

Skripsi

METABOLIT SEKUNDER FRAKSI NON AKTIF
Artemia salina Leach EKSTRAK KLOROFORM KAYU BATANG
Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. *Visenia*

SEPTARIA YOLAN KL

H31112253



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2017

METABOLIT SEKUNDER FRAKSI NON AKTIF
Artemia salina Leach EKSTRAK KLOOROFORM KAYU BATANG
Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. *Visenia*

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat

Untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

SEPTARIA YOLAN KL

H31112253



MAKASSAR
2017

SKRIPSI

**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI NON AKTIF
Artemia Salina Leach EKSTRAK KLOOROFORM KAYU BATANG
Melochia umbellata (Houtt) Stapf Var. *Visenia***

Disusun dan diajukan oleh

SEPTARIA YOLAN KL

H 311 12 253

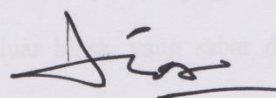
Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Nunuk Hariani S, M.S
NIP. 19601215 198702 2 001

Pembimbing Pertama



Dr. Firdaus, M.S
19600909 198810 1 001

PRAKATA

Syalom....

Puji dan syukur bagi Tuhan Yang Maha Kuasa yang senantiasa menyertai dan memberkati saya dari proses persiapan proposal, seminar proposal, penelitian, dan penyusunan skripsi. Begitu banyak tantangan, masalah, dan kesulitan yang saya hadapi, namun oleh karena kasih dan setia Tuhan, semuanya bisa diatasi dan berjalan dengan lancar. Terima kasih Tuhan atas penyertaan yang sungguh luar biasa dalam hidup penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Metabolit Sekunder Fraksi Non Aktif *Artemia salina* Leach Ekstrak Kloroform Kayu Batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*”** sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S** selaku Pembimbing Utama sekaligus Pembimbing Akademik dan Bapak **Dr. Firdaus, M.Si** selaku Pembimbing Pertama, yang telah meluangkan waktu, nasehat, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan ilmu yang begitu berharga serta ucapan maaf atas segala kesalahan selama persiapan dan proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini selesai.

Terima kasih kepada keluargaku yang tercinta, orang tuaku Bapak tercinta **Samuel Lante** dan Mama tercinta **Yoritha Linggi Padang**, adik-adik tercinta **Chiyuki Yolan Kala Linggi** dan Lady Sanderan yang selalu mendukung, memberikan semangat, nasehat, motivasi yang luar biasa, yang sabar dan penuh kasih sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Tuhan senantiasa memberikan kesehatan, kebijaksanaan, dan kasih kepada keluargaku. Ucapan terima kasih juga kepada:

1. Ketua dan Sekretaris Jurusan Kimia, Dr. Indah Raya, M.Si dan Dr. Muhammad Zakir, M.Si, seluruh Dosen yang telah mendidik, serta seluruh staf Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
2. Tim Penguji Ujian Sarjana Kimia, Dr. Abd. Karim, M. Si, Dr. St. Fauziah, M.Si, Dr. Indah Raya, M.Si, dan Dr. Asmawati, M.S, terima kasih atas bimbingan dan saran-saran yang telah diberikan.
3. Seluruh bapak dan ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin atas segala ilmu yang telah diberikan.
4. Seluruh analis laboratorium: Ibu Tini, Kak Linda, Kak Hanna, Pak Sugeng, Kak Fiby, Kak Anti, Pak Iqbal dan Pak Taufik. Terima kasih atas bantuan yang diberikan selama penelitian.
5. Segenap civitas akademika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang dengan sabar memberikan arahan dan bantuannya.
6. Petugas perpustakaan FMIPA: Ibu Misnawati dan kak Rana yang selalu sabar dalam menghadapi tingkah laku Angkatan 2012.
7. Teman Tim Panel Penelitian Isolasi bahan alam, Baso Agung, Felycitae Ekalaya A., Nur Aqlia, Kak Nur Aeni, dan Kak Fauziah Ahmad yang selalu menjadi tempat berbagi keluh kesah, cerita, dan ilmu selama penelitian.
8. Teman-teman dan kakak-kakak di Laboratorium Kimia Organik (Felycitae Ekalaya A., Nur Aqlia, Baso Agung, Annisa Nur Khaeruni, Sultan, Ahmad Nur, kak Zulkarnaim, kak Nur Alamsyah, kak Muttadir, dan kak Agustan), kakak-kakak S2 dan S3 yang baik hati, yaitu kak Nur Aeni, kak Fauziah Ahmad, Kak Sabir Sumarna (master dan the king organik), kak Bahja, kak Fajar, Ibu Diva, Pak Zakaria, dan Pak Abraham yang memberikan semangat, nasehat, saran dan masukan selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.

9. Sahabatku (Felycitae Ekalaya Appa, Ririn Ayu Christanto, Elisabeth Clara S.) dan keluarga kecil kampus (Yenni Octaviana, Ayu Ika Pratiwi, Nini Astuti Alwi, Baso Agung, Felycitae Ekalaya A., Annisa Nur Khaeruni, Sultan, dan Resky Dwiyana PM) yang tak pernah lelah memberi semangat dan motivasinya serta selalu membantu dan membagi ilmu serta cerita selama penelitian.
10. Saudara-saudara rempong (Ayu Ika Pratiwi, Nini Astuti Alwi, Yenny Octaviana, Felycitae Ekalaya A., Baso Agung, Sultan, Nurhardianti, Agustina Lopang, Khalil Mubaraq, Asriandy, Rifka Saputri, Nur Faiizah) yang selalu memberikan semangat dan motivasi dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
11. Saudara-saudara dalam kelompok PA, yaitu kak Yanti Sunaidi sebagai kakak PA dan saudara-saudara (Felycitae Ekalaya A. dan kak Dwi Niche) yang senantiasa mendukung dalam doa dan memberikan semangat.
12. Saudara-saudara angkatan 2012 Kimia (Agustina Lopang, Gisella Tamara, Imelda Pong Labba, Yunita Pare Rombe, Desri La'bi Langi', Maretrin, kak Dwi Niche, kak Meisetia Sumomba, Yafet, Renhard, dan kak Egy Heury), serta saudara MIPA 2012 (Astri Suppa, Monalisa, Ruman, Handa, Feydri Dera, Nisri, Koba, Fandy, Yudi, Jemi, Yawan).
13. Anggota grup Alayers (Resky Dwiyana Puspita M., Ulfa Mulia Kawaroe, Salmawati, Riska Wulandari, dan Nurshanti) yang memberikan semangat kepada penulis.
14. Adik-adik angkatan 2013, yaitu Muh. Irmawan, Murtina, Musrifah Tahir, Riska Hardianti, Florian Rumengan, Diana Sanda Salu, Butet, Sri, dan Suci yang memberikan semangat kepada penulis.
15. Seluruh saudara dalam GMKI Kom. FMIPA Unhas dan PMKO Filadelfia MIPA-Farmasi Unhas.

16. Rekan-rekan Kimia **H3120ES** sekaligus saudara di kampus. Terima kasih atas semua dukungan, semangat dan persahabatan yang telah kalian berikan. Semoga kelak kita semua menjadi orang-orang yang sukses.
17. Kanda-kanda (Kak Nursamsi, Kak Yani, Kak Sukma, Kak Rasti, Kak Tenri, dan Kak Anto) atas dukungan dan motivasinya.
18. Seluruh anggota Persekutuan Pemuda Baji Pa'mai Maros dan VG. Getsemani.
19. Teman-teman posko KKN GEL. 90 Kel. Jagong Kab. Pangkep, yaitu Annisa Mirza, Yunita Tri Utami, Salma, Dimas, Kak Faizal, dan Kak Imam.
20. Semua pihak yang tidak sempat disebut namanya yang telah memberikan bantuan, dukungan dan doa kepada penulis.

Penulis sadar bahwa apa yang disajikan dalam skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para peneliti selanjutnya dalam bidang Kimia Organik Bahan Alam khususnya mengenai isolasi bahan alam.

Makassar, 5 Mei 2017

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi, identifikasi, dan karakterisasi fraksi non aktif terhadap *Artemia salina* ekstrak kloroform dari kayu batang tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*. Metode isolasi yang digunakan terdiri dari ekstraksi, fraksinasi, dan pemurnian. Ekstraksi diawali dengan menggunakan pelarut n-heksan yang dilanjutkan dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol dipartisi dengan pelarut kloroform. Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak kloroform kayu batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dilakukan melalui uji fitokimia. Karakterisasi metabolit sekunder berdasarkan analisis data spektroskopi IR. Hasil penelitian diperoleh senyawa A berupa pasta berwarna kuning dengan bobot 1,4 mg dan senyawa B berupa bubuk berwarna kuning dengan bobot 4,2 mg yang memiliki titik leleh 78-80°C. Kedua senyawa tersebut merupakan senyawa golongan steroid.

Kata kunci: *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, *Artemia salina*, maserasi, fraksinasi, spektroskopi IR, steroid

ABSTRACT

Isolation, identification and characterization of the non-active fraction against *Artemia salina* chloroform extracts of plant stem wood *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* have been done. Isolation methods that been used consist of extraction, fractionation, and purification. Extraction was started by using n-hexane as solvent followed by methanol. The methanol extract was partitioned using chloroform as solvent. Identification of the compound's group on chloroform extract of stem wood *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* executed by the phytochemical test. Characterization of secondary metabolites based on IR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR spectroscopy data analysis. The results showed that compound A was yellow paste with 1,4 mg weight and compound B was yellow powder with 4,2 mg weight and 78-80°C melting point. Both compounds are steroid group compounds.

Keywords: *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, *Artemia salina*, maceration, fractionation, IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy, steroids

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PRAKATA.....	iii
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Uraian Umum Tumbuhan Malvaceae.....	6
2.1.1 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae.....	6
2.1.2 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae.....	7
2.2 Uraian Genus <i>Melochia</i>	9

2.2.1 Uraian Fitokimias Genus <i>Melochia</i>	9
2.2.2 Taksonomi <i>Melochia Umbellata</i>	13
2.3 Kemotaksonomi <i>Melochia Umbellata</i>	13
2.4 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	16
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	18
3.1 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Alat Penelitian.....	18
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan	19
3.4.2 Isolasi	19
3.4.3 Uji Fitokimia	20
3.4.4 Identifikasi.....	20
3.4.5 Uji Toksisitas	20
3.5 Pengamatan	20
3.5.1 Fraksinasi	20
3.5.2 Analisis KLT	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil Penelitian	22
4.1.1 Maserasi dan Ekstraksi.....	22
4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian	22
4.1.3 Uji Fitokimia	28
4.1.4 Uji BSLT	29
4.2 Pembahasan.....	30
4.2.1 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi	30

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur senyawa fenilpropanoid dan turunan triterpen	9
2. Struktur senyawa alkaloid dari <i>Melochia</i>	11
3. Struktur senyawa steroid dari <i>Melochia</i>	12
4. Struktur senyawa flavonoid dari <i>Melochia</i>	12
5. Tumbuhan <i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>Visenia</i>	13
6. Kromatogram ekstrak kloroform hasil fraksinasi KKV	23
7. Kromatogram fraksi utama KKV	23
8. Kromatogram fraksi 8 hasil fraksinasi KKT (a). di bawah UV short; (b). di bawah UV long.....	24
9. Kromatogram hasil analisis KLT fraksi utama KKT (a). di bawah UV short; (b). di bawah UV long.....	25
10. Kromatogram hasil analisis KLT preparatif (a). di bawah UV short; (b). di bawah UV long	25
11. Kromatogram hasil analisis KLT Kristal A (noda tunggal di bawah UV long) (a) KLT sistem tiga eluen; (b) KLT 2 dimensi	26
12. Kromatogram hasil analisis KLT Kristal B (noda tunggal di bawah UV short) (a) KLT sistem tiga eluen; (b) KLT 2 dimensi	27
13. Spektrum FTIR Senyawa A	30
14. Spektrum FTIR Senyawa B	31
15. Spektrum ¹ H-NMR Senyawa B	32
16. Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa B	33
17. Kerangka Struktur Senyawa B	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Genus <i>Melochia</i> L. dan Bioaktivitasnya	14
2. Data Bobot Kering dari 13 Fraksi Utama.....	23
3. Uji Fitokimia Ekstrak Kloroform Kayu Batang <i>M. umbellata</i> (Houtt.) Stapf. var. <i>Visenia</i>	28
4. Uji Fitokimia Kristal A dan Kristal B	28
5. Nilai Toksisitas (LC ₅₀) Ekstrak Kayu Batang <i>Melochia umbellata</i> Stapf var. <i>Visenia</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Kayu Batang Tumbuhan <i>Melochia Umbellata</i>	38
2. Skema Uji Antikanker <i>Metode Brine Shrimp Lethality Test</i>	40
3. Perhitungan Berat Total Ekstrak	49
4. Bagan Uji Fitokimia	50
5. Dokumentasi Penelitian.....	52

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
C ¹³ -NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
FTIR	<i>Fourier transform infrared</i>
H ¹ -NMR	<i>Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance</i>
KKG	Kromatografi Kolom Gravitasi
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LC ₅₀	<i>The Half Maximal Lethal Concentration</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan sumber daya hayati yang banyak ditemukan sebagai senyawa bioaktif yang tergolong metabolit sekunder (Atun, 2005). Metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan yaitu melindungi tumbuhan dari gangguan hama dan penyakit, zat pengatur tumbuh tanaman, serta menarik serangga penyerbuk (Soejarto, dkk., 1991). Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga bermanfaat di berbagai bidang seperti bidang biokimia dan biologi molekular yang memberikan pengetahuan senyawa aktif dari bahan alam dalam konteks struktur molekul. Selanjutnya pada bidang kesehatan, keragaman struktur molekul dari tumbuh-tumbuhan atau mikroorganisme dapat digunakan sebagai sumber pencarian obat-obat baru (Syah, 2014).

Obat yang berasal dari beberapa jenis tumbuhan dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Atun, 2014). Salah satunya adalah tumbuhan paliasa yang digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Sulawesi Selatan untuk mengobati penyakit kuning (hepatitis). Beberapa jenis paliasa yang digunakan oleh masyarakat Sulawesi Selatan sebagai obat kuning adalah *Kleinhovia hospita* Linn, *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K., dan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* (Salam, 2001). Ketiga jenis paliasa tersebut termasuk dalam famili Malvaceae (Tayeb, dkk., 2008).

Beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari famili Malvaceae, yaitu alkaloid, steroid, flavonoid, fenilproranoid, dan turunan

terpenoid. Senyawa alkaloid yang telah diisolasi adalah melochinine, franganine, dan melochironine (13) dari *M. corchorifolia* L (Pullaiah, 2014; Bhakuni, dkk., 1991), siklopeptida alkaloid, yaitu chamaedrine (14), adouetine X (15), frangufoline (16), scutianine B (17), scutianine C (18) dari *M. chamaedrys* (Dias, 2007), alkaloid kuinolon yaitu melochinone (8) dari *M. tomentosa* (Kapadia, dkk., 1975), waltherione A (9), waltherione B (10), waltherione C (11), dan waltherione D (12) dari *M. odorata* (Jadulco, dkk., 2014), myrianthine-B, lotusanine-A, frangufoline, frangunine dan melofoline dari *M. corchorifolia*, adouetine dan integerrenine dari *M. pyramidata* (Tan, 2006), serta senyawa 7,8-epoksi melochinon (6) dari ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellate* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. (Erwin, 2010).

Senyawa golongan steroid yang telah berhasil diisolasi adalah β -sitosterol (19) dari ekstrak kloroform daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. (Imran, 2013) dan stigmast-5,22-dien-3-O- β -D-glucopyranoside (20) dari ekstrak kloroform kayu akar *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. (Ridhay, 2012). Selanjutnya, senyawa flavonoid yang telah diisolasi adalah 6,6'-dimetoksi-4,4'-dihidroksi-3'-isoflavon-2'-furano (23) dari ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. (Erwin, 2010). Senyawa fenilpropanoid yang telah diisolasi adalah 4-hidroksi sinanamida (2) dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. hospita* L (Ilyas, 2014) dan metil β -(*p*-hidroksifenil) akrilat (25) dari ekstrak kloroform kulit akar *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. (Surwindah, 2015). Senyawa turunan terpenoid yang telah berhasil diisolasi adalah 2,3-dihidroksi-12-oleanen-28-oat (3) dan 2-hidroksi-12-oleanen-28-oat (4) dari kulit batang dan akar *K. hospita* L (Soekamto, N.H., 2010), serta senyawa di-(2-etilheksil)ftalat (1) dari ekstrak metilen klorida dari kayu batang *K. hospita* L. (Imran, 2010). Selanjutnya, senyawa terpenoid yang telah berhasil diisolasi dari

fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari kayu akar *K. hospita* adalah 3-asetoksi-12-oleanan-28-oat (5) (Stepanus, J.B., 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh (Erwin, 2009) melaporkan bahwa skrining bioaktivitas pada beberapa jaringan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. terhadap *Artemia salina* Leach diperoleh bahwa ekstrak metanol kayu batang paling aktif dengan nilai LC_{50} 1,80 ppm dibandingkan ekstrak metanol jaringan lainnya dengan nilai LC_{50} masing-masing, yaitu kulit akar 66,22 ppm, kayu akar 37,34 ppm, kulit batang 30,27 ppm, dan daun 84,26 ppm. Skrining bioaktivitas yang dilakukan oleh Imran (2007) diperoleh bahwa jaringan kayu batang memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *A. salina* L. dengan nilai LC_{50} 65,62 $\mu\text{g/mL}$, kayu akar 97,36 $\mu\text{g/mL}$, kulit batang 162,80 $\mu\text{g/mL}$, kulit akar 193,77 $\mu\text{g/mL}$, dan daun 230,19 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya, skrining bioaktivitas telah dilakukan oleh Imran (2010) bahwa ekstrak kayu batang *K. hospita* aktif terhadap *A. salina* L. dengan LC_{50} 51,4 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian yang telah dilakukan mengenai bioaktivitas tumbuhan dari famili Malvaceae menunjukkan bahwa *M. chamaedrys* berpotensi sebagai antimikroba (Dias, 2007). *M. odorata* berpotensi sebagai antifungi. *M. corchorifolia* memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Palaksha, 2013), antibakteri (Pullaiah, 2014; Bhakuni, dkk., 1991), dan ekstrak metanol dari *M. corchorifolia* memperlihatkan hasil paling baik pada uji bioaktivitas antioksidan (Rao, dkk., 2013). Senyawa stigmasta-5,22-dien-3-O- β -D-glucopyranoside dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger* pada konsentrasi 200 mg/mL (Ridhay, 2012). Senyawa 2,3-dihidroksi-12-oleanen-28-oat cukup aktif terhadap sel leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} 15,0 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan senyawa 2-hidroksi-12-oleanen-28-oat bersifat non toksik terhadap *A. salina* L. dengan LC_{50} 552,06 $\mu\text{g/mL}$ (Soekamto, 2010). Senyawa

di-(2-etilheksil)ftalat yang diisolasi dari ekstrak metilen klorida kayu batang *K. hospita* sangat aktif terhadap *A. salina* L., namun tidak aktif terhadap sel tumor leukemia P-388 (Imran, 2010). Senyawa metil β -(*p*-hidroksifenil) akrilat dari ekstrak kloroform kulit akar *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. aktif terhadap sel kanker leukemia P-388 dengan nilai IC₅₀ sebesar 5,35 μ g/mL (Surwindah, 2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai senyawa yang diisolasi dari *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* masih sangat kurang. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui metabolit sekunder yang dapat diisolasi dari ekstrak kloroform yang non aktif terhadap *A. salina* L. dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. fraksi-fraksi manakah dari ekstrak kloroform *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* yang non aktif terhadap *A. salina* L.?
2. jenis metabolit sekunder apakah yang dapat diisolasi dari fraksi non aktif tersebut?
3. bagaimana struktur molekul sekunder yang dapat diisolasi dari fraksi non aktif tersebut dan bioaktivitasnya terhadap sel HeLa?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengisolasi metabolit sekunder dari fraksi non aktif terhadap *Artemia salina* ekstrak kloroform dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, serta aktivitasnya terhadap sel HeLa.

1.3.2 Tujuan Penelitian

1. Menguji bioaktivitas fraksi-fraksi ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* terhadap larva *A. salina* L.
2. Menguji golongan metabolit sekunder dari fraksi-fraksi ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* yang non aktif terhadap *A. salina* L.
3. Mengisolasi dan mengidentifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi non aktif *A. salina* L. dari ekstrak kloroform *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dan bioaktivitasnya terhadap sel HeLa.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini :

1. memberikan informasi mengenai jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform kayu batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.
2. memberikan informasi mengenai metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi non aktif *A. salina* ekstrak kloroform kayu batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Umum Tumbuhan Malvaceae

Famili Malvaceae merupakan salah satu tumbuhan tropis Indonesia yang terdiri atas 243 genus dan 4300 jenis tumbuhan (Konate, dkk., 2010). Famili Malvaceae dapat hidup di daerah tropis dan subtropis, serta tumbuh di daerah savana dan tepi hutan (Ozkan, 2009). Malvaceae merupakan salah satu tumbuhan tropika yang termasuk dalam kelompok tumbuhan herbal, berupa pohon atau semak-semak (Strue, 2009).

2.1.1 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae

Famili Malvaceae memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat, contohnya di Cina Selatan, akar dan tangkai dari spesies *Helicteres angustifolia* digunakan sebagai analgesik, antiinflamasi dan antibakteri. *Waltheria douradinha* adalah tanaman asli Amerika Selatan, di Brazil tumbuhan ini digunakan untuk pengobatan penyakit bronkitis, radang tenggorokan, sebagai stimulan, bahan pembersih, dan penyembuh luka. Beberapa genus yang termasuk dalam famili Malvaceae adalah genus *Helicteres*, *Waltheria*, *Kleinhovia*, dan *Melochia*. (Hoelzel, dkk, 2005).

Tumbuhan Malvaceae yang berasal dari Lombok selain mengandung alkaloid, tumbuhan dari genus Malvaceae juga digunakan sebagai obat tradisional, seperti *Abelmoschus esculentus* Moench yang berpotensi mengatasi penyakit Gonorrhoea, *Gossypium arboreum* L. berpotensi untuk mengatasi Bisul, dan *M. umbellata* Staff of Narmada, WL berpotensi mengatasi demam (Hadi dan Bremmer, 2001). Salah satu tumbuhan yang potensial adalah tumbuhan

tropika Indonesia yang dikenal dengan nama kayu katimahar. Tumbuhan tersebut banyak ditemukan di daerah Sulawesi Selatan dengan nama daerah *paliasa* (Makassar) atau *aju pali* (Bugis) (Heyne, 1987).

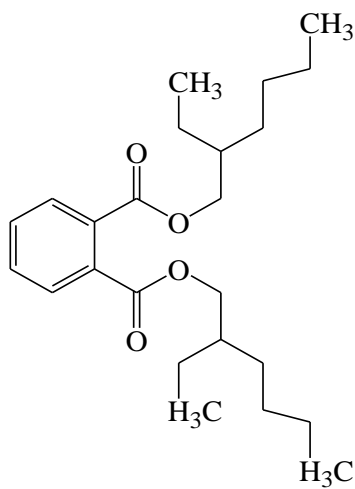
Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Jauhari Salam (2001) bahwa ada beberapa jenis *paliasa* yang digunakan oleh masyarakat Sulawesi Selatan sebagai obat penyakit kuning (hepatitis) antara lain *K. hospita* L., *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K., dan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*. Ketiga tumbuhan ini dari suku Malvaceae. Perbedaannya adalah daun *paliasa* jenis *K. hospita* L. berwarna hijau sampai hijau kekuningan, permukaan daun licin, suram, tepi daun rata, dan bunga yang berwarna merah muda, *paliasa* jenis *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K. mempunyai daun berwarna hijau tua, permukaan daun berbulu namun kurang rapat, agak kasar, tepi daun bergigi dengan bunga berwarna putih sampai putih kehijauan, sedangkan jenis *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* mempunyai daun berwarna hijau tua, permukaan daun berbulu rapat, halus seperti beludru, tepi daun rata, dengan bunga yang berwarna merah muda.

2.1.2 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae

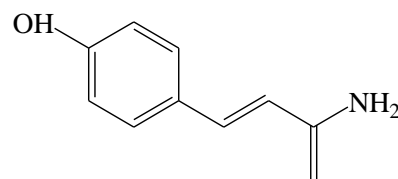
Pendekatan kemotaksonomi didasarkan pada kedekatan kekerabatan tumbuhan yang telah diketahui memiliki kandungan kimia tertentu. Tumbuh-tumbuhan atau organisme lain dalam satu famili sering dijumpai memproduksi senyawa yang mirip secara alami (Anderson, dkk., 1990).

Selanjutnya, senyawa di-(2-etilheksil)ftalat (1) telah diisolasi dari ekstrak metilen klorida dari kayu batang *K. hospita* L. Senyawa tersebut sangat aktif terhadap *A. salina* L., namun tidak aktif terhadap sel tumor leukemia P-388 (Imran, 2010). Senyawa 4-hidroksi sinamamida (2) juga telah diisolasi dari ekstrak

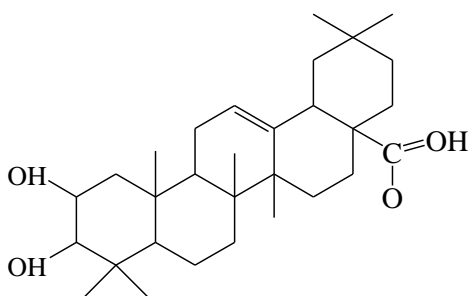
etil asetat kulit akar paliasa (*K. hospita* L.) yang memiliki pola struktur fenilpropanoid (golongan fenolik) (Ilyas, 2014). Senyawa turunan triterpen yaitu 2,3-dihidroksi-12-oleanen-28-olat (3) dari kulit batang dan 2-hidroksi-12-oleanen-28-olat (4) dari kulit akar dari *K. hospita* L. Senyawa (3) menunjukkan aktivitas terhadap sel murin leukemia P-388 dengan $IC_{50} = 15,0 \mu\text{g/mL}$ dan senyawa (4) bersifat non toksik terhadap *A. salina* L. dengan $LC_{50} 552,06 \mu\text{g/mL}$ (Soekamto, 2010). Senyawa terpenoid, 3-asetoksi-12-oleanan-28-olat (5) telah diisolasi dari fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* L. dari kayu akar *K. hospita* L. Senyawa (5) tersebut toksik terhadap *A. salina* L. dengan nilai $LC_{50} 58,80 \mu\text{g/mL}$ (Stepanus, J.B., 2011).



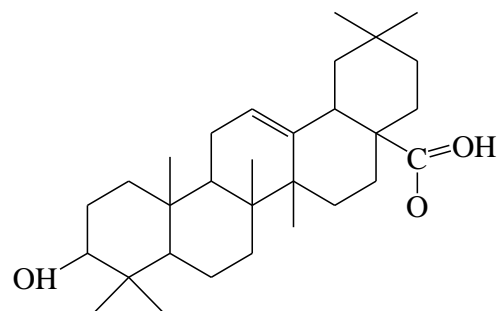
(1)



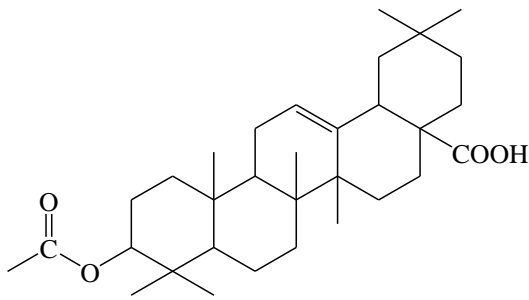
(2)



(3)



(4)



(5)

Gambar 1. Struktur senyawa fenilpropanoid dan turunan triterpen dari *K. hospita*

2.2 Uraian Genus *Melochia*

Genus *Melochia* terdiri atas sekitar 65 spesies yang tersebar di daerah hutan tropis (Goldberg, 1967). Beberapa tumbuhan *Melochia* ini digunakan secara tradisional sebagai obat. Beberapa tumbuhan *Melochia* antara lain *M. tomentosa* yang tersebar di pesisir pantai Curacao dan dekat pegunungan di Coro Venezuela. Tanaman ini juga ditemukan di Florida, Texas, Bahama, dan seluruh Meksiko sampai jauh ke selatan Brazil (Shuklah, 1976).

2.2.1 Uraian Fitokimia Genus *Melochia*

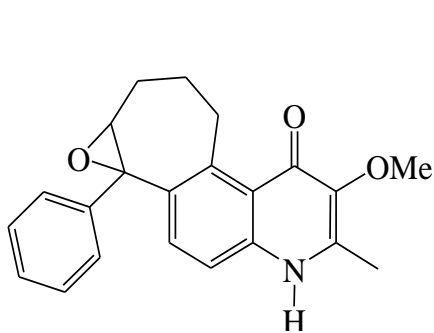
Berdasarkan penelusuran literatur terhadap fitokimia tumbuhan dari genus *Melochia*, menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan ini adalah senyawa turunan fenol, yaitu, alkaloid, flavonoid dan steroid.

a. Alkaloid

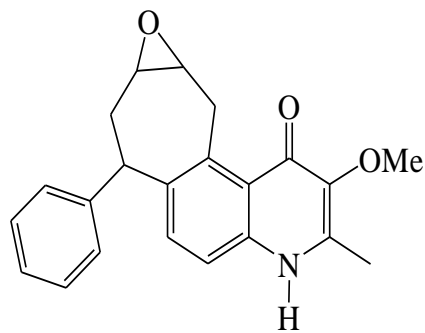
Senyawa alkaloid yang telah diisolasi dari genus *Melochia* adalah 7,8-epoksi melochinon (6) yang diperoleh dari ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Erwin, 2010) dan 9,10-epoksi melochinon (7) dari ekstrak kloroform kayu akar *M. umbellata*. Selanjutnya, alkaloid kuinolon yaitu Melochinone (8) yang diperoleh dari ekstrak benzena kayu akar *Melochia tomentosa* L. (Kapadia, dkk., 1975).

Setelah itu, empat jenis alkaloid kuinolon telah berhasil diisolasi dari *M. odorata*, yaitu waltherion A (9), waltherion B (10), waltherion C (11), dan waltherion D (12) (Jadulco, dkk., 2014).

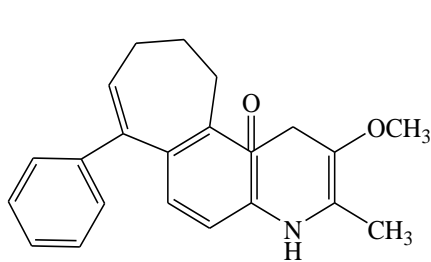
Jenis alkaloid indol juga telah berhasil diisolasi dari ekstrak kloroform ranting *M. corchorifolia* oleh Bhakuni (1991) yaitu melochicorin (13). Selanjutnya, jenis alkaloid lain telah diisolasi oleh Dias (2007) adalah senyawa siklopeptida alkaloid, yaitu chamaedrine (14), adouetine X (15), frangufoline (16), scutianine B (17), scutianine C (18).



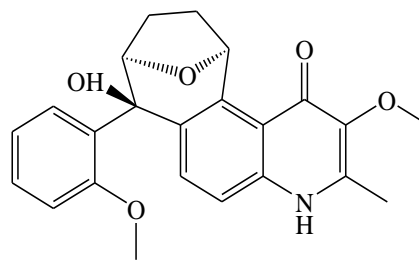
(6)



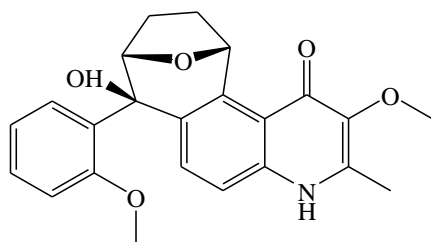
(7)



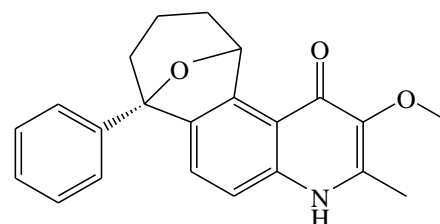
(8)



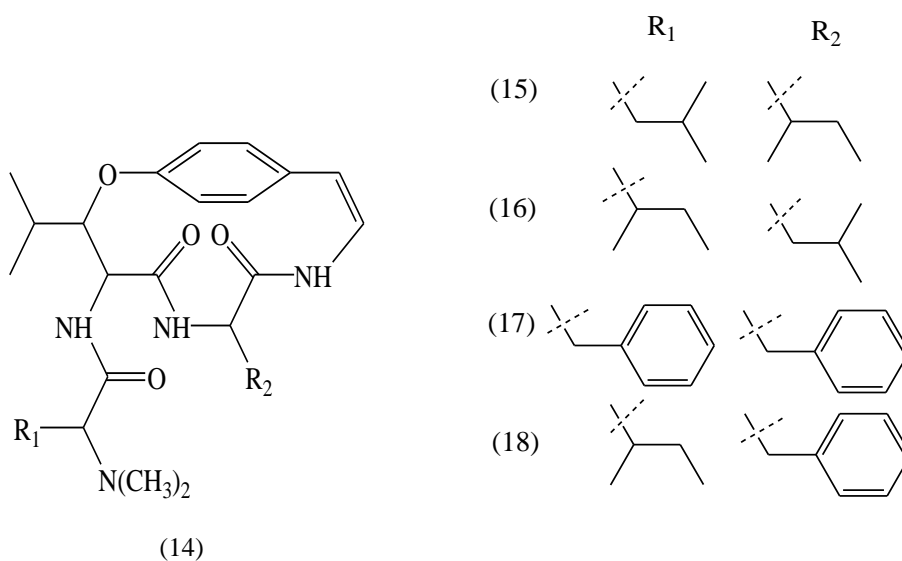
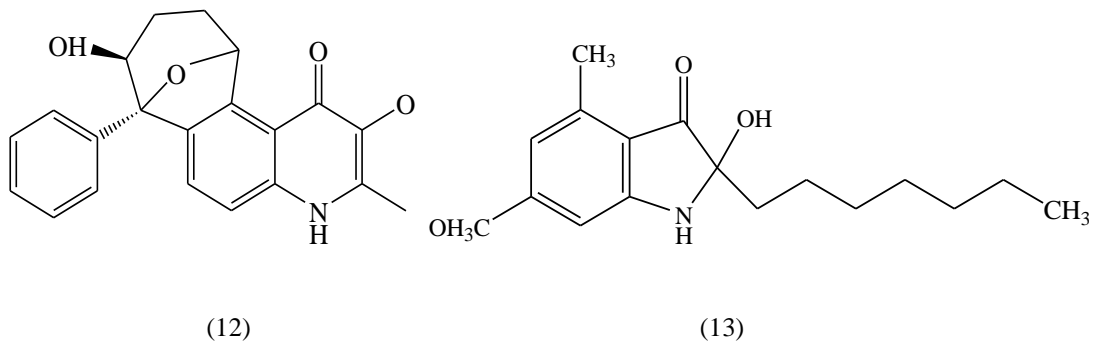
(9)



(10)



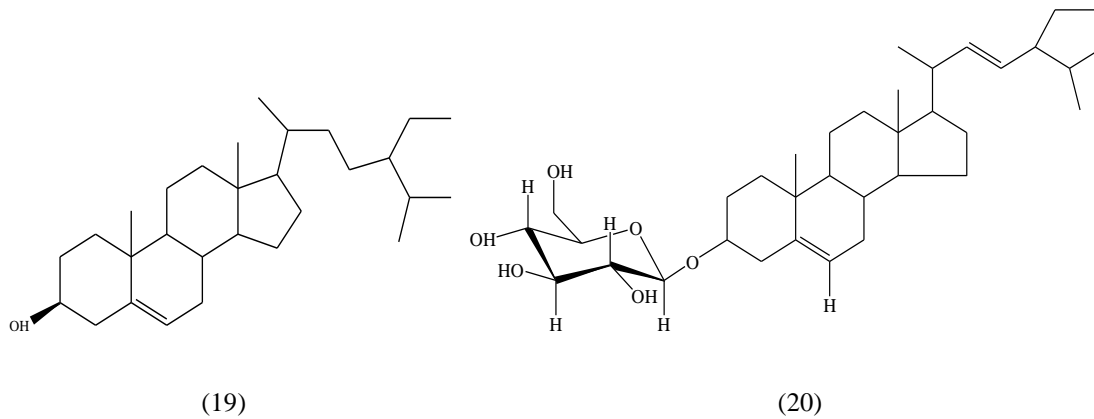
(11)



Gambar 2. Struktur senyawa alkaloid dari *Melochia*

b. Steroid

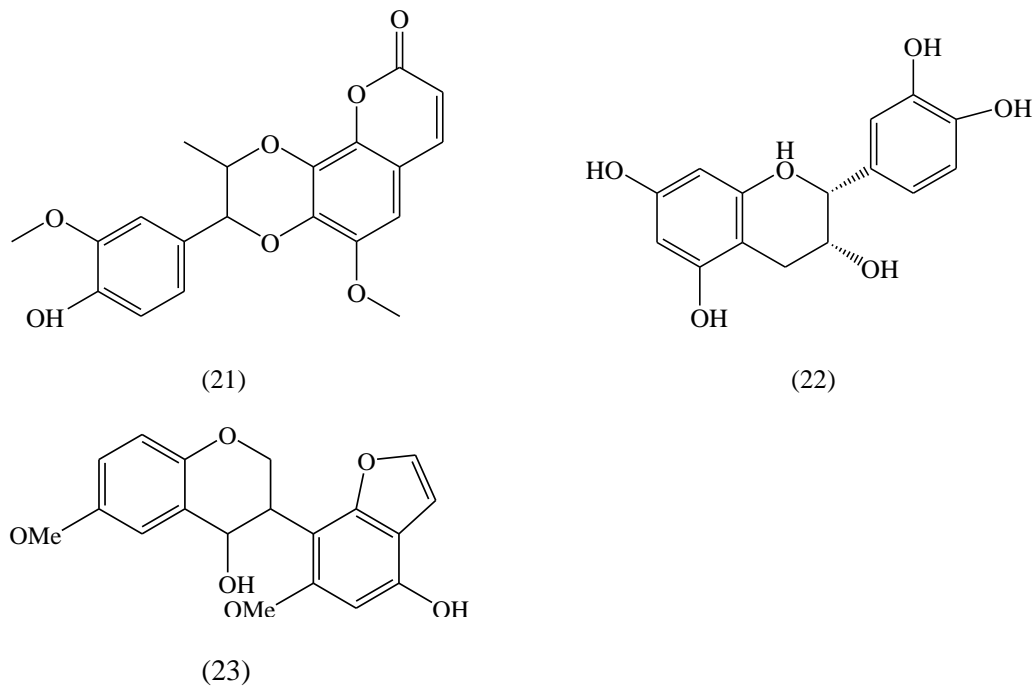
Senyawa steroid yang telah berhasil diisolasi dari genus *Melochia* adalah β -sitosterol (19) dari ekstrak kloroform daun *M. umbellata* (Imran, 2013) dan stigmasterol glikosida (20) dari ekstrak n-heksan kayu akar *M. umbellata* (Ridhay, 2012).



Gambar 3. Struktur senyawa steroid dari *Melochia*

c. Flavonoid

Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari genus *Melochia* adalah propacine (21) dan (-)-*epi*-katecin (22) yang diperoleh dari ekstrak kloroform akar tumbuhan *M. chamaedrys* (Dias, dkk., 2007). Senyawa flavonoid lainnya adalah 6,6'-dimetoksi-4,4'-dihidroksi-3',2'-furano-isoflavan (23) dari ekstrak kloroform kayu batang dan kayu akar *M. umbellata* (Erwin, 2010).



Gambar 4. Struktur senyawa flavonoid dari *Melochia*

2.2.2 Taksonomi *Melochia Umbellata*

Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. *degrabrata* oleh sebagian masyarakat Sulawesi Selatan dinamakan paliasa, meskipun spesies tumbuhan ini berbeda dengan *K. hospita* L. yang selama ini telah umum dikenal sebagai paliasa. Tumbuhan ini secara empiris digunakan untuk mengobati penyakit kanker seperti kanker hati dan rahim (Rahim, 2011).

Klasifikasi tumbuhan *M. umbellata* yang menjadi objek penelitian ini adalah sebagai berikut: (Sumber : <http://plants.usda.gov>, 2012):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Dilleniidae
Order	: Malvales
Family	: Malvaceae
Genus	: <i>Melochia</i> L.
Species	: <i>Melochia umbellata</i> (Houtt) stapf
Varietas	: <i>Visenia</i>



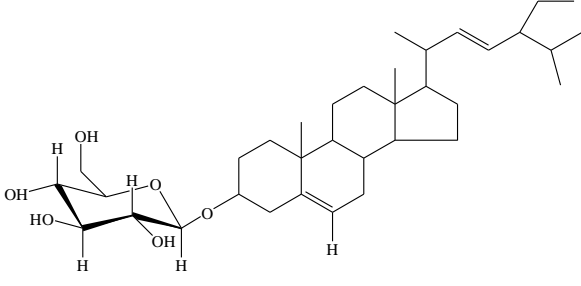
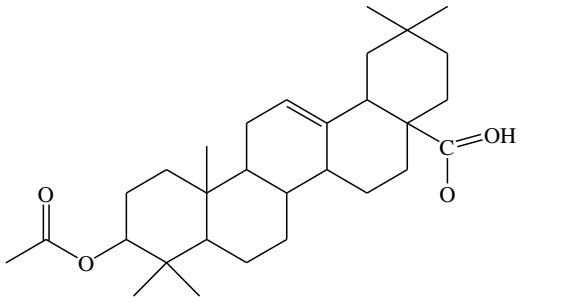
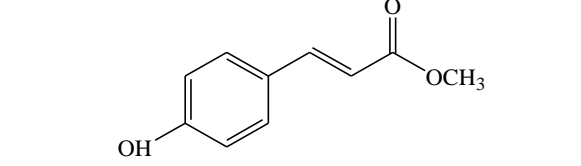
Gambar 5. Tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Sapf var. *Visenia*

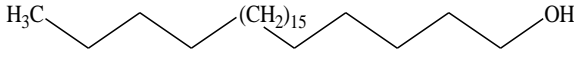
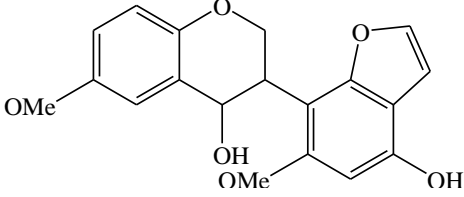
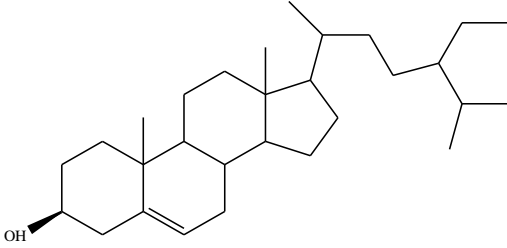
2.3 Kemotaksonomi *Melochia Umbellata*

Pengelompokan kekerabatan dari tumbuhan didasarkan pada kandungan senyawa kimia yang memiliki kemiripan dalam tumbuhan tersebut. Berdasarkan literatur tentang fitokimia spesies *M. umbellata*, menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki kandungan senyawa sterol, senyawa turunan oleanan, senyawa

fenilpropanoid, dan senyawa terpenoid. Adapun beberapa senyawa yang telah diisolasi dari spesies *M. umbellata* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Genus *Melochia* L. dan Bioaktivitasnya

Spesies (Bagian tumbuhan, ekstrak)	Struktur Senyawa	Bioaktivitas
<i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>degrabrata</i> K. (Kayu Akar, kloroform)	 <p>(20) Stigmast-5,22-dien-3-O-β-glucopyranoside</p>	Dapat menghambat pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i> pada konsentrasi 200 mg/mL (Ridhay, A., 2012)
<i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>degrabrata</i> K. (Kulit Batang, n-heksan)	 <p>(24) Senyawa turunan oleanan 3-asetil-12-oleanen-28-oat</p>	Toksik terhadap <i>A. salina</i> dengan LC ₅₀ 361,93 μ g/mL dan memberikan hambatan tertinggi terhadap bakteri <i>B. subtilis</i> dengan (diameter zona hambat 15,8 mm) dan jamur <i>C. albicans</i> dengan (diameter zona hambat 15,2 mm) pada konsentrasi 1000 μ g/mL (Usman, 2014)
<i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>degrabrata</i> K. (Kulit Akar, kloroform)	 <p>(25) Senyawa metil β-(<i>p</i>-hidroksifenil) akrilat</p>	Aktif terhadap sel kanker leukemia P-388 dengan nilai IC ₅₀ sebesar 5,351 μ g/mL (Surwindah, W., 2015)

<p><i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. degrabrata K. (Daun, n-heksan)</p>	 <p>(26) 1-Tetracosanol</p>	<p>(Wullur, dkk., 2015).</p>
<p><i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. degrabrata K. (Kayu Batang, kloroform)</p>	 <p>(23) 6,6'-dimetoksi-4,4'-dihidroksi- 3', isoflavon 2'-furano</p>	<p>Senyawa tersebut tidak menindikasikan bioaktivitas yang signifikan terhadap <i>A. salina</i> L. (LC₅₀ >1000 g/mL) dan sel leukemia P-388 dengan nilai IC₅₀ >100 g/mL (Erwin, 2010)</p>
<p><i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. degrabrata K. (Daun, kloroform)</p>	 <p>(19) β-sitosterol</p>	<p>Pada pengukuran kadar glukosa darah, semakin tinggi konsentrasi kloroform ekstrak <i>M. umbellata</i> (Houtt.) Stapf var. degrabrata K. menyebabkan tingkat penurunan kadar glukosa darah juga meningkat pada konsentrasi 6% w/v (Imran, 2014)</p>

Hasil uji toksisitas pada beberapa jaringan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. degrabrata K. terhadap *A. salina* L. diperoleh ekstrak metanol kayu batang paling aktif dengan nilai LC₅₀ 1,80 ppm dibandingkan ekstrak metanol bagian jaringan lainnya dengan nilai LC₅₀ masing-masing, yaitu kulit akar 66,22 ppm, kayu akar 37,34 ppm, kulit batang 30,27 ppm, dan daun 84,26 ppm (Erwin, 2009). Skrining

bioaktivitas yang dilakukan oleh Imran (2007) diperoleh bahwa jaringan kayu batang memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *A. salina* L. dengan nilai LC_{50} 65,62 $\mu\text{g/mL}$, kayu akar 97,36 $\mu\text{g/mL}$, kulit batang 162,80 $\mu\text{g/mL}$, kulit akar 193,77 $\mu\text{g/mL}$, dan daun 230,19 $\mu\text{g/mL}$.

2.4 Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Berbagai metode dapat digunakan untuk menentukan aktivitas suatu senyawa, contohnya metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan benur udang *Artemia salina*. Metode BSLT merupakan uji primer untuk menentukan toksisitas suatu senyawa dan memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antikanker (Meyer, 1982).

Nilai LC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Melalui metode tersebut, pelaksanaan skrining awal suatu senyawa aktif akan berlangsung relatif cepat dengan biaya yang relatif murah. Hal ini dikarenakan hanya ekstrak atau senyawa yang memiliki aktivitas antikanker berdasarkan metode BSLT tersebut yang selanjutnya dapat diyakinkan efek antikankernya terhadap biakan sel kanker (Mukhtar, 2007).

Senyawa murni digolongkan tidak aktif terhadap *A. salina* jika memiliki nilai LC_{50} lebih dari 200 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak lebih dari 500 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak atau senyawa yang tergolong aktif terbagi menjadi dua kategori, yaitu toksisitas tinggi untuk $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ dan toksisitas rendah untuk $LC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (Anderson, dkk., 1990). Sedangkan, suatu zat aktif bersifat toksik jika nilai LC_{50} untuk ekstrak adalah $< 1000 \mu\text{g/mL}$ dan $\leq 30 \mu\text{g/mL}$ untuk fraksi dan senyawa

(Meyer, dkk., 1982; Marliyana, dkk., 2012). Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Rusniati (2001) bahwa nilai LD₅₀ infus daun paliasa *Melochia umbellata* var. *Visenia* (Houtt) Staff yaitu 19,173 g/kg bobot badan mencit atau setara dengan konsentrasi 47,93%, namun dikategorikan tidak toksik.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk kayu batang tumbuhan *M. umbellata*, n-heksan teknis, kloroform p.a, etil asetat teknis, aseton teknis, metanol, plat KLT (Merk Kieselgel 60 F254 0,25 mm), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7733), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7734), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7730), NaCl laut (Sigma, no. katalog S-9883), DMSO (Merck, no. katalog 802912), telur udang *Artemia salina* Leach, DPPH, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 2% dalam H_2SO_4 2 N, dan akuades.

3.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, corong, corong pisah, corong *Buchner*, *rotary evaporator*, timbangan digital, perangkat destilasi *Vigreux*, kromatografi kolom gravitasi (KKG), kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom tekan (KKT), mikropipet, mikroplate, tabung eppendorf, penyaring kristal, wadah penetesan, alat kromatografi lapis tipis (KLT) (chambers, pipa kapiler, pensil, *cutter*, dan mistar), dan lampu UV, mikroskop, Sementara untuk analisis spektrometri digunakan spektrometer IR dengan varian FTIR 8501 Shimadzu, JEOL JMN A 5000 yang bekerja pada 500,0 MHz untuk spektrum ^1H -NMR dan 125,65 MHz untuk spektrum ^{13}C -NMR.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2016 sampai bulan Maret 2017 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin untuk proses ekstraksi, isolasi, uji fitokimia, dan uji BSLT. Analisis spektroskopi IR dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu Jurusan Kimia FMIPA Unhas. Pengukuran titik leleh dan spektroskopi NMR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik ITB.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Kayu batang tumbuhan *M. umbellata* diperoleh dari daerah sekitar Kec. Mandalle, Kab. Pangkep, Sulawesi Selatan. Spesimen tumbuhan diidentifikasi oleh Keragaman Flora Indonesia, KERUKUNAN KELUARGA SEREALE (KKS), Makassar.

3.4.2 Isolasi

Sebanyak 5 kg serbuk kering kayu batang *M. umbellata* dimaserasi dengan n-heksan selama 1 x 24 jam sebanyak 5 kali. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak n-heksan pekat. Selanjutnya, serbuk kayu batang yang telah dimaserasi dengan n-heksan, dimaserasi kembali dengan menggunakan metanol selama 1 x 24 jam sebanyak 5 kali. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan sehingga didapatkan ekstrak metanol pekat. Ekstrak metanol pekat dipartisi dengan pelarut kloroform kemudian dievaporasi menghasilkan ekstrak kloroform.

Ekstrak kloroform selanjutnya difraksinasi melalui KKV, KKT, dan KKG menggunakan eluen yang sesuai berdasarkan analisis dengan KLT dan setiap hasil fraksinasi dimonitor kembali melalui analisis dengan KLT.

3.4.3 Uji Fitokimia

Pada ekstrak kloroform kayu batang tumbuhan *M. umbellata* dilakukan uji fitokimia yaitu uji flavonoid, alkaloid, fenolik, steroid, terpenoid dan saponin.

3.4.4 Identifikasi

Isolat tunggal yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen, KLT dua dimensi, dan pengukuran titik leleh. Penentuan golongan isolat tunggal dilakukan melalui uji golongan. Elusidasi struktur isolat diperoleh melalui analisis data spektroskopi IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR.

3.4.5 Uji Toksisitas

Fraksi dan isolat tunggal yang diperoleh diuji toksisitasnya terhadap udang *A. salina* (**Lampiran 2**).

3.5 Pengamatan

3.5.1 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan 2 macam kromatografi kolom yaitu kromatografi kolom vakum (KKV) dan kromatografi kolom tekan (KKT) dengan menggunakan eluen yang bervariasi. Fraksinasi ekstrak kloroform sebanyak 38,0725 g melalui KKV dengan urutan kepolaran yang meningkat, yaitu n-heksan, n-heksan : kloroform, kloroform, aseton, dan metanol. Hasil fraksinasi dianalisis dengan KLT menggunakan eluen yang sesuai agar dapat menggabungkan fraksi-fraksi dengan nilai R_f yang sama. Selanjutnya, fraksi gabungan (F8) dari hasil fraksinasi kromatografi kolom vakum difraksinasi kembali dengan KKT.

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 *chamber glass* 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 R_f -nya. Senyawa murni harus menunjukkan noda tunggal pada tiga macam sistem eluen dan kromatogram KLT dua dimensi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

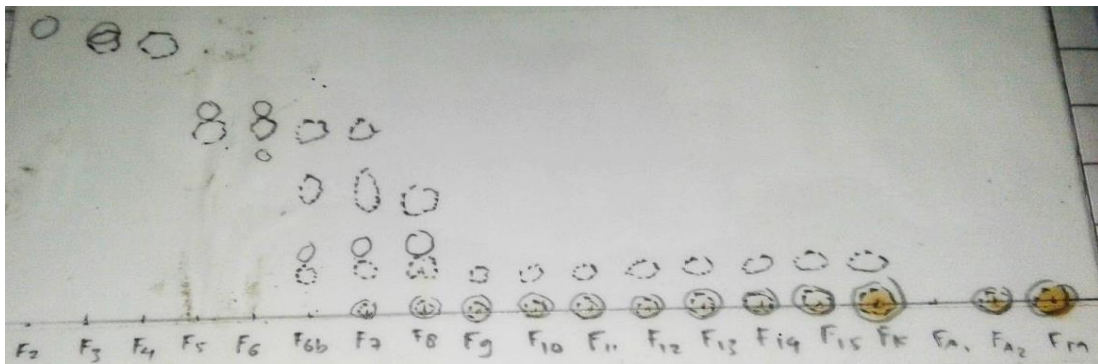
4.1 Hasil Penelitian

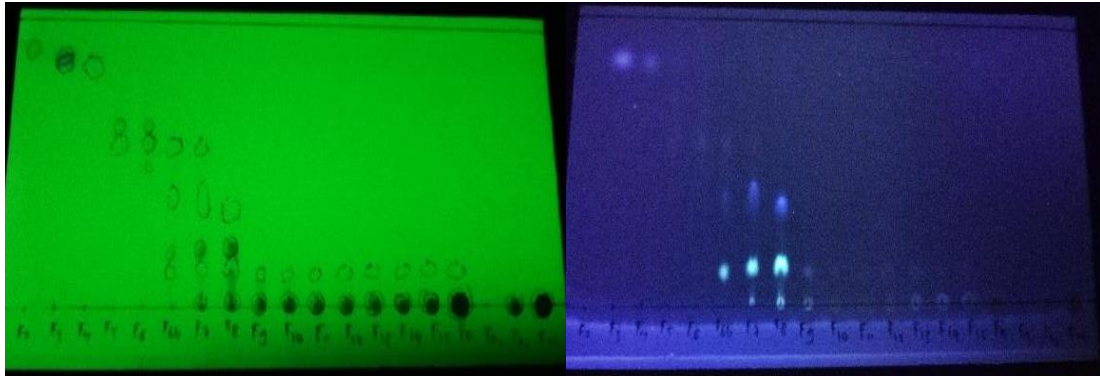
4.1.1 Maserasi dan Ekstraksi

Sampel berupa kayu batang *Melochia umbellata* dihaluskan menjadi serbuk (5 kg) lalu dimaserasi dengan n-heksan. Maserat yang diperoleh kemudian dievaporasi lalu dimaserasi kembali dengan pelarut metanol. Hasil maserasi menggunakan pelarut metanol kemudian dievaporasi menghasilkan ekstrak metanol sebanyak 47,5425 g. Partisi ekstrak metanol dengan pelarut kloroform menghasilkan 38,0725 g ekstrak kloroform.

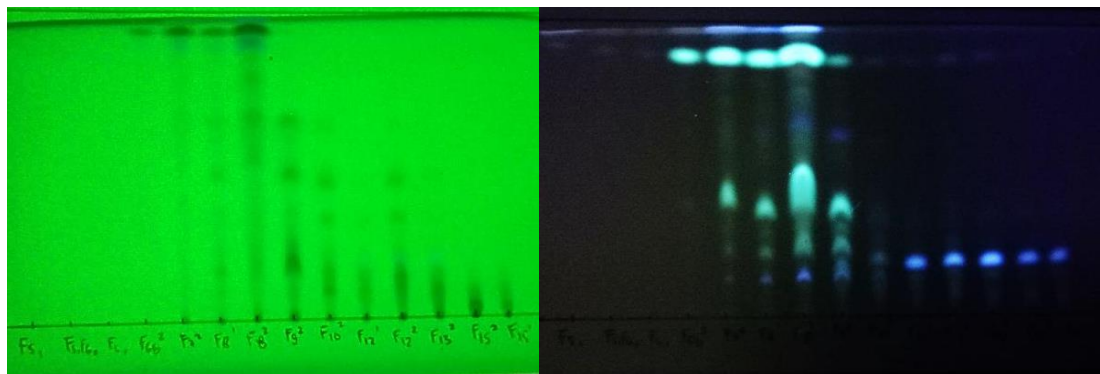
4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian

Fraksinasi ekstrak kloroform sebanyak 38,0725 g melalui kromatografi kolom vakum menggunakan eluen yang bervariasi. Proses fraksinasi diawali dengan pencarian eluen yang memperlihatkan noda dengan nilai R_f 0,3 pada kromatogram melalui analisis KLT menggunakan campuran eluen n-heksan : kloroform (2:8). Fraksinasi ekstrak kloroform menghasilkan 42 fraksi (Gambar 6) dan fraksi-fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama digabung sehingga diperoleh 13 fraksi utama (Gambar 7).





Gambar 6. Kromatogram ekstrak kloroform hasil fraksinasi KKV



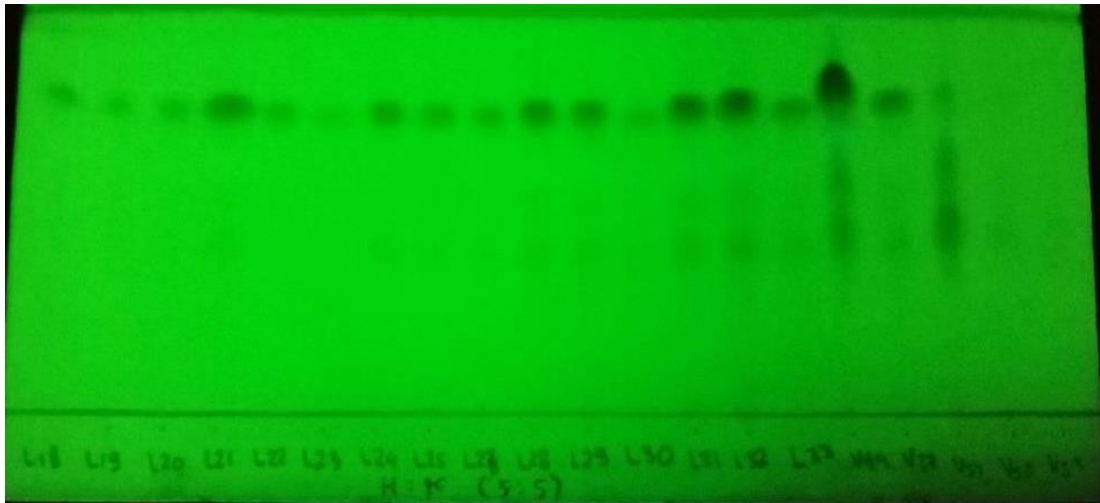
Gambar 7. Kromatogram fraksi utama KKV

Bobot Kering dari fraksi utama hasil Kromatografi Kolom Vakum ditunjukkan pada Tabel 2.

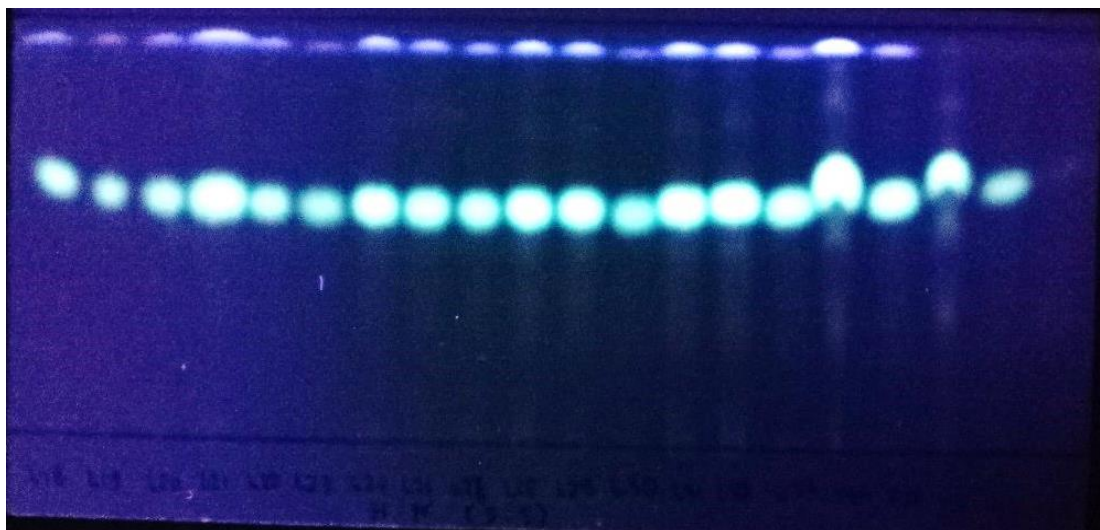
Tabel 2. Data Bobot Kering dari 13 Fraksi Utama

No.	Fraksi	Bobot Kering (mg)
1	F1	-
2	F2	425,4
3	F3	264,1
4	F4	331,6
5	F5	-
6	F6	304,2
7	F7	517,4
8	F8	1252,6
9	F9	982,8
10	F10	160,8
11	F11	74,3
12	F12	-
13	F13	117,1

Fraksi 8 yang berwarna kuning kecoklatan dengan berat 1.252,6 mg difraksinasi kembali dengan Kromatografi Kolom Tekan (KKT) menggunakan campuran eluen n-heksan : kloroform (7,5:2,5). Hasil fraksinasi diperoleh 53 fraksi (Gambar 8) dan berdasarkan kromatogram hasil analisis KLT diperoleh 5 fraksi gabungan yaitu V1, V2, V3, V4, dan V5 (Gambar 9).

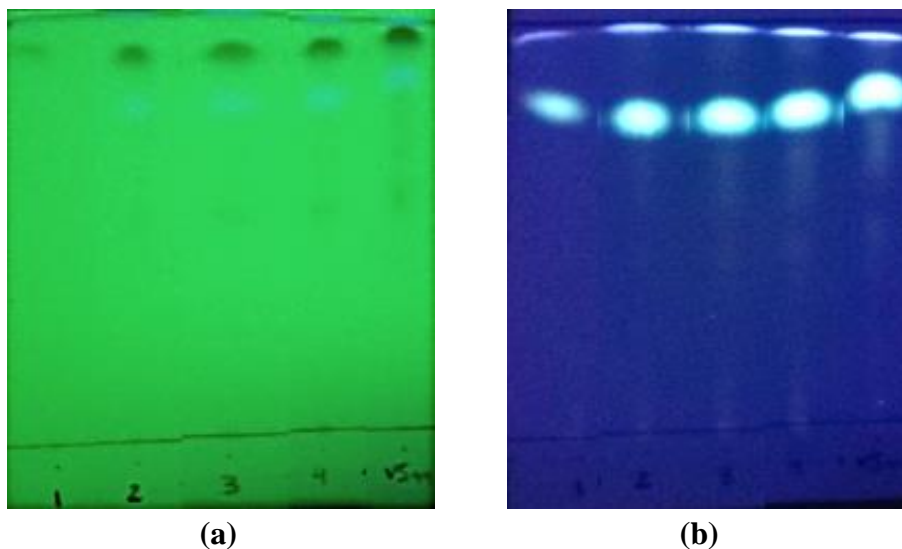


(a)



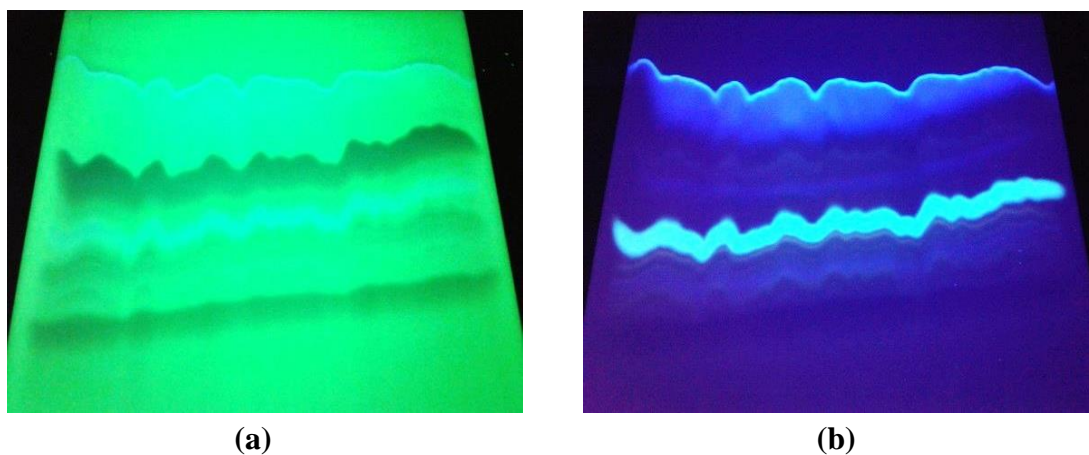
(b)

Gambar 8. Kromatogram fraksi 8 hasil fraksinasi KKT (a). di bawah UV *short* (254 nm); (b). di bawah UV *long* (365 nm)



Gambar 9. Kromatogram hasil analisis KLT fraksi utama KKT (a). di bawah UV *short* (254 nm); (b). di bawah UV *long* (365 nm)

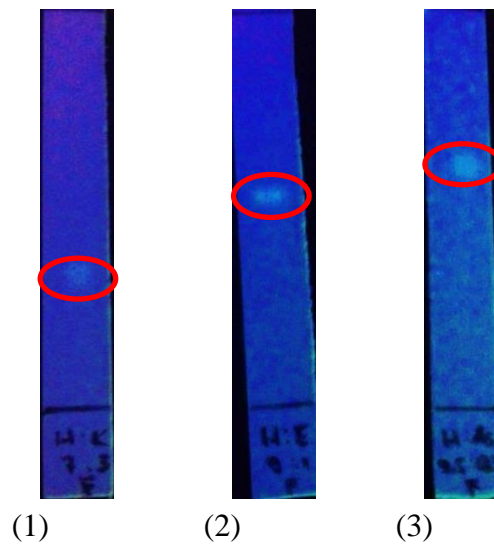
Noda-noda yang teramati berpendar di bawah UV *short wave* (254 nm) dan UV *long wave* (365 nm). Pada fraksi V4 terbentuk kristal jarum warna kuning kecoklatan dengan berat 64,4 mg. Berdasarkan analisis KLT preparatif (Gambar 10) diperoleh senyawa A dan B.



Gambar 10. Kromatogram hasil analisis KLT preparatif (a). di bawah UV *short* (254 nm); (b). di bawah UV *long* (365 nm)

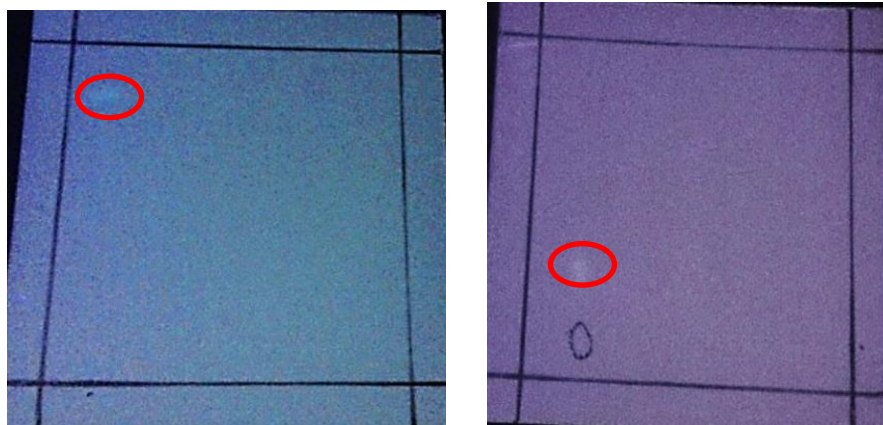
Uji kemurnian terlihat bahwa senyawa A dan B telah murni melalui analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen dan KLT dua dimensi (Gambar 11 dan 12).

Bobot Kristal yang diperoleh adalah 1,4 mg untuk kristal A dan 4,2 mg untuk kristal B.



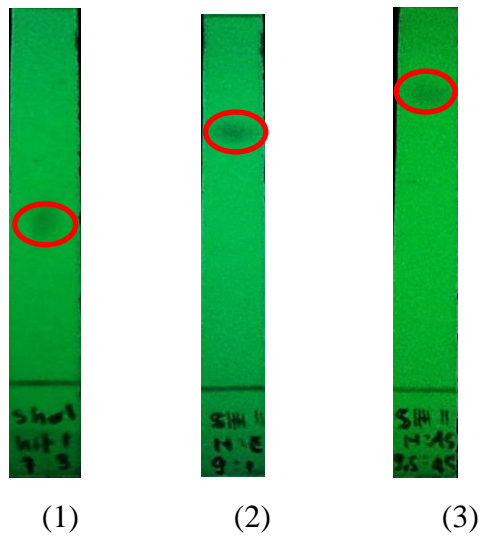
1. 70 % n-heksan : 30 % CHCl_3 ($R_f = 0,32$)
2. 90 % n-heksan : 10 % EtOAc ($R_f = 0,5$)
3. 95 % n-heksan : 5 % Aseton ($R_f = 0,6$)

(a)



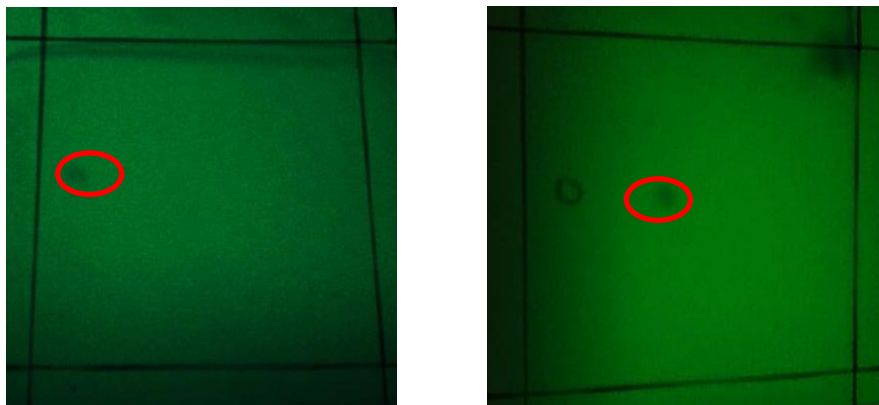
(b)

Gambar 11. Kromatogram hasil analisis KLT Kristal A (noda tunggal di bawah UV long) KLT sistem tiga eluen; (b) KLT 2 dimensi



1. 70 % n-heksan : 30 % CHCl_3 ($R_f = 0,375$)
2. 90 % n-heksan : 10 % EtOAc ($R_f = 0,65$)
3. 95 % n-heksan : 5 % Aseton ($R_f = 0,75$)

(a)



(b)

Gambar 12. Kromatogram hasil analisis KLT Kristal B (noda tunggal di bawah UV short) (a) KLT sistem tiga eluen; (b) KLT 2 dimensi

Noda tunggal pada kromatogram tersebut mengindikasikan bahwa kristal A dan B merupakan isolat murni yang selanjutnya dinyatakan sebagai senyawa isolat. Senyawa isolat B seberat 4,2mg yang memiliki titik leleh $78-80^\circ\text{C}$, sedangkan senyawa isolat A seberat 1,4 mg.

4.1.3 Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia dari ekstrak kloroform kayu batang *M.umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* (Tabel 3) dan Kristal A dan B (Tabel 4).

Tabel 3. Uji fitokimia ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*

No	Uji	Pereaksi	Hasil uji
1	Steroid	Lieberman-Burchard	+
2	Terpenoid	Lieberman-Burchard	-
3	Alkaloid	Dragendrof	-
		Wegner	-
		Meyer	-
4	Flavonoid	Mg + amil alkohol	-

Berdasarkan Tabel 3. Hanya senyawa steroid yang terdapat dalam ekstrak kloroform, sedangkan senyawa terpenoid, alkaloid, dan flavonoid tidak terdapat dalam ekstrak kloroform.

Tabel 4. Uji Fitokimia Kristal A dan Kristal B

Uji	Pereaksi	Hasil uji	
		Kristal A	Kristal B
Steroid	Lieberman-Burchard	+	+
Terpenoid	Lieberman-Burchard	-	-
Alkaloid	Dragendrof	-	-
	Wegner	-	-
	Meyer	-	-
Flavonoid	Mg + amil alkohol	-	-

Berdasarkan Tabel 4. Hanya senyawa steroid yang terdapat dalam Kristal A dan B, sedangkan senyawa terpenoid, alkaloid, dan flavonoid tidak terdapat dalam Kristal A dan B.

4.1.4 Uji BSLT

Uji BSLT dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. Adapun nilai toksisitas (LC_{50}) dari ekstrak kloroform dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai toksisitas (LC_{50}) ekstrak kayu batang *Melochia umbellata* Stapf var. Visenia

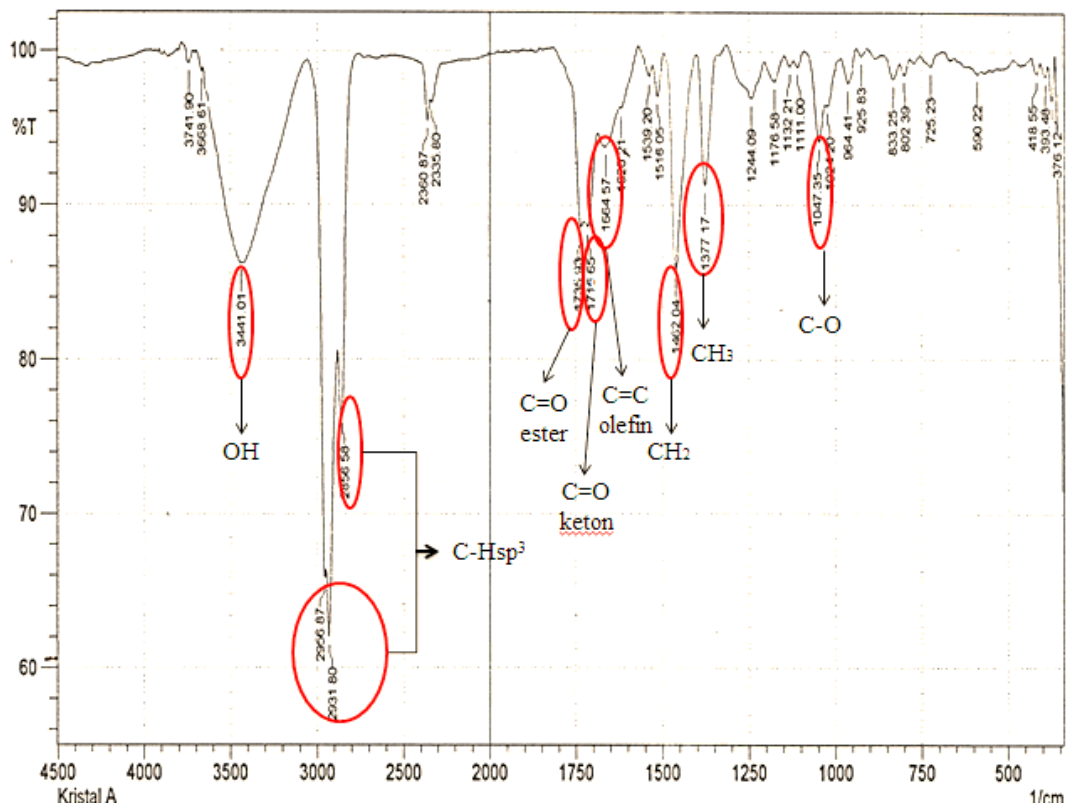
No.	Fraksi	Nilai toksisitas (LC_{50}) ($\mu\text{g/mL}$)
1	Ekstrak	35,7068
2	F1	77,7039
3	F2	24,4 472
4	F3	12,2879
5	F4	47,3382
6	F5	44,8773
7	F6	64,4676
8	F7	8,0550
9	F8	36,1211
10	F9	19,7824
11	F10	11,0297
12	F11	21,4199
13	F12	12,4886
14	F13	7,8092

Berdasarkan Tabel 5 diperoleh nilai toksisitas (LC_{50}) ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* Stapf var. Visenia bahwa fraksi-fraksi yang dapat digolongkan fraksi tidak aktif yaitu fraksi F1, F4, F5, F6, dan F8, sedangkan fraksi F2, F3, F7, F9, F10, F11, F12, dan F13 digolongkan dalam fraksi aktif. Hal ini

didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Meyer *et al.*, (1982) bahwa ekstrak dapat digolongkan aktif apabila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$, sedangkan untuk fraksi dan senyawa murni digolongkan aktif apabila nilai $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

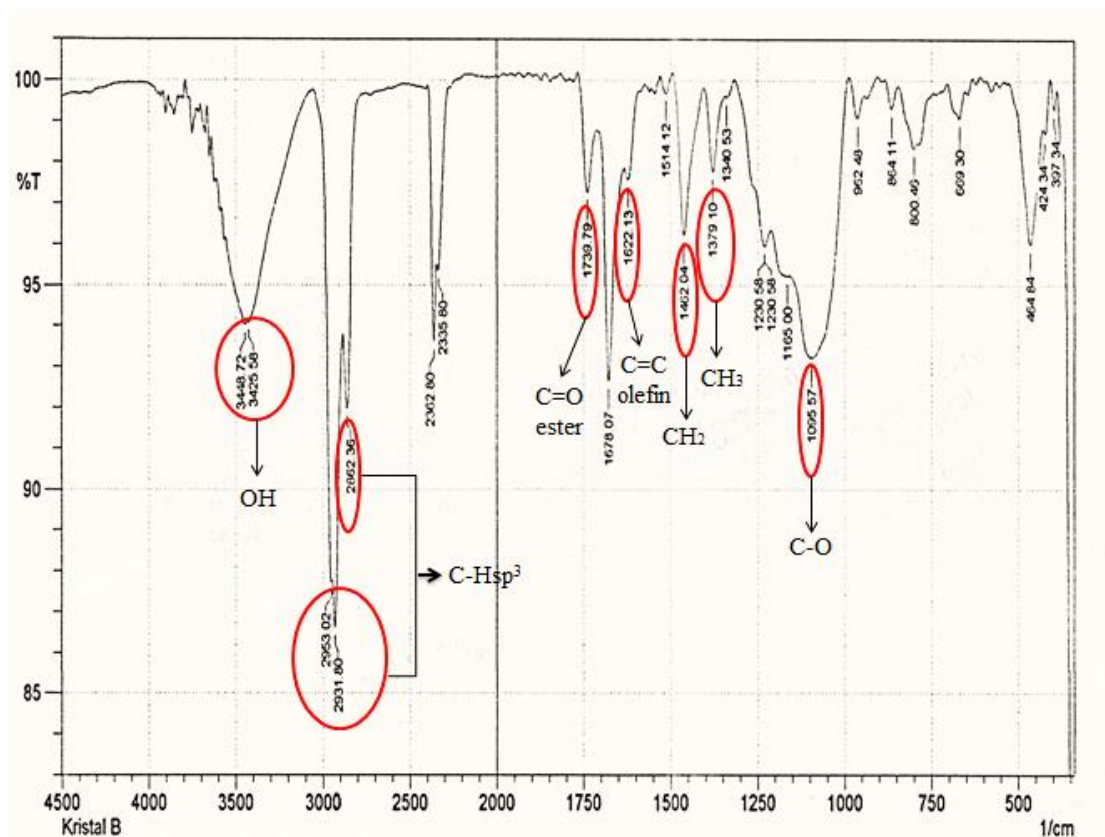


Gambar 13. Spektrum FTIR Senyawa A

Spektrum senyawa A (Gambar 13) tersebut memperlihatkan pita serapan (ν_{maks}) pada bilangan gelombang $3441,01 \text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan adanya gugus hidroksil (-OH) yang didukung dengan serapan pada daerah $1047,35 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus C-O tunggal. Gugus karbonil (C=O) ester yang khas memberikan pita serapan pada bilangan gelombang $1735,93 \text{ cm}^{-1}$. Serapan pada daerah $2956,87 \text{ cm}^{-1}$, $2931,80 \text{ cm}^{-1}$, dan $2856,58 \text{ cm}^{-1}$ (C-H *stretching*) menunjukkan adanya gugus C-H sp^3 yang didukung adanya serapan dari gugus CH_3 dan CH_2

masing-masing pada bilangan gelombang 1377, 17 cm^{-1} dan 1462,04 cm^{-1} . Serapan pada 1664,57 cm^{-1} menunjukkan serapan C=C olefin.

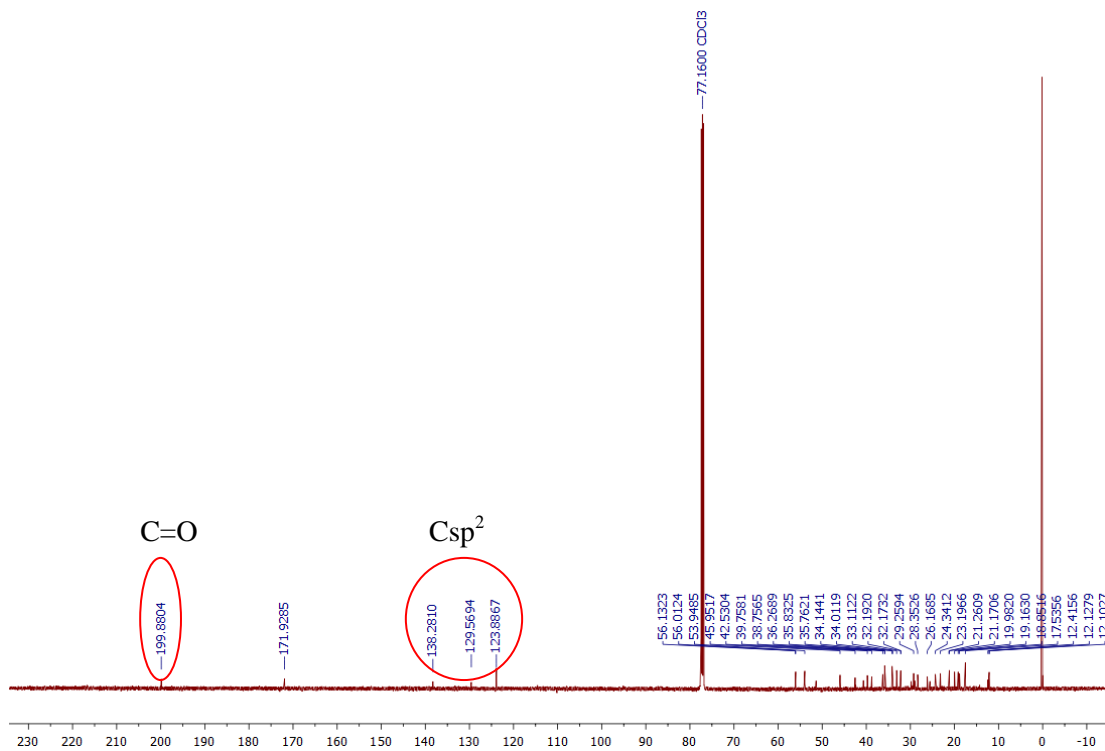
Serapan-serapan pada spektrum IR tersebut karakteristik untuk senyawa steroid. Hasil uji golongan juga menunjukkan positif steroid dengan memberikan warna biru kehijauan setelah penambahan pereaksi Lieberman Burchard (LB). Data spektroskopi dari senyawa A tidak dapat dilanjutkan ke spektroskopi NMR karena bobot dari senyawa A (hanya 1,4 mg) yang tidak mencukupi untuk dilakukan analisis spektroskopi NMR.



Gambar 14. Spektrum FTIR Senyawa B

Spektrum senyawa B (Gambar 14) tersebut memperlihatkan pita serapan (ν_{maks}) pada bilangan gelombang 3448,72 cm^{-1} dan 3425,58 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus hidroksil (-OH) yang didukung oleh adanya serapan pada daerah 1095,57 cm^{-1} yang menunjukkan adanya C-O tunggal. Gugus karbonil

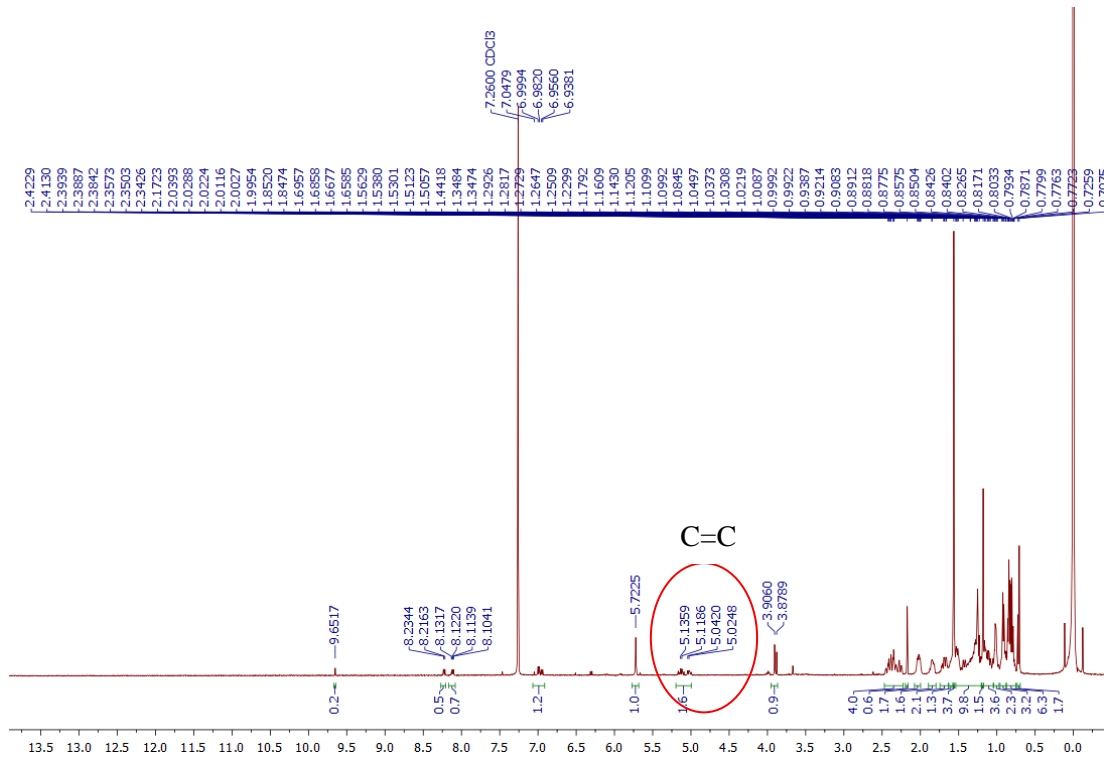
(C=O) ester yang khas memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 1739,79 cm^{-1} . Serapan pada daerah 2953,02 cm^{-1} , 2931,80 cm^{-1} , dan 2862,80 cm^{-1} (C-H *stretching*) menunjukkan adanya gugus C-H sp^3 yang didukung adanya serapan dari gugus CH_3 dan CH_2 masing-masing pada bilangan gelombang 1379,10 cm^{-1} dan 1462,04 cm^{-1} . Serapan pada 1662,13 cm^{-1} menunjukkan serapan C=C olefin.



Gambar 15. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa B

Analisis data spektroskopi ^{13}C -NMR (Gambar 15) memperlihatkan 32 sinyal sehingga total karbonnya 32. Sinyal pada δ_c 51,38; 53,96 dan 56,01 ppm yang merupakan tempat tumpang tindih antara sinyal-sinyal gugus alkil tanpa mengikat oksigen. Sinyal karbon pada δ_c 199,88 ppm merupakan gugus karbonil terkonjugasi dengan ikatan rangkap dua alkena. Sinyal karbon pada δ_c 171,92; 138,28; 129,56; 38,75; 42,53 dan 138,28 ppm merupakan sinyal-sinyal karbon kuartener Csp^2 . Sinyal karbon pada δ_c 129,56 dan 123,88 ppm berasal dari CH alkena. Pada spektrum ^{13}C -NMR menunjukkan pula adanya sinyal karbon metil pada δ_c 17,53; 18,85 dan

12,12 ppm, sinyal karbon metilen pada δ_c 34,01; 21,26; 39,75; 24,34 dan 29,85 ppm, serta sinyal karbon metin pada δ_c 123,88; 33,11; 32,17; 35,76 dan 56,01 ppm. Berdasarkan sinyal-sinyal karbon tersebut dapat diketahui bahwa senyawa B memiliki kerangka steroid yang mengikat karbonil.



Gambar 16. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa B

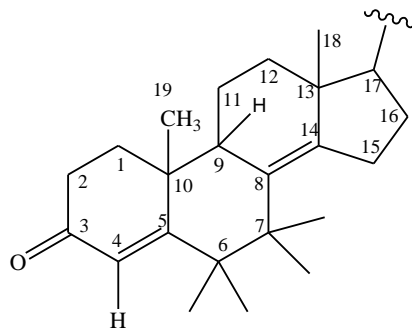
Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Gambar 16) memperlihatkan adanya proton pada δ_H 5,01 (1H, dd, $J = 8,6$ dan $8,6$ Hz); 5,12 (1H, dd, $J = 8,7$ dan $10,11$ Hz); 5,72 (1H, s) dan 6,96 ppm (1H, dd, $J = 8,7$ dan $8,95$ Hz) yang mengindikasikan bahwa proton tersebut terikat pada C=C (olefin). Hal ini bersesuaian dengan data spektrum IR, dimana teridentifikasi gugus C=C (olefin). Pada daerah δ_H 3,89 ppm (1H, s) mengindikasikan adanya oksikarbon. Adanya sinyal proton pada daerah geseran kimia alkana, yaitu δ_H 1,01; 0,91; 0,82 masing-masing (3H, m) dan 1,17 ppm (3H, s) merupakan proton metil. Selanjutnya, proton metilen pada daerah δ_H 2,45 (2H, d, $J = 5,2$); 0,71 ppm (2H, d, $J = 9,2$ Hz); 2,35; 1,40; 0,85; 2,02; 1,00; 1,27; 1,69 dan

1,11 ppm masing-masing (2H, m); 1,85; 1,69 dan 1,01 ppm masing-masing (1H, m), serta proton metin pada daerah δ_H 5,72 (1H, s); 2,40; 1,53 dan 2,28 ppm masing-masing (1H, m). Hal ini bersesuaian dengan data spektrum IR dimana teridentifikasi gugus CH-alifatik (CH₃ dan CH₂). Data kerangka struktur senyawa B dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data ¹H-NMR dan ¹³C-NMR senyawa B

Posisi	¹ H-NMR δ ppm (H, multiplisitas, kons. kopling)	¹³ C-NMR δ ppm	HMBC (H→C)
1	1,69 (2H,m)	35,83	C-19
2	2,45 (2H, m)	34,01	C-4
3	-	199,88	-
4	5,72 (1H, s)	123,88	C-2
5	-	171,92	-
6	2,40 (1H, m)	33,11	-
	2,28 (1H, m)		
7	1,85 (1H, m)	32,17	-
	1,01 (1H, m)		
8	-	129,56	-
9	1,53 (1H, m)	35,76	C-19
10	-	38,75	-
11	0,85 (2H, m)	21,26	-
12	2,02 (2H, m)	39,75	C-9
13	-	40,64	-
14	-	138,28	-
15	1,00 (2H, m)	24,34	-
16	1,27 (2H, m)	29,85	-
17	1,16 (1H, m)	56,01	C-15
18	0,82(3H, m)	12,12	-
19	1,17 (3H, s)	17,53	C-1

Berdasarkan data spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa B yang diperoleh maka kerangka struktur senyawa yang telah berhasil diisolasi adalah kerangka steroid yang mengikat karbonil. Hasil uji fitokimia memberikan warna biru kehijauan setelah penambahan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 yang menunjukkan bahwa senyawa B positif steroid. Oleh karena data spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ tidak lengkap (tidak semua karbon kuartener terbaca pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$), serta tidak adanya data COSY dan DEPT-135 sehingga analisis data NMR hanya sampai pada kerangka struktur. Adapun kerangka struktur dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Kerangka Struktur Senyawa B

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Fraksi-fraksi dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* yang tergolong fraksi tidak aktif terhadap larva udang *Artemia salina* L. adalah F1, F4, F5, F6, dan F8, sedangkan fraksi F2, F3, F7, F9, F10, F11, F12, dan F13 digolongkan dalam fraksi aktif.
2. Jenis metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* adalah steroid. Selanjutnya, kristal A dan B juga menunjukkan positif steroid melalui uji fitokimia.
3. Senyawa yang berhasil diisolasi dari fraksi non aktif *Artemia salina* ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* yaitu senyawa A seberat 1,4 mg dan senyawa B seberat 4,2 mg dengan titik leleh 78-80°C.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat dan metanol kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*. Kemudian disarankan untuk melakukan uji bioaktivitas ekstrak kloroform terhadap sel leukemia P-388, sel HeLa, antibakteri atau antikanker dan uji bioaktivitas fraksi non aktif *Artemia salina* ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* terhadap sel kanker lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E., Goetz, C.M., dan McLaughlin, J.L., 1990, A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreen. *Phytochemical Analysis*, **6**: 107-111.
- Aryanti, Ermayanti, T.M., Mariska, I., dan Bintang, M., 2005, Isolasi Senyawa Antikanker dari Akar Berambut *Artemia cina* dan Aktivitas Inhibisinya terhadap Sel Kanker Mulut Rahim. *Majalah Farmasi Indonesia*, **16**(4): 192-196.
- Atun, S., 2005, Pengembangan Potensi Bahan Alam sebagai Sumber Penemuan Obat Baru, Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Kimia, Universitas Negeri Yogyakarta, 24 September.
- Atun, S., 2014, Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam, *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*, **8**(2): 53-61.
- Bhakuni, R.S., Shukla, Y.N., dan Thakur, R.S., 1991, Melochicorine A Pseudooxindole Alkaloid from *Melochia corchorifolia*, *Phytochemistry*, **30**(9): 3159-3160.
- 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.
- Djajanegara, I., Wahyudi, P., 2009, Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **7**(1): 7-11.
- Doyle, A. dan Griffiths, J.B., 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, John Willey and Sons Ltd: New York.
- Erwin, Noor, A., Soekamto, N.H., dan Harlim, T., 2009, Skrining Bioaktivitas Beberapa Bagian Jaringan Tumbuhan Paliasa *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K., *ISSN 2085-014X*, **2**(1): 1-9.
- Erwin, Soekamto, N.H., Noor, A., dan Harlim, T., 2009, β -sitosterol sebagai Komponen Utama pada Fraksi n-Heksan Kayu Batang M. *umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. (Paliasa), *Jurnal Kimia Mulawarman*, **6**(2): 7-10.
- Erwin, 2010, *Penentuan Struktur Molekul Isolat Kayu Batang Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. degrabrata K (Paliasa), Disertasi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.

- Erwin, Noor, A., Soekamto, N.H., dan 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*), *Indo. J. Chem.*, **10**(2): 222-225.
- Goldberg, A., 1967, The Genus *Melochia* L. (Sterculiaceae), *Contr US Herb*, **34**: 134-363.
- Hadi, S., dan Bremer, J.B., 2001, Initial Study on Alkaloid from Lombok Medicinal Plants, *Molekules*, **6**: 117-129.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Badan Litbang, Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Hoelzel, S.C.S.M., Vieira, E.R., Giacomelli, S.R., Dalcol, I.I., Zanatta, N., dan Morel, A.F., 2005, An Unusual Quinolinone Alkaloid from *Waltheria douradinha*, *Phytochemistry*, **66**: 1163-1167.
- Ilyas, A., 2014, Senyawa 4-Hidroksi Sinamamida Dari Ekstrak Etil Asetat (Etoac) Kulit Akar Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn), *Jurnal Teknosains*, **8**(2): 152-160.
- Imran, 2010, Senyawa Di-(2-Etilheksil)Ftalat dalam Fraksi Metilen Klorida Ekstrak Jaringan Kayu Batang Tumbuhan (*Kleinhovia hospita* L.), *Paradigma*, **14**(2): 171-180.
- Imran, 2011, Isolasi Senyawa Metabolit Sekundes Fraksi Metilen Klorida Ekstrak Metilen Klorida kayu Batang Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.), *J. Prog. Kim*, **1**(1): 16-24.
- Imran, 2013, *Karakterisasi Senyawa dari Ekstrak Kloroform Daun Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf Var. Degrabrata K. dan Uji Aktivitas Antihiperqlikemik, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Imran, Hariani, N., dan Usman, H., 2014, Characterization Compound From Extract Chloroform Leaves *M. Umbellata* (Houtt.) Stapf Var. Degrabrata K. And Test Antihyperglycemic Activity, *Indonesia Chimica Acta*, **7**(1): 23-30.
- Jadulco, C.J., Pond, C.D., Wagoner, R.M.V., Koch, M., Gideon, O.G., Matainaho, T.K., Piskaut, P., dan Barrows, L.R., 2014, 4-Quinolone Alkaloids from *Melochia odorata*, *Journal Natural Product*, **77**(1): 183-187.
- Kapadia, G.J., Paul, B.D., Silvertson, J.V., Fales H.M., dan Sokoloski, E.A., 1975, Melochinone: a Novel Quinolinone from *Melochia tomentosa* L., *Journal of the American Chemical Society*, **97**(23): 6815-6819.

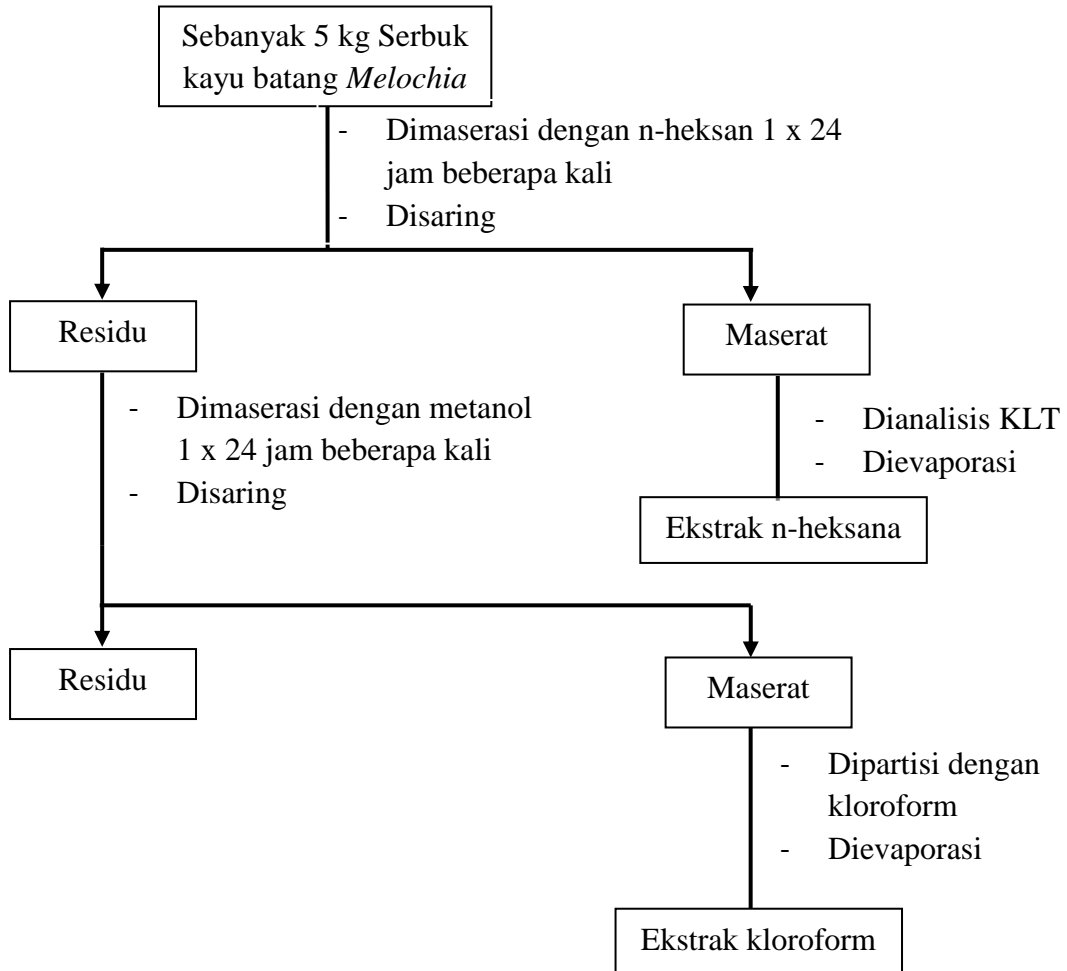
- Konate, K., Souzu, A., Meda, N.T.R., Coulibaly, A.Y., Kiendrebeogo, M., Lamein-Meda, A., Lamidi, M., Millogo-Rasolimby, J., dan Nacoulma, O. G., 2010, Polyphenol Contents, Antioxidant and AntiInflammatory Activities of Six Malvaceae Species Traditionally used to Treat Hepatitis B in Burkina Faso, *European Journal Sains Resources*, **44**(4): 570-580.
- Lenny, S., 2006, Senyawa Terpenoida dan Steroida, Karya Ilmiah, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Meyer, N., Ferriginii, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, D.E., Nichols, D.E., dan McLaughin, J.L., 1982, Brine Shrimp: A Convinient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med*, **45**: 35-34.
- Ozkan, A.M.G., Uzunhisarcikli, M.E., 2009, Stem and Leaf Anatomy of Altheae L. (Malvaceae) Species Growing in Turkey, *Hacettepe University Journal of Faculty of Pharmacy*, **28**(2): 133-148.
- Palaksha, M.N., Ravishankar, K., dan Giriya, S.V., 2013, Preliminary Phytochemical Screening and *in vitro* Free Radical Scavenging Activity of *Melochia corchorifolia* Plant Extracts, *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, **3**(2): 378-383.
- Pasaribu, Y.P., 2011, *Penelusuran Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Kayu Akar Kleinhovia hospita* Linn. (*Paliasa*) dan Uji Bioaktivitasnya, Tesis tidak diterbitkan, Makassar: Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Pullaiah, T., 2014, Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of *Melochia corchorifolia* L., *International Research Journal of Pharmacy*, **5**(7): 543-545.
- Rahim, A., 2011, Uji Toksisitas Beberapa Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Ekstrak Metanol Daun *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* pada Larva *Artemia salina* L., *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **15**(1): 35-39.
- Rao, B.G., Rao, Y.V., dan Rao, T.M., 2013, Hepatoprotective and antioxidant capacity of *Melochia corchorifolia* extracts, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 537-543.
- Ridhay, A., Noor, A., Soekanto, N.H., dan 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* (Houtt) Stapf var. *visenia* (Houtt), Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.

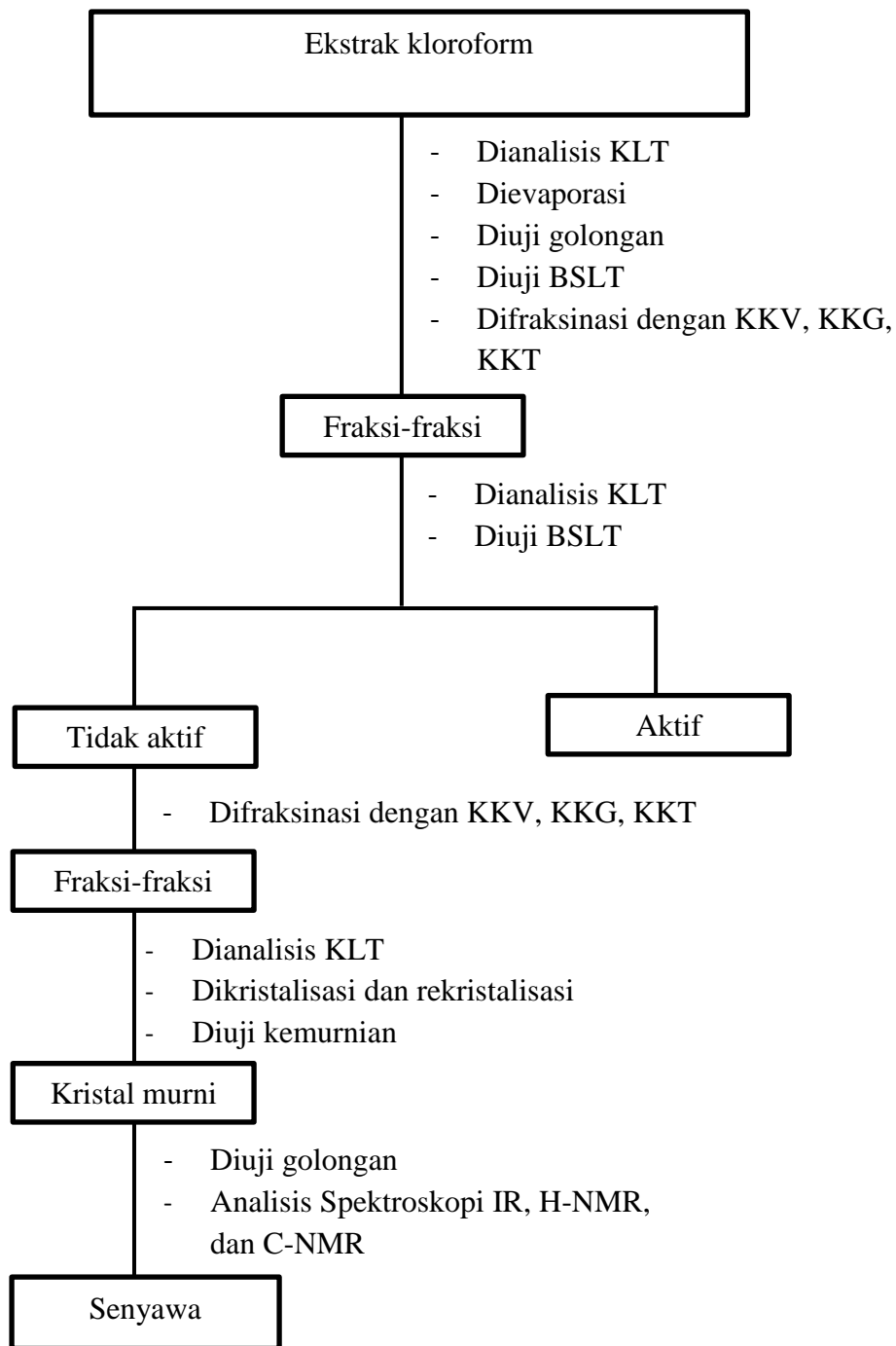
- Salam, J., 2001, *Penelitian Tanaman Paliasa yang Dikenal Oleh Masyarakat Sulawesi Selatan*, Skripsi tidak diterbitkan, FMIPA UNHAS, Makassar.
- Salempa, P., Noor, A., Harlim, T., Hariani, N., Muharram, dan Sudding, 2014, The Antibacterial Properties of Bayur Tissues Extract (*Pterospermum subpeltatum* C.B. Rob), *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, **69**(5): 87–89.
- Septadina, I.S., Kesuma, H., Handayani, D., Suciati, T., dan Liana, P., Upaya Pencegahan Kanker Serviks Melalui Peningkatan Pengetahuan Kesehatan Reproduksi Wanita dan Pemeriksaan Metode IV A (Inspeksi Visual Asam Asetat) di Wilayah Kerja Puskesmas Kenten Palembang, *Jurnal Pengabdian Sriwijaya*.
- Shukla, Y.N., Sokoloski, E.A., Fales, H.M., dan Kapadia, G.J., 1976, 6-methoxy-7,8-methylenedioxy coumarin from *Melochia tementosa*, *Phytochemistry*, **15**(11): 1788.
- Soejarto D. D., Gyllenhaal C., Dawski L. dan Farnsworth N.R., 1991, Why do Medical Sciences Need Tropical Rain Forests, *Transaction of Illionis The State Academy of Science*, **84**, 65 – 76.
- Soekamto, N.H., Alfian, N., Iwan, D., Hasriani, A., Ruhma, dan Agustono, 2010, Dua Senyawa Triterpenoid Dari Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) Famili Sterculiaceae, *J. Sains Mipa*, **16**(2): 94-98.
- Stepanus, J.B., 2011, *Isolasi, Identifikasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder dari Fraksi n-Heksan yang Tidak Aktif terhadap Udang Artemia salina Leach Kayu Akar Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.)*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Strue, L., 2009, Field Identification of the 50 Most Common Plant Families in Temperate Regions, The State University of New Jersey, Rutgers.
- Surwindah, W., 2015, *Senyawa Metabolit Sekunder dari Kulit Akar Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. Degrabrata dan Potensinya sebagai Antikanker*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Syah, Y.M., 2014, Kimia Bahan Alam dalam Perspektif Perkembangan Abad-21, Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya, Universitas Negeri Malang.
- Tan, N.H., Zhou, J., 2006, Plant Cyclopeptides, *Chem. Rev.*, **106**: 840-895.
- Tayeb, R., Rahim, A., Alam, G., Wahyuono, S., dan Hartati, M.S., 2007, Fraksinasi Senyawa Antikanker Daun Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Deglabrata), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **11**(1): 60-71.

- Tayeb, R., Rahim, A., Alam, G., Wahyuono, S., dan Hartati, M.S., 2008, Fraksinasi Senyawa Antikanker Daun Paliasa *Melochia umbellata* (Houtt) Staff var. Degrabrata, *ISSN*, **12**(3): 1410-7031.
- USDA-NRCS, 2012, *Classification for Melochia umbellata*, (online), (<http://plant.usda.gov/java/classificationservlet?source=display&classid=KkkHO>) diakses tanggal 1 Maret 2016.
- Usman, Soekamto, N.H., Usman, H., dan Ahmad, A., 2014, Toxicity And Antimicrobial Activity From Extract and Oleanan Derivative Compounds of The Bark *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf Var. Degrabrata, *Int J Pharm Bio Sci*, **5**(3): 231 – 238.
- Wullur, S., Firdaus, Natsir, H., dan Soekamto, N.H., 2015, Study of Compounds from Extract of *Melochia Umbellata* (Houtt.) Stapf Var. Degrabrata K. (Paliasa) Leaves That Has Potential As Antibacterial, *ISSN 2085-014x*, **8**(1): 1-8.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Kayu Batang Tumbuhan *Melochia umbellata*





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

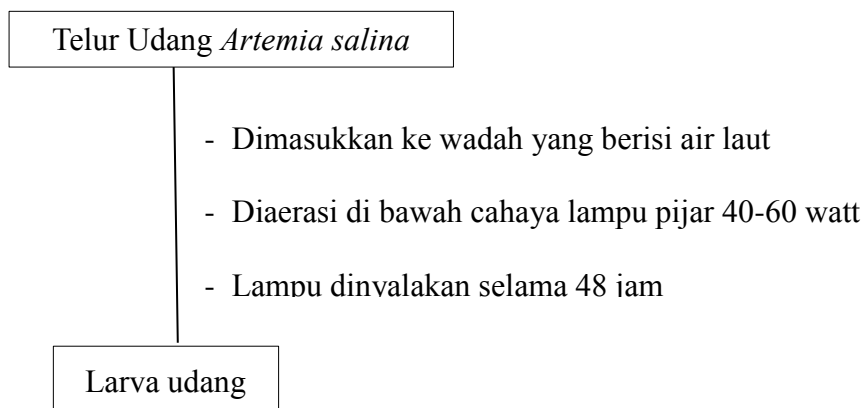
A. Penyiapan Larutan Sampel (1000 ppm)

1. Sampel (senyawa murni) ditimbang 1 mg, dilarutkan dalam 100 μL DMSO sambil diaduk.
2. Diencerkan dengan 150 μL akuades sehingga volume total menjadi 250 μL . Selanjutnya 200 μL . Larutan ini diencerkan sampai 600 μL , volume total menjadi 800 μL dan konsentrasi menjadi :

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

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

B. Penyemaian Benur Udang



C. Prosedur Uji Metode Mayer

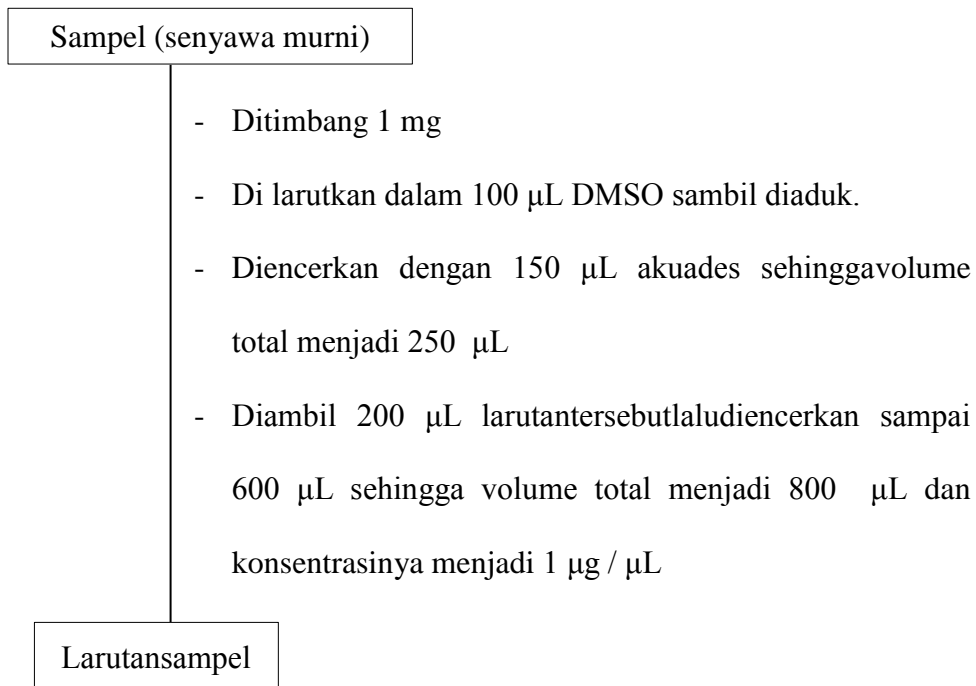
1. Disiapkan vial untuk masing-masing sampel uji dan kontrol.
2. Ke dalam baris I dan II masing-masing tiga kolom dimasukkan 100 μL larutan sampel pada plat uji dan 100 μL larutan kontrol pada plat kontrol.
3. Larutan pada baris II diencerkan dengan 100 μL akuades dan diaduk, kemudian dipipet kembali 100 μL dimasukkan ke dalam baris III diencerkan kembali dengan

100 μ L akuades sambil diaduk dan seterusnya dengan cara yang sama sampai baris terakhir.

4. Selanjutnya, ke dalam larutan sampel pada vial uji dan larutan kontrol pada vial kontrol ditambahkan 100 μ L larutan garam yang mengandung 8-15 benur udang, kemudian dibiarkan selama 24 jam sehingga konsentrasi larutan untuk masing-masing baris sebagai berikut, baris I = 500 ppm, baris II = 50 % baris I, baris III = 50 % baris II dan seterusnya.
5. Setelah itu, dihitung jumlah rata-rata benur udang yang mati dan yang hidup untuk setiap baris dari sampel dan ditentukan nilai LC_{50} .

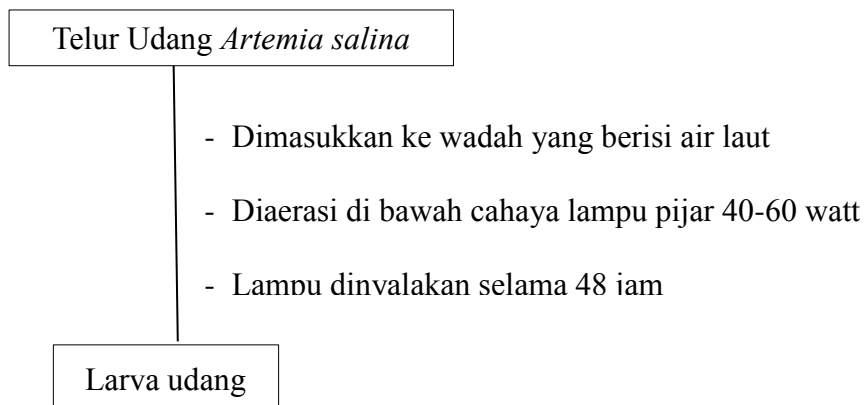
Lampiran 2. Skema Kerja Uji Antikanker Metode Brine Shrimp Lethality Test

A. Penyiapan Larutan Sampel (1000 ppm)



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

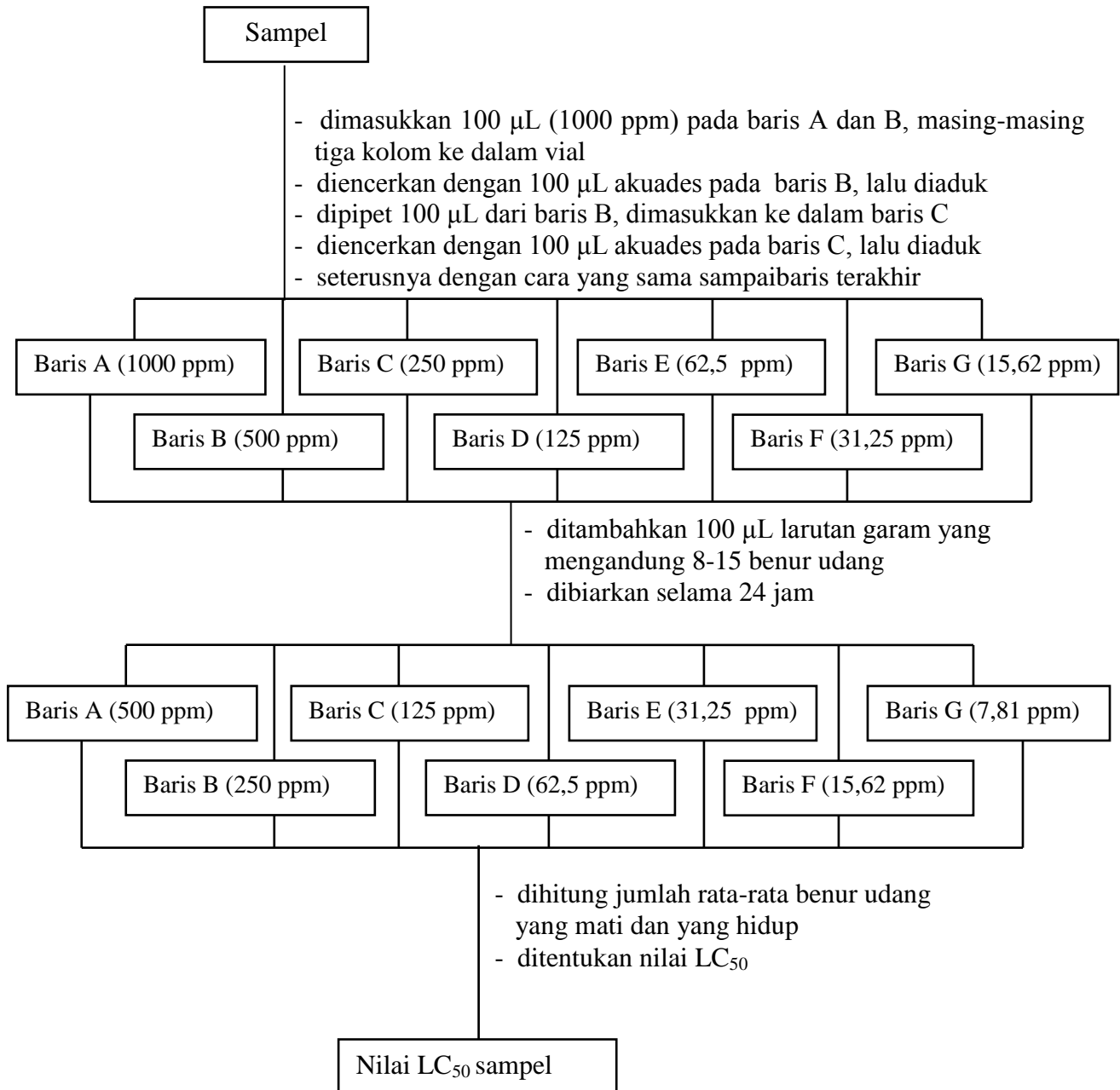
B. Penyemaian Benur Udang



C. Prosedur Uji Metode Mayer

1. Disiapkan vial untuk masing-masing sampel uji dan kontrol.
2. Ke dalam baris I dan II masing-masing tiga kolom dimasukkan 100 μ L larutan sampel pada plat uji dan 100 μ L larutan kontrol pada plat kontrol.
3. Larutan pada baris II diencerkan dengan 100 μ L akuades dan diaduk, kemudian dipipet kembali 100 μ L dimasukkan ke dalam baris III diencerkan kembali dengan 100 μ L akuades sambil diaduk dan seterusnya dengan cara yang sama sampai baris terakhir.
4. Selanjutnya, ke dalam larutan sampel pada vial uji dan larutan kontrol pada vial kontrol ditambahkan 100 μ L larutan garam yang mengandung 8-15 benur udang, kemudian dibiarkan selama 24 jam sehingga konsentrasi larutan untuk masing-masing baris sebagai berikut, baris I = 500 ppm, baris II = 50 % baris I, baris III = 50 % baris II dan seterusnya.
5. Setelah itu, dihitung jumlah rata-rata benur udang yang mati dan yang hidup untuk setiap baris dari sampel dan ditentukan nilai LC_{50} .

D. Bagan Kerja Uji Bioaktivitas Pada *A. salina* dengan Metode Meyer



Lampiran 3. Perhitungan Berat Total Ekstrak

A. Berat total ekstrak metanol

$$\begin{aligned} \text{BT} &= \frac{(\text{bobot akhir} - \text{bobot kosong vial}) \times \text{Volume total}}{\text{volume ekstrak yang dipekatkan}} \\ &= \frac{(13,4819 \text{ g} - 12,8480 \text{ g}) \times 750 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \\ &= 47,5425 \text{ g} \end{aligned}$$

Keterangan	:Bobotkosong vial	= 12,8480 g
	Bobot akhir	= 13,4819 g
	Volume ekstrak pekat	= 10 mL
	Volume total maserat metanol	= 750 mL

B. Berat total ekstrak kloroform

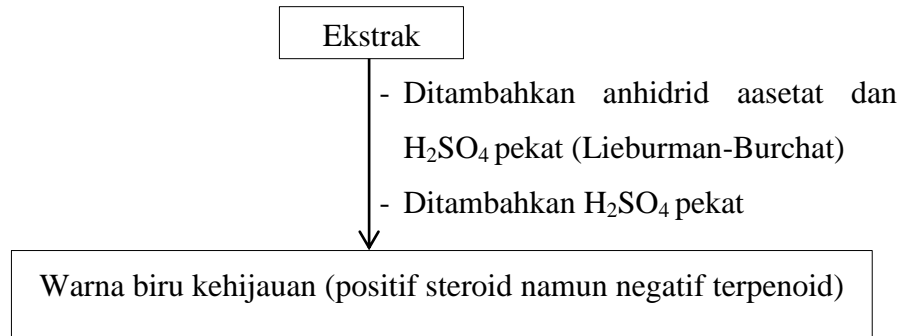
$$\begin{aligned} \text{BT} &= \frac{(\text{bobot akhir} - \text{bobot kosong vial}) \times \text{Volume total}}{\text{volume ekstrak yang dipekatkan}} \\ &= \frac{(16,6378 \text{ g} - 16,2571 \text{ g}) \times 2500 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \\ &= 38,0725 \text{ g} \end{aligned}$$

Keterangan	:Bobot kosong vial	= 16,2571 g
	Bobot akhir	= 16,6378 g
	Volume ekstrak pekat	= 25 mL
	Volume total maserat metanol	= 2500 mL

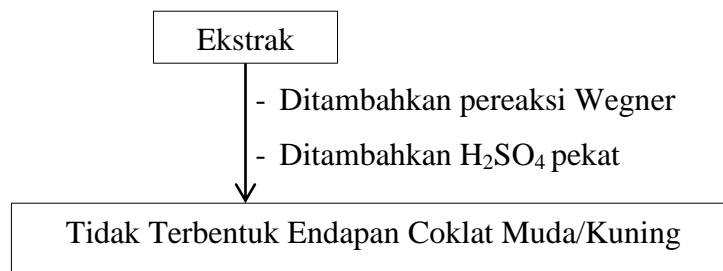
Lampiran 4. Bagan Uji Fitokimia

a. Uji Fitokimia Ekstrak

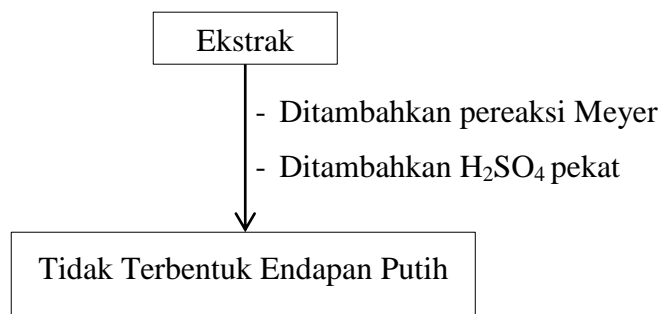
1) Uji Terpenoid dan Steroid



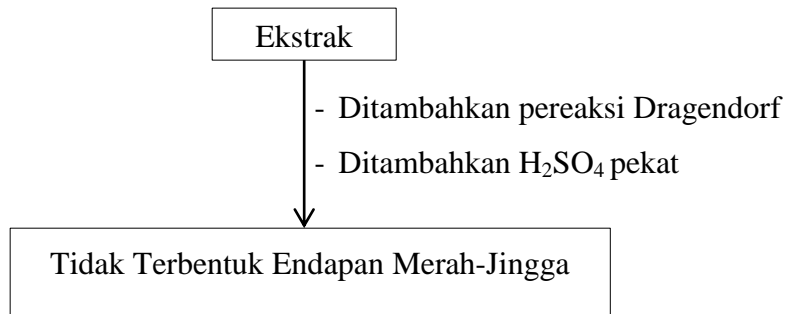
2) Uji Alkoloid (Wegner)



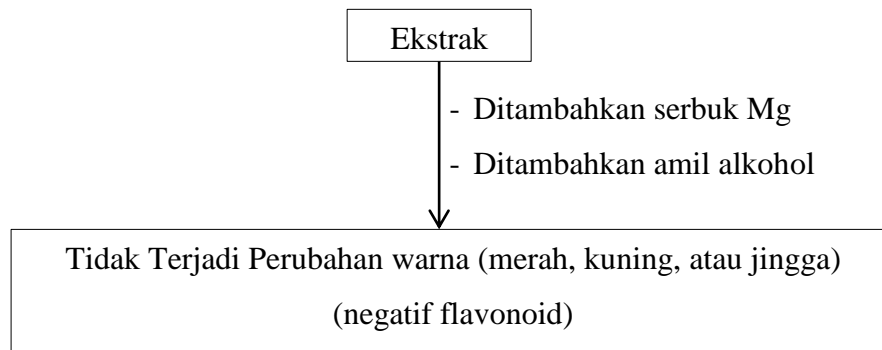
3) Uji Alkoloid (Meyer)



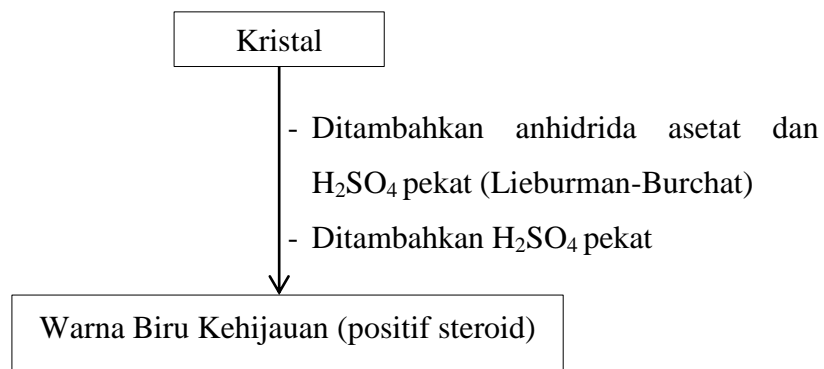
4) Uji Alkoid (Dragendorf)



5) Uji Flavonoid



b. Uji Fitokimia Senyawa



Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Sampling *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* di Kec. Mandale, Kab, Pangkep



Maserasi Sampel dengan menggunakan pelarut metanol



Menyaring maserat dari proses maserasi



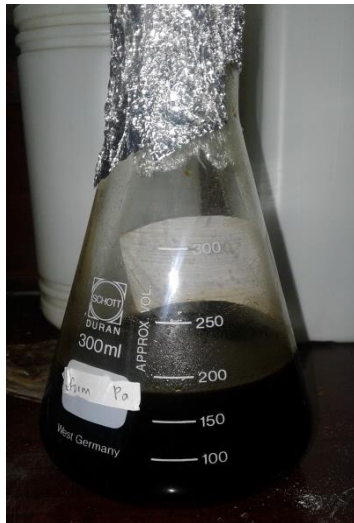
Evaporasi maserat dari proses maserasi



Proses partisi dengan menggunakan kloroform



Proses evaporasi ekstrak



Ekstrak Kloroform Hasil Partisi



Uji Fitokimia Ekstrak Kloroform



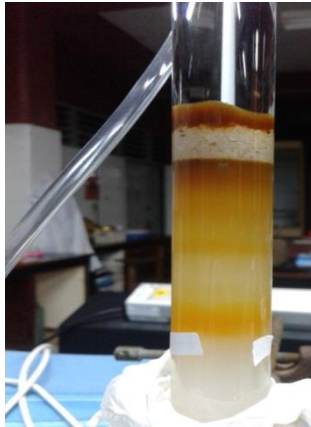
Impregnasi sampel dengan menggunakan silika gel 60 (Merk, no. katalog 7733)



Proses Kromatografi Kolom Vakum (KKV)



Fraksi-fraksi hasil Kromatografi Kolom Vakum (KKV)



Proses Kromatografi Kolom Tekan (KKT)



Uji BSLT 13 fraksi utama dari hasil fraksinasi Kromatografi Kolom Vakum dan ekstrak kloroform *M. umbellata* var. *Visenia*



Kristal V4 (Kristal jarum warna kuning kecoklatan) dari fraksi non aktif *A. salina* (Fraksi F8) ekstrak kloroform *M. umbellata* var. *Visenia*