, dkk., 2003)</p>
<p><i>Helicteres isora</i> (daucosterol)</p>	 <p>(13)</p>	<p>Antijamur (Venkatesh, dkk., 2003)</p>

2.2 Uraian Fitokimia Genus *Melochia*

Genus *Melochia* terdiri atas 65 spesies yang tersebar di daerah hutan tropis (Goldberg, 1967). Berdasarkan penelusuran literatur terhadap fitokimia tumbuhan dari genus *Melochia*, menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder dari tumbuhan ini adalah senyawa turunan fenol yaitu flavonoid, alkaloid, lakton, dan steroid.

a. Flavonoid

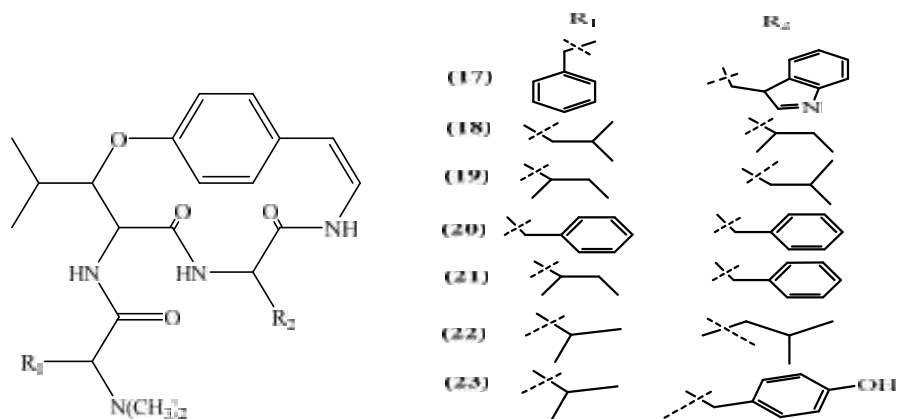
Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari genus *Melochia* adalah (-)-*epi*-katecin (**15**) yang diperoleh dari ekstrak kloroform akar tumbuhan *M. chamaedrys* (Dias *dkk.*, 2007). Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari ekstrak kloroform kayu batang dan kayu akar *M. umbellata* adalah 6,6'-dimetoksi-4,4'-dihidroksi-3',2'-furano-isoflavan (**16**) (Erwin, 2010).



Gambar 1 Struktur senyawa flavonoid dari genus *Melochia*

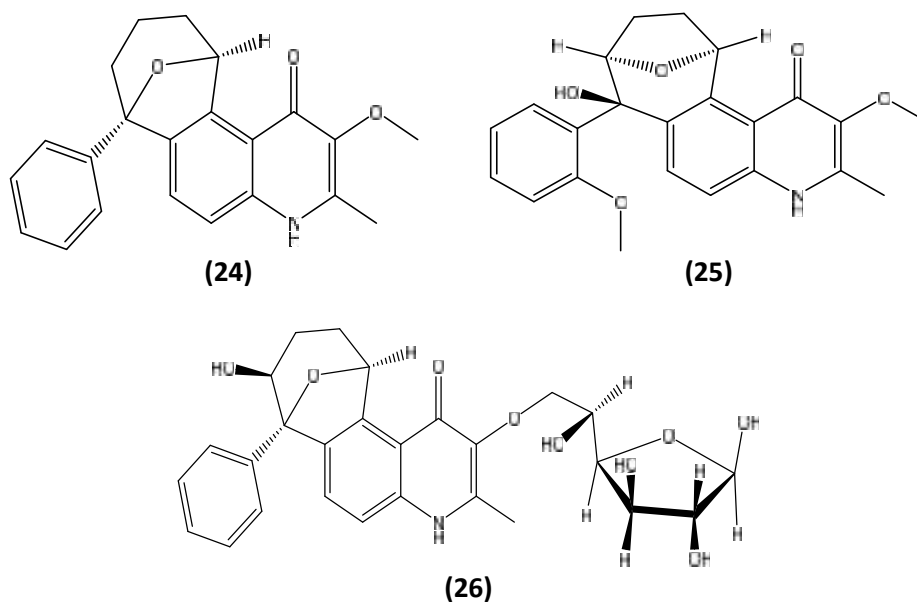
b. Alkaloid

Jenis senyawa alkaloid banyak ditemukan di genus *melochia*. Senyawa alkaloid yang berhasil diisolasi dari akar *M. chamaedrys* adalah senyawa siklopeptida alkaloid, yaitu: chamaedrine (**17**), adouetine X (**18**), frangufoline (**19**), scutianine B (**20**), scutianine C (**21**) (Dias *dkk.*, 2007). Dua alkaloid siklopeptida, melonovin A (**22**) dan melonovin B (**23**) telah diisolasi dari akar *M. tomentosa* (Kapadia *dkk.*, 1977).



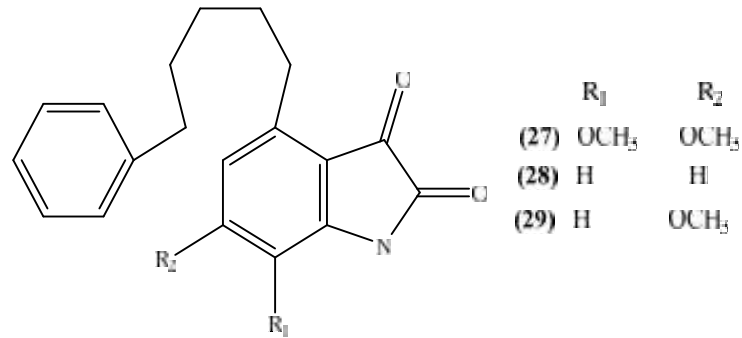
Gambar 2 Struktur senyawa siklopeptida alkaloid dari genus *Melochia*

Tiga alkaloid kuinolon waltherion A (**24**) dan dua alkaloid baru, waltherion C (**25**) dan waltherion D (**26**) diisolasi dari ekstrak metanol *M. ordata*. Waltherion A dan C menunjukkan signifikan dalam uji sitoproteksi anti-HIV in vitro masing-masing pada konsentrasi 56,2 dan 0,84 μM dan penghambatan pembentukan P24 HIV lebih dari 50% pada 1,7 dan 0,95 μM (Jadulco dkk., 2014).



Gambar 3 Struktur alkaloid kuinolon dari genus *Melochia*

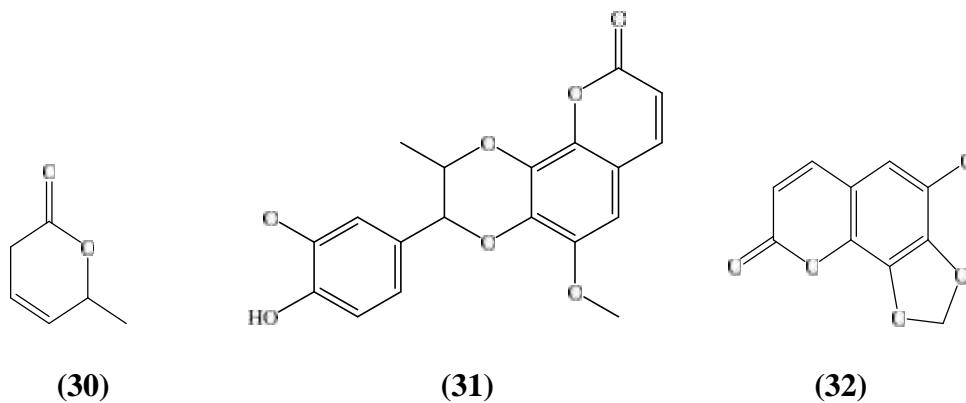
Dari tumbuhan *M. tomentosa* juga diperoleh melosatin A (27), B (28), dan C (29). Sintesis terhadap melosatin A (27) diperoleh melosatin C (29) yang telah dikarakterisasi sebagai 7-metoksi-4-(5-fenilpentil)isatin (Kapadia dkk., 1980).



Gambar 4 Struktur senyawa melosatin dari genus *Melochia*

c. Lakton

Senyawa asam parasorbat (30) dan propacin (31) merupakan senyawa dari golongan lakton yang telah diisolasi dari *M. chamaedrys* (Dias *et al.*, 2007). Dari ekstrak kloroform akar *M. tomentosa* diisolasi senyawa dari golongan lakton 6-metoksi-7,8-metilendioksikumarin (32) (Shukla *et al.*, 1976).

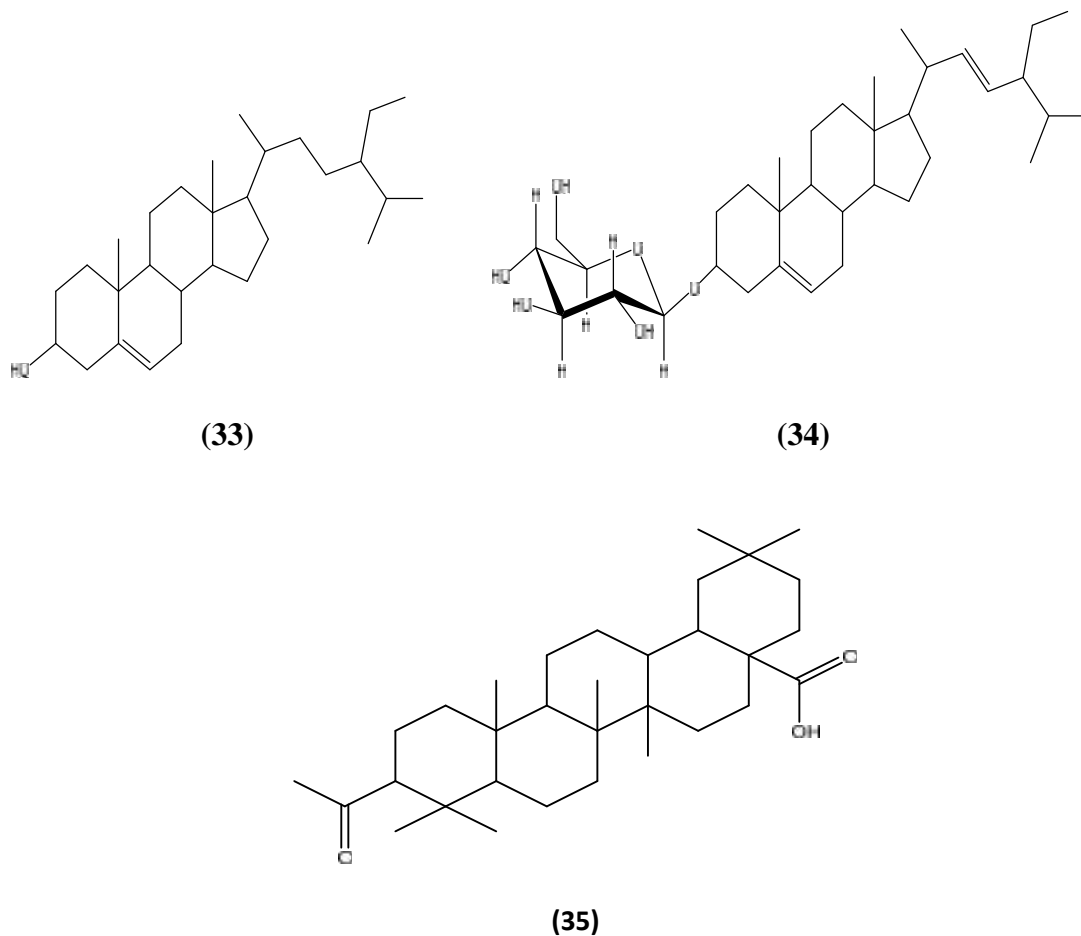


Gambar 5 Struktur senyawa lakton dari genus *Melochia*

d. Steroid

Senyawa-senyawa steroid dari genus *Melochia* yang telah berhasil diisolasi adalah β -sitosterol (33) dari ekstrak kloroform daun *M. umbellata* (Imran, 2013), dan

stigmas-5,22-dien-3-*O*- β -D-glukopiranosida (**34**) dari ekstrak kloroform kayu akar *M. umbellata* (Ridhay, 2012). Senyawa turunan oleanan 3-asetil-olean-12-en-28-oat (**35**) diisolasi dari ekstrak n-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* memiliki nilai LC₅₀ 369,98 μ g/mL terhadap *A. salina* tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan jamur *C. Albicans* (Usman dkk., 2015).



Gambar 6 Struktur senyawa steroid dari genus *Melochia*

2.3 Uraian *M. umbellata*

M. umbellata adalah tumbuhan yang sudah lama dikenal dengan sebutan paliasa oleh masyarakat Sulawesi Selatan. Klasifikasi tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf menurut (USDA-NRCS, 2015) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta
Superdivision : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dilleniidae
Order : Malvales
Family : Malvaceae
Genus : *Melochia*
Spesies : 1. *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K.
2. *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *visenia*.

Berdasarkan penelusuran literatur terhadap fitokimia tumbuhan spesies *M. umbellata*, menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki kandungan senyawa dari golongan alkaloid, flavonoid, dan steroid. Senyawa flavonoid yang diisolasi dari ekstrak kloroform kayu batang dan kayu akar *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata*. adalah 6,6'-dimetoksi-4,4'-dihidroksi-3',2'-furano-isoflavan (**16**) (Erwin, dkk., 2010). Senyawa steroid yang telah berhasil diisolasi dari spesies *M. umbellata* adalah yaitu -sitosterol (**33**) dan stigmas-5,22-dien-3-O- β -D-glukopiranosida (**34**) dari fraksi kloroform yang aktif terhadap jamur *Aspergillus niger* (Ridhay, dkk., 2012). Imran (2013) telah mengisolasi senyawa -sitosterol dari ekstrak kloroform daun *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* . yang berpotensi sebagai obat diabetes melitus (antihiperqlikemik). Ekstrak metanol daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *S. aureus* (Wullur dkk., 2013). Ekstrak metanol kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram negatif *B. subtilis* dan *S. aureus*, serta bakteri Gram positif

E. coli, *S. thypi* dan *P. aeruginosa* (Usman dkk., 2012). Ekstrak n-heksan daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata sangat aktif menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan dari fraksi tersebut teridentifikasi senyawa 1-tetracosanol dan dua senyawa dari golongan steroid (Wulur dkk., 2015).

Menurut Tayeb dkk., 2007, ekstrak methanol dari daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Visenia memiliki sifat toksisitas terhadap larva *A. salina*. Menurut Lalo, 2002, ekstrak metanol *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Visenia dapat memperbaiki fungsi hati mencit jantan. Infus daun *M. umbellata* (Hout) Stapf var. Visena terhadap hewan uji mencit memiliki LD₅₀ 19,173%/kg bobot mencit atau setara dengan 47,93% yang dikategorikan aman untuk dikembangkan sebagai fitofarmaka (Rusniati, 2001).

2.4 Deskripsi *A. salina*

Menurut Kanwar, 2007, klasifikasi *Artemia salina* Leach adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Anthropoda
Kelas : Crustacea
Ordo : Anostraca
Family : Artemiidae
Genus : *Artemia*
Spesies : *A. salina* Leach

A. salina Leach. atau *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan primitif yang sudah dikenal cukup lama dan oleh Linnaeus pada tahun 1778 yang diberi nama *Cancer salinus*, kemudian oleh Leach diubah menjadi *A. salina* pada tahun 1819. Satu-satunya kondisi lingkungan hidup bagi *A. salina* adalah lingkungan hidup yang berkadar garam tinggi, karena pada kondisi tersebut pemangsanya pada umumnya

sudah tidak dapat hidup lagi. *A. salina* merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *A. salina* Leach. juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007).

2.5 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme yang bersel satu, tidak berklorofil, berkembang biak dengan pembelahan diri serta demikian kecilnya sehingga hanya tampak dengan mikroskop. Pembagian bakteri berdasarkan tahap pewarnaan dibagi atas dua bagian, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam terikat yang mengandung alkohol. Bakteri Gram negatif memiliki beberapa lapis peptidoglikan dan membran luar (Dwidjoseputro, 1990).

Resistensi bakteri adalah kondisi ketika suatu strain bakteri menjadi resisten (kebal) terhadap antibiotik. Resistensi ini berkembang secara alami melalui mutasi yang terjadi secara perlahan dan acak dan juga bisa disebabkan oleh pemakaian obat antibiotik yang tidak tepat sebagai adaptasi bakteri terhadap tekanan lingkungan. Setelah gen resisten dihasilkan, bakteri kemudian dapat mentransfer informasi genetik secara horisontal (antar individu) dengan pertukaran plasmid. Mereka kemudian akan mewariskan sifat itu kepada keturunannya, yang akan menjadi generasi resisten. (Ventola, 2015).

2.5.1 *Escherichia coli*

E. coli merupakan bakteri Gram negatif yang termasuk dalam familia Enterobacteriaceae, bakteri ini merupakan flora normal yang terdapat dalam usus

merupakan kelompok besar yang berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan habitat alaminya adalah saluran usus manusia dan hewan. Bakteri ini merupakan bakteri yang dibutuhkan oleh manusia dalam jumlah tertentu, tetapi dapat juga menimbulkan penyakit dalam jumlah besar. *E. coli* dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi, seperti infeksi saluran kemih dan diare. *E. coli* adalah penyebab infeksi saluran kemih yang paling sering pada sekitar 90% infeksi saluran kemih pertama pada wanita muda. Morfologinya berupa koloni yang bundar, cembung, tipis dengan tepi yang nyata (Jawetz, dkk., 2001). Menurut Fardiaz, 1993, klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria
Divisio : Proteobacteria
Classis : Gamma Proteobacteria
Ordo: Enterobacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus: *Escherichia*
Species : *E. coli*

2.5.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan bakteri Gram positif, yang berbentuk kokus, dengan penataan berpasangan dan bergerombol. Mikroba ini bersifat aerob atau anaerob fakultatif, tumbuh pada suhu 37°C, katalase positif, oksidase negatif, bersifat nonmotil, tidak membentuk spora dan fermentatif. Salah satu bakteri yang termasuk ke dalam genus ini adalah *S. aureus*. *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi supuratif (nanah) dan toksinosis pada manusia. Hal ini menyebabkan terjadinya lesi dangkal pada kulit seperti bisul dan infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, mastitis, flebitis, meningitis dan

infeksi saluran kemih; dan infeksi, seperti osteomyelitis dan endocarditis Pada media padat koloni dari bakteri ini berbentuk bulat, tipis, mengkilat dan berwarna abu-abu hingga kuning emas (Lay dan Hastowo,1992). Menurut Fardiaz, 1993, klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Eubacteria
Divisio : Firmicutes
Classis : Bacilli
Ordo: Bacillales
Familia : Staphylococcaceae
Genus: *Staphylococcus*
Species : *S. aureus*

2.6 Bioassay

Proses pencarian senyawa aktif dimulai dengan pemilihan jaringan tumbuhan. Bioassay biasanya digunakan untuk menguji adanya sifat toksik sebagai petunjuk bioaktivitas dari ekstrak atau senyawa isolat. Menurut Siswandono dan Sukarjo, 2000, untuk mendapatkan senyawa penuntun yang dapat digunakan sebagai acuan dalam obat dilakukan dengan penelusuran senyawa bahan alam, isolasi dan penentuan struktur, serta diuji biologis dengan metode yang sesuai baik secara *in vitro* maupun dengan cara *in vivo*.

Uji bioassay secara *in vitro* jauh lebih menguntungkan dibandingkan dengan cara *in vivo* karena pengerjaannya jauh lebih sederhana, cepat, lebih sensitive, lebih murah dan membutuhkan sampel yang lebih sedikit. Mengingat pentingnya uji bioaktivitas terhadap isolat senyawa bahan alam, maka upaya untuk melakukan uji bioassay yang lebih sederhana, mudah dilakukan dan biaya yang rendah terus dilakukan. Salah satu uji

yang lebih sederhana adalah dengan memanfaatkan benur udang *A. salina* yang dikenal dengan BST (Brine Shrimp Letality) (Meyer, dkk., 1982).

Uji ini telah dilakukan oleh Meyer, dkk., pada tahun 1982 dengan sedikit modifikasi. Uji ini menggunakan naupli (larva) udang *A. salina*. Naupli ini diperoleh dengan meneteskan telur udang *A. salina*. Dalam medium air laut buatan dan digunakan setelah 48 jam. Jumlah larva udang yang mati dan dapat bertahan dalam fraksi atau isolat tunggal dengan variasi konsentrasi dicatat dan nilai LC₅₀ dengan interval kepercayaan 95% dihitung menggunakan program computer Finney atau program Bliss Method. Nilai LC₅₀ yang lebih dari 100 ppm ($\mu\text{g/mL}$) dari senyawa murni digolongkan tidak aktif (Anderson, dkk., 1991).

Metode BST digunakan sebagai bioassay sederhana untuk penelitian bahan alam. Aktivitas dari senyawa aktif dapat menunjukkan sifat toksiknya terhadap benur udang *A. salina*. Metode ini telah digunakan untuk analisis residu peptida, mikotoksin, polutan sungai, obat bius, morfin, dan bahan-bahan beracun pada lingkungan laut (Meyer, dkk., 1982).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan meliputi serbuk kayu batang *M. umbellata*, kloroform p.a., pelarut-pelarut yang dimurnikan seperti metanol, etil asetat, n-heksan, dan aseton. Silika gel Merck 60 GF254 dengan nomor katalog 7730, 7733, dan 7734, pelat berlapis Si gel Merck Kieselgel 60 GF254, H₂SO₄ 96%, akuades, dimetil sulfoksida (DMSO), garam laut *sea salt* dengan nomor katalog S-9883, telur udang *A. salina*, HgCl₂, KI, BiNO₃, HCl 37%, Serbuk Mg, anhidrida asetat, FeCl₃ 5%, kertas cakram 3 mm, akuabides, nutrien broth, nutrien agar, larutan Mc. Farland, *Paper disc*, amoxicilin, stok bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan terdiri atas beberapa alat-alat gelas yang umum dipakai di laboratorium, corong Buchner, plat tetes, *micropipet*, *microplate*, tabung *ependorf*, lampu, wadah penetasan benur udang, *vortex*, inkubator, *autoclave*, ose, cawan petri, jangka sorong, *chamber*, pipa kapiler, kolom kromatografi tekan (KKT), kolom kromatografi vakum (KKV), kolom kromatografi gravitasi (KKG). Beberapa instrumen seperti oven, lampu UV, neraca digital, rotary evaporator, Shimadzu FT-IR.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September 2016 sampai April 2017 dengan lokasi penelitian di Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia Sains Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin dan

Laboratorium Pengembangan dan Penelitian Sains Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengumpulan Sampel Tumbuhan

Kayu batang *M. umbellata* dikumpulkan di Desa Baring Kecamatan Sigeri Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan.

3.4.2 Preparasi Sampel

Kayu batang *M. umbellata* dipotong kecil-kecil hingga seukuran korek api kemudian dikeringkan. sampel yang telah kering digiling sampai membentuk serbuk kayu di Labortorium Pengolahan dan Pemanfaatan Hasil Hutan Universitas Hasanuddin.

3.4.3 Isolasi

Sebanyak 4,6 kg serbuk kering kayu batang *M. umbellata* dimaserasi dengan n-heksana selama 1 x 24 jam sebanyak 5 kali. Maserat kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* Ekstrak kental diuji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata*. Esktrak kental selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan KKV. Hasil fraksinasi selanjutnya diuji bioaktivitasnya terhadap *A. salina* dengan menggunakan metode BST. Prosedur uji bioaktivitas terhadap *A. salina* dapat dilihat pada Lampiran 2. Fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* diuji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi-fraksi tersebut. Fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* difraksinasi lebih lanjut KKV, KKT, dan KKG menggunakan eluen yang sesuai berdasarkan analisis dengan KLT.

3.4.4 Prosedur uji antibakteri

A. Pembuatan media untuk bakteri

Media *nutrient agar* dibuat dengan cara mencampur 23 g *nutrient agar* dengan 1000 mL air suling dan dididihkan sampai melarut sempurna, dimasukkan ke dalam botol untuk disterilisasi dengan autoklaf. *Nutrient broth* sebanyak 8 g dicampurkan ke dalam 1000 mL air dan dididihkan sebelum digunakan dan distrerilisasi dengan autoklaf.

B. Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi bakteri dalam media cair setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C diaduk menggunakan *vortex*, kepekatan suspensi bakteri disesuaikan dengan larutan Mc. Farland 0.5 menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.

C. Preparasi sampel

Sampel pada uji antibakteri merupakan fraksi yang bersifat tidak aktif terhadap *A. salina* (fraksi B, D, dan F). Amoxilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif.

0.5 mg sampel dilarutkan dengan 100 μ L DMSO, kemudian ditambahkan 400 μ L akuades sehingga konsentrasi larutan menjadi 1000 ppm. Dipipet 50 μ L dari larutan sampel 1000 ppm kemudian ditambahkan akuades sebanyak 450 μ L sehingga konsentrasi larutan menjadi 100 ppm. Dipipet 50 μ L dari larutan sampel 100 ppm kemudian ditambahkan akuades sebanyak 450 μ L sehingga konsentrasi larutan menjadi 10 ppm.

D. Pengujian aktivitas antibakteri

Sebanyak 50 μ l masing-masing suspensi bakteri ke dalam 15 ml media agar

yang telah dicairkan dalam cawan petri steril dan kemudian dibiarkan menjadi padat. Kertas cakram direndam dalam sampel kemudian diletakkan pada permukaan media padat. Media padat dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37⁰ C selama 24 jam. Penentuan aktivitas antibakteri didasarkan pada hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk disekitar cakram kertas. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

3.5 Pengamatan

3.5.1 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 Rf yang sama.

3.5.2 Analisis KLT

Analisis dengan KLT dilakukan dengan menggunakan berbagai variasi pelarut. Maserat ditotolkan pada plat KLT yang memiliki silika gel sebagai adsorben lalu dimasukkan di dalam tabung yang telah dijenuhkan dengan eluen. Noda dari hasil totolan pada *base line* bergerak berdasarkan perbedaan kepolaran dan dihasilkan noda-noda. Sistem ini dilakukan dengan prinsip *trial and error* guna mencari eluen yang sesuai untuk fraksinasi. Eluen yang digunakan dapat berupa campuran dua atau tiga pelarut. Kromatogram yang baik ditandai dengan terpisahnya masing-masing noda. Dari noda tersebut akan dihitung nilai Rf-nya. Senyawa murni harus menunjukkan noda tunggal pada tiga macam sistem eluen dan kromatogram KLT dua dimensi.

3.5.3 Uji Fitokimia

A. Identifikasi alkaloid

Sampel ditambahkan 1 mL HCl 2 M dan 9 mL akuades kemudian dipanaskan selama 2 menit, setelah itu didinginkan dan kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing ditambah dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat kemerahan. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi warna jingga.

B. Identifikasi flavonoid

Sampel dilarutkan dalam metanol panas dan menambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika warna larutan berubah menjadi jingga menandakan adanya senyawa golongan flavonoid

C. Identifikasi Triterpenoid dan Steroid

Sampel dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, kemudian menambahkan 0,5 mL anhidrida asetat dan meneteskan campuran dengan 2 tetes H₂SO₄ pekat. Jika warna larutan berubah menjadi biru atau ungu menandakan adanya senyawa golongan steroid, sedangkan jika berubah menjadi merah atau kuning menandakan adanya senyawa golongan triterpenoid

D. Identifikasi Fenolik

Sampel dilarutkan dalam 10 mL akuades kemudian disaring dan filtrat ditambah dengan 3 tetes FeCl₃ 1%. Jika warna larutan berubah menjadi biru menandakan adanya senyawa golongan fenolik

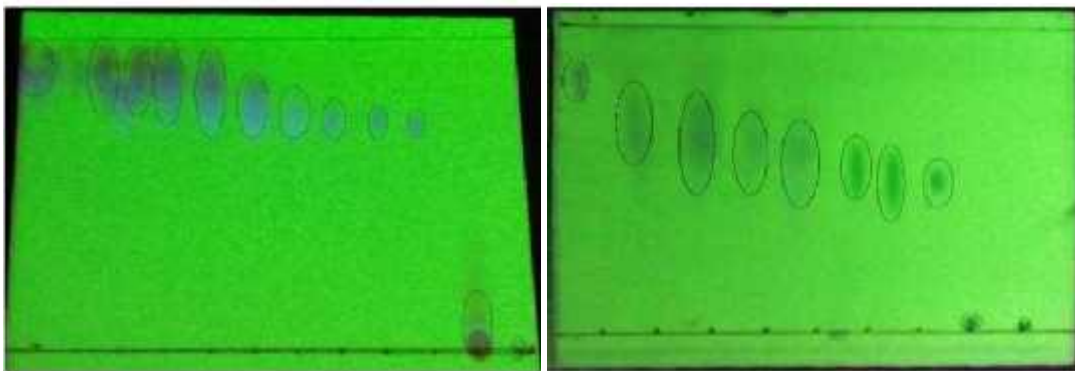
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Maserasi, Fraksinasi dan Uji Bioaktivitas Terhadap *A. salina*

Maserat kental hasil evaporasi berwarna coklat dan berbobot 9,854 gram. Hasil uji fitokimia menunjukkan dalam ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* terdapat senyawa golongan alkaloid, terpenoid, fenolik, flavonoid dan steroid. Fraksinasi menggunakan KKV menghasilkan 12 fraksi yang kemudian digabung menjadi 10 fraksi utama (fraksi A-J) berdasarkan profil noda yang mirip.



(a) (b)

Gambar 7. Kromatogram fraksi-fraksi dari ekstrak n-heksan (a) Sebelum digabung; (b) setelah digabung menjadi fraksi utama

Menurut Aderson dkk. (1999) suatu sampel dinyatakan tidak aktif terhadap *A. salina* jika memiliki nilai $LC_{50} > 100$ ppm. Oleh karena itu, data pada Tabel 3. memberikan informasi bahwa fraksi B, D, dan F merupakan fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina*. Hasil uji fitokimia terhadap fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Berat dan nilai LC₅₀ terhadap *A. salina* hasil fraksinasi ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata*

Fraksi	LC ₅₀ (ppm)	Berat (gram)
A	68,86	3,6969
B	108,51	0,0393
C	66,95	0,0321
D	801,73	0,0210
E	73,20	0,0401
F	200,67	1,7107
G	37,79	0,6548
H	28,46	0,088
I	29,68	3,2684
J	23,45	0,2534

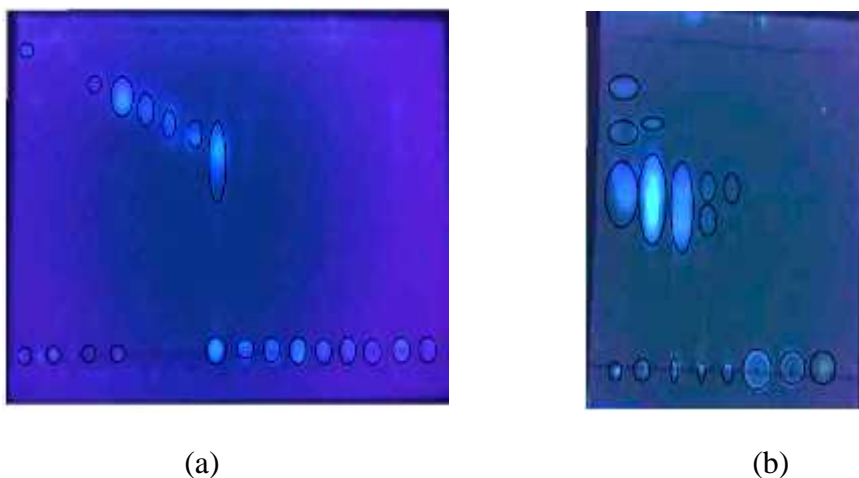
Tabel 4. Hasil uji fitokimia fraksi-fraksi yang tak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata*

Golongan senyawa	Fraksi		
	B	D	F
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	++	+	+
Fenolik	+	-	-
Steroid/ triterpenoid	+	+	++

Keterangan: - : negatif
 + : positif
 ++ : positif kuat

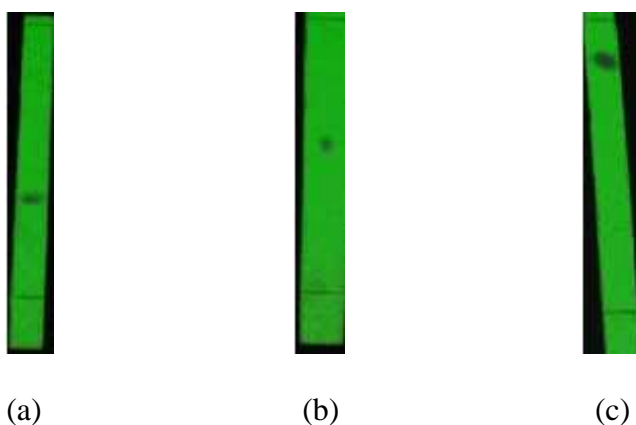
4.1.2 Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder

Hasil fraksinasi fraksi F diperoleh 16 fraksi yang digabung menjadi 8 fraksi utama (Af-Hf).

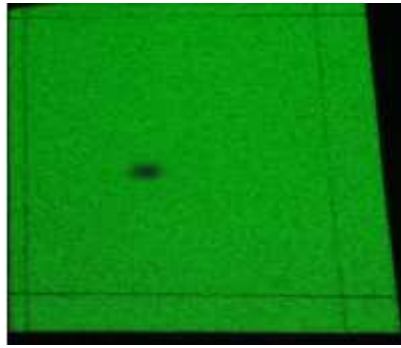


Gambar 8. Kromatogram hasil fraksinasi fraksi F (a) sebelum digabung (b) setelah digabung menjadi fraksi utama

Hasil fraksinasi fraksi Df diperoleh 4 fraksi (F1-F4). Kristalisasi fraksi F2 menghasilkan kristal putih sebanyak 0,3 mg. Kromatogram hasil analisis KLT dengan 3 sistem eluen dan KLT dua dimensi memperlihatkan hanya ada satu noda yang berpendar di bawah lampu UV. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa X merupakan senyawa murni.

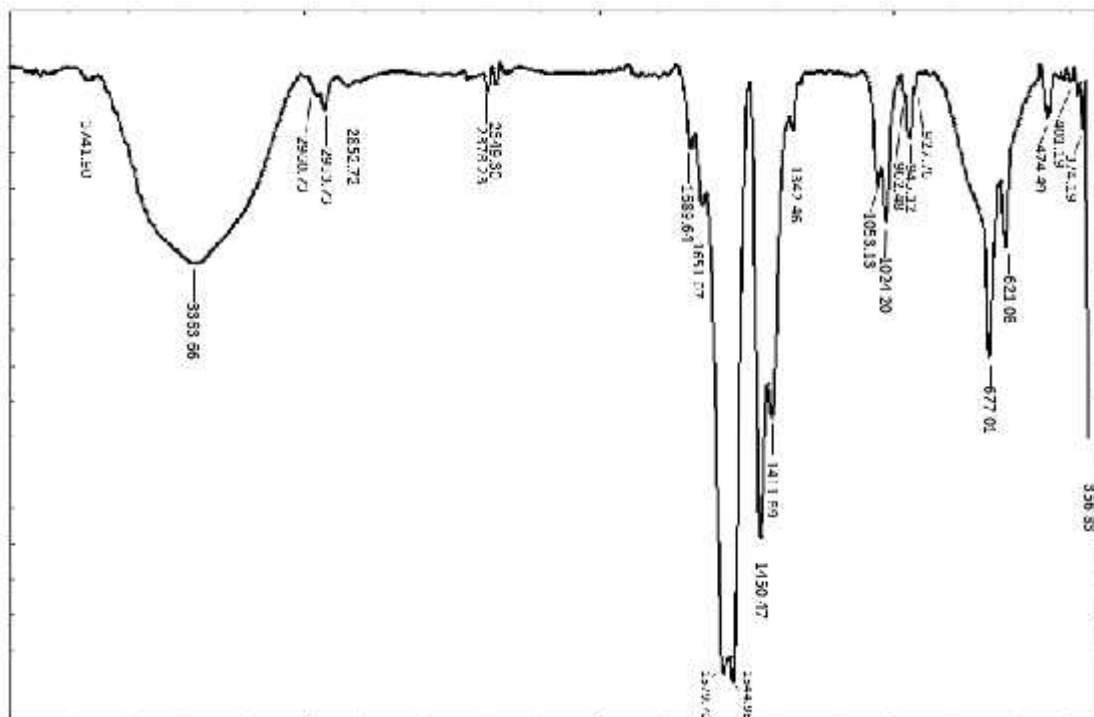


Gambar 9. Kromatogram senyawa X, (a) n-heksan: kloroform (9:1); (b) n-heksan: etil asetat (9:1); (c) n-heksan : etil asetat (8:2)



Gambar 10. Kromatogram 2 dimensi senyawa X

Pada uji fitokimia, senyawa X menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi merah setelah ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Hal ini menunjukkan senyawa X termasuk dalam golongan triterpenoid. Data spektroskopi IR senyawa X dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Data spektroskopi IR senyawa X

4.1.3 Uji Antibakteri

Data uji antibakteri fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* dapat dilihat pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Data hasil uji antibakteri *S. aureus*

Konsentrasi (ppm)	Diameter zona hambat (mm)				
	Fraksi B	Fraksi D	Fraksi F	Amoxicilin	DMSO
10	3,50	1,25	-	1,50	-
100	5,00	2,00	1,50	4,00	-
1000	7,75	9,00	6,25	10,25	-

Tabel 6. Data hasil uji antibakteri *E. coli*

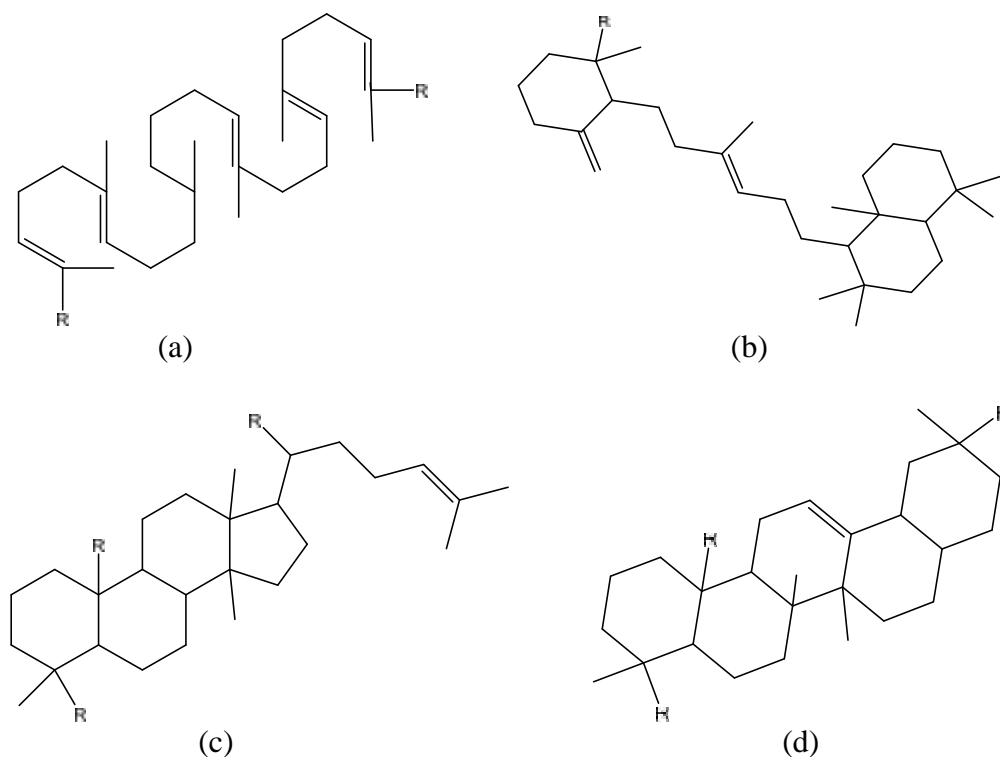
Konsentrasi (ppm)	Diameter zona hambat (mm)				
	Fraksi B	Fraksi D	Fraksi F	Amoxicilin	DMSO
10	7,00	4,50	7,50	9,00	-
100	9,50	7,50	8,00	10,50	-
1000	10,00	8,75	9,50	10,75	-

4.2 Pembahasan

4.2.1 Senyawa X

Pada penelitian ini diisolasi satu senyawa dari fraksi F. Fraksi F difraksinasi lebih lanjut karena memiliki bobot yang cukup besar dengan profil yang sederhana pada kromatogram hasil analisis KLT.

Senyawa hasil isolasi dari fraksi F berbentuk kristal berwarna putih. Data spektroskopi IR senyawa tersebut memperlihatkan adanya sinyal yang melebar pada daerah serapan $3363,86\text{ cm}^{-1}$ menandakan senyawa ini memiliki gugus OH dan diperkuat dengan adanya sinyal pada daerah $1053,13\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan sinyal untuk gugus C-O. Senyawa ini juga memiliki gugus alkena alifatik terisolasi (daerah $1643,35\text{ cm}^{-1}$), dan terkonjugasi (daerah $1579,70$ dan $1544,98\text{ cm}^{-1}$). Adanya gugus CH_2 (daerah $1450,47$ dan $1411,89\text{ cm}^{-1}$), CH_3 (daerah $1342,46\text{ cm}^{-1}$), dan gugus CH alifatik (daerah $2960,73$; $2933,73$; $2960,73\text{ cm}^{-1}$) menguatkan hasil uji fitokimia yang menunjukkan senyawa tersebut termasuk golongan triterpenoid yang biasanya memiliki banyak ikatan CH alifatik seperti yang dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Struktur dasar senyawa golongan triterpenoid, (a) triterpenoid asiklik; (b) triterpenoid trisiklik; (c) triterpenoid tertrasiklik; (d) triterpenoid pentasiklik

4.2.2 Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* dilakukan untuk membuktikan efek antibakteri dari fraksi-fraksi tersebut sebagai obat untuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Konsentrasi masing-masing fraksi divariasikan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi masing-masing fraksi terhadap aktivitas antibakteri. Sifat antibakteri dapat digolongkan sangat kuat apabila zona hambat lebih dari 20 mm, zona hambat 10-20 mm termasuk kategori kuat, zona hambat 5-10 mm termasuk kategori sedang dan zona hambat 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah.

Data pada Tabel 5 dan 6 menunjukkan bahwa daya hambat fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* tidak terlalu jauh berbeda dengan amoxicillin, sehingga memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri. Hal ini dikarenakan adanya beberapa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi-fraksi tersebut (Tabel 4). Senyawa golongan flavonoid memiliki aktivitas menghambat kinerja enzim DNA girase sehingga dapat menghambat replikasi DNA bakteri (Ohemeng dkk., 1993). Senyawa golongan steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat impermeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh (Savage dkk., 2002). Senyawa triterpenoid dapat merusak membran sel bakteri, sehingga dapat menghambat sintesis makromolekul dan DNA dalam sel bakteri (De Leon dkk., 2005).

Aktivitas antibakteri terlihat meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel uji. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi senyawa

bioaktif yang terdapat dalam fraksi. Selain konsentrasi sampel uji, kepolaran senyawa dan sifat biologis dari bakteri uji juga mempengaruhi hasil uji antibakteri.

Aktivitas antibakteri fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* terhadap *S. aureus* lebih kecil dibandingkan terhadap *E. coli*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan sifat sel *S. aureus* sebagai bakteri Gram positif dan *E. coli* sebagai bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif dan Gram negatif mempunyai dinding yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan enzim, fisik dan antibiotik. Kedua jenis mikroorganisme uji ini memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida berupa asam teikoat yang bersifat lebih polar. Bakteri Gram negatif memiliki komponen dasar penyusun dinding sel berupa lipid yang bersifat nonpolar (Silvia, dkk., 2015). Hal ini menyebabkan bakteri *E.coli* lebih sensitif terhadap fraksi-fraksi dari ekstrak n-heksan yang umumnya mengandung senyawa-senyawa nonpolar.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* merupakan senyawa golongan triterpenoid. Fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 1000 ppm. Zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* dimiliki oleh fraksi D yaitu sebesar 9 mm dan terhadap bakteri *E. coli* dimiliki oleh fraksi B dengan zona hambat sebesar 10 mm.

5.2 Saran

Fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* masih perlu diuji bioaktivitasnya lebih lanjut, karena di dalamnya terdapat beberapa golongan senyawa yang berpotensi memiliki bioaktivitas selain antibakteri

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, M.M., Sarker, A.A., Saiful, I.M., Muniruddin, A., 2010, Cytotoxic and Antimicrobial Activity of the Crude Extract of *Abutilon Indicum*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, **2** (1), 1-4
- Ahmad, S.A., 2006, *Keanekaragaman Sumber Alam Hayati sebagai Sumber Senyawa Kimia yang Berguna*, Makalah, disampaikan dalam Seminar Nasional Kimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Makassar, Makassar 2 September 2006.
- Anderson, J.E., Goetz, C.M., and McLaughlin, J.L., 1991, A Blind Comparison of Simple Benzch-top Bioassays and Human Tumor Cell, Cytotoxicities Studies as Antitumor Prescreens, *Phyochemical Analysis*, **2** (3), 107-111
- Arif, T., Bhosale J. D., Kumar N., Mandal T. K., Bendre R. S., Lavekar G. S., Dabur R., 2009, Natural Products-Antifungal Agents Derived from Plants, *Journal Of Asian Natural Products Research*, **11** (7), 621-638.
- Arivoli, S. and Tennyson, S., 2011, Larvicidal and adult emergence inhibition activity of *Abutilon indicum* (Linn.) (Malvaceae) leaf extracts against vector mosquitoes (Diptera: Culicidae), *Journal of Biopesticides*, **4** (1), 27-35.
- Arullappan, S., Muhamad, S., Zakaria, Z., 2013, Cytotoxic Activity of the Leaf and Stem Extracts of *Hibiscus rosa sinensis* (Malvaceae) against Leukaemic Cell Line (K-562), *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **12** (5), 743-746.
- Ayyanar, M. and Ignacimuthu, S., 2005, Medicinal Plant Used by The Tribals of Tirunelveli Hills, Tamil Nadu, to Treats Poisonous Bites and Skin Disease, *Indian Journal of Traditional Knowledge*, **4** (3), 229-236.
- Chaves, S.O., Gomes, R.A., Tomaz, A.C.A., Fernandes, M.G., Junior, L.G.M., Agra, M.F., Braga, V.A., Souza, M.F.V., 2013, Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone, *Molecules*, **18**, 2769-2777.
- Chen, J., Huang, S., Duh, C., Chen, I., Wang, T., Fang, H., 2006, A New Cytotoxic From Stem Wood of *Hibiscus tiliaceus*, *Planta Medica*, **26**, 935-938.
- Chen, W., Tang, W., Lou, L., and Zhao, W., 2006, Pregnane, Coumarin and Lupane Derivatives And Cytotoxic Constituents From *Helicteres angustifolia*, *Planta Medica*, **67**, 1041-1047.
- Costa, D.A., Matias, M.N., Lima, I.O., Xavier, A.L., Costa, V.B.N., Diniz, M.F.F.M., Agra, M.F., Batista, L.M., Souza, M.F.V., 2009, First secondary metabolites From *Herissantia crispa* (brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* leach, *Quim. Nova*, **32** (1), 48-50.

- Cretton, S., Breant, L., Ebrahimi, S.N., Cuendet, M., Pourrez, L., Hamburger, M., Christen, P., Ambuehl, C., Perozzo, R., Marcourt, L., Karimou, S., Kaiser, M., 2014, Antitrypanosomal Quinoline Alkaloids from the Roots of *Waltheria indica*, *Journal of Natural Products*.
- De Leon, L., Beltran, B., Moujir, L., 2005, Antimicrobial activity of 6-oxophenolic triterpenoids. Mode of action against *Bacillus subtilis*, *Planta Medica*, **71**, 313–319
- Dewoto, H. R., 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka, *Majalah Kedokteran Indonesia*, **57** (7).
- Dias, G.C.D., Gressler, V., Hoenzel, S.C.S.M., Silva, U.F., Dalcol, I.I., dan Morel, A.K., 2007, Constituents of The Roots of *Melochia chamaedrys*, *Phytochemistry*, **68**, 668-672.
- Dwidjoseputro, 1990, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta
- Erwin, Alfian, N., Soekamto, N.H., Harlim, T., 2010, 6,6'-dimethoxy-4,4'-dihydroxy-3',2'-furano-isoflavane, a New Compound from *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. (*Paliasa*), *Indonesian Journal Chemistry*, **10** (2), 222 – 225.
- Fardiaz S., 1993, *Analisis Mikrobiologi Pangan*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Fontoura, F.M., Matias, R., Ludwig, J., De Oliveira, A.K.M., Bono, J.A.M., Martins, P.F.R.B., Corsino, J., Guedes, N.M.R., 2015, Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil, *Acta Amazonica*, **45** (3), 283 292.
- Goldberg, A., 1967, The Genus *Melochia* L., *Contr US Herb*, **34**, 134-363.
- Gressler, V., Stüker, C.Z., Dias, G.O.C, Dalcol, I.I., Burrow, R.A., Schmidt, J., Wessjohann, L., dan Morel, A.F., 2008, Quinolone Alkaloid from *Waltheria douradinha*, *Phytochemistry*, **68**, 994-999.
- Hajnos, W.M., Sherma, J., Kowalska, T., 2008, *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*, CRC Press, Alaska.
- Hanif, A., Hossan, M.S., Mia, M.M.K., Islam, M.J., Jahan, R., Rahmatullah, R., 2009, Ethnobotanical Survey of the Rakhain Tribe Inhabiting the Cittagong Hill Tracts Region of Bangladesh, *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, **3** (2), 172-180.
- Herlina, 1993, *Pengaruh Infus Daun Kayu Paliasa (Kleinhovia hospita Linn) terhadap Transport Aktif Glukosa pada Usus Halus Marmut*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi, FMIPA UNHAS, Makassar.

- Imran, 2013, *Karakterisasi Senyawa dari Ekstrak Kloroform Daun Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf Var. Degrabrata K. dan Uji Aktivitas Antihiperlikemik, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Harbone, J. B., 1998, *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, Chapman & Hall, London
- Islam, M. K., Chowdhury, J. A., Eti, I. Z., Biological Activity Study on a *Malvaceae* Plant: *Bombax ceiba*, *Journal of Scientific Research*, **3** (2), 445-450.
- Jadulco, C.J., Pond, C.D., Wagoner, R.M.V., Koch, M., Gideon, O.G., Matainaho, T.K., Piskaut, P., Barrows, L.R., 2014, 4-Quinolone Alkaloids from *Melochia odorata*, *Journal Natural Product*, **77**(1), 183–187
- Jaiganesh, K.P., dan Arunachalam, A., 2011, Preliminary Phytochemical Screening And Antimicrobial Potential Of *Pterospermum canescens* Roxb., *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**(3), 0975-1491.
- Jawetz, E., Joseph, M., Edward, A., A., Geo, F., B., Janet, S., B., dan Nicholas, L., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi I. Penerjemah: Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E., B., Mertamiasih, M., Harsono, S., Alimsardjono., L, Salemba Medika, Jakarta.
- Kanwar, A.S. 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine* 2 (4): 35-42.
- Kapadia, G.J., Shukla, Y.N., Basak, S.P., Sokoloski, E.A., dan Fales, H.M., 1980, The Melosatin-A Novel Class of Alkaloids from *Melochia tomentosa*, *Tetrahedron*, **36**, 2441-2447.
- Kapadia, G.J., Shukla, Y.N., Morton, J.F., and Lloyd A., 1977, New Cyclopetide Alkaloids from *Melochia tomentosa*, *Phytochemistry*, **16**(9), 1431-1433.
- Khan, T., Ahmad, W., Bashir, S., Zafar, I., Bashir, A., Manzoor, A., Nisarullah, Arfan, M., dan Farzana, S., 2003, Biological and Pharmacological Properties of *Abroma augusta* Linn, Seed Oil, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **6**(13).
- Lalo, A., 2002, *Perbandingan Efek Ekstrak Metanol Berbagai Daun Paliasa Terhadap Fungsi Hati Mencit Jantan*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar
- Latif, 1997, *Kleinhovia hospita* Linn, *Plant Resources of South-East Asia*, 11.
- Lay B. W. dan Hastowo S., 1992, *Mikrobiologi*, IPB, Bogor.
- Meyer B.N., Ferrigny N.R., dan Putnam J.L. 1982, Brine Shrimp, A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Journal of Medical Plant Research*, **45**: 31-34.

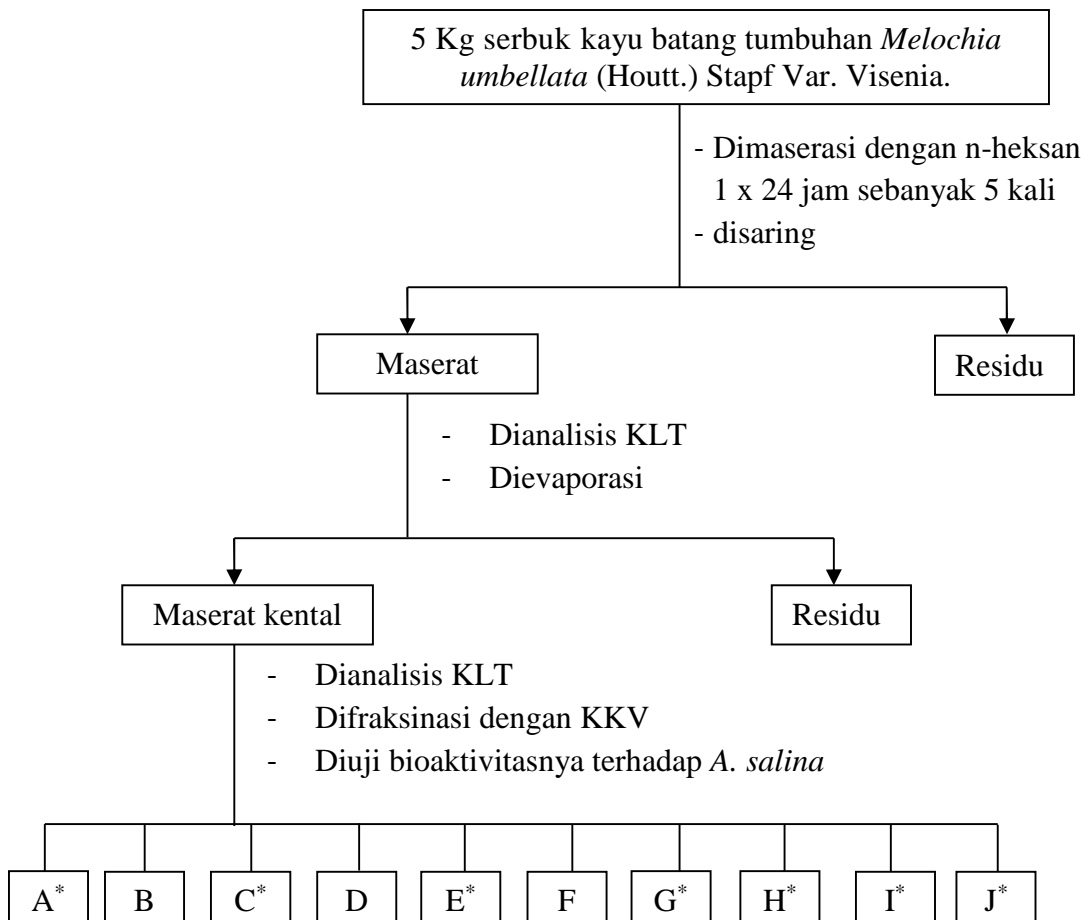
- Mostardeiro, C.P., Mostardeiro, M.A., Morel, A.F., Oliveira, R.M., Machado, A.K., Ledur, P., Cadoná, F.C., da Silva, U.F., da Cruz I.B.M., 2014, The *Pavonia xanthogloea* (Ekman, Malvaceae): Phenolic compounds quantification, anti-oxidant and cytotoxic effect on human lymphocytes cells, *Pharmacognosy Magazine*, **10** (3), S630–S638.
- Ohemeng, K. A., Schwender, C. F., Fu, K. P., Barrett, J. F., 1993, DNA Gyrase Inhibitory and Antibacterial Activity of Some Flavones, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **3** (2), 225-230
- Raflizar, Adimunca, C., dan Tuminah, S., 2006, Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Cermin Dunia Kedokteran*, **50**, 10-14.
- Razavi, M.S., Zarrini, G., Molavi, G., Ghasemi, G., 2011, Bioactivity of *Malva sylvestris* L., a Medicinal Plant from Iran, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **14** (6), 574-579.
- Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N. H., Harlim, T., 2012, A Stigmasterol Glycoside from the Root Wood of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf Var. Degrabrata K., *Indonesian Journal of Chemistry*, **12** (1), 100-103.
- Rusniati, A., 2001, *Penentuan LD₅₀ Infus Daun Paliasa (Melochia Umbellata var. visenia (Houtt) Staff.) Pada Mencit*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar
- Sannigrahi, S., Parida, S., Patro, V.J., Mishra, U.S., and Pathak, A., 2010, Antioxidant And Anti-Inflammatory Potential Of *Pterospermum acerifolium*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* , **2** (1), 1-5.
- Savage, P. B., Li, C., Taotafa, U., Ding, B., Guan, Q., 2002, Antibacterial Properties of Cationic Steroid Antibiotic, *Microbiology Letter*, **217** (1), 1-7.
- Sen, S.K., and Behera, L.M., 2007, Ethnomedicinal Plants Used by the Tribals of Bargarh District to Cure Diarrhoea and Dysentery, *Indian Journal Of Traditional Knowledge*, **7** (3), 425-428.
- Shukla, Y.N., Sokoloski, E.A., Fales, H.M., and Kapadia, G.J., 1976, 6-methoxy-7,8-methylenedioxy coumarin from *Melochia tementosa*, *Phytochemistry*, **15** (11), 1788.
- Silva, F.V., Costa, D.A., Oliveira, I.S., Chaves, M.H., Oliveira, F.H., Figueiredo, K.A., Amaral, M.P.M., Junior, F.B.M., Oliveira, R.C.M., Almeida, F.R.C., 2014, Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of *Sterculia striata* A. St.-Hil. & Naudin (Malvaceae) in Rodents, *Journal of Medicinal Food*, **17** (6), 694-700.
- Silvia, Arreneuz, S., Wibowo, M. A., 2015, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) Terhadap Jamur *Alassezia furfur* dan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Kimia Katulistiwa*, **4** (3), 84-93.

- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Sutradhar, R.K., Rahman, A.K.M.M., Ahmad, M.U., Bachar S.C., 2008, Bioactive flavones of *Sida cordifolia*, *Phytochemistry Letters*, 179–182.
- Tayeb, R., Rahim, A., Alam, G., Wahyuono, S., dan Hartati, M.S. 2007, Fraksinasi Senyawa Antikanker Daun Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Staff Var. Degrabrata), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **11**, 61-71.
- Tiew, P., Puntumchai, A., Kokpol, U., Chavasiri, W., 2002, Coumarins from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm, *Phytochemistry*, **60**, 773–776.
- Turker, M., dan Dalar, A., 2013, In vitro antioxidant and enzyme inhibitory properties and phenolic composition of *M. neglecta* Wallr. (Malvaceae) fruit: A traditional medicinal fruit from Eastern Anatolia, *Industrial Crops and Products*, **51**, 376-380.
- USDA-NRCS, 2012, *Classification for Melochia umbellata*, (online), (<http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MEUM3>) diakses tanggal 12 Desember 2015.
- Usman, Soekamto, N.H., Usman H., Ahmad A., 2012, Uji Fitokimia dan Antibakteri dari Ekstrak Metanol Kulit Batang *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf var. degrabrata (Paliasa) terhadap Bakteri Patogen, *Jurnal Kimia Sains*, **6** (1).
- Usman, Soekamto, N.H., Usman H., Ahmad A., 2015, Senyawa Turunan Oleanan dari Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K dan Bioaktivitasnya, *Indonesian Journal Chemistry Research*, **2**, 110-115
- Usman H., 2012, *Kimia Organik Bahan Alam*, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Venkatesh, S., Reddy, G.D., Madhava, R., and Lakshman, M., 2009, Antidiabetic Activity of *Helicteres isora* Root, *Phytochemistry*.
- Ventola, C. L., 2015, The Antibiotic Resistance Crisis, *Pharmacy and Therapeutics*, **40** (4), 277–283.
- Walujo, E.B., 2008, Review: Research Ethnobotany in Indonesia and the Future Perspectives, *Biodiversitas*, **9** (1), 59-63.
- Watson, L., and Dallwitz, M.J., 1992, *The Families of Flowering Plants Sterculiaceae Vent*, (<http://www-sterculiaceae>), diakses tanggal 18 april 2013.
- Wullur S., Soekamto, N. H., Zenta F., Natsir H., 2013, Uji Fitokimia dan Potensi Antibakteri dari Ekstrak Daun *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf var. degrabrata, *Buku Prosiding Simposium Kimia Bahan Alam XXI*.

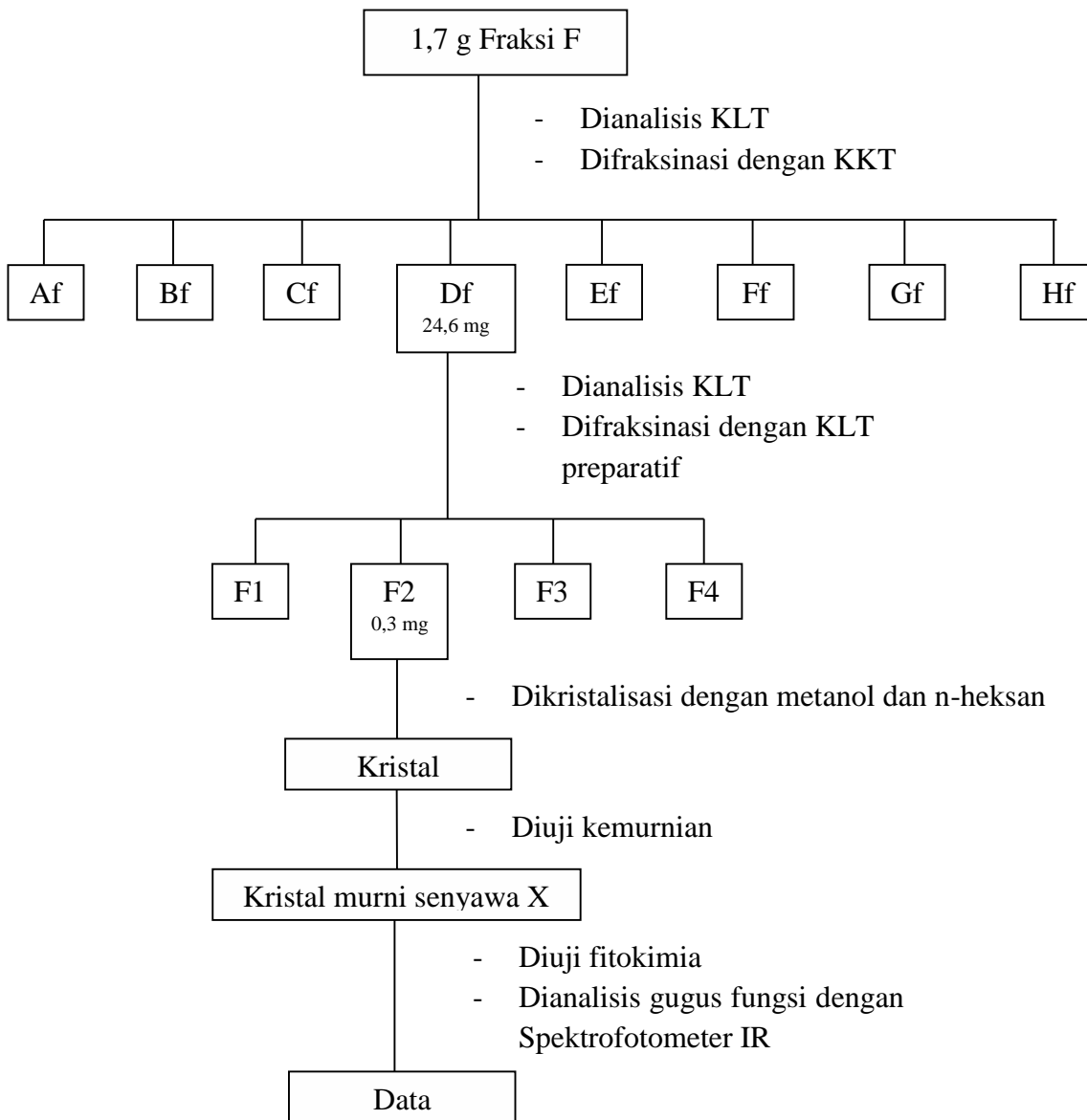
- Wullur S., Soekamto, N.H., Zenta F., Natsir H., 2015, Study Of Compounds From Extract of *Melochia Umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. (paliasa) Leaves That has Potential as Antibacterial, *Indonesian Chimica Acta*, **8** (1),
- Yang, H., Protiva, P., Cui, B., Ma, M., Baggett, S., Hequet, V., Mori, S., Weinstein, B., Kennelly, E.J., 2003, New Bioactive Polyphenols from *Theobroma grandiflorum* (“Cupuacu”), *Journal of Natural Product*, **66**, 1501-1504.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi yang Tak Aktif Terhadap *A. salina* Ekstrak n-heksan Kayu Batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf Var. Visenia

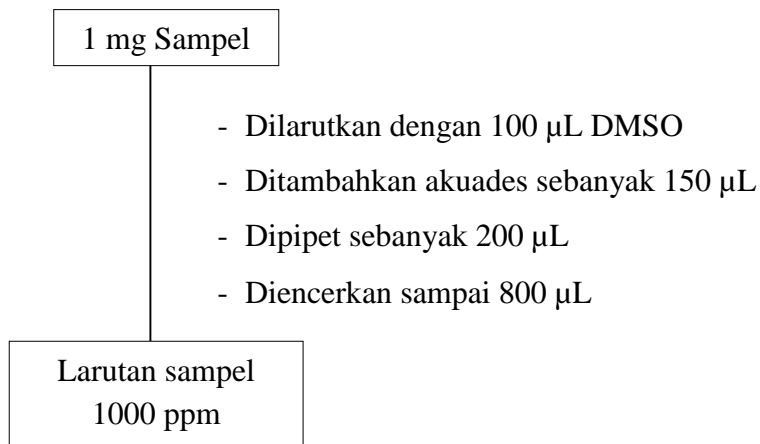


Ket: *: toksik terhadap *A.salina*



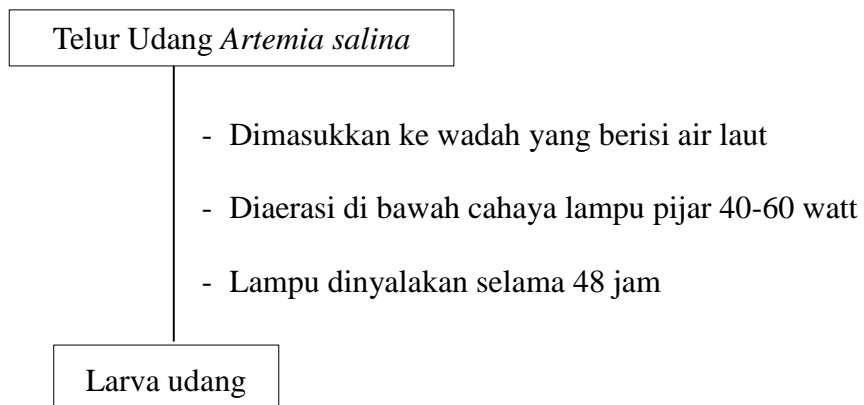
Lampiran 2. Skema Kerja Uji Antikanker *Metode Brine Shrimp Lethality Test*

A. Penyiapan Larutan Sampel (1000 ppm)

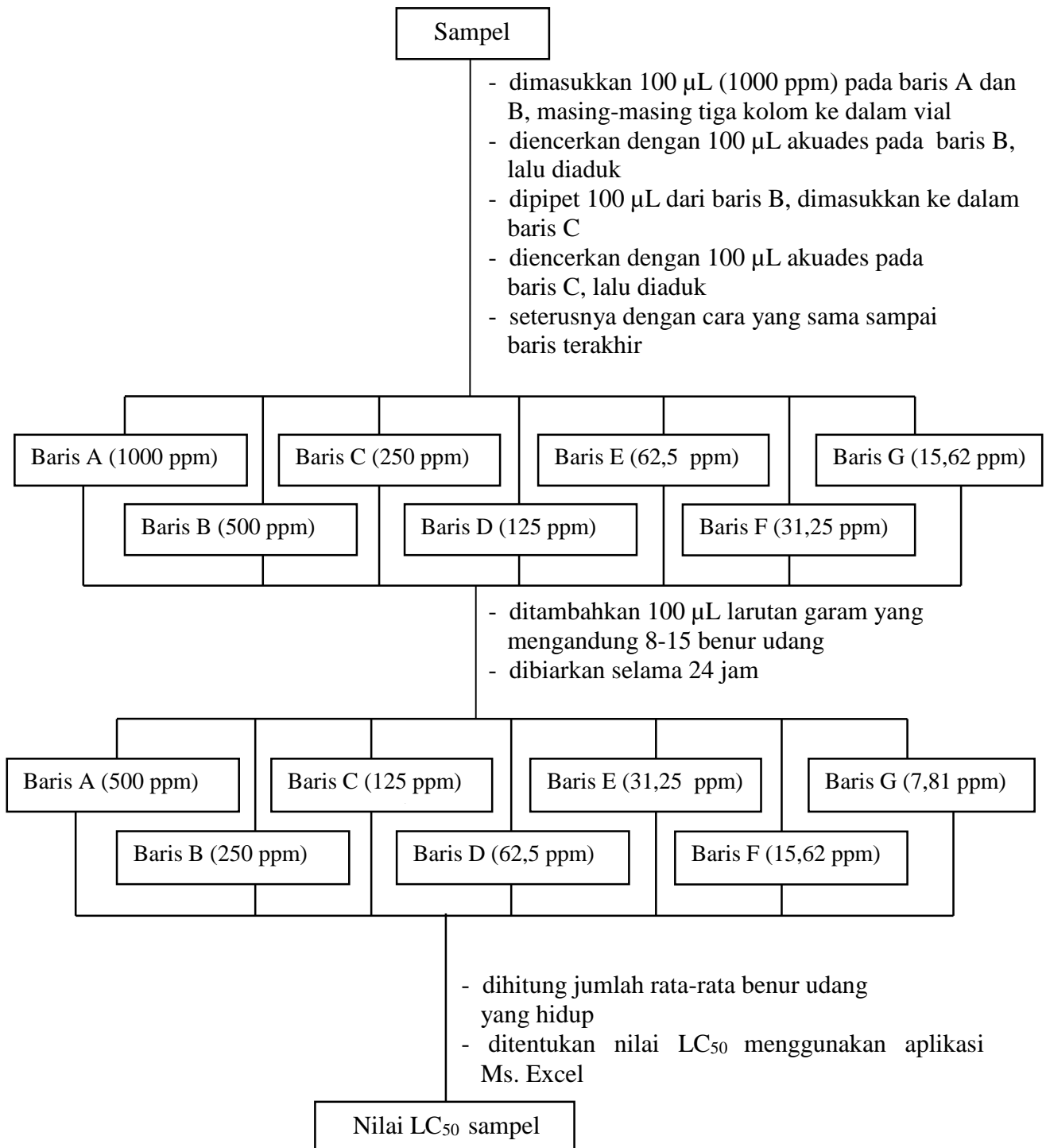


Catatan: Larutan kontrol dibuat sama dengan prosedur di atas tanpa menggunakan sampel.

B. Penyemaian Benur Udang

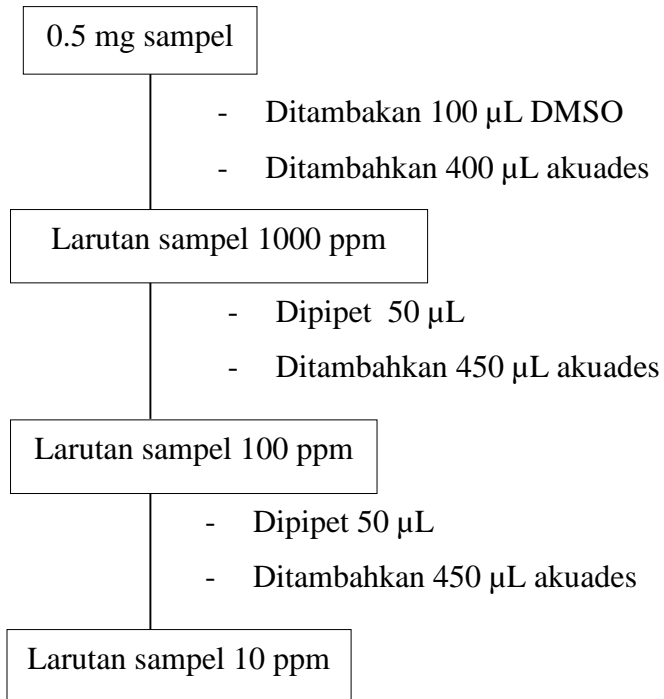


C. Prosedur Uji Metode Mayer

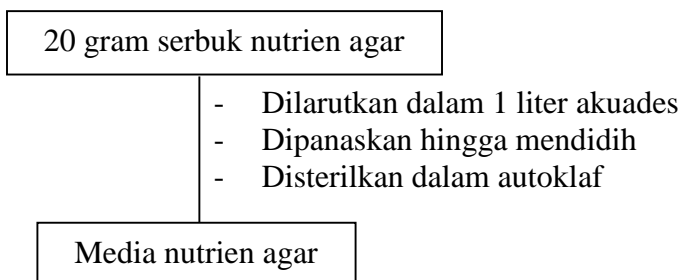


Lampiran 3. Skema Kerja Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram

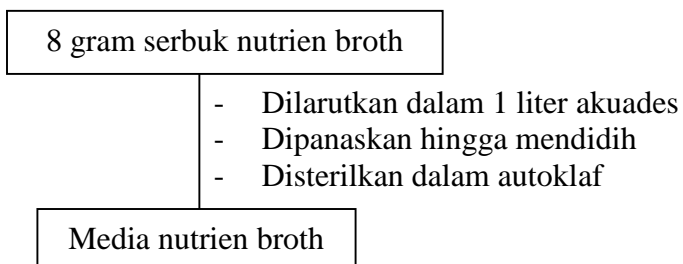
A. Penyiapan larutan sampel 1000, 100, 10 ppm



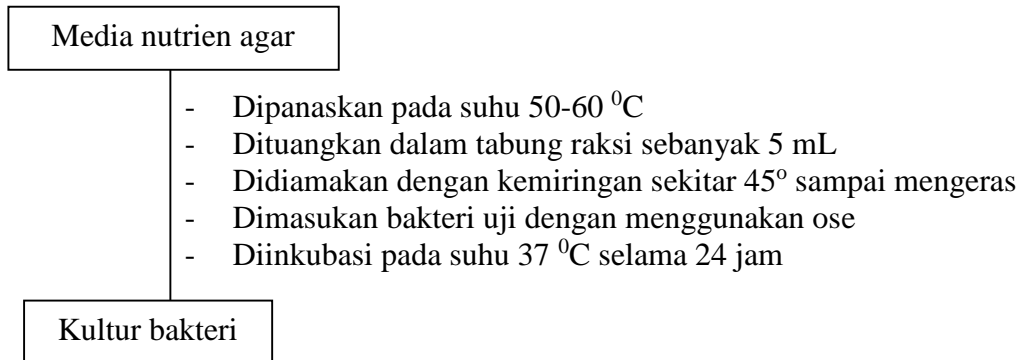
B. Pembuatan Media Nutrien Agar



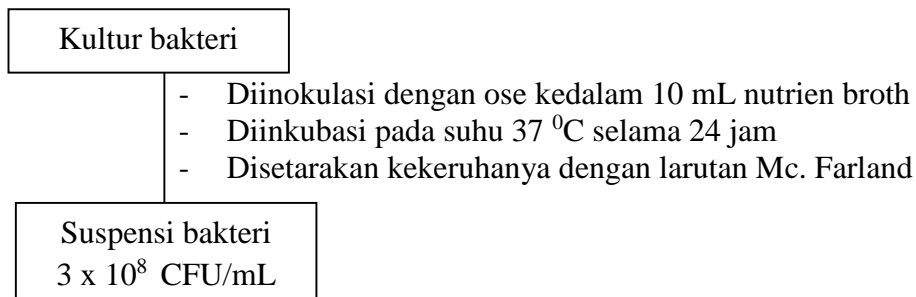
C. Pembuatan Media Nutrien Broth



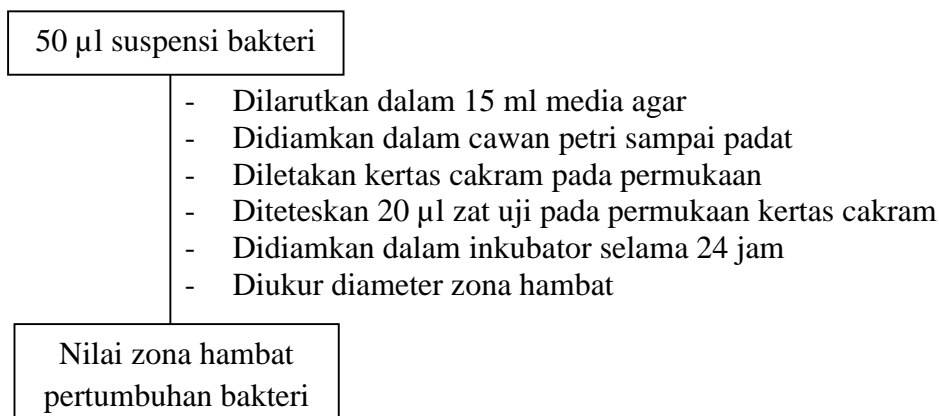
D. Pembuatan Kultur Bakteri



E. Pembuatan Suspensi Bakteri



F. Prosedur Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram



Lampiran 4. Foto Tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf Var. *Visenia*



Foto daun dan bunga



Foto pohon

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Kromatografi Kolom Vakum



Kromatografi Kolom Tekan



Hasil maserasi



Hasil fraksinasi dengan KKV

Lampiran 6. Tabel dan Foto Hasil Uji Fitokimia

Uji golongan	Pereaksi	Hasil jika positif
Alkaloid	Meyer	Terbentuk endapan putih
	Wagner	Terbentuk warna coklat kemerahan
	Dragendroff	Terbentuk warna jingga
Flavonoid	Mg + HCl	Terbentuk warna jingga
Steroid	Liebermann-Burchard	Biru ungu
triterpenoid	Liebermann-Burchard	Merah atau kuning
Fenolik	FeCl ₃	Biru tua



Hasil uji alkaloid



Hasil uji flavonoid, steroid/triterpenoid, fenolik

Lampiran 7. Tabel dan Foto Hasil Uji Antibakteri

A. Bakteri *S. aureus*



10 ppm



100 ppm



1000 ppm

Sampel	Diameter zona hambat (mm)					
	10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
Fraksi B	3.00	4.00	5.00	5.00	7.50	8.00
Fraksi D	1.00	1.50	1.50	2.50	10.00	10.00
Fraksi F	-	-	1.00	2.00	6.50	6.00
Amoxicilin	2.00	1.00	5.00	3.00	10.00	10.50
DMSO	-	-	-	-	-	-

B. Bakteri *E. coli*



10 ppm



100 ppm



1000 ppm

Sampel	Diameter zona hambat (mm)					
	10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
Fraksi B	7.00	7.00	9.50	9.50	10.00	10.00
Fraksi D	4.00	5.00	7.50	7.50	8.50	9.00
Fraksi F	7.00	8.00	8.50	9.50	9.50	9.50
Amoxicilin	9.00	9.00	10.00	11.00	10.50	11.00
DMSO	-	-	-	-	-	-

Lampiran 8. Data Spektroskopi IR Senyawa X

