

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI METILEN
KLORIDA YANG NON AKTIF TERHADAP *Artemia salina* Leach DARI
EKSTRAK DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn)**



**HASMINA
H 311 01 023**



PERPUSTAKAAN: UPT UIN. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	22 - 11 - 05
Asal Dari	Fak. MIPA
Banyaknya	1 (satu) @
Harga	H
No. Inventaris	444 / 22-11-05
No. ...	

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2005**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI METILEN
KLORIDA YANG NON AKTIF TERHADAP *Artemia salina* Leach DARI
EKSTRAK DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn)**

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

Oleh

HASMINA

H 311 01 023



MAKASSAR
2005

SKRIPSI


**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI METILEN
KLORIDA YANG NON AKTIF TERHADAP *Artemia salina* Leach DARI
EKSTRAK DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn)**

Disusun dan diajukan oleh

HASMINA
H 311 01 023

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing Utama




Prof. Dr. H. Alfian Noor, MSc
Nip. 130 520 684

Pembimbing Pertama



Dr. Nunuk Hariani S., MS
Nip. 131 658 774

Pembimbing Kedua



Drs. Beddu Jawahir, MS
Nip. 130 288 861

Hadapkanlah wajahmu dengan lurus kepada agama (Allah) tetapkanlah pada fitrah Allah yang telah menciptakan manusia menurut fitrah itu. Tidak ada perubahan pada fitrah Allah, itulah agama yang lurus, tapi kebanyakan manusia tidak mengetahuinya.
(QS Ar-Rum:30)



Kupersembahkan karya kecil ini kepada orang tuaku
(Yang mengenalkan kehidupan kepadaku)

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Wr wb,

Alhamdulillah segala puji bagi ALLAH SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya yang telah membawa penulis sampai skripsi ini terselesaikan.

Banyak suka maupun duka yang dilewati dalam menuntut ilmu, yang panjang dan berkesinambung menjadi satu rangkaian peristiwa yang tak akan terlupakan. Begitu banyak limpahan kasih sayang maupun doa dari Orang tua yang mungkin tidak dapat terbalaskan dengan apapun. Untuk itu dengan segala rasa hormat dan sujud serta doa penulis persembahkan kepada **Ayahanda Dullah** dan **Ibunda Maimunah**. Dan saudara-saudaraku atas pengertian dan kasih sayangnya.

Kepada **Bapak Prof. Dr. H. Alfian Noor, MSc, Ibu Dr. Nunuk Hariani S., MS, dan Bapak Drs. Beddu Jawahir, MSi**, selaku pembimbing yang bersedia meluangkan waktunya untuk mengarahkan penulis dari awal sampai akhir penulisan skripsi ini.

Penulis tak lupa mengucapkan terima kasih yang tulus kepada :

1. **Bapak Prof. Dr. M. Syahrul M. Agr , Bapak Drs. Abdul Karim MSi, dan Ibu Sitti Fauziah SSI., MSi.**, selaku tim penguji, atas kritik dan saran yang diberikan kepada penulis.

2. Bapak Dr. Ir. Prastawa Budi dan Ibu Dra Hj. Hasnah Natsir, MSi., selaku ketua dan sekretaris Jurusan Kimia beserta staf administrasi dan segenap staf pengajar Jurusan Kimia FMIPA UNHAS.
3. Budi, Wayan, Dina, Deby, Ita, Ayu, Agnes, Ivo (teman chatku di rumah), semoga keakraban yang terciptakan tak terlupakan. Dan semua temen angkatan '01.
4. Teman seperjuangan di laboratorium organik terutama teman-teman paliasa dan moraceae group serta Senior dan Yuniior di Jurusan Kimia FMIPA UNHAS.
5. "*Hendra*", terima kasih atas indahny persahabatan yang terciptakan dan semua tidak akan terlupakan dan terakhir "*MST*", terima kasih atas semua yang terjadi, dukungan dan doa yang diberikan tak akan tersia-siakan begitu saja.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan secara moril maupun materiil yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya Kimia Organik Bahan Alam.

Wassalamu Alaikum Wr. Wb.

Penulis

2005

ABSTRAK

Satu senyawa golongan steroid yaitu β -sitosterol telah diisolasi dari daun paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn). Metode yang digunakan yaitu ekstraksi, fraksinasi dan pemurnian. Uji pendahuluan menggunakan pereaksi Lieberman-Buchard dan identifikasi senyawa menggunakan data spektroskopi IR. Senyawa ini memiliki efek farmakologis yang mampu menghambat kerja enzim.

Kata kunci : β -sitosterol, ekstraksi, Lieberman-Buchard, fraksinasi, *Kleinhovia hospita* Linn.

ABSTRACT

A steroid compound, β -sitosterol, have been isolated from paliasa leaf (*Kleinhovia hospita* Linn). The methods used were extraction, fractionation, and purification. Preliminary test used a reagent of Lieberman-Buchard and the compound was identified by using IR spectroscopy. This compound has a pharmacology effect, it can retard the performance of enzymes.

Keywords : β -sitosterol, extraction, Lieberman-Buchard, fractionations, *Kleinhovia hospita* Linn.

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Fraksi Utama Metilen Klorida	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Senyawa Kimia Pada Spesies Tumbuhan Paliasa	6
2. Struktur Senyawa Kolesterol	8
3. Struktur Senyawa Kimia Pada Famili Moraceae	9
4. Kromatogram Fraksi utama D	23
5. Kromatogram Sistem Tiga Eluen	24
6. Spektrum IR	25
7. Spektrum Perbandingan Senyawa X dengan β -sitosterol	26
8. Kromatogram Perbandingan	27
9. Struktur Senyawa β -sitosterol	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Fraksi Non Aktif Metilen Klorida	32
2. a. Kromatogram Hasil Maserasi	33
b. Kromatogram Ekstrak Metilen Klorida	33
3. Kromatogram Fraksi Utama Hasil Fraksinasi dari Fraksi Metilen Klorida	34
4. Gambar Daun Paliasa (<i>Kleinhovia hospita</i> Linn)	35
5. Bagan Isolasi Fraksi Non Aktif Metilen Klorida	36

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

%	: persen
μ	: mikron
$\mu\text{g/mL}$: mikrogram per mililiter
$^{\circ}\text{C}$: derajat selsius
Al_2O_3	: aluminium oksida
CCl_4	: karbon tetraklorida
CeSO_4	: serium sulfat
cm	: sentimeter
m	: meter
cm^{-1}	: sentimeter pangkat minus satu
mm	: milimeter
μm	: mikrometer
H_2SO_4	: asam sulfat
hv	: kecepatan cahaya
IR	: infra red
Jl.	: jalan
kg	: kilogram
Km	: kilometer
LC_{50}	: lethal concentrate
Lr.	: lorong
m/e	: massa per elektron
mg	: miligram

mg/kg	: miligram per kilogram
mL	:mililiter
mL/menit	: mililiter per menit
N	: normalitas
NaOH	: natrium hidroksida
Rf	: rate of flow
UV	: ultraviolet
v/v	: volum per volum
λ_{maks}	: lamda maksimum
μ l	: mikroliter
v	: bilangan gelombang

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman tumbuhan obat yang terdapat di Indonesia, sangat banyak jumlahnya dan sebagian besar telah diproduksi menjadi obat tradisional. Pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional disukai masyarakat karena tidak menimbulkan efek samping dan juga sangat murah. Perkembangan teknologi yang terus meningkat mengakibatkan pengadaan obat yang diolah secara modern juga meningkat, tetapi obat asli Indonesia yang diolah secara tradisional belum dapat ditinggalkan.

Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn) adalah salah satu tumbuhan yang diyakini dapat menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas menarik karena secara alamiah sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional secara luas oleh masyarakat. Di Sulawesi Selatan, masyarakat mengkonsumsi air rebusan daun paliasa tersebut sebagai obat untuk mengobati penyakit kuning, kolesterol, dan hipertensi (Haeruddin dalam Takbir, 2004). Daun paliasa juga diduga dapat mengobati penyakit lever, mengharumkan rambut bahkan ada yang menggunakan daun paliasa untuk menurunkan kolesterol dan mencuci mata (Heyne dalam Noor, 2004). Selain itu menurut Raflizar (2000) ekstrak daun paliasa juga dapat melindungi radang hati pada tikus betina *Strain wister* yang diakibatkan CCl_4 .

Berdasarkan penelitian sebelumnya dari tumbuhan *Morus macroura* Miq telah diisolasi senyawa-senyawa yang aktif terhadap *Artemia salina* Leach.

Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa turunan stilben yaitu lunularin dengan nilai LC_{50} 58,4 $\mu\text{g/mL}$ dan turunan benzaldehid yaitu β -resorsilaldehid dengan nilai LC_{50} 29,9 $\mu\text{g/mL}$. *M. macroura* tersebut diekstrak menggunakan pelarut metilen klorida. Dari kulit akar *Artocarpus fretessi* Hassk yang diekstrak dengan metilen klorida pula diperoleh turunan flavon yaitu mulberin dengan nilai LC_{50} 77,5 $\mu\text{g/mL}$. Ketiga senyawa tersebut aktif terhadap *Artemia salina* Leach (Soekamto, 2003).

Sampai saat ini daun paliasa hanya dikonsumsi sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit, tetapi belum diketahui dengan pasti komponen kimia yang berperan untuk pengobatan tersebut. Apabila dikaji lebih dalam, daun paliasa dapat dikembangkan dan digunakan menjadi disiplin ilmu farmakologi yang bertaraf modern.

Berdasarkan uraian di atas, maka dipandang perlu untuk meneliti komponen kimia yang terdapat dalam fraksi non aktif terhadap udang *A. salina* dari ekstrak daun paliasa menggunakan pelarut dengan polaritas sedang yaitu metilen klorida. Uji terhadap udang *A. salina* mempunyai korelasi positif terhadap anti tumor, sehingga senyawa yang tidak aktif dapat memberikan efek yang lain seperti anti fungal, anti hipotensi, inhibitor terhadap lima lipooksigenasi. Dengan demikian peningkatan upaya pemanfaatan obat tradisional yang lebih modern dan mengarah kepada disiplin ilmu farmasi dapat dicapai dan informasi yang diperoleh dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, senyawa-senyawa yang terdapat pada fraksi metilen klorida cukup beranekaragam dengan bioaktivitas yang menarik.

Namun demikian belum ada informasi tentang senyawa yang berperan sebagai obat yang terdapat dalam fraksi metilen klorida yang tidak aktif terhadap udang *A. salina* dari ekstrak daun paliasa.

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Mengetahui komponen kimia yang terdapat dalam fraksi metilen klorida yang tidak aktif terhadap udang *A. salina* dari ekstrak daun paliasa.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Mengisolasi dan mengidentifikasi komponen kimia yang terdapat dalam fraksi metilen klorida yang tidak aktif terhadap udang *A. salina* dari ekstrak daun paliasa.

1.4 Manfaat Penelitian

Memberikan suatu informasi komponen kimia yang terdapat dalam fraksi metilen klorida yang tidak aktif terhadap udang *A. salina* dari ekstrak daun paliasa dan memberikan keterampilan khusus serta pengalaman bagi peneliti yang kemudian dapat digunakan untuk pengembangan penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian umum tumbuhan

2.1.1 Klasifikasi tumbuhan (Van Steenis, 1975)

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak kelas	: Apetalae
Bangsa	: Sterculiales
Suku	: Sterculiaceae
Marga	: <i>Kleinhovia</i>
Jenis	: <i>Kleinhovia hospita</i> Linn. (Herbarium Bogoriensis, 2004)

2.1.2 Nama daerah (Heyne dalam Suryawati, 1991)

Ambon	: Kinar
Bali	: Kalimaha, Katimahu
Bugis	: Aju pali, Paliasa
Flores	: Kadangan (Larantuka), kedanga (flores timur)
Irian Jaya	: Noton
Jawa	: Kayu tahun, Katumaha, Timanga, Katimanggu, Timaha.
Lampung	: Manggar

Madura	: Manggar
Makassar	: Kayu paliasa, Kauwasa
Sunda	:Tangkolo, Tangkele
Sumba	: Nundang
Ternate	: Ngaru
Timor	: Binak

2.1.3 Tempat Tumbuh

Tumbuh secara liar atau ditanam sebagai tanaman hias, pada ketinggian tidak lebih daripada 500 m di atas permukaan laut, terutama di tepi air dan ditempat lembab (Van Steenis, 1975).

2.1.4 Morfologi tumbuhan

Pohon paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) adalah pohon yang tingginya antara 5-20 m. Daunnya bertangkai panjang, berbentuk jantung dengan ukuran 4,5-27 cm kali 3-24 cm, dan pada pangkalnya bertulang daun menjari, bunga dalam malai di ujung lebar dan berambut halus. Daun pelindung oval, tajuk kelopak 5 berbentuk lanset dengan panjang 6-10 mm, berwarna merah, berambut, dan berbentuk bintang. Daun mahkota 5, empat di antaranya berbentuk pita lebar dengan pangkal seperti kantung, duduk, panjang 6 mm dan berwarna merah, sedangkan yang lainnya lebih pendek, oval melintang, dengan tepi melipat ke dalam yang melengket satu sama lain dan ujungnya berwarna kuning.

Dasar bunga memanjang membentuk tiang yang tipis dan pangkalnya dikelilingi oleh tonjolan dasar bunga berbentuk cawan. Benang sari tersusun dalam 5 berkas tiga-tiga, berkas ini berseling dengan tiap kali 1 stamidonium kecil

Madura	: Manggar
Makassar	: Kayu paliasa, Kauwasa
Sunda	:Tangkolo, Tangkele
Sumba	: Nundang
Ternate	: Ngaru
Timor	: Binak

2.1.3 Tempat Tumbuh

Tumbuh secara liar atau ditanam sebagai tanaman hias, pada ketinggian tidak lebih daripada 500 m di atas permukaan laut, terutama di tepi air dan ditempat lembab (Van Steenis, 1975).

2.1.4 Morfologi tumbuhan

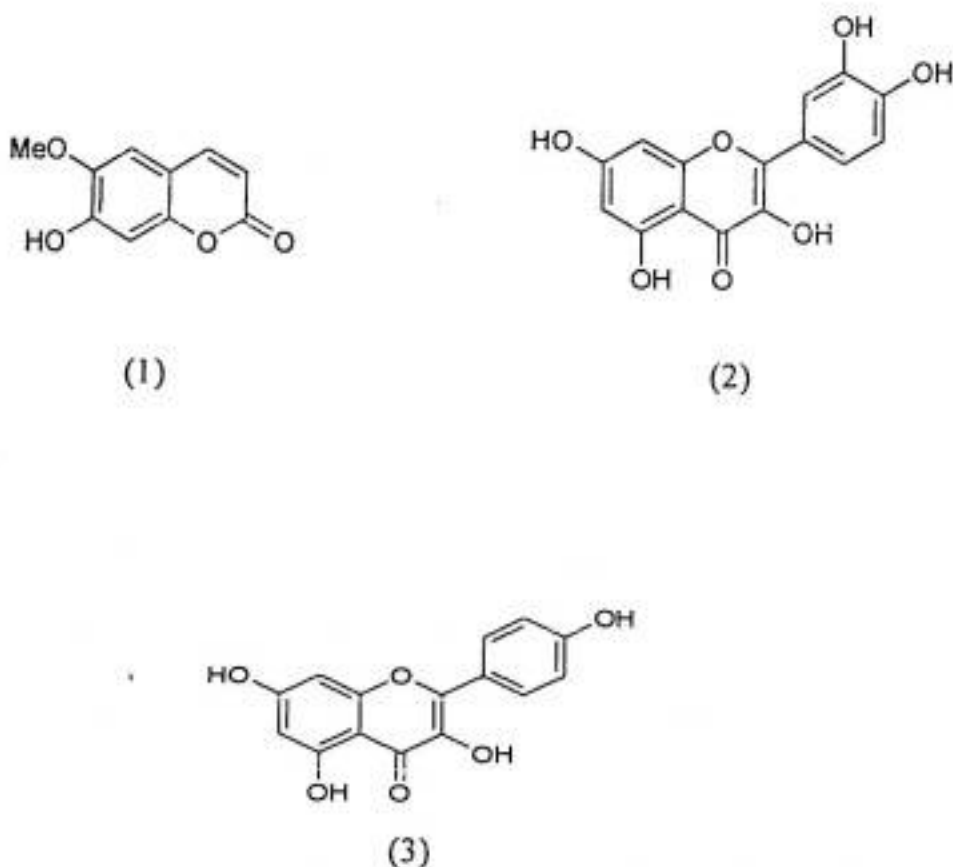
Pohon paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) adalah pohon yang tingginya antara 5-20 m. Daunnya bertangkai panjang, berbentuk jantung dengan ukuran 4,5-27 cm kali 3-24 cm, dan pada pangkalnya bertulang daun menjari, bunga dalam malai di ujung lebar dan berambut halus. Daun pelindung oval, tajuk kelopak 5 berbentuk lanset dengan panjang 6-10 mm, berwarna merah, berambut, dan berbentuk bintang. Daun mahkota 5, empat di antaranya berbentuk pita lebar dengan pangkal seperti kantung, duduk, panjang 6 mm dan berwarna merah, sedangkan yang lainnya lebih pendek, oval melintang, dengan tepi melipat ke dalam yang melengket satu sama lain dan ujungnya berwarna kuning.

Dasar bunga memanjang membentuk tiang yang tipis dan pangkalnya dikelilingi oleh tonjolan dasar bunga berbentuk cawan. Benang sari tersusun dalam 5 berkas tiga-tiga, berkas ini berseling dengan tiap kali 1 stamidonium kecil

berbentuk gigi, kepala sari tertancap secara perisai, bakal buah beruang 5 dan tangkai putik 1. Buahnya kotak berbentuk pir, menggelembung seperti selaput, bersudut 5, panjang lebih kurang 2 cm dan membuka menurut ruang (Van Steenis, 1975) (Lampiran 4).

2.2 Kandungan kimia dan Khasiat

Pada daun dan kulit tumbuhan daun paliasa mengandung minyak atsiri, triterpenoid, asam prusid (Haeruddin, 1989), dan senyawa sianogenik yang berfungsi membasmi ectoparasit seperti kutu, asam lemak serta cincin siklopropenil yang terdiri atas skopoletin (1), kaempferol (2), dan quercetin (3) (Latif, 1997).



Gambar 1. Senyawa kimia pada spesies tumbuhan paliasa

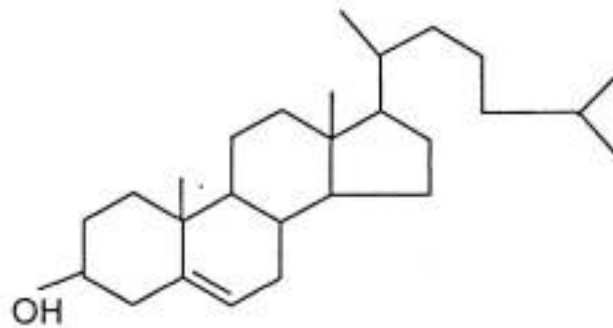
Tumbuhan paliasa juga diduga mengandung senyawa kimia seperti, saponin, kardenolin dan dufadienal serta antarkinon yang dapat berfungsi sebagai obat penyakit liver atau radang hati (Raflizar, 2000). Penelitian Raflizar menguji khasiat ekstrak daun paliasa terhadap 63 ekor tikus betina *Strain wistar* yang menderita radang hati. Perlakuannya dimulai dengan semua tikus diberikan larutan CCl₄ dengan dosis 0.55 mg/kg berat badan untuk merusak organ hatinya, kecuali kelompok kontrol negatif. Sedangkan tikus kelompok kontrol positif diberikan larutan CCl₄ tanpa pemberian ekstrak daun paliasa. Hasil penelitian memperlihatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan, dimana ekstrak daun paliasa dapat melindungi radang hati yang diakibatkan oleh CCl₄.

Hasil penelitian lain (Taebe, 2004) menyimpulkan adanya golongan senyawa flavonoid dan alkaloid pada ekstrak daun paliasa menggunakan etanol. Bunga daun paliasa mengandung flavonoid yang berkhasiat untuk menstimulasi jantung, memperkuat pembuluh darah kapiler, dan bertindak sebagai anti oksidan. Selain itu daun paliasa juga mengandung senyawa golongan terpenoid dan fenolik (Noor, 2004).

Umumnya daun paliasa digunakan oleh masyarakat kelas ekonomi menengah ke bawah untuk berbagai keperluan, misalnya di Ambon daun yang muda digunakan untuk mengharumkan rambut dan di Bogor rebusan daun paliasa digunakan untuk membersihkan mata yang kabur terutama pada orang lanjut usia (Haeruddin, 1989).

Di Papua Nugini dan kepulauan Salomon, kambium dari pohon paliasa digunakan sebagai obat pneumonia dan penghilang kutu rambut (Latif, 1997).

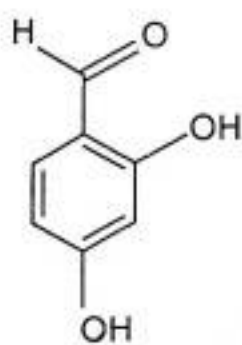
Dan khasiat lainnya adalah untuk mengobati penyakit kuning, kolesterol (4), dan hipertensi (Herlina, 1993).



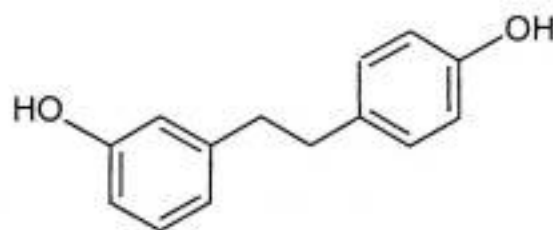
(4)

Gambar 2. Struktur senyawa kolesterol

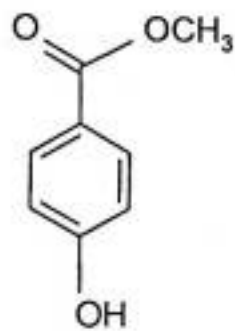
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Soekamto (2003) menggunakan pelarut dengan polaritas sedang yaitu metilen klorida dari ekstrak kulit akar *M. macroura* diperoleh senyawa β -resorsilaldehid (5) dan lunularin (6) yang masing-masing termasuk turunan benzaldehid, turunan stilben dan dari akar *A. fretessi* didapat 4-hidroksibenzoat (7), artoindonesianin Y (8), artoindonesianin X (9) dan mulberin (10) termasuk dalam turunan flavon.



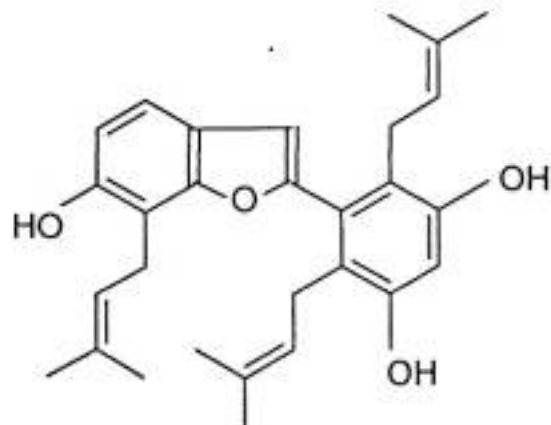
(5)



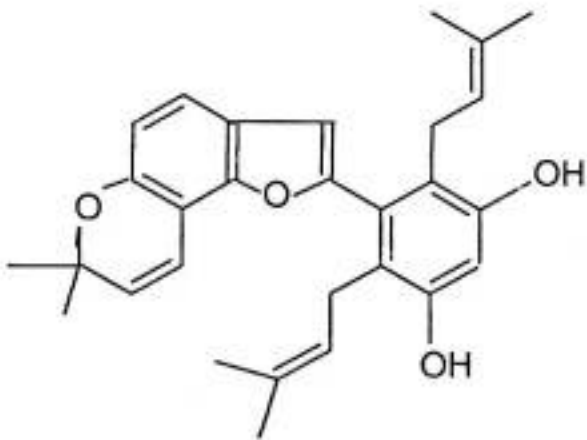
(6)



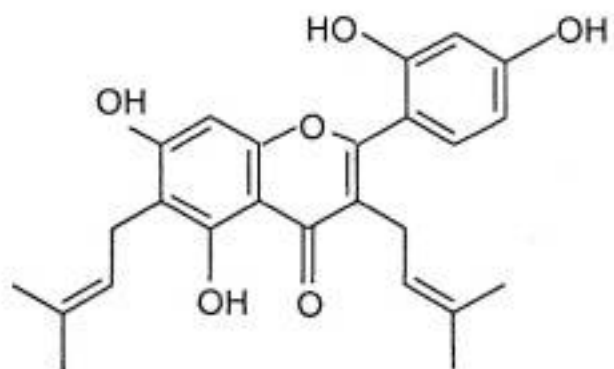
(7)



(8)



(9)



(10)

Gambar 3. Struktur senyawa kimia pada famili Moraceae

2.3 Ekstraksi Bahan Alam

2.3.1 Metode ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi didasarkan atas perpindahan massa komponen-komponen zat dari fase yang satu ke fase yang lain. Perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Haeruddin, 1989). Umumnya senyawa yang diekstraksi tidak atau sedikit larut dalam pelarut

yang satu tetapi sangat larut dalam pelarut yang lain, pelarut organik yang umumnya dipilih mempunyai titik didih yang jauh lebih rendah daripada titik didih senyawa yang diekstraksi (Zenta dan Kumanireng, 2003).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering digunakan adalah ekstraksi secara panas dan dingin. Ekstraksi secara panas dilakukan dengan cara soxhletasi dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi secara dingin dilakukan dengan cara perkolasi dan maserasi. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan secara dingin dengan cara maserasi (Haeruddin, 1989).

2.3.2 Ekstraksi secara maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam potongan simplisia dalam pelarut organik. Umumnya, zat aktif yang terkandung dalam tanaman maupun hewan lebih larut dalam pelarut organik. Proses terekstraksinya zat aktif dalam tanaman adalah masuknya pelarut organik ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif setelah menembus dinding sel. Zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel. Maka larutan yang lebih pekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dengan di luar sel (Hardborne, 1979).

2.4 Metode Kromatografi

Isolasi adalah proses pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu ekstrak. Pemisahan ini didasarkan atas sifat adsorpsi dan partisi

senyawa yang dipisahkan terhadap adsorben dan cairan penyari yang digunakan. Isolasi biasa dilakukan dengan cara kromatografi.

Kromatografi adalah proses pemisahan komponen kimia yang terjadi karena komponen cuplikan bergerak dalam kecepatan yang berbeda disebabkan sifat partisi, adsorpsi, dan distribusi dari komponen kimia yang dipisahkan di antara 2 fase, yakni fase diam dan fase bergerak (Sastrohamidjojo, 1985) Ada beberapa teknik kromatografi yang sering digunakan yaitu kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Kromatografi kolom dibagi menjadi kromatografi kolom perkolasi (percolation), kromatografi kolom '*flash*' dan kromatografi kolom '*dry flash*' (Zenta dan Kumanireng, 2003).

2.4.1 Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik pemisahan komponen-komponen campuran senyawa-senyawa yang melibatkan partisi suatu senyawa melalui padatan penjerap (adsorben, fasa diam) yang dilapiskan pada pelat kaca atau plastik kaku dengan suatu pelarut (fasa gerak) yang mengalir melewati adsorbent (padatan penyerap) (Zenta dan Kumanireng, 2003). Jarak yang ditempuh noda dari titik penotolan dibandingkan dengan jarak yang ditempuh eluen dari titik penotolan merupakan nilai Rf.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda dari titik penotolan}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen dari titik penotolan}}$$

Karena sifat khasnya, maka nilai Rf dapat dipakai untuk mengidentifikasi suatu sampel dengan senyawa baku, namun lebih pasti lagi jika dilakukan mix-Rf

sebagaimana halnya dengan pengukuran mix-melting point suatu sampel kristal dengan kristal bakunya. Secara singkat KLT dapat digunakan untuk :

1. Mengidentifikasi sampel dengan zat baku
2. Mengecek kemurnian zat
3. Mengecek komponen fraksi
4. Mengecek jalannya suatu reaksi
5. Mengkonfirmasi ketunggalan zat (elusi tak terhingga)
6. Mempersiapkan sistem eluen untuk kromatografi kolom atau kromatografi lapis tipis preparatif

(Sastrohamidjojo, 1985).

Meskipun metode KLT tidak memberikan informasi secara lengkap tentang struktur suatu senyawa, tetapi harga R_f yang identik dari suatu senyawa yang strukturnya belum diketahui dengan senyawa yang telah diketahui strukturnya dalam beberapa pelarut pengembang yang berbeda-beda, menunjukkan bahwa kedua senyawa adalah identik. Identitas senyawa yang tidak diketahui strukturnya dapat disimpulkan dengan menggunakan harga-harga R_f nya (Zenta dan Kumanireng, 2003)

Pada kondisi tertentu (adsorbent, pelarut, ketebalan lapisan, temperatur, dan kelembaban tertentu), harga R_f merupakan sifat karakteristik dari suatu senyawa.

2.4.2 Kromatografi Kolom Vakum (KKV)

Kromatografi kolom merupakan suatu metode kromatografi yang umum untuk pemisahan campuran dalam jumlah yang besar (lebih dari 1 gram ekstrak).

Pemisahan komponen secara kromatografi kolom berdasarkan atas adsorpsi, partisi dan pertukaran ion.

Zat penjerap yang digunakan dalam sistem adsorpsi adalah silika gel, Al_2O_3 , poliamida dan karbon aktif. Zat penjerap tersebut dapat digunakan dalam keadaan kering atau dicampur dengan sejumlah cairan pengelusi, kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Senyawa yang akan dipisahkan dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dielusi dengan pelarut tertentu sampai memisah dengan membentuk pita-pita sepanjang adsorben di dalam kolom. Hasil pemisahan dari kromatografi kolom tersebut dikumpulkan dalam bentuk fraksi-fraksi (Sudjadi, 1988).

Dalam kromatografi kolom, penjerap dikemas dalam kolom gelas dan pelarut mengalir melewati partikel-partikel penjerap. Karena kolom gelas dapat menampung lebih banyak penjerap maka dibandingkan dengan KLT, kromatografi kolom dapat digunakan untuk memisahkan materi dalam jumlah yang lebih banyak, biasanya dalam skala gram (Zenta dan Kumanireng, 2003).

KKV pertama kali dipublikasikan tahun 1977 oleh Coll dalam Zenta dan Kumanireng (2003) menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek dan Targett dkk (1979) dalam Zenta dan Kumanireng (2003) menggunakan kolom lebih panjang untuk meningkatkan daya pisah. Kolom Kromatografi ini dikemas kering (biasanya dengan penjerap mutu KLT ukuran 10 - 40 μm) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke penjerap lalu divakumkan lagi sampai pelarut habis. Cuplikan dilarutkan dengan pelarut yang cocok untuk diimpregnasi, kemudian dimasukkan ke bagian atas lapisan penjerap (kolom) dan selanjutnya

dilakukan proses elusi dengan eluen yang sesuai. Kolom dihisap kering pada setiap pengumpulan fraksi-fraksi.

KKV menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak. Berbeda dengan metode kromatografi yang menggunakan tekanan bagian atas atau kepala kolom pada tekanan atmosfer (Hostettmann dkk., 1995).

2.4.3 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Konsep KKG adalah suatu bentuk kromatografi adsorpsi. Disebut KKG karena menggunakan gaya gravitasi untuk proses elusi. Prinsip KKG sama dengan prinsip dalam KLT, yakni senyawa-senyawa dalam campuran terpisahkan oleh partisi antara padatan penjerap sebagai fase diam dan pelarut atau eluen sebagai fase gerak.

Dalam KKG, padatan penjerap dimasukkan ke dalam kolom dalam bentuk bubuk dan harus dijaga agar tidak terbentuk rongga udara atau retakan. Di samping itu, tinggi pelarut harus dijaga agar tetap di atas permukaan adsorben. Umumnya 10 ml fraksi terkumpul pada kecepatan 1-2 ml/menit dari kolom berdiameter-dalam 1 cm. 50 ml fraksi terkumpul pada kecepatan 4 - 5 ml/menit dari kolom berdiameter dalam 2 cm, dan bahkan fraksi yang lebih besar dapat terkumpul pada kecepatan alir yang yang lebih cepat dari kolom yang berdiameter dalam lebih besar (Zenta dan Kumanireng, 2003).

2.4 Analisis Spektroskopi

Spektroskopi adalah studi mengenai hubungan antara energi cahaya dan materi. Warna-warna yang tampak adalah akibat adsorpsi energi oleh senyawa organik maupun anorganik.

Spektroskopi dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual yang lebih mendalam terhadap adsorpsi energi radiasi oleh macam-macam senyawa kimia dengan memperkenalkan ukuran ciri-ciri secara kualitatif maupun kuantitatif dengan ketelitian yang lebih besar.

Data hasil analisis spektroskopi memberikan informasi spektrum untuk pemahaman struktur suatu senyawa yang belum diketahui atau untuk karakteristik tertentu dari suatu senyawa yang telah diketahui.

Ada beberapa jenis spektroskopi yang satu sama lain tidak dapat dipisahkan dalam penentuan struktur senyawa yang dianalisis, yaitu spektroskopi Inframerah (IR), spektroskopi UltraViolet (UV) dan spektroskopi Massa (MS) (Sastrohamidjo, 1985).

2.4.1 Spektroskopi Inframerah (IR)

Spektroskopi inframerah (IR) memberikan informasi tentang gugus fungsional suatu senyawa yang berdasarkan atas interaksi dari radiasi elektromagnetik dengan resonansi vibrasi atau rotasi dalam suatu struktur molekul.

Pada umumnya radiasi IR pada bilangan gelombang $4000\text{ cm}^{-1} - 50\text{ cm}^{-1}$. Dalam suatu molekul, massa atom yang mengalami vibrasi atau rotasi demikian juga kuat ikatan dan kesimetrisan molekul menentukan frekuensi dan panjang gelombang dari adsorpsi IR. Adsorpsi radiasi IR terjadi hanya jika momen dipol permanen molekul berubah dari suatu resonansi vibrasi atau rotasi. Kesimetrisan molekul secara langsung mempengaruhi momen dipol permanen. Resonansi ikatan stretching dan bending dapat mempengaruhi kesimetrisan, sehingga

adsorpsi IR pada suatu molekul diperbesar akibat pergeseran momen dipol tersebut (Silverstein, 1996).

Daerah antara $1400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, bagian kiri spektrum infra merah merupakan daerah yang khusus digunakan untuk mengidentifikasi gugus – gugus fungsional. Daerah ini menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh modus uluran di sekitar 1400 cm^{-1} , seringkali sangat rumit karena uluran maupun modus tekukan mengakibatkan absorpsi di situ (Fessenden, 1986).

Peralatan spektroskopi IR terdiri atas 4 bagian utama, yaitu sumber radiasi, kisi difraksi (monokromator), daerah cuplikan dan detektor. Cahaya dari sumber dilewatkan melalui cuplikan, dipecah menjadi frekuensi-frekuensi individunya oleh monokromator dan intensitas relatif frekuensi individu diukur oleh detektor (Khopkar, 1990). Pada saat ini spektrofotometri infra merah walaupun digunakan juga untuk keperluan analisis kuantitatif, namun tidak sebanyak dan sesering analisis kuantitatif dengan spektrofotometri ultra lembayung dan sinar tampak. Penggunaan spektrofotometri IR untuk maksud analisis lebih banyak ditujukan untuk identifikasi senyawa. Hal ini dimungkinkan, disebabkan spektrum IR senyawa organik bersifat khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda pula. Selain itu dari senyawa isomer-optik, tidak satu pun antara dua senyawaan yang mempunyai kurva serapan infra merah yang identik (Nurdin, 1986).

2.4.2 Spektroskopi Sinar Ultra Violet (UV)

Pengukuran absorbansi atau transmittan dalam spektroskopi UV dan daerah sinar tampak digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif spesies kimia. Absorbansi spesies ini berlangsung dalam dua tahap, tahap pertama yaitu $M + h\nu$

= M^* . Merupakan eksitasi elektron spesies akibat absorpsi foton ($h\nu$) dengan waktu hidup terbatas. Tahap kedua adalah relaksasi dengan eksitasi elektron terjadi oleh penyerapan $h\nu$ dan kembali ke keadaan semula dengan melepaskan energi yang diserap tadi, berubahnya M^* menjadi M dengan melepaskan energi yang diserap.

Absorpsi dalam daerah UV dan daerah tampak menyebabkan eksitasi elektron ikatan. Puncak absorpsi dapat dihubungkan dengan jenis ikatan – ikatan yang ada dalam spesies (Khopkar, 1990).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektrum UV dan terlihat dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi di antara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik, sehingga serapan radiasi UV terlihat sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh. Panjang gelombang serapan adalah ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan.

Keuntungan selektif dari serapan UV yaitu gugus karakteristik dapat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Sebagian besar dari molekul yang relatif kompleks mungkin memperoleh spektrum yang semacam dari molekul yang sederhana. Spektrum UV adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitansi atau absorbansi). Sering juga data dilanjutkan sebagai gambar grafik atau tabel yang menyatakan panjang gelombang lawan serapan molar atau log dari serapan molar (Silverstein, 1996).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel berupa daun paliasa, metanol teknis, etil asetat teknis, H₂SO₄ pekat, n-heksan, aseton teknis, silika kasar, silika halus, pelat KLT (20 x 20 cm), aquadest, kertas saring whatman, aluminium foil, kertas label, vaselin, metilen klorida teknis, serum sulfat.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat kromatografi kolom, alat KLT, evaporator, timbangan, corong buchner, sendok tanduk, cawan chamber, neraca analitis, lampu UV, labu semprot, kompor listrik, penangas air, spektroskopis IR One Perkin Elmer FT-IR dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Desember 2004 hingga bulan Maret 2005.

3.3.2 Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Radiasi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin untuk destilasi dan pengerjaan isolasi sampel, sedangkan pengambilan dan pengeringan sampel daun paliasa dilakukan di Jalan Perintis Kemerdekaan IV Lr. 8 Km 10 Tamalanrea,

Makassar dan untuk identifikasi sampel dilakukan oleh Herbarium Bogoriense, LIPI Bogor.

3.4 Metode Kerja

3.4.1 Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Pengambilan sampel dilakukan pada saat daun paliasa sudah tampak berwarna hijau tua dan mulai berbunga. Kemudian sampel daun paliasa dikeringkan di bawah sinar matahari langsung dan dihaluskan dengan cara diblender. Sampel ditimbang sebanyak 4600 gram untuk proses ekstraksi.

3.4.2 Ekstraksi

Daun paliasa diekstraksi dengan menggunakan cara maserasi yaitu sampel direndam dalam metanol selama 1 x 24 jam sebanyak empat kali dan disaring. Maserat yang diperoleh dievaporasi dan selanjutnya diendapkan klorofilnya dengan cara menambahkan aquadest hingga tampak terbentuk padatan. Filtrat diambil dan dipartisi berturut - turut dengan pelarut n-heksana, metilen klorida, dan etil asetat. Fraksi metilen klorida dianalisis KLT dan dideteksi dengan lampu UV, serta disemprot dengan larutan penampak noda $CeSO_4$ 2 % dalam H_2SO_4 2 N dan dipanaskan. Fraksi metilen klorida dievaporasi untuk mengetahui berat ekstrak keringnya.

3.4.3 Pemisahan dan Pemurnian

Fraksinasi awal menggunakan KKV diameter 3 cm menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄, dan eluen yang diperoleh dari hasil analisis KLT. Fraksi - fraksi metilen klorida yang didapat dianalisis KLT dan untuk fraksi dengan noda dan R_f yang sama digabung. Fraksi-fraksi dikeringkan dan diuji bioktivitasnya. Untuk

fraksi-fraksi non aktif selanjutnya difraksinasi kembali hingga diperoleh isolat tunggal.

3.4.4 Identifikasi

Isolat tunggal yang diperoleh dianalisis dengan KLT pada tiga macam sistem eluen untuk uji kemurnian. Selanjutnya dianalisis menggunakan data spektroskopis IR.

3.5 Bagan Kerja

Untuk mempermudah proses pengerjaan sampel dibuat dalam bentuk bagan kerja yang terdapat pada lampiran 1.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil ekstraksi

Pada proses maserasi 4,6 kg serbuk daun paliasa diperoleh ekstrak metanol kering sebanyak 525, 2175 gram. Kromatogram (Lampiran 2a) menunjukkan bahwa pada maserasi yang keempat, sebagian besar komponen kimia baik yang polar maupun non polar telah terdistribusi pada metanol. Maserat dievaporasi hingga kental selanjutnya ditambahkan aquadest untuk mengendapkan klorofilnya, karena klorofil dapat mengganggu proses partisi. Penambahan aquadest dapat dihentikan apabila terdapat endapan pada dasar larutan, hal ini menunjukkan bahwa klorofil telah mengendap. Endapan dipisahkan dari larutannya dengan cara disaring, kemudian filtrat yang diperoleh dipartisi. Untuk proses partisi dilakukan berturut-turut dengan pelarut non polar, semi polar dan polar (n-heksana, metilen klorida dan etil asetat) dan hasil partisi metilen klorida ditampung. Hasil partisi dalam pelarut metilen klorida diperoleh berat kering sebesar 2,188 g. Perbandingan eluen yang tepat dari hasil analisis KLT untuk ekstrak metilen klorida yaitu etil asetat : n-heksana (1 : 9 v/v) (lampiran 2b) dan eluen ini yang dipakai untuk fraksinasi awal menggunakan KKV.

4.2 Hasil Fraksinasi

Fraksi metilen klorida difraksinasi awal dengan menggunakan KKV dan hasil fraksinasi dianalisis menggunakan KLT (Lampiran 3), sehingga diperoleh 10 fraksi utama. Pada kesepuluh fraksi tersebut dilakukan uji bioktivitas menggunakan udang *A. salina*. Hasil uji bioktivitas pada Tabel 1 dengan nilai

LC₅₀ diperoleh fraksi-fraksi yang non aktif yaitu fraksi A, B, C, E, F, dan G. Enam fraksi non aktif ini di fraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan KKG untuk memperoleh isolat murni. Bagan isolasi untuk fraksi non aktif ini dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 1. Fraksi utama metilen klorida

Fraksi	Gabungan dari fraksi	Berat (mg)	Nilai LC ₅₀ (µg/mL)
A	1-2	109,5	2,08.10 ¹¹
B	5	-	-
C	8-9	14,90	2635,16
D	10	24,80	0,87
E	11-12	24,10	3,34.10 ⁹
F	13-14	25,90	50308,89
G	15	49,9	3428,47
H	16	88,8	371,38
I	17	147	153,65
J	18	350	23,47

Fraksi utama E (24.10 mg) dianalisis dengan KLT untuk memperoleh eluen yang tepat untuk proses fraksinasi selanjutnya dengan menggunakan KKG dan diperoleh eluen etil asetat : n-heksan (1 : 39 v/v) seperti tampak pada kromatogram berikut (Gambar 4).



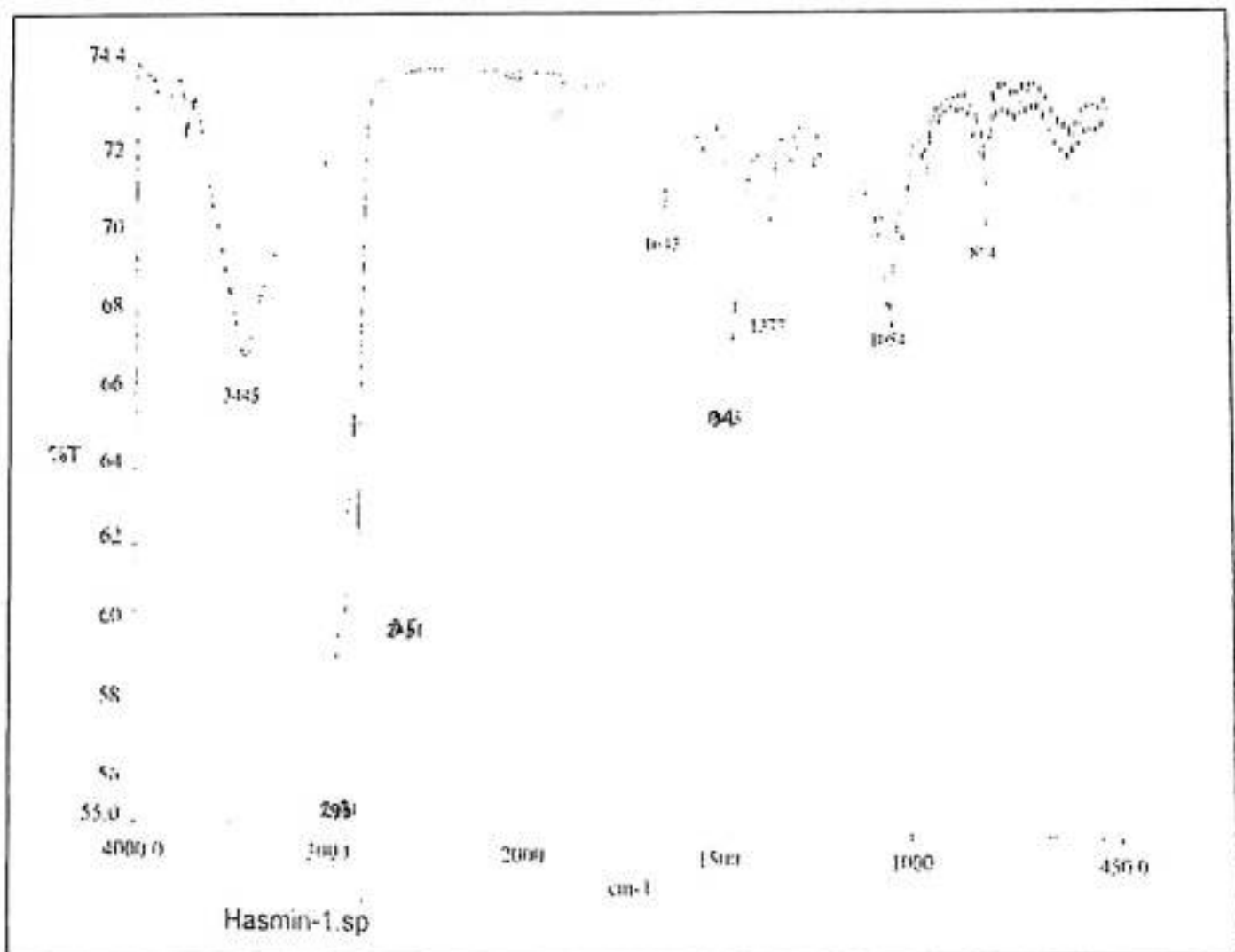
Gambar 4. Kromatogram Fraksi utama E

Hasil fraksinasi dengan KKG diperoleh 8 fraksi utama. Pada fraksi utama 6 dengan berat 2 mg dikeringkan dan diperoleh padatan berwarna putih. Setelah dilakukan analisis dengan KLT pada tiga macam sistem eluen yang menggunakan kombinasi pelarut yaitu etil asetat : kloroform : n-heksana (1 : 1 : 1 v/v) (a) dengan nilai $R_f = 0.75$, etil asetat : kloroform (1 : 9 v/v)(b) dengan nilai $R_f = 0.55$, dan kloroform : n-heksana (5 : 5 v/v)(c) dengan nilai $R_f = 0.16$ (terlihat pada Gambar 5), menunjukkan noda tunggal yang berarti senyawa tersebut telah murni. Senyawa tersebut tidak berpendar di bawah lampu UV. Selanjutnya senyawa tersebut disebut sebagai **senyawa x**.

4.3 Analisis Data spektroskopi

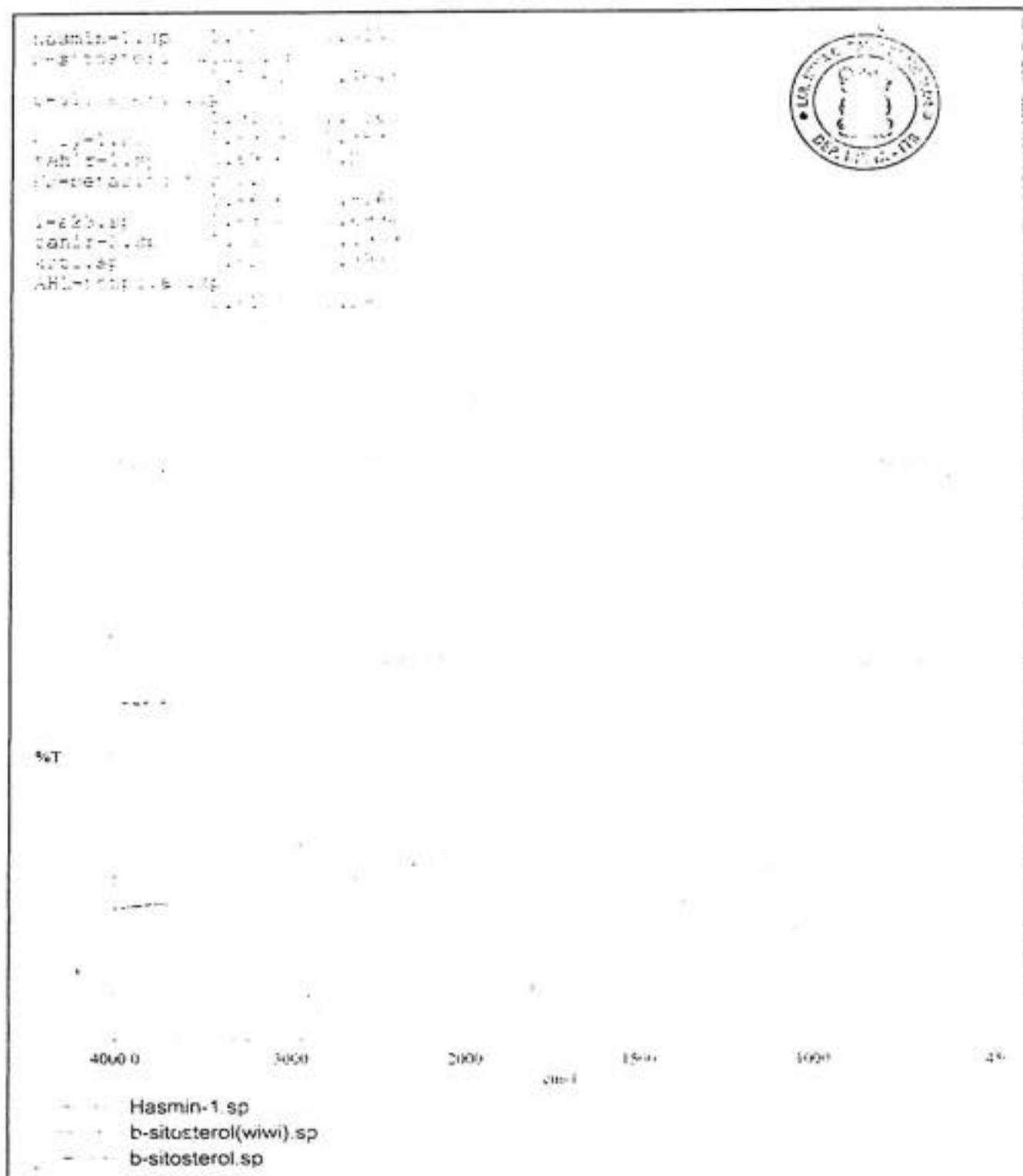
Senyawa **x** ini diuji secara kualitatif menggunakan pereaksi Liebermann-Burrhard dan memberikan warna hijau. Dari hasil uji kualitatif dapat diketahui bahwa **senyawa x** adalah senyawa golongan steroid.

Data analisis spektrum IR (KBr) yang terdapat pada Gambar 6, memperlihatkan adanya serapan untuk rentangan O-H pada ν_{maks} 3445 cm^{-1} , ini diperkuat adanya serapan C-OH pada 1053 cm^{-1} ; uluran C-H alifatik pada 2931 cm^{-1} ; serapan pada 1642 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C=C alkena; serapan gugus metilen (-CH₂) pada 1465 cm^{-1} dan gugus metil (-CH₃) pada 1377 cm^{-1} .



Gambar 6. Spektrum IR

Dari hasil analisis spektrum IR dan perbandingan spektrum IR senyawa x dengan senyawa β -sitosterol yang terlihat pada Gambar 7, menunjukkan adanya kemiripan 91,55 %.



Gambar 7. Spektrum perbandingan senyawa x dengan β -sitosterol

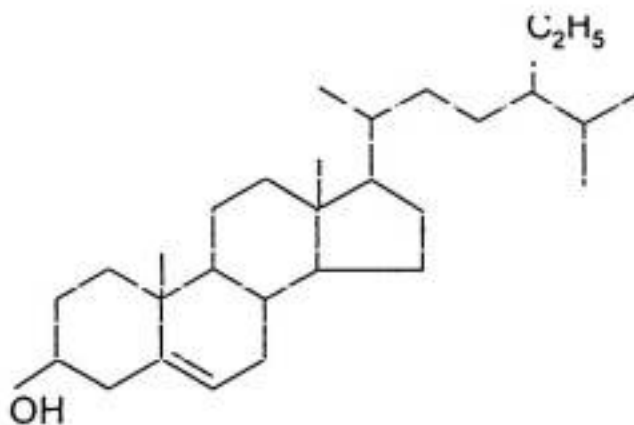
Selanjutnya dilakukan analisis KLT perbandingan antara **senyawa x** dengan β -sitosterol menggunakan eluen etil asetat : n-heksan (3 : 7 v/v) dan memiliki nilai Rf yang sama pada 0.75. Kromatogram hasil analisis KLT dapat dilihat pada Gambar 8.

n 0

h

Gambar 8. Kromatogram perbandingan

Dari hasil analisis perbandingan spektrum IR dengan β -sitosterol yang menunjukkan 91.55 % dan analisis KLT perbandingan dapat disimpulkan bahwa **senyawa x** adalah senyawa golongan steroid yaitu β -sitosterol. Struktur β -sitosterol ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Struktur senyawa β -sitosterol

Senyawa β -sitosterol merupakan salah satu golongan senyawa steroid yang hampir selalu dapat ditemukan pada seluruh tumbuhan terutama tumbuhan tingkat tinggi. Senyawa ini memiliki efek farmakologis yaitu mampu menghambat kerja enzim yang mengkonversi testosteron menjadi dehidrotestosteron (DHT) yang merupakan penyebab terjadinya kanker prostat (Sante dalam Sapar, 2004).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa dalam daun paliasa fraksi non aktif metilen klorida diperoleh satu senyawa golongan steroid yaitu β -sitosterol.

5.2 Saran

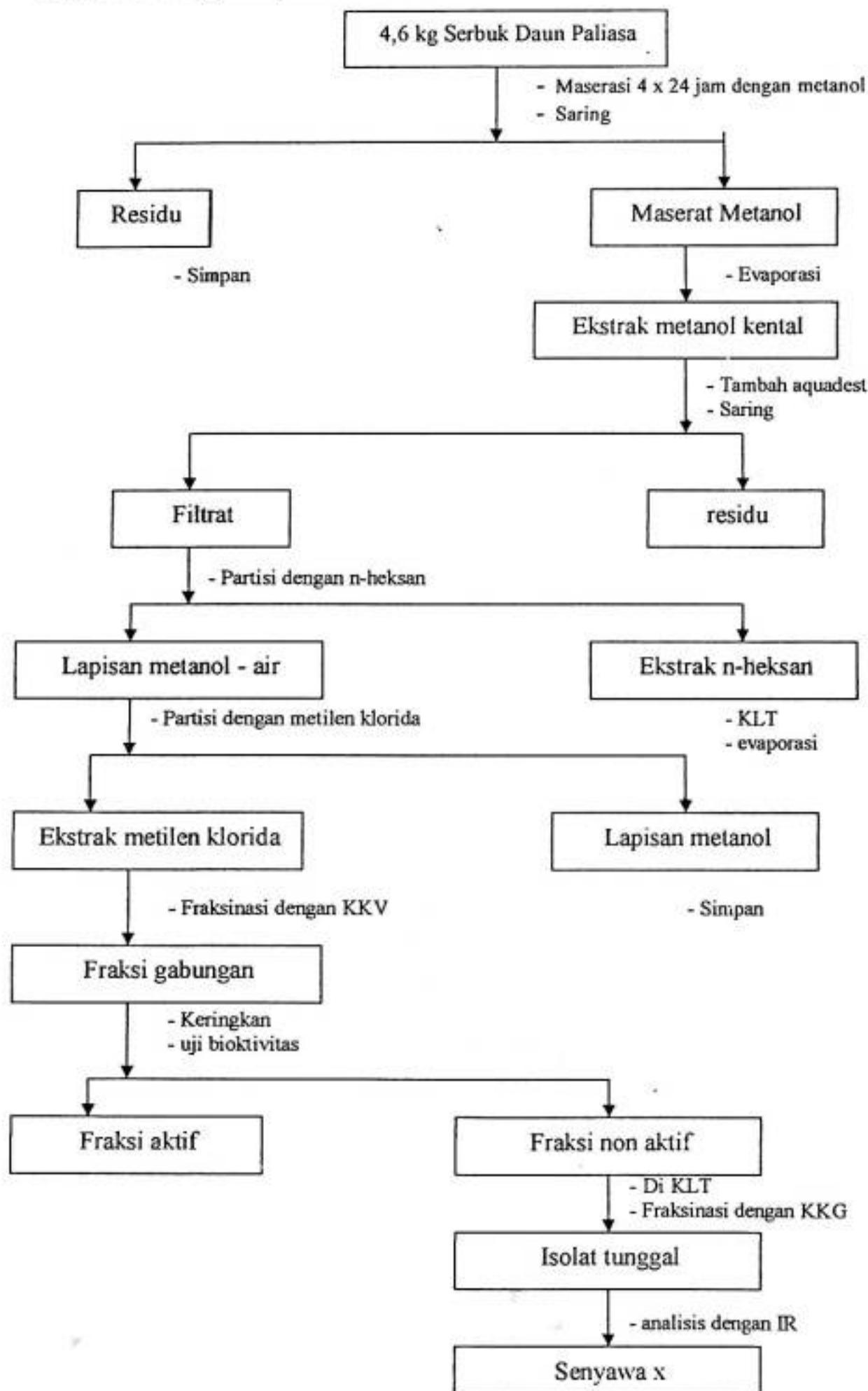
Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut agar diketahui senyawa-senyawa lain dari tanaman daun paliasa dan selanjutnya dapat digunakan dibidang ilmu farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Fessenden, R.J. dan J.S Fessenden, 1986, *Kimia Organik Jilid I*, Edisi III, PT Erlangga, Jakarta.
- Griffer, R. J.; J.M. Babbit; A.F. Schwarting, 1991, *Pengantar Kromatografi*, Cetakan II, ITB Bandung.
- Haeruddin, 1989, *Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Metanol Daun Kayu Paliasa (Kleinhovia hospital Linn) Asal Ujung Pandang*, Tesis Sarjana Farmasi, FMIPA, Universitas Hasanuddin.
- Herbarium Bogoriensis, 2004, *Merupakan Identifikasi Spesimen Tumbuhan*, Balai Penelitian dan Pengembangan Botani, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI Bogor.
- Hardborne, 1979, *Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant*, Chapman and Hall, London.
- Herlina, 1993, *Pengaruh Infus Daun Kayu Paliasa (Kleinhovia hospital Linn) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Kelinci*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Hostettman, K.; M. Hostettman, dan A. Morston, 1995, *Cara Kromatografi Preparatif : Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Bahan Alam*, ITB, Bandung.
- Hakim, A., 2004, *Isolasi dan Identifikasi Konstituen Organik Tanaman Daun Paliasa (Kleinhovia Hospita Linn) pada Kelarutan Berdasarkan Kelompok Polaritas 17,1 ;20,7; 22,6; 24,6 dan 78*, skripsi, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- John, A. R.; B.B. William, 1981, *Thechniques of Chemistry Volume II Organik Solvent Third Edition*, Research Laboratories Eastman Kodak Company, Rochester, New York.
- Khopkar, S. M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Diterjemahkan oleh A. Saptoraharjo dan A. Nurhadi, UI-Press, Jakarta.
- Latif, A., 1997, *Kleinhovia hospita Linn*, In : Faridah Hanum I and maesen, L. J. G. Vander (editor), *Plant Resources of South-East Asia No.11*.
- Noor, A., dan A.S. Kumanireng, 2004, *Isolasi dan Identifikasi Konstituen Organik Tanaman Daun Paliasa (Kleinhovia Hospita Linn) pada Kelarutan berdasarkan Kelompok Polaritasnya*, Suatu Laporan Research, Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Makassar.

- Nuridin, Dasli, 1986, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik dengan Cara Spektroskopi Ultralembayung dan Inframerah*, Angkasa, Bandung.
- Raflizar, 2000, *Dekok Daun Paliasa (Kleinhovia hospital Linn) sebagai Obat Radang Akut*, (On-line) (<http://digilib.depkes.go.id/go.php?id=jkpkbpbpk-gdl-res-2001-Raflizar-272-paliasa>, diakses Agustus 2004).
- Sapar, A.; A.S. Kumanireng; N. De Voogd; A. Noor, 2004, *Isolasi dan Penentuan Struktur Metabolit Sekunder Spongs Biemna Triraphis Asal Pulau Kapodasang (Kepulauan Spermonde)*, Marina Chimica Acta J. V. G, No. 1.
- Sastrohamidjojo, H., 1985, *Kromatografi*, Liberti, Yogyakarta.
- Silverstein, R. M.; G.C Bassler, and T.C. Morill, 1996, *Penyelidikan Senyawa Organik*, Edisi Ke-4, Diterjemahkan oleh Hortomo, J.A. dan U.P. Amy, Erlangga, Jakarta.
- Soekamto, N., H., 2003, *Profil Fitokimia Beberapa Spesies Moraceae Indonesia*, Disertasi tidak diterbitkan, ITB, Bandung.
- Sudjaji, 1988, *Metode Pemisahan*, Penerbit Kanisius, UGM, Yogyakarta.
- Suryawati, 1991, *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Paliasa (Kleinhovia hospital Linn) Terhadap Hati Hewan Uji Mencit*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Van Steenis, C. G. G. J. , 1975, *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*, Diterjemahkan oleh Moeso Surjowinoto, PT Pradaya Paramita, Jakarta.
- Taebe, B., 2004, *Stansarisasi Ekstrak Daun Paliasa (Kleinhovia Hospita Linn) Sebagai Bahan Baku sediaan Fitofarmako*, Makalah Seminar hasil Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Takdir, R., 2003, *Isolasi dan Identifikasi Konstituen Organik Tanaman Daun Paliasa (kleinhovia hoapita Linn) Pada Kelarutan Berdasarkan Kelompok Polaritas 28,5; 30,6; 32,7; 37,6; dan 78*, Skripsi Sarjana Kimia, FMIPA, Universitas Hasanuddin.
- Zenta, F., dan A.S. Kumanireng, 2003, *Teknik Laboratorium Kimia Organik*, Jurusan Kimia, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Lampiran 1. Bagan kerja fraksi non aktif metilen klorida.



Lampiran 2a. Kromatogram hasil maserasi



A

Perbandingan eluen etil asetat : n-heksan (4 : 6).

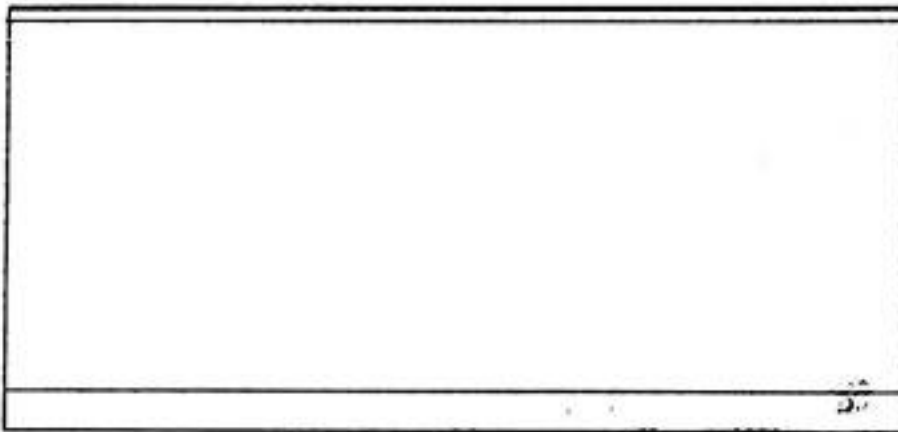
Lampiran 2b. Kromatogram Fraksi metilen klorida



B

Perbandingan eluen etil asetat : n-heksan (1 : 9)

lampiran 3. Kromatogram fraksi utama hasil fraksinasi dari fraksi metilen klorida



Perbandingan eluen etil asetat : n-heksan (1 : 9).

Lampiran 4. Gambar Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn)



Lampiran 5. Bagan isolasi fraksi non aktif metilen klorida

