

*Skripsi*

**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI AKTIF *Artemia salina* Leach DAN  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOOROFORM KAYU BATANG  
*Melochia umbellata* (Houtt) Stapf Var. *Visenia***

**BASO AGUNG**

**H 311 12 020**



**JURUSAN KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2017**

**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI AKTIF *Artemia salina* Leach DAN  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOOROFORM KAYU BATANG**

***Melochia umbellata* (Houtt) Stapf Var. *Visenia***

***Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains***

**Oleh :**

**BASO AGUNG  
H 311 12 020**



**MAKASSAR**

**2017**

**SKRIPSI**

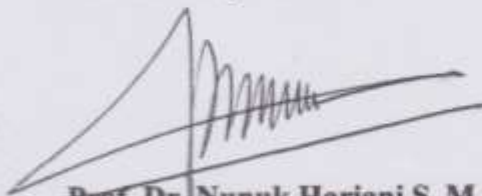
**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI AKTIF *Artemia salina* Leach DAN  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOOROFORM KAYU BATANG  
*Melochia umbellata* (Houtt) Stapf Var. Visenia**

**Disusun dan diajukan oleh**

**BASO AGUNG  
H 311 12 020**

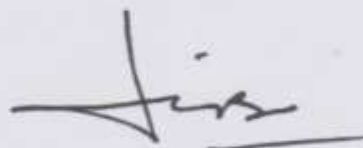
**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :**

**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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah Rabbilalamin, dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang. Beribu rasa syukur penulis panjatkan atas kehadiran, rahmat, karunia serta limpahan berkah-Nya yang diberikan kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini.

Doa tulus, rasa hormat, dan bakti setinggi-tingginya kepada orang yang paling berjasa di dalam hidup penulis. Laporan hasil ini penulis persembahkan kepada Ayahanda **H. Paturusi**, Ibunda **Hj. Besse Bolong**, serta keluarga yang senangtiasa mencurahkan kesabaran, ketulusan, dan keikhlasannya di dalam mendidik, membina, dan mengajarkan nilai-nilai kehidupan dan budi pekerti kepada penulis. Semoga Allah SWT selalu memberkahi dan melindunginya dunia dan akhirat.

Ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada para pembimbing yaitu ibunda **Prof. Dr. Nunuk Hariani S, M.S.** selaku pembimbing utama dan ayahanda **Dr. Firdaus, M.S.** selaku pembimbing pertama penulis yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan di dalam membimbing penulis, memberikan saran dan solusi yang sangat berharga untuk setiap kendala yang penulis temukan di dalam penelitian dari awal hingga selesai. Semoga Allah SWT memberkahi, melindungi serta memberikan kebahagiaan dunia dan akhirat.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya yang telah memberikan bantuan baik secara moril, materil maupun tenaga kepada:

1. Rektor, Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin beserta seluruh Staf atas dukungan dan pelayanan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan sarjana.
2. Ketua dan Sekretaris Jurusan Kimia Ibu **Dr. Indah Raya, M.Si.** dan Bapak **Dr. Muhammad Zakir, M.Si.**, dan seluruh Dosen jurusan Kimia, serta staf dan pegawai yang telah memberikan bimbingan dan bantuan dalam proses perkuliahan maupun dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Tim dosen penguji bapak **Prof. Dr. Ahyar Ahmad** bapak **Dr. Syahrudin Kasim, M.Si** ibu **Dra. Hj. Asmawati A., MS** serta bapak **Dr. Ir. Prastawa Budi, M.Sc** terima kasih atas kritik dan saran yang sifatnya membangun.
4. Pembimbing akademik bapak **Drs. Syarifuddin Liong, M.Si** atas masukan-masukan dan strategi di dalam menetapkan mata kuliah tiap semesternya.
5. Analis Laboratorium Kak **Linda**, Kak **Anti**, Kak **Fiby**, Ibu **Tini**, Pak **Sugeng**, dan Pak **Iqbal**, terimakasih atas bantuan yang diberikan.
6. Saudara-saudaraku **Sultan, Septaria Yolan KL, Felycitae Ekalaya Appa, Nur Aqlia, Ahmad Nur, Annisa nur khaeruni**, kakanda **Nur Aeni HM, Fauziah Ahmad, Sabir Sumarna, M. Fajar, Muh. Irmawan, Murtina**, dan teman-teman peneliti organik terima kasih atas cerita yang telah kalian ukir bersama penulis.
7. Keluarga besar peneliti di Laboratorium Kimia Organik Pak Zakaria, Pak Abraham, **kak Sabir**, kak Fajar, kak Agustan, kak Alamsyah, Ibu Mirwadifah, Ibu Bahja, **kak Nur Aeni HM**, kak Fauziah, kak Nur Asmi, kak Musdalifah, kak Takdir, kak Zulkarnain, **Ahmad Nur, Annisa, Aqlia, Fely, Septaria** dan

Murtina. Terima kasih atas segala kontribusinya dalam skripsi ini. Semoga Allah SWT membalasnya dengan kebaikan.

8. Saudara-saudaraku **H312OES Kimia 2012, kakanda senior Kimia Unhas** yang telah memberikan bantuan ide, semangat, dan doa untuk penulis serta menjadikan perjalanan hidup penulis menjadi berwarna.
9. Saudara-saudara sharing dan have fun dikalah pikiran lagi mumet, ummi (**Kak Linda**), **Anti, Icha, Agustina lopang, Wawan, Sultan, Desri, Halil, Ayu Ika, Fely, Ria, Yenni, kak iten dan Andi.**
10. **Ibunda Misna** dan kak rana yang senantiasa membantu di perpustakaan.
11. Terkhusus buat sahabat ku **Rudiansyah (sastra), Anita Sari Dewi (Pertanian), Feby Anugerah Apriliyani (Poltek), dan St. Huryah Islamiati Kansi (Poltek).**

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka sangat diharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan laporan hasil ini. Akhirnya penulis berharap semoga isi skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu kimia khususnya bidang **isolasi**.

Makassar, April 2017

Penulis

## ABSTRAK

Metabolit sekunder dari tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* diisolasi dengan metode maserasi menggunakan metanol selanjutnya dipartisi dengan menggunakan kloroform. Ekstrak kloroform hasil partisi diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH dan didapatkan nilai aktivitas daya hambat ( $IC_{50}$ ) sebesar 80.2227  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak kloroform selanjutnya difraksinasi dan diuji aktivitasnya terhadap larva *A. salina* dan didapatkan 8 fraksi aktif dan 5 fraksi kurang aktif, fraksi yang paling aktif terhadap larva *A. salina* dilanjutkan ke tahapan pemurnian. Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi dengan menggunakan alat spektroskopi FT-IR, dan LC-MS. Hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil diisolasi merupakan senyawa golongan alkaloid dengan massa molekul relatif sebesar 364.11 g/mol.

**Kata Kunci:** *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, Antioksidan, DPPH, BSLT,  $IC_{50}$ ,  $LC_{50}$ .

## ABSTRACT

Secondary metabolites from *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* was isolated by maceration method using methanol and partitioned with chloroform. Ekstrak results of partitions, tested activities antioxidant with DPPH method and obtained inhibition concentration value ( $IC_{50}$ ) amounted to 80.2227  $\mu\text{g/mL}$ . Chloroform extract fractionated and tested its activity against the larvae of *A. salina* and obtained 8 active fraction and 5 less active fraction, the most active fraction continues into the purification phase. Isolation of the compounds characterized using FT-IR spectroscopy, and LC-MS. The analysis showed that the compound completely is an alkaloid with molecular mass of 364.11 g/mol.

**Keywords:** *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, Antioxidant, DPPH, BSLT,  $IC_{50}$ ,  $LC_{50}$ .



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PRAKATA .....	iii
ABSTRAK.....	iv
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
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.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Uraian Famili Malvaceae.....	6
2.1.1 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae.....	6
2.1.2 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae .....	9
2.2 Uraian Genus <i>Melochia</i> .....	13
2.3 Taksonomi <i>Melochia Umbellata</i> .....	14
2.4 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	14
2.5 Uji Aktivitas Antioksidan .....	15

<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
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 .....	19
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 .....	20
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Maserasi dan Ekstraksi .....	22
4.2 Fraksinasi dan Pemurnian.....	22
4.3 Elusidasi Struktur Menggunakan Instrumen FT-IR dan LC-MS.....	24
4.4 Uji Fitokimia.....	26
4.5 Uji Antioksidan dan Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> .....	27
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	30
5.2 Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA .....	31
LAMPIRAN .....	36

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur senyawa alkaloid kuinolon .....	9
2. Struktur senyawa alkaloid indol.....	10
3. Struktur senyawa alkaloid siklopeptida .....	11
4. Struktur senyawa flavonoid .....	11
5. Struktur senyawa steroid.....	12
6. Senyawa jenis terpenoid .....	13
7. Struktur kimia difenilpikrilhidrazil dan difenilpikrilhidrazin .....	17
8. Kromatogram KLT perbandingan eluen kloroform : n-heksan dengan nilai $R_f$ (a) 0,30 dan (b) 0,50 .....	22
9. Kromatogram KLT hasil KKV .....	23
10. Spektrum inframerah senyawa I .....	24
11. Data kromatogram <i>liquid chromatography</i> (LC).....	26
12. Data spektroskopi <i>mass spectrometry</i> (MS) .....	26

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Spesies malvaceae dan bioaktivitasnya .....	6
2. Struktur senyawa alkaloid indol.....	10
3. Data bobot kering tiap fraksi.....	23
4. Rincian data spektrum FT-IR untuk senyawa 1 .....	25
5. Data hasil pengujian fitokimia .....	27
6. Nilai toksisitas (LC <sub>50</sub> ) ekstrak kayu batang <i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>Visenia</i> .....	28

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak kayu batang tumbuhan <i>Melochia umbellata</i> .....	35
2. Skema uji antikanker metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> .....	37
3. Skema kerja uji antioksidan .....	40
4. Perhitungan daya hambat antioksidan (IC <sub>50</sub> ) .....	41
5. Dokumentasi penelitian .....	43

## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
C <sup>13</sup> -NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DPPH	<i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil</i>
EC <sub>50</sub>	<i>The half maximal Effective Concentration</i>
FTIR	<i>Fourier transform infrared</i>
H <sup>1</sup> -NMR	<i>Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance</i>
KKG	Kromatografi Kolom Gravitasi
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LC <sub>50</sub>	<i>The Half Maximal Lethal Concentration</i>
IC <sub>50</sub>	<i>The Half Maximal Inhibbitor Concentration</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tumbuhan merupakan sumber daya alam yang sangat besar pengaruhnya dalam kehidupan manusia dan merupakan produsen terbesar penghasil bahan kimia organik di alam. Keberadaan metabolit sekunder di dalam tumbuhan menjadi hal yang sangat menarik untuk dikaji. Metabolit sekunder merupakan senyawa aktif yang digunakan untuk mempertahankan diri dari gangguan spesies lain. Jenis tumbuh-tumbuhan yang hidup di wilayah tropis memiliki banyak komponen senyawa aktif yang bermanfaat dalam bidang kesehatan.

Penggunaan beberapa jenis tumbuhan dalam bidang kesehatan bukan lagi menjadi hal yang baru. Penggunaan tumbuhan herbal sudah tersebar luas di Indonesia yang dapat dilihat dari keanekaragaman jenis ramuan tradisional yang diolah dari bahan alam (Raflizar dan Sihombing, 2009). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi dalam dunia kesehatan yaitu tumbuhan paliasa. Paliasa merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili Malvaceae, secara umum paliasa terbagi menjadi dua spesies yang berbeda yaitu *Kleinhovia hospita* Linn dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf (Imran, dkk., 2012). Tumbuhan paliasa spesies *Kleinhovia hospita* Linn berperan dalam penyembuhan penyakit hati (Raflizar dan Sihombing, 2009), sedangkan untuk spesies *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf banyak dipergunakan dalam pengobatan penyakit hepatitis, kanker rahim dan kanker hati (Rahim, 2011).

*Melochia umbellata* (Houtt) Stapf terbagi menjadi dua varietas yaitu varietas *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* (Imran, 2012). *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K

merupakan salah satu jenis tumbuhan yang banyak digunakan secara tradisional oleh masyarakat Sulawesi Selatan sebagai bahan obat. *Kleinhovia hospita* Linn. digunakan sebagai obat hepatitis sedangkan spesies *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. ini secara empiris banyak digunakan untuk mengobati penyakit kanker (Rahim, 2011).

Kanker merupakan penyakit yang timbul akibat paparan terhadap suatu senyawa karsinogen pada dosis tertentu, selain itu kanker juga dapat terjadi akibat rusaknya sistem rantai DNA sehingga terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen dalam tubuh yang diakibatkan oleh senyawa radikal bebas (Kartawiguna, 2001; Khaira, 2010).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas disamping memiliki reaktivitas yang tinggi karena kecenderungannya untuk menarik elektron juga dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal (Prasetyastuti dan Sunarti, 2008). Kemampuan radikal bebas untuk berikatan dengan molekul lain dapat mengakibatkan kerusakan molekul atau perubahan molekul lain ke dalam bentuk radikal, sehingga diperlukan suatu senyawa yang dapat memberikan atau menjadi donor elektron, salah satunya yaitu senyawa antioksidan (Winarsih, 2007).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap tumbuhan famili Malvaceae memperlihatkan potensi yang cukup signifikan sebagai agen antioksidan dan agen antikanker diantaranya: ekstrak metanol, n-heksan, dietil eter dan etil asetat dari bagian daun *Kleinhovia hospita* L. dengan konsentrasi 3,3 µg/mL dapat menghambat perkembangan radikal bebas dari DPPH dengan persentase masing-masing 96%, 48%, 74%, dan 77% dengan menggunakan vitamin C sebagai pembanding dengan



persentase daya hambat sebesar 98% (Arung, dkk., 2009). Ekstrak air-alkoholik, ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan dari bagian *aerial Melochia corchorifolia* memperlihatkan aktivitas antioksidan terhadap DPPH dengan nilai daya hambat (IC<sub>50</sub>) berturut-turut sebesar 384 µg/mL, 240 µg/mL, 490 µg/mL dan 501 µg/mL (Rao, dkk., 2013). Metil β-(*p*-hidroksifenil)akrilat yang berhasil diisolasi dari ekstrak kloroform kulit akar *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. memiliki sifat sitotoksitas terhadap sel kanker P-388 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 5,351 µg/mL (Surwindah, 2015). Selain itu, senyawa jenis *waltherione C.* yang diisolasi dari bagian kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K bersifat toksik terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 0,29 µg/mL (Erwin, dkk., 2009) dan juga memberikan efek sitotoksitas terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai daya hambat sebesar 0,26 µg/mL (Erwin, 2014) hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Meyer (1982) bahwa nilai toksisitas terhadap *Artemia salina* memberikan korelasi positif terhadap aktivitas antikanker.

Besarnya potensi tumbuhan paliasa *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. sebagai agen antikanker dan agen antioksidan maka diharapkan tumbuhan yang memiliki hubungan kekerabatan dengan tanaman tersebut memiliki bioaktivitas yang sama. Salah satu tumbuhan yang memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. adalah *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Visenia. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas metabolit sekunder yang didapatkan dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Visenia sebagai antioksidan dan potensinya sebagai antikanker.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Adapun masalah yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini yaitu:

1. bagaimana aktivitas yang dimiliki oleh ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbelatta* (Houtt) Stapf var. *Visena* sebagai antioksidan?
2. fraksi-fraksi manakah dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbelatta* (Houtt) Stapf var. *Visena* yang aktif terhadap *Artemia salina*?
3. jenis metabolit sekunder apakah yang dapat diisolasi dari fraksi aktif tersebut dan bagaimana struktur molekulnya?

## **1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Maksud Penelitian**

Adapun penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui potensi yang dimiliki oleh ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbelatta* (Houtt) Stapf var. *Visena* sebagai antioksidan dan mengisolasi senyawa yang berpotensi sebagai antikanker dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena*.

### **1.3.2. Tujuan Penelitian**

Adapun penelitian ini bertujuan untuk:

1. menguji aktivitas antioksidan ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena*
2. menguji bioaktivitas fraksi-fraksi dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena* terhadap larva *Artemia salina*.
3. menguji golongan metabolit sekunder, mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif *Artemia salina* dari ekstrak kloroform *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat :

- 1.** memberikan informasi mengenai kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak kayu batang tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.
- 2.** memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan ekstrak kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.
- 3.** memberikan informasi mengenai aktivitas antikanker dari tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

Indonesia merupakan negara yang termasuk dalam tujuh negara “megadiversity” yaitu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah. Masing-masing dari setiap jenis makhluk hidup baik tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme yang hidup di darat maupun yang hidup di laut memiliki nilai-nilai kimiawi, yang artinya mampu menghasilkan senyawa-senyawa kimia yang beragam jenisnya. Dilihat dari potensi kekayaan alamnya dapat dikatakan bahwa Indonesia merupakan negara dengan kelimpahan bahan kimia alam yang terbesar kedua setelah Brazil (Achmad, dkk., 2007). Oleh karena keanekaragaman spesies tersebut, Indonesia mempunyai potensi yang sangat besar dalam penemuan dan pengembangan senyawa-senyawa kimia baru yang memiliki efek bioaktivitas.

#### **2.1 Uraian Famili Malvaceae**

Malvaceae merupakan salah satu famili tumbuhan herbal dengan jumlah populasi cukup besar yang terdiri dari 243 genus dengan jumlah spesies sebanyak 2400 spesies dan tersebar di wilayah tropis (Kiessoun, dkk., 2010). Famili Malvaceae merupakan tumbuhan terna atau tumbuhan yang berbatang kayu dengan daun tunggal yang berlekuk, posisi daun tersebar dan mempunyai daun-daun penumpu (Tjitrosoepomo, 1994).

##### **2.1.1 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae**

Etnobotani merupakan kaitan antara manusia dan tumbuhan. Etnobotani menggambarkan dan menjelaskan kaitan antara budaya dan kegunaan tumbuhan,

bagaimana tumbuhan digunakan, dirawat dan dinilai memberikan manfaat untuk manusia (Syafitri, dkk., 2014). Salah satu tumbuhan yang banyak dipergunakan sebagai bahan obat-obatan tradisional berasal dari famili Malvaceae, misalnya *Kleinhovia hospita* Linn. yang dikenal di Sulawesi Selatan sebagai tumbuhan yang memiliki khasiat dalam pengobatan alamiah terhadap penyakit liver dan penyakit lainnya (Noor, dkk., 2004). Beberapa spesies dari famili Malvaceae yang memiliki bioaktivitas dicantumkan dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Spesies Malvaceae dan Bioaktivitasnya

<b>Spesies (Lokasi Sampling)</b>	<b>Bagian Yang Digunakan</b>	<b>Bioaktivitas</b>
<i>Dombeya burgessia</i> (Afrika Selatan)	Daun dan ranting	Antiinflamasi menghambat COX-1 (Reid, dkk., 2005)
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. (Ekuador)	Daun dan bunga	Antiinflamasi pada tikus Wistar jantan dan betina (Berenguer, dkk., 2007)
<i>Kleinhovia hospita</i> Linn.	Daun	Ekstrak metanol, n-heksan, dietil eter dan etil asetat memperlihatkan persentase aktivitas antioksidan masing-masing 96%, 48%, 74%, dan 77% dengan menggunakan vitamin C sebagai pembanding dengan persentase daya hambat sebesar 98% (Arung, dkk., 2009)
<i>Kleinhovia hospita</i> Linn. (Makassar)	Kulit akar	Ekstrak kloroform mampu menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumonia</i> dan <i>Escherichia coli</i> (Purwaningsih, 2010).
<i>Melochia umbellata</i> (Makassar)	Daun	Ekstrak metanol memberikan efek sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai IC <sub>50</sub> sebesar 40,314 µg/mL (Rahim, 2010).

<i>Melochia umbellata</i> (Makassar)	Serbuk daun	Ekstrak etil asetat bersifat toksik terhadap larva <i>A.salina</i> nilai LC <sub>50</sub> sebesar 0,9517 µg/mL (Ahmad, 2013). Ekstrak kloroform berpotensi sebagai antidiabetes melitus dengan nilai penurunan kadar glukosa 53,63 mg/dL.jam (Imran, 2013).
<i>Melochia umbellata</i> (Makassar)	Kayu batang	Ekstrak kloroform aktif terhadap <i>A.salina</i> dan memiliki aktivitas antikanker dengan nilai EC <sub>50</sub> sebesar 0,3 µg/mL (Erwin, 2014)
<i>Melochia corchorifolia</i>	Bagian <i>aerial</i>	Pengujian terhadap radikal bebas jenis DPPH memperlihatkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC <sub>50</sub> untuk ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksan berturut-turut sebesar 286 µg, 179 µg, dan 470 µg (Rao, dkk., 2013).
<i>Melochia umbellata</i> (Makassar)	Kulit akar	Masing-masing ekstrak aktif terhadap <i>A.salina</i> dengan nilai LC <sub>50</sub> untuk ekstrak n-heksan 2,64 µg/mL, ekstrak kloroform 11,53 µg/mL, ekstrak etil asetat 72,51µg/mL, dan ekstrak metanol sebesar 101,76 µg/mL (Surwindah, 2015)

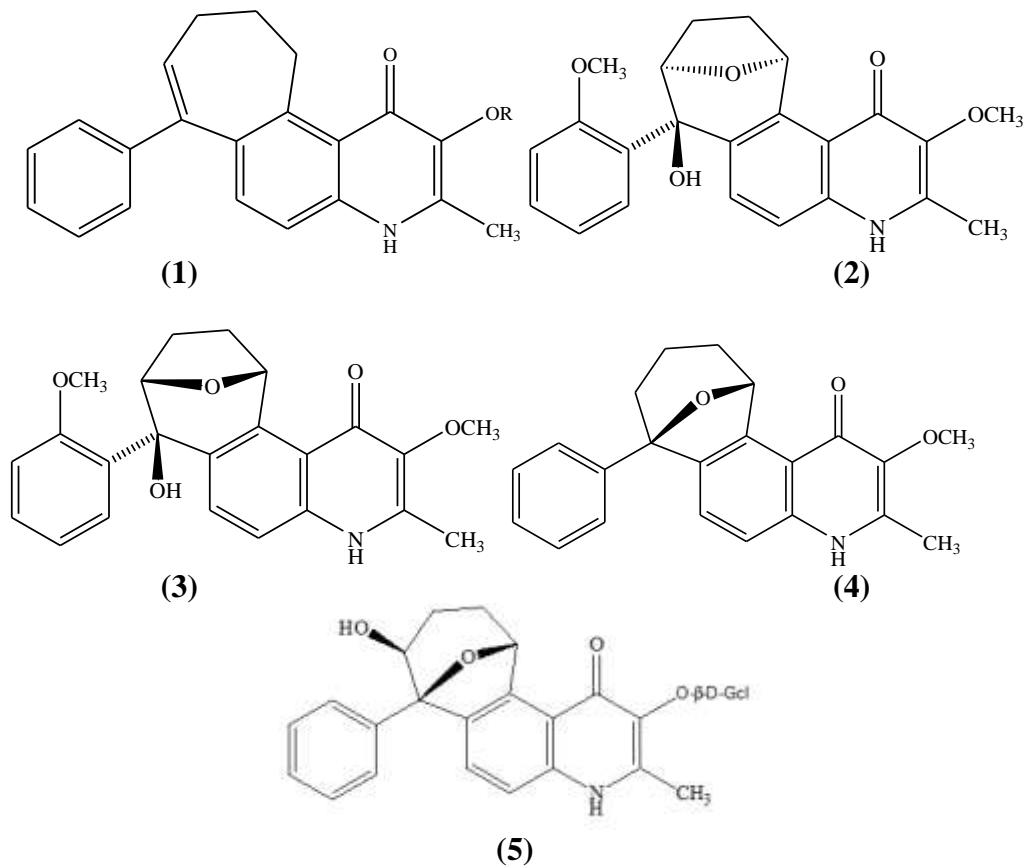
Tumbuhan dari famili Malvaceae memiliki potensi yang sangat besar dalam bidang kesehatan. Penggunaan tumbuhan dari famili Malvaceae sebagai tanaman obat dapat dijadikan sebagai acuan dalam pengembangan obat-obatan herbal, terlihat dari bioaktivitas tumbuhan famili Malvaceae yang memiliki kemampuan cukup besar sebagai antikanker, antihyperglukemik, antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan.

## 2.1.2 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae

Kemotaksonomi adalah pengelompokan kekerabatan dari tumbuhan berdasarkan kandungan konstituen-konstituen kimia yang memiliki kemiripan dalam tumbuhan tersebut (Gandjar, dkk., 2006). Secara kemotaksonomi, spesies-spesies tumbuhan dalam famili yang sama cenderung memberikan model molekul yang relatif sama. Adapun senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi dari tumbuhan famili Malvaceae adalah dari golongan alkaloid, flavonoid, steroid, dan terpenoid.

### 1. Alkaloid

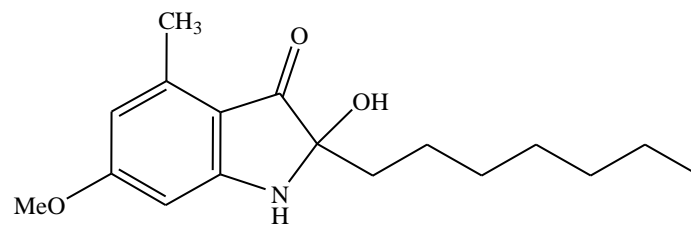
Senyawa jenis alkaloid telah banyak ditemukan pada genus *Melochia* antara lain senyawa MU-1 dari ekstrak kloroform kulit akar *Melochia umbellata* yang bersifat toksik terhadap sel HeLa dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 40,314  $\mu\text{g/mL}$ .



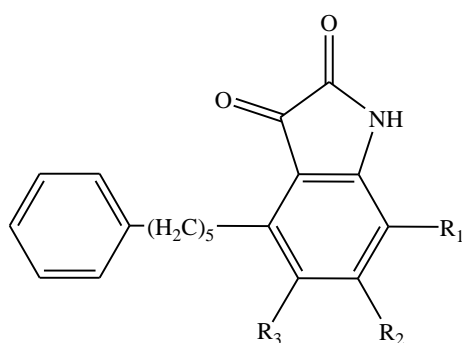
Gambar 1. Struktur senyawa alkaloid kuinolon

Melochinon (1) yang diperoleh dari ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata*, dan empat senyawa alkaloid jenis kuinolin lainnya yaitu: waltherion A (2), waltherion B (3), waltherion C (4), dan waltherion D (5). Menurut Jadulco, dkk., (2014) waltherion C memberikan aktivitas anti-HIV dengan nilai  $EC_{50} = 0,3 \mu\text{g/mL}$  (Erwin, 2014).

Senyawa alkaloid jenis melochicorin (6) telah berhasil diisolasi dari ekstrak kloroform ranting tumbuhan *Melochia corchorifolia*. Selain itu, dari ekstrak kloroform kayu akar tumbuhan jenis *Melochia tomentosa* juga telah berhasil diisolasi senyawa alkaloid jenis indol diantaranya senyawa melosatin A (7), melosatin B (8), melosatin C (9), melosatin D (10) (Kapadia, dkk., 1992).



(6)

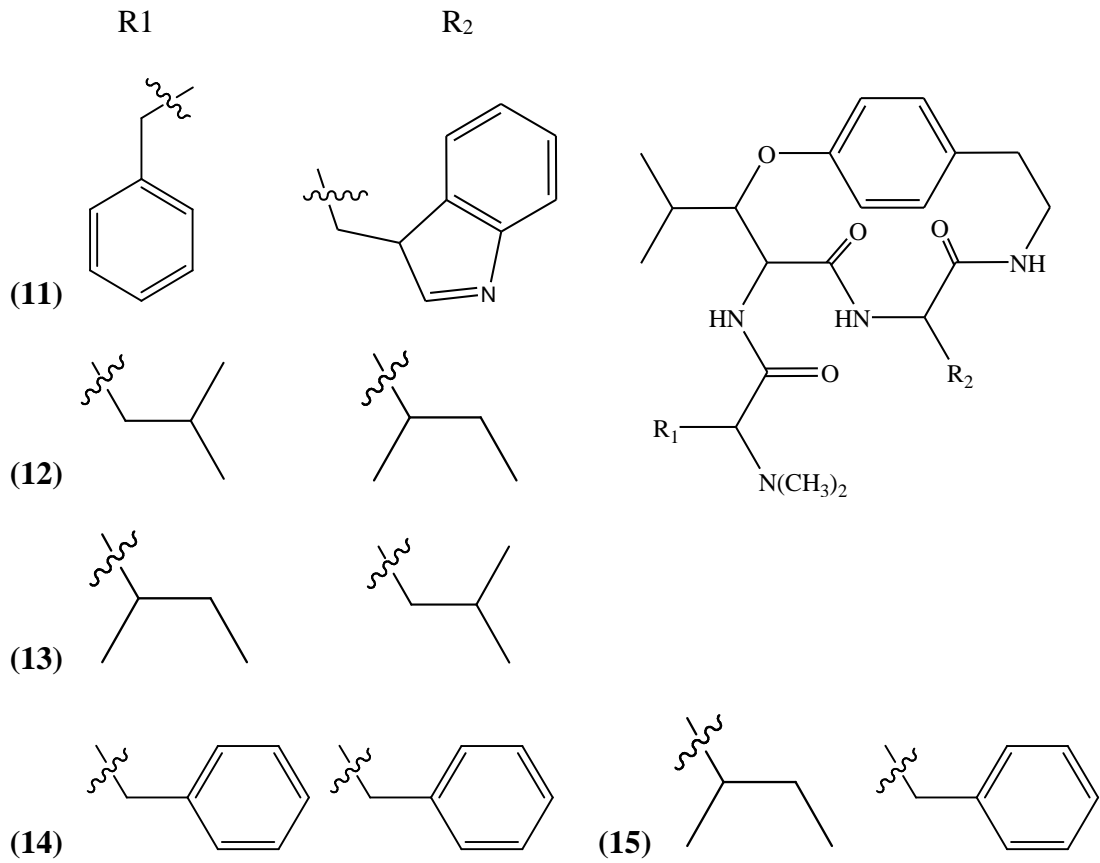


JENIS SENYAWA	R1	R2	R3
<b>7</b>	H <sub>3</sub> CO	H <sub>3</sub> CO	H
<b>8</b>	H	H	H
<b>9</b>	H <sub>3</sub> CO	H	H
<b>10</b>	H <sub>3</sub> CO	H <sub>3</sub> CO	HO

**Gambar 2.** Struktur senyawa alkaloid indol

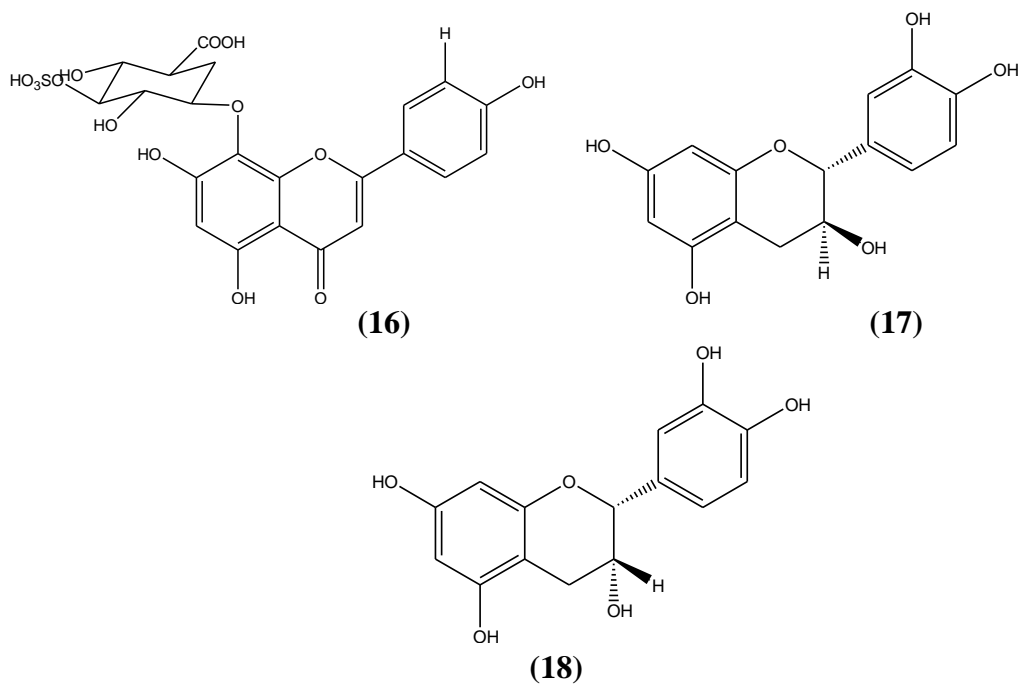
Jenis alkaloid lainnya yang telah berhasil diisolasi dari akar tanaman *Melochia chamaedrys* adalah dari golongan siklopeptida yaitu: charmaderine (11), adouetine X (12), frangufoline (13), scutianine B (14), dan scutianine C (15) (Dias, dkk., 2007).





**Gambar 3.** Struktur senyawa alkaloid siklopeptida

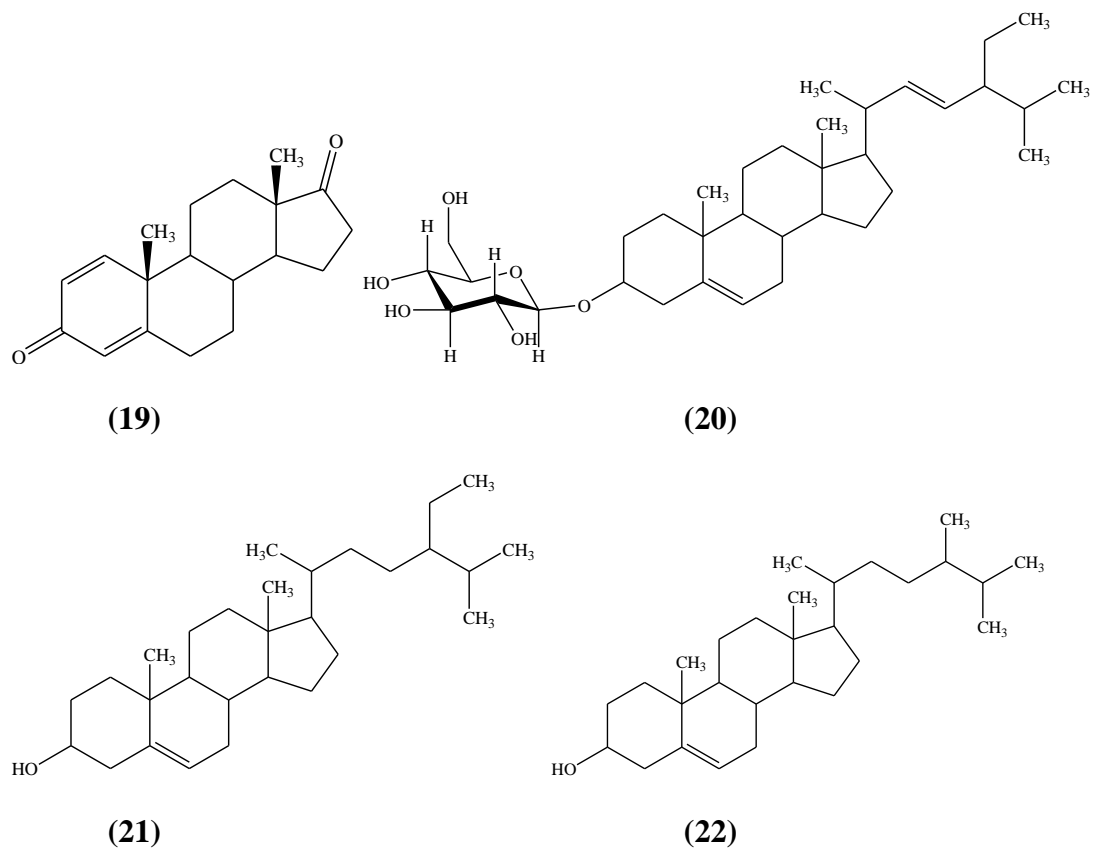
## 2. Flavonoid



**Gambar 4.** Struktur senyawa flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol alam dan merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil (Harbone, 1987; Markham, 1988). Senyawa flavonoid jenis theograndin I (16), (+)-catechin (17), dan juga (-)-epicatechin (18) telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *Theobroma grandiflorum* (Yang, dkk., 2003).

### 3. Steroid



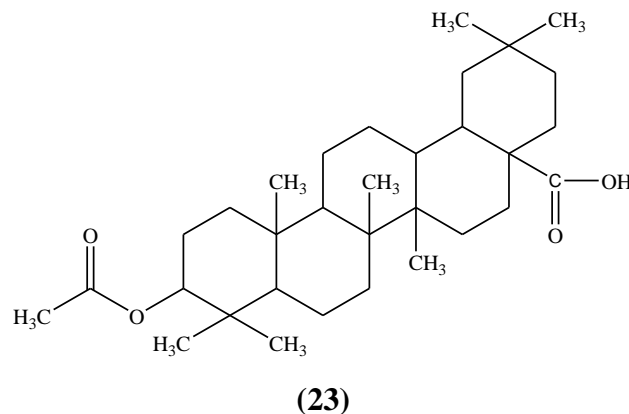
**Gambar 5.** Struktur senyawa steroid

Senyawa golongan steroid juga telah banyak ditemukan pada famili Malvaceae, diantaranya androst-1,4-dien-3,7-dion (19) yang diisolasi dari ekstrak aseton kayu *Durio oxleyanus* (Rudiyansyah, 2013), campesterol (20) yang diisolasi dari ekstrak n-heksan biji *Theobroma grandiflorum* (Bruni, dkk., 2002)  $\beta$ -sitosterol (21) yang disolasi dari ekstrak kloroform daun *Melochia umbellata* (Imran, 2013), dan

stigmast-5,22-dien-3-*O*- $\beta$ -D-glukopiranosida (22) yang diisolasi dari ekstrak kloroform kayu akar *Melochia umbellata* (Ridhay, 2012).

#### 4. Terpenoid

Senyawa-senyawa golongan terpenoid yang telah diisolasi dari famili Malvaceae yaitu 3-asetil-12-oleanen-28-olat (23) yang diperoleh dari ekstrak n-heksan kulit batang tumbuhan *Melochia umbellata* (Usman, dkk., 2015).



**Gambar 6.** Senyawa jenis terpenoid

#### 2.2 Uraian Genus *Melochia*

Genus *Melochia* merupakan salah satu genus yang berada pada famili Malvaceae, genus *Melochia* terdiri dari 68 spesies yang dapat ditemukan di hutan tropis di seluruh dunia (Goldberg, 1967). Tumbuhan jenis *Melochia corchorifolia* L. yang telah diteliti memiliki kandungan senyawa fenolik yang mampu menangkap radikal bebas, dan berperan sebagai antioksidan (Hardiana, dkk., 2012).

Beberapa tumbuhan genus *Melochia* seperti *Melochia tomentosa* yang dapat ditemukan di negara seperti Venezuela, Florida, Texas, Bahamas, serta Meksiko dan juga pesisir selatan Brazil telah banyak memanfaatkan daunnya untuk penyakit radang tenggorokan (Shukla, dkk., 1976).

### **2.3 Taksonomi *Melochia umbellata***

*Melochia umbellata* adalah salah satu jenis tumbuhan yang telah banyak digunakan oleh masyarakat Sulawesi Selatan sebagai bahan obat, tanaman ini umumnya dikenali sebagai tanaman paliasa oleh masyarakat setempat. Rebusan daun dari tanaman ini biasa digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit liver, hepatitis, diabetes, dan kolestrol tinggi (Raflizar, dkk., 2006). Selain itu, tumbuhan ini juga digunakan untuk mengobati penyakit kanker rahim dan hati (Rahim, 2011).

Klasifikasi tumbuhan *Melochia umbellata* (USDA-NRCS, 2012):

Kingdom : Plantae - Plants  
Superdivision : Spermatophyta  
Division : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Subkelas : Dilleniidae  
Order : Malvales  
Famili : Malvaceae  
Genus : *Melochia*  
Spesies : *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf  
Varietas : *Visenia*

### **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). BSLT merupakan uji bioaktivitas primer yang lazim dilakukan pada

ekstrak maupun senyawa-senyawa hasil isolasi dari bahan alam. metode ini banyak digunakan sebagai metode skrining awal pengujian sitotoksisitas (Carballo, dkk., 2002).

## **2.5 Uji Aktivitas Antioksidan**

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas disamping memiliki reaktivitas yang tinggi karena kecenderungannya untuk menarik elektron juga dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal. Radikal bebas, bersifat reaktif dan dapat menyebabkan perubahan kimiawi yang akhirnya akan merusak berbagai komponen sel hidup seperti karbohidrat, lipid, protein dan nukleotida. Pada protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi dan “*Cross-Link*” sehingga memudahkan terjadinya proteolisis (Prasetyastuti dan Sunarti, 2008).

Radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu yang lama dan berusaha untuk berikatan dengan molekul yang bersifat stabil dan mengambil elektronnya. Namun, bila ada dua senyawa radikal bebas bertemu, elektron-elektron yang tidak berpasangan dari kedua senyawa tersebut akan bergabung dan membentuk ikatan kovalen yang stabil. Kemampuan radikal bebas untuk berikatan dengan molekul lain dapat mengakibatkan kerusakan molekul atau perubahan molekul lain ke dalam bentuk radikal, sehingga diperlukan suatu senyawa yang dapat memberikan atau menjadi donor elektron salah satunya yaitu senyawa antioksidan (Winarsih, 2007).

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif antioksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara

mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu untuk menginaktifkan berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007).

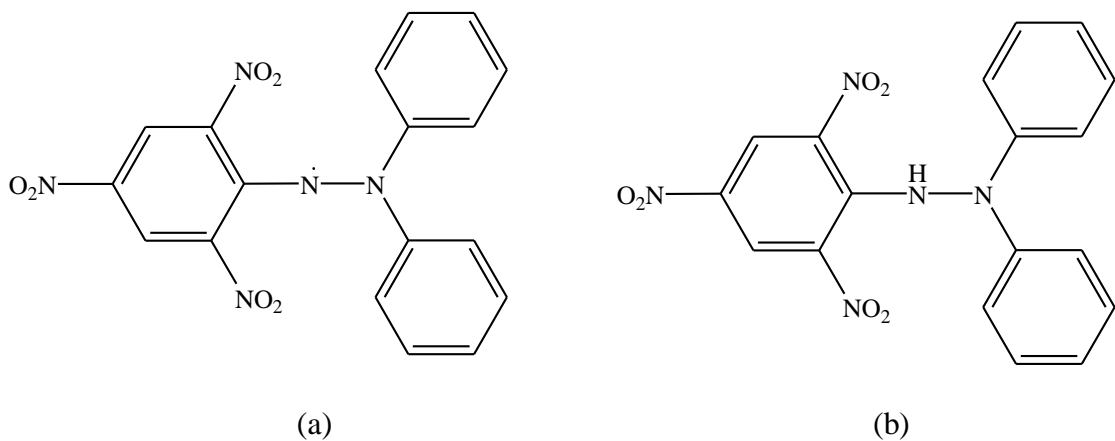
Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ( $A^*$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipid ke bentuk lebih stabil (Prabowo, 2009).

Kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan radikal bebas dapat diidentifikasi melalui pengujian sifat antioksidannya, Prinsipnya adalah evaluasi terhadap adanya aktivitas penghambatan proses oksidasi oleh senyawa-senyawa antioksidan yang terdapat dalam bahan pangan atau contoh ekstrak bahan alam.

Metode pengujian aktivitas antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Methods* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC)

dan *Chemiluminescence* (Badarinath, 2010 dalam Putranti, 2013). Metode yang umum dipakai adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) yang nantinya akan bereaksi dengan senyawa antioksidan menghasilkan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* (non radikal) yang diindikasikan dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Prabowo, 2009).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004).



**Gambar 7.** Struktur Kimia (a) *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* dan (b) *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin*

## **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, etil asetat teknis, kloroform p.a, 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), benur udang *Artemia salina* Leach, DPPH,  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  2% dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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 penetes, alat kromatografi lapis tipis (KLT) (chambers, pipa kapiler, pensil, *cutter*, dan mistar), dan lampu UV, sementara untuk analisis spektrometri digunakan spektrometer IR dengan varian FTIR 8501 Shimadzu, spektrofotometer UV-Vis Spektronik 20D+, dan sepektroskopi LC-MS Mariner.

#### **3.3 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2016 – maret 2017 dengan tempat penelitian di Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.



### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan**

Kayu batang tumbuhan *M. umbellata* diperoleh dari Desa Baring Kecamatan Sigeri, Kabupaten 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 dipartisi dengan kloroform kemudian dipekatkan sehingga didapatkan ekstrak kloroform pekat.

Ekstrak yang berpotensi sebagai agen antikanker 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, dan steroid.

#### **3.4.4 Identifikasi**

Isolat tunggal yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan menggunakan KLT 2 dimensi. Penentuan golongan isolat tunggal dilakukan melalui uji fitokimia. Elusidasi struktur isolat diperoleh melalui analisis data spektroskopi LC-MS.

#### **3.4.5 Uji Toksisitas**

Ekstrak kloroform diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH (**Lampiran 3**). Fraksi dan isolat tunggal yang diperoleh diuji toksisitasnya terhadap benur udang *A. salina* (**Lampiran 2**)

### **3.5 Pengamatan**

#### **3.5.1 Fraksinasi**

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

#### **3.5.2 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 Rf-nya. Senyawa murni harus menunjukkan noda tunggal pada tiga macam sistem eluen dan kromatogram KLT dua dimensi.

## BAB IV

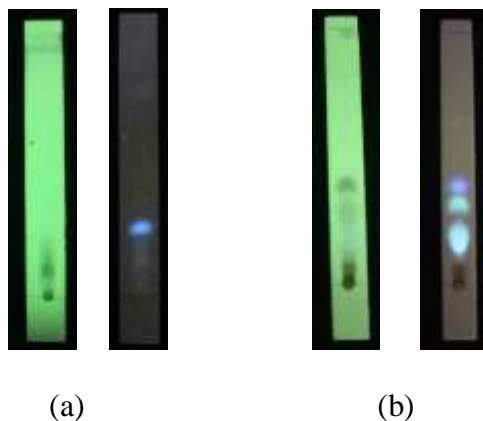
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Maserasi dan Ekstraksi

Sampel berupa kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* digiling hingga menjadi serbuk (5 kg) lalu dimaserasi dengan menggunakan n-heksan, dikering anginkan kemudian dimaserasi kembali menggunakan metanol. Ekstrak metanol kemudian dievaporasi menghasilkan ekstrak metanol pekat sebanyak 47,54 gram. Selanjutnya, ekstrak metanol pekat dipartisi dengan menggunakan kloroform, ekstrak kloroform yang dihasilkan kemudian dipekatkan dan didapatkan ekstrak kloroform pekat sebanyak 30,07 gram.

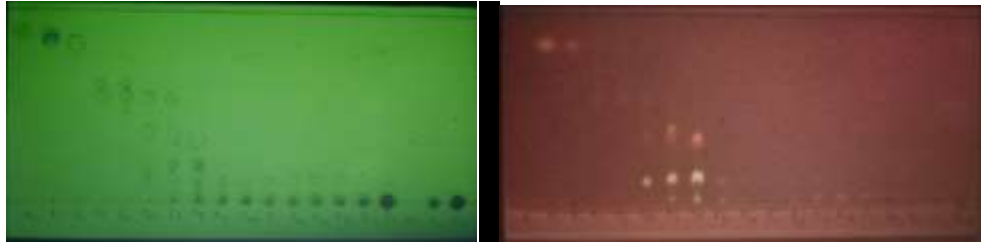
#### 4.2 Fraksinasi dan Pemurnian

Ekstrak kloroform hasil partisi sebanyak 30,07 gram kemudian difraksinasi menggunakan KKV dengan menggunakan beberapa variasi pelarut, diawali dengan pencarian eluen yang memperlihatkan profil pemisahan yang baik dengan dinilai  $R_f$  0,3 pada kromatogram melalui analisis KLT menggunakan campuran eluen kloroform : n-heksan (2 : 8).



**Gambar 8.** Kromatogram KLT perbandingan eluen kloroform : n-heksan dengan nilai  $R_f$  (a) 0,30 (2 : 8) dan (b) 0,50 (5 : 5)

Pemisahan menggunakan metode KKV dilakukan sebanyak dua kali dan diperoleh 42 fraksi. Fraksi-fraksi dengan nilai  $R_f$  yang sama digabungkan sehingga didapatkan 13 fraksi utama.



**Gambar 9.** Kromatogram KLT hasil KKV

Fraksi-fraksi utama yang dihasilkan kemudian dievaporasi lebih lanjut untuk mendapatkan bobot kering. Hasil yang diperoleh dikerjakan lebih lanjut untuk dimurnikan. Rincian data bobot kering untuk masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Data Bobot Kering tiap Fraksi

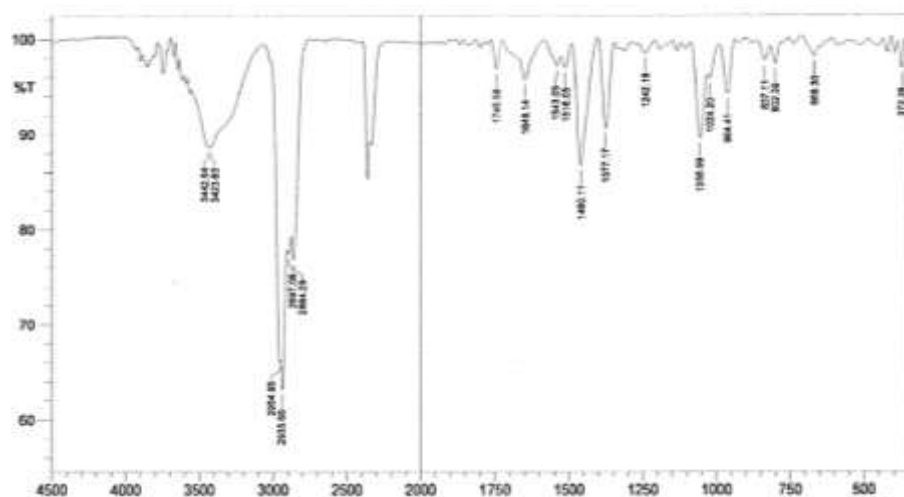
No.	Fraksi Utama	Bobot Kering (mg)
1	F1	-
2	F2	425,40
3	F3	264,10
4	F4	331,60
5	F5	-
6	F6	304,20
7	F7	517,40
8	F8	1252,60
9	F9	982,80
10	F10	160,80
11	F11	74,30
12	F12	-
13	F13	117,10

Fraksi 9 berwarna coklat tua dengan bobot 982,80 mg dilanjutkan untuk proses fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom tekan (diameter kolom 2 cm) dengan eluen etil asetat : n-heksan (2,5 : 97,5) yang memperlihatkan profil pemisahan

yang bagus. Hasil fraksinasi diperoleh tiga fraksi utama (A<sub>1</sub> - A<sub>3</sub>). Hasil analisis ke tiga fraksi tersebut memperlihatkan noda yang berpendar dibawah lampu UV. Fraksi A<sub>2</sub> yang berbentuk jarum halus berwarna kekuningan dengan berat 30 mg dicuci berulang kali dengan menggunakan n-heksan sehingga lapisan kekuningan yang diperkirakan merupakan lapisan minyak, terpisah secara keseluruhan. Kristal hasil pencucian ditimbang dan didapatkan bobot kristal sebesar 3 mg, selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan system KLT 2 dimensi dan didapatkan noda tunggal yang berpendar dibawah UV *short*. Noda tunggal pada kromatogram 2 dimensi mengindikasikan bahwa kristal yang dihasilkan merupakan isolat murni yang dinyatakan sebagai senyawa I.

#### 4.3 Elusidasi Struktur Menggunakan Instrumen FT-IR dan LC-MS

Hasil uji golongan menunjukkan bahwa senyawa I positif alkaloid karena memberikan warna merah kecoklatan terhadap pereaksi Wegner dan memberikan endapan putih terhadap pereaksi Meyer.



**Gambar 10.** Spektrum FT-IR senyawa I

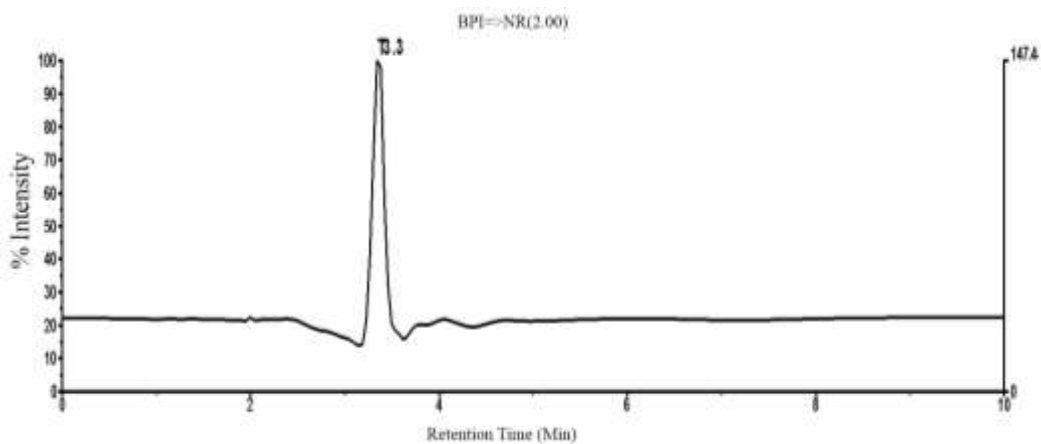
Senyawa yang telah di uji fitokimianya dilanjutkan untuk pengujian FT-IR hingga didapatkan spektrum FT-IR (Gambar 10). Spektrum FT-IR hasil analisis

memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang 3442,94  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan adanya gugus hidroksil (-OH) dan diperkuat dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1024,20  $\text{cm}^{-1}$  dan 1056,99  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan adanya gugus C-O. Rentangan N-H amida ditunjukkan dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3423,94  $\text{cm}^{-1}$  yang diperkuat dengan munculnya pita serapan pada bilangan gelombang 1242,16  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan wilayah serapan gugus C-N amina. Pada bilangan gelombang 3028,00  $\text{cm}^{-1}$  terdapat pita serapan yang berasal dari vibrasi rentangan C-H (ikatan  $\text{sp}^2$ ), diperkuat dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1649,14  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya vibrasi rentangan gugus C=C (alkena). Pada bilangan gelombang 2864,29  $\text{cm}^{-1}$ , 2897,08  $\text{cm}^{-1}$ , 2935,66  $\text{cm}^{-1}$  dan 2954,95  $\text{cm}^{-1}$  terdapat pita serapan yang berasal dari vibrasi rentangan C-H alifatik (ikatan  $\text{sp}^3$ ), diperkuat dengan munculnya pita serapan dari gugus  $\text{CH}_3$  dan  $\text{CH}_2$  yang masing-masing pada bilangan gelombang 1377,17  $\text{cm}^{-1}$  dan 1460,11  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan pada bilangan gelombang 1745,56  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan serapan C=O (karbonil). Rincian data spektrum FT-IR senyawa I dapat dilihat pada Tabel 4.

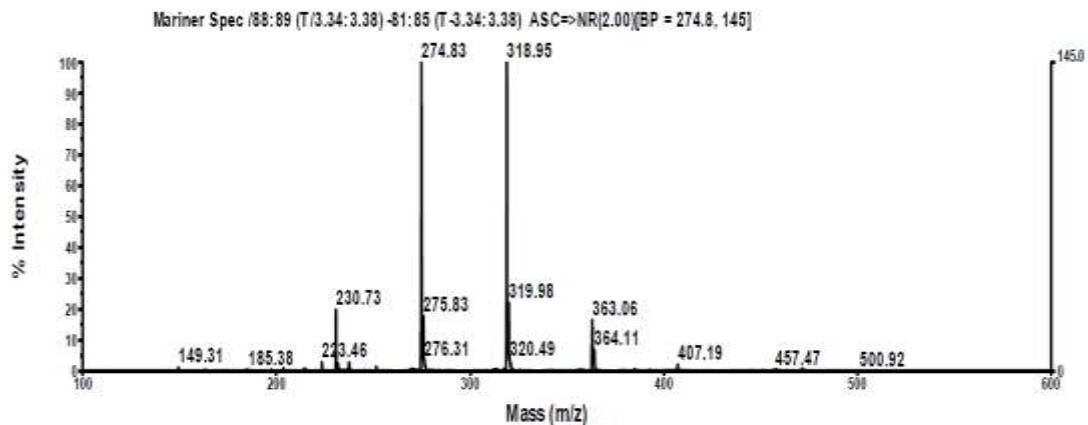
**Tabel 4.** Rincian data spektrum FT-IR untuk senyawa I

Gugus fungsi	Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gugus fungsi	Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )
O-H	3442,94	C=C	1649,14
N-H	3423,65	$\text{CH}_2$	1460,11
C-H (alkena)	3028,00	$\text{CH}_3$	1377,17
C-H (alkana)	2954,95; 2935,66; 2864,29 dan 2864,29	C-N	1242,16
C=O	1745,56	C-O	1056,99 dan 1024,20

Senyawa I dianalisis lebih lanjut menggunakan instrumen *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) dan didapatkan data kromatogram (Gambar 9) yang menunjukkan adanya satu puncak dengan nilai *retention time* 3,34 menit, lebih membuktikan bahwa senyawa I telah murni. Selanjutnya data spektroskopi massa (Gambar 10) memperlihatkan bahwa senyawa I memiliki berat molekul sebesar 363.06 g/mol.



**Gambar 11.** Data kromatogram *Liquid Chromatography* (LC)



**Gambar 12.** Data Spektroskopi *Mass Spectrometry* (MS)

#### 4.4 Uji Fitokimia

Penentuan golongan senyawa dari fraksi A<sub>2</sub> dilakukan dengan metode uji fitokimia dan didapatkan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 5.



**Tabel 5.** Data hasil pengujian fitokimia

<b>Indikator Pengujian Fitokimia</b>	<b>Pereaksi</b>	<b>Data Pengujian</b>	<b>Keterangan</b>
Terpenoid		Negatif	Tidak terjadi perubahan
Steroid		Negatif	Tidak terjadi perubahan
Flavonoid		Negatif	Tidak terjadi perubahan
Alkaloid	Wagner	Positif	Mengalami perubahan warna menjadi warna merah kecoklatan
	Mayer	Positif	Terbentuk endapan putih

Berdasarkan data spektroskopi FT-IR, LC-MS dan uji fitokimia mengindikasikan bahwa senyawa I merupakan senyawa golongan alkaloid dengan massa molekul (Mr) sebesar 364,11 g/mol.

#### **4.4 Uji Antioksidan dan Uji *Brine Shrimp Lethality Test***

Pengujian antioksidan untuk ekstrak kloroform *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena* dilakukan terhadap larutan DPPH dan memberikan nilai daya hambat antioksidan sebesar 80.22 µg/mL (26.58%). Berdasarkan nilai aktivitas yang dihasilkan ekstrak kloroform *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena* tergolong sebagai antioksidan kuat. Menurut Nihati *et al.*, (2008), kelompok senyawa antioksidan kuat memiliki nilai aktivitas daya hambat (IC<sub>50</sub>) yang berkisar antara 51-100 µg/mL.

Pengujian toksisitas (LC<sub>50</sub>) dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina*. Hasil pengujian toksisitas (LC<sub>50</sub>) ekstrak kloroform dan fraksi-fraksi dari ekstrak tersebut dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Nilai Toksisitas (LC<sub>50</sub>) ekstrak kayu batang *Melochia umbelatta* (Houtt) Stapf var. *Visenia*

No.	Fraksi	Nilai toksisitas (LC <sub>50</sub> ) (µg/mL)
1	Ekstrak	35,70
2	F1	77,70
3	F2	24,44
4	F3	12,28
5	F4	47,33
6	F5	44,87
7	F6	64,46
8	F7	8,05
9	F8	36,12
<b>10</b>	<b>F9</b>	<b>19,78</b>
11	F10	11,03
12	F11	21,42
13	F12	12,49
14	F13	7,81

Berdasarkan nilai aktivitas dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform *Melochia umbelatta* (Houtt) Stapf var. *Visenia* tergolong aktif terhadap *Artemia salina*. Selanjutnya, untuk pengujian toksisitas terhadap fraksi-fraksi hasil pemisahan

dapat disimpulkan bahwa fraksi F2, F3, F7, F9, F10, F11, F12 dan F13 tergolong aktif terhadap *Artemia salina*, sedangkan fraksi F1, F4, F5, F6 dan F8 tergolong kurang aktif terhadap *Artemia salina*. Hal ini didasari oleh data penelitian yang dilakukan oleh Meyer *et al.*, (1982), yang mengatakan bahwa ekstrak dapat digolongkan aktif apabila nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  sedangkan untuk fraksi dan senyawa murni digolongkan aktif apabila nilai  $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ .

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kloroform kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* memberikan aktivitas antioksidan terhadap DPPH dengan nilai daya hambat ( $IC_{50}$ ) sebesar 80,22  $\mu\text{g/mL}$ .
2. Dari total 13 fraksi utama yang dihasilkan 8 fraksi (F2, F3, F7, F9, F10, F11, F12 dan F13) diantaranya tergolong aktif terhadap *Artemia salina*, dan 5 fraksi (F1, F4, F5, F6, F8) diantaranya tergolong kurang aktif terhadap *Artemia salina*.
3. Senyawa I yang berhasil diisolasi dari fraksi 9 merupakan golongan senyawa alkaloid dengan berat molekul relatif ( $M_r$ ) sebesar 363,06 g/mol.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai indikasi komponen kimia dari ekstrak n-heksan, etil asetat dan ekstrak metanol kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* apakah memiliki potensi sebagai antikanker dan antioksidan. Selain itu, perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai indikasi komponen kimia dari jaringan lain tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* karena tumbuhan jenis *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* merupakan variets baru sehingga masih kurang informasi mengenai metabolit sekunder yang dapat ditemukan dalam tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A., Hakim, E. H., Juliawaty, L. D., Makmur, L., Mujahidin, D., dan Syah, Y. M., 2007, *Ilmu Kimia Sumber Alam Hayati Indonesia Penelitian Untuk Pengembangan Pendidikan, Ilmu Pengetahuan, dan Sumberdaya Manusia*, Seminar Nasional Kimia, Universitas Negeri Surabaya.
- Ahmad, A., 2013, *Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi Ekstrak Etil Asetat Daun Melochia Umbellata Yang Aktif Terhadap Larva Udang Artemia Salina Leach*, Skripsi Tidak di Terbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Arung, E. T., Kusuma, I. W., Purwatiningsih, S., Roh, S., Yang, C. H., Jeon, S., Kim, Y., Sukaton, E., Susilo, J., Astuti, Y., Wicaksono, B. D., Sandra, F., Shimizu, K., dan Kondo, R., 2009, Antioxidant Activity and Cytotoxicity of the Traditional Indonesian Medicine Tahongai (*Kleinhovia hospital* L.) Extract, *Journal Acupunct Meridian Stud*, **2**(4):306-308.
- Berenguer, B., Trabadelo, C., Sanchez-Fidalgo, S., Quilez, A., Mino, P., De la Puerta, R., dan Martin-Calero, M. J., 2007, The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. protect against NSAID-induced gastric lesions, *Journal Ethnopharmacol*, **114**(2) : 153-160.
- Bruni, R., Medici, A., Guerrini, A., Scalia, S., Poli, F., Romagnoli, C., Muzzoli, M., dan Sacchetti, G., 2002, Tocopherol, fatty acids and sterol distributions in wild Ecuadorian *Theobroma subincanum* (Sterculiaceae) seeds, *Food Chemistry*, **77**(3) : 337-341.
- Carballo, J. L., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P., Garcia-Gravalos, M.D., 2002, A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products, *BMC Biotechnology*, **2**(17), 1-5.
- Dias, G. C. D., Gressler, V., Hoenzel, S. C. S. M., Silva, U. F., Dalco, I. I., dan Morel, A. F., 2007, Constituents Of The Roots Of *Melochia charmaedrys*, *Phytochemistry*, **6**(5) : 668-672.
- Erwin, Alfian, N., Soekamto, N.H., Harlim, T., 2009, Skrining Bioaktivitas Beberapa Bagian Jaringan Tumbuhan Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K), *Indonesia Chimica Acta*, **2**(1).
- Erwin, Noor, A., Soekamto, N. H., Altena, I. V., dan Syah, Y. M., 2014, Waltherione C and Cleomiscosin From *Melochia umbellata* var. *Degrabrata* K.

- (Malvaceae), Biosynthetic and Chemotaxonomic Significance, *Biochemical Systematics and Ecologi*, **55**(1) : 358-361.
- Gandjar, I., dan Sjamsuridzal, W., 2006, *Mikologi Dasar dan Terapan*, Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Goldberg, A., 1967, The Genus *Melochia* L. (Sterculiaceae), *Contr US Herb*, **34**, 134-363.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan Kosasih, P., dan Iwang, S., Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Markham, K. R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Terjemahan Kosasih, P., dan Iwang, S., Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hardiana, R., Rudiyanayah, Zaharah, T. A., 2012, Aktivitas Antioksidan Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, **1**(1) : 8-13.
- Imran, 2013, *Karakterisasi Senyawa dari Ekstrak Kloroform Daun Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. dan Uji Aktivitas Antihiperlipemik, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Jadulco, R. C., Pond, C. D., Wagoner, R. M. V., Koch, M., Gideon, O. G., Katanaho, T. K., Piskatus, P, dan Barrows, L. R., 2014, 4-Quinolone Alkaloids From *Melochia odorata*, **77**(1) : 183-187.
- Kapadia, G. J., Shukla, Y. N., dan Basak, S. P., 1978, Melovinone An Open Chain Analogue Of Melochinone From *Melochia tomentosa*, *Planta Medica*, **59**(1) : 568-569.
- Kartawiguna, E., 2001, Faktor-Faktor yang Berperan pada Karsinogenesis, *Jurnal Kedokter Trisakti*, **20**(1): 16-26.
- Khaira, K., 2010, Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-oksidan, *Jurnal Sainstek*, **2**(2): 183-187.
- Meyer, B. N., Ferrigny N. R., dan Putnam J. L. 1982, Brine Shrimp, A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Journal of Medical Plant Research*, **45**, 31-34.
- Molyneux, P., 2004, The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarian J Sci Technol*, **26** (2): 211-219.

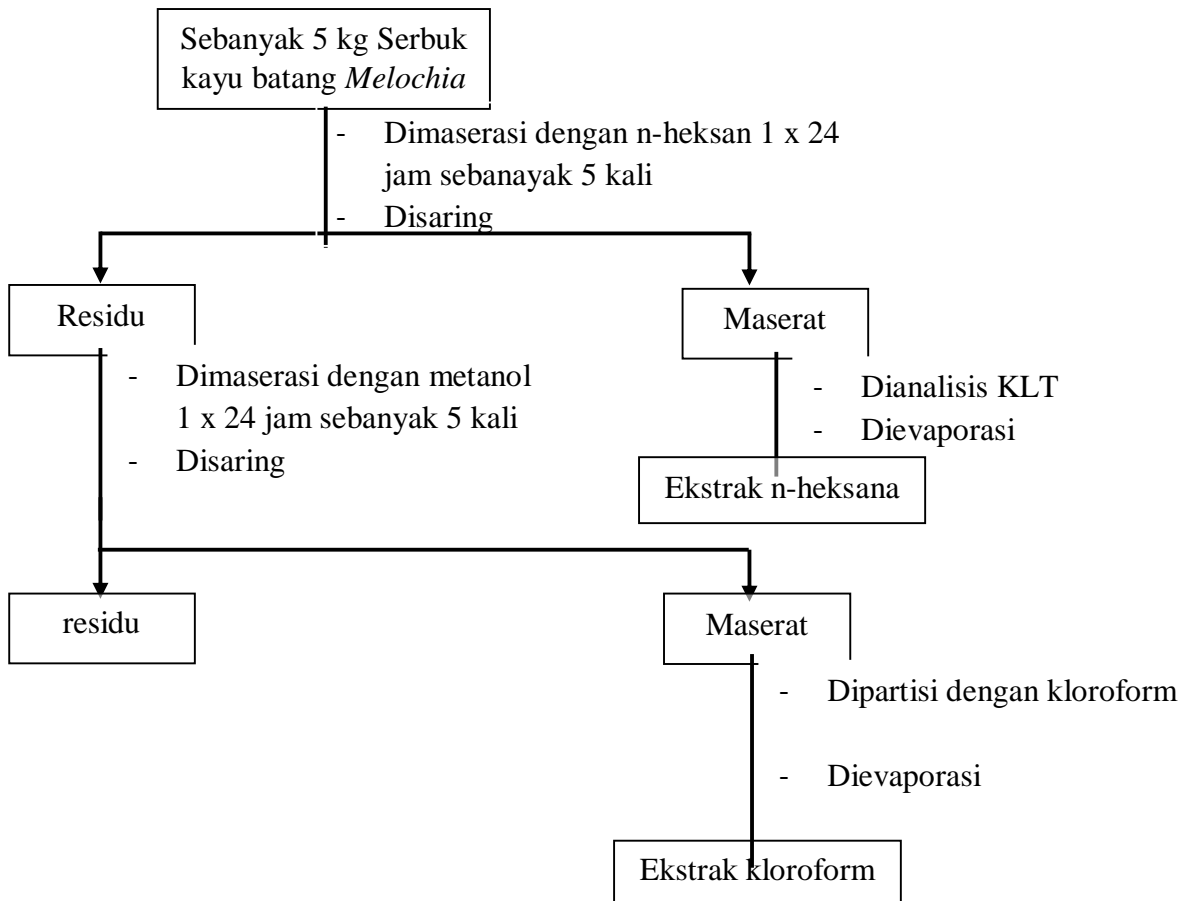
- Noor, A., Kumanireng, A. S., Kartikasari, R., Suryaningsih, Hakim, A., dan Takbir, R., 2004, Isolasi dan Identifikasi Konstituen Organik Tanaman Daun Paliasa (*Klenhovia hospita* Linn.) Pada Kelarutan Berdasarkan Kelompok Polaritasnya, *Marina Chemical Acta*, **5**(2) : 2-10.
- Prabowo, T. T., 2009, *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Keong Matah Merah (Cerithidea obtusa)* (Skripsi), Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Prasetyastuti dan Sunarti, 2008, Vitamin E dan Malonaldehid Darah Wanita Hamil Di Daerah Endemik Gondok Di Jawa Tengah, *Berita Kedokteran Masyarakat*, **24** (2).
- Purwaningsih, W., 2010, *Asuhan Keperawatan Maternitas*, Nuha Medika, Yogyakarta.
- Raflizar, Adimunca, C., Dan Tuminah, S., 2006, Dekok Daun Paliasa (*Klenhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Cerminan Dunia Kedokteran*, **150**(150) : 10-14.
- Raflizar, R., dan Sihombing, M., 2009, Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Jurnal Ekologi Kesehatan*, **8**(2) : 984-993.
- Rahim, A., 2010, *Uji Sitotoksitas dan Karakterisasi Beberapa Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Ekstrak Metanol Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. Deglabrata K., Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rahim, A., 2011, Uji Toksisitas Beberapa Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Ekstrak Metanol Daun *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf. var. Deglabrata Pada Larva *Artemia Salina* Leach., *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 Medicin*, **6**(7) : 537-543.
- Reid, K. A., Jager, A. K., Light, M. E., Mulholland, D. A., dan Van Staden, J., Phytochemical and pharmacological screening of Sterculiaceae species and isolation of antibacterial compounds, *Journal Ethnopharmacol*, **97**(2) : 285-291.
- Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N. H., Harlina, T., dan Altena, I. V., 2012, A Stigmasterol Glycoside From The Root Wood Of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Deglabrata K., *Indo Journal Chemistry*, **12**(1) : 100-103.

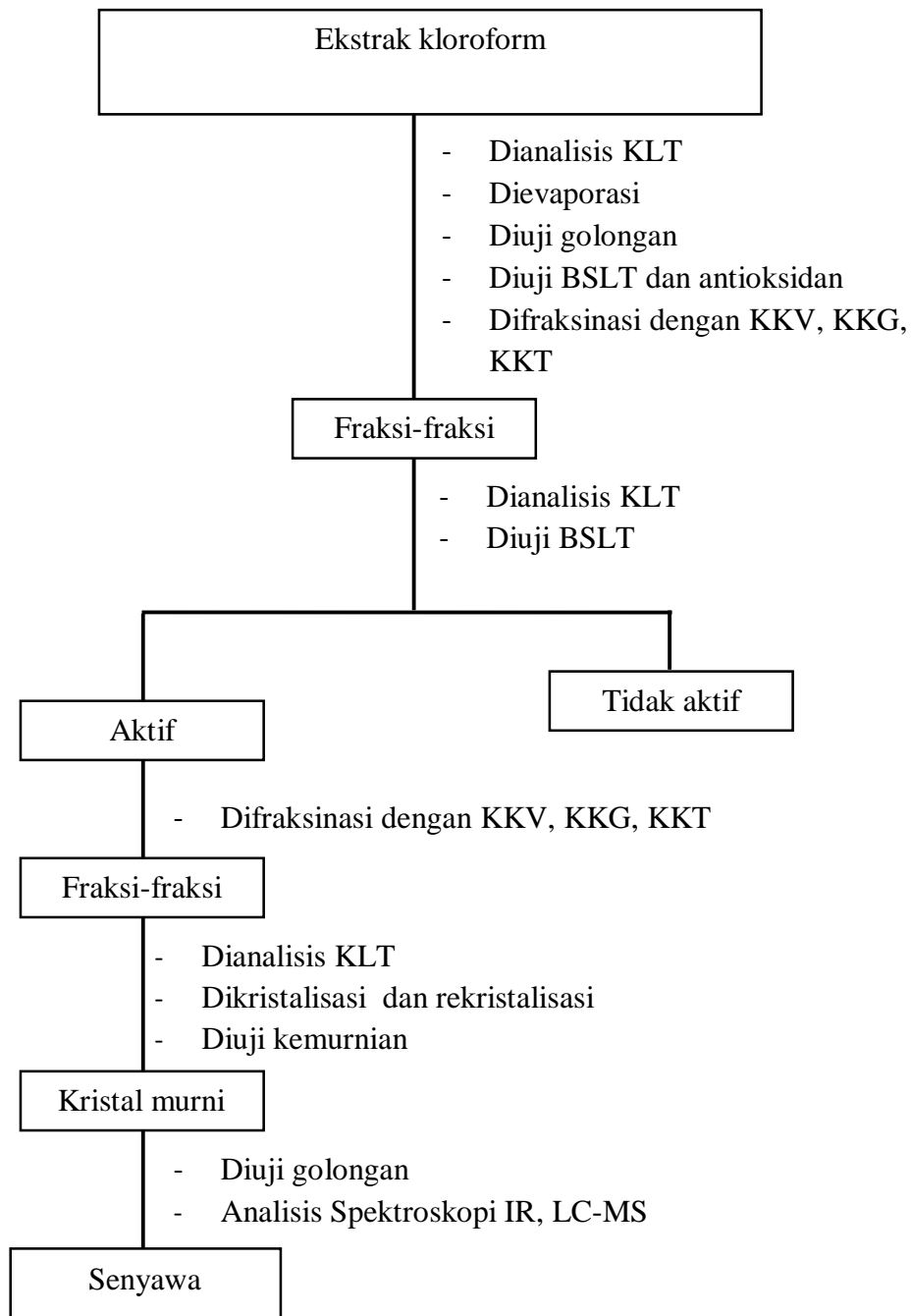
- Rudiansyah, 2013, Steroid dan Ligan dari Kayu Batang *Durio oxleyanus* (Malvaceae), *Valensi*, **3**(1) : 57-64.
- Shukla, Y. M., Sokoloski, E. A., Falase, H. M., dan Kapadia, G. J., 1976, 6-Methoxy-7,8-Mergethylenedioxy coumarin From *Melochia tomentosa*, *Phytochemistry*, **15**(1) : 1788.
- Suryadarma, 2008, *Diktat Kuliah Etnobotani*, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Tjitrosoepomo, G., 1994, *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- USDA-NRCS, 2012, *Classification for Melochia umbellata*, (online), (<http://plant.usda.gov/java/classificationservlet?source=display&classid=KkkHO>) diakses tanggal 09 Mei 2014.
- Usman, Soekanto, N. H., Usman, H., dan Ahmad, A., 2015, *Senyawa Turunan Olenan dari Kulit Batang Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata K. dan Bioaktivitasnya*, Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VII, Universitas Sebelas Maret.
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta.
- Yang, H., Protiva, P., Cui, B., Ma, Cuiying., Baggett, S., Hequet, V., Mori, S., Weinstein, B., dan Kennelly, E. J., 2003, New Bioactive Polyphenols from *Theobroma grandiflorum* Cupuacu, *Journal of Natural Products*, **66**(11) : 1501-1504.



## 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

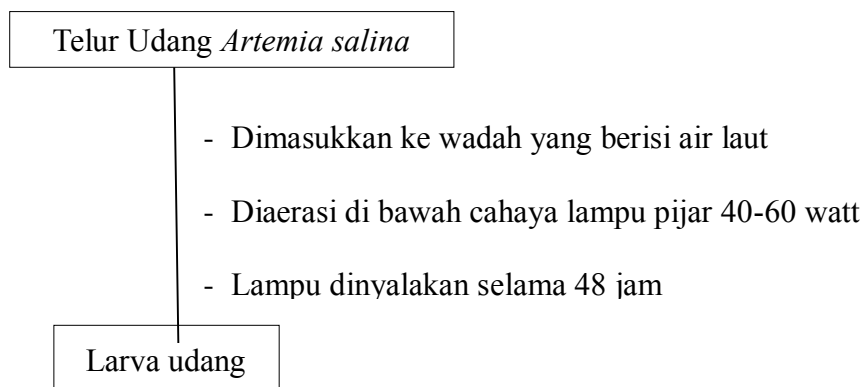
### A. Penyiapan Larutan Sampel (1000 ppm)

1. Sampel (senyawa murni) ditimbang 1 mg, dilarutkan dalam 100  $\mu\text{L}$  DMSO sambil diaduk.
2. Diencerkan dengan 150  $\mu\text{L}$  akuades sehingga volume total menjadi 250  $\mu\text{L}$ . Selanjutnya 200  $\mu\text{L}$ . Larutan ini diencerkan sampai 600  $\mu\text{L}$ , volume total menjadi 800  $\mu\text{L}$  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



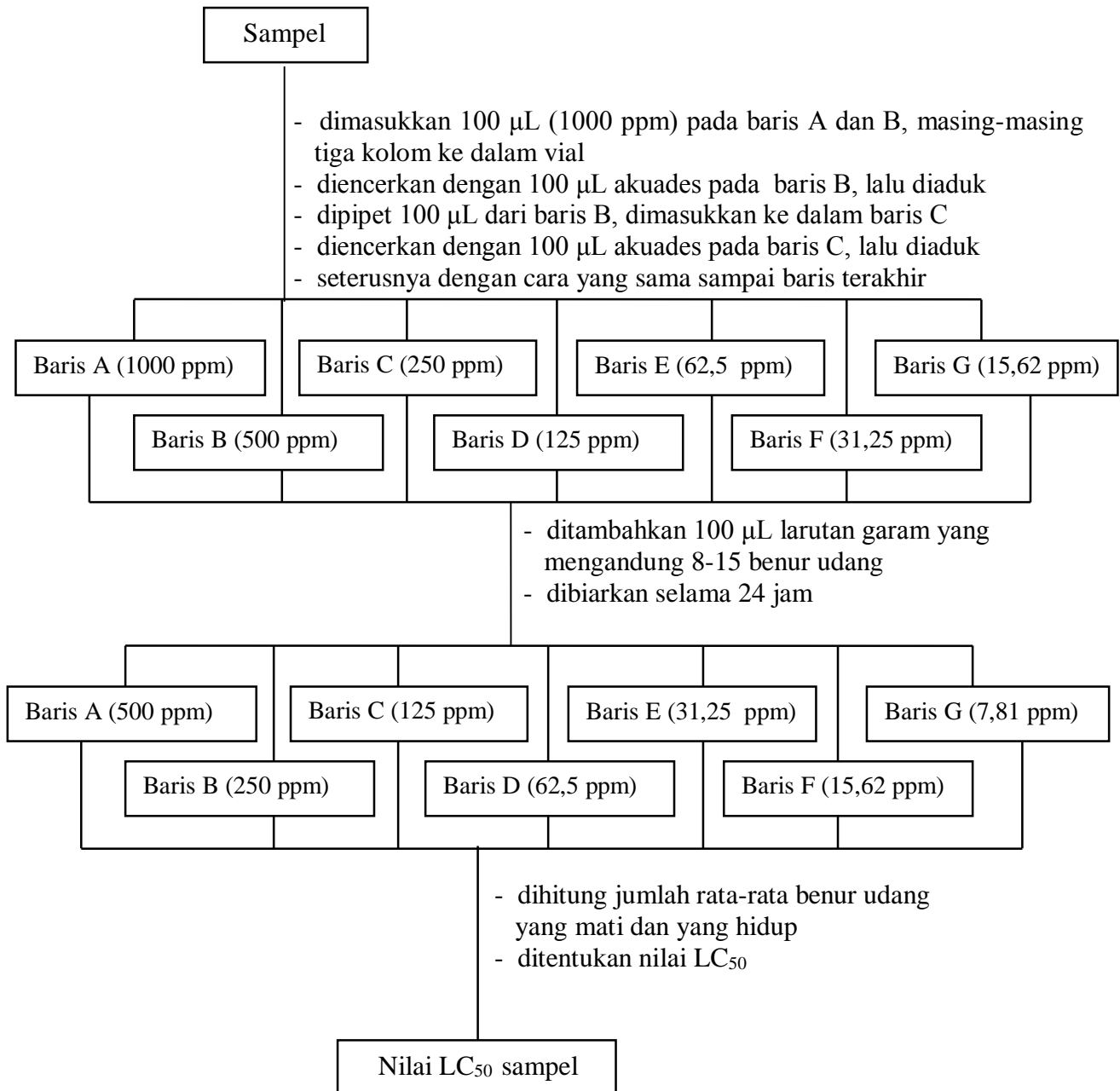
### C. Prosedur Uji Metode Mayer

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

100  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $LC_{50}$ .

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



### Lampiran 3. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH

1 mL larutan DPPH 0,4 mM

- dimasukkan kedalam 5 tabung yang berbeda
- ditambahkan larutan sampel masing-masing 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum

Hasil

**Lampiran 4. Perhitungan Daya Hambat Antioksidan (IC<sub>50</sub>)**

No.	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi (λ 502 nm)	Aktivitas Antioksidan (%)
1.	10	0,442	19,63
2.	20	0,440	20,00
3.	30	0,404	26,54
4.	40	0,384	30,18
5.	50	0,349	36,54
4.	Kontrol	0,55	-
% Daya Hambat			26,58

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times 100 \%$$

Keterangan : A<sub>k</sub> = Absorbansi Kontrol  
A<sub>s</sub> = Absorbansi Sampel

$$1. \frac{0,55 - 0,442}{0,55} \times 100 \% = 19,63\%$$

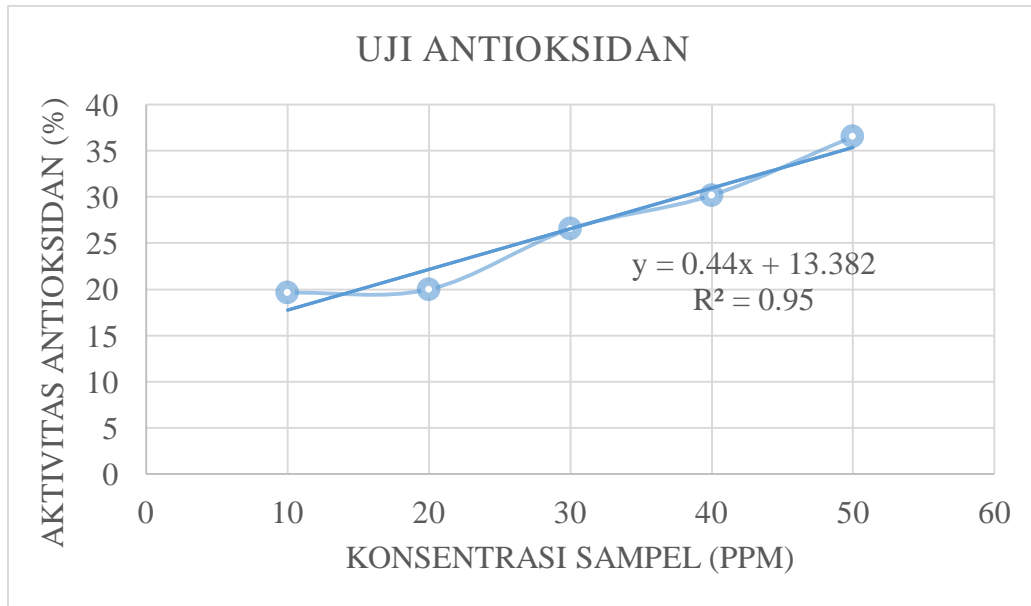
$$2. \frac{0,55 - 0,440}{0,55} \times 100 \% = 20,00\%$$

$$3. \frac{0,55 - 0,404}{0,55} \times 100 \% = 26,54\%$$

$$4. \frac{0,55 - 0,384}{0,55} \times 100 \% = 30,18\%$$

$$5. \frac{0,55 - 0,349}{0,55} \times 100 \% = 36,54\%$$

$$\begin{aligned} \text{Daya Hambat} &= \frac{19,63\% + 20,00\% + 26,54\% + 30,18\% + 36,54\%}{5} \\ &= 26,58\% \end{aligned}$$



Nilai  $IC_{50}$  untuk senyawa adalah:

$$x = IC_{50}$$

$$y = 0,44x + 13.382$$

$$\begin{aligned}
 IC_{50} (x) &= \frac{(y - 13.382)}{0,44} = \frac{(50 - 13.382)}{0,44} \\
 &= 80,2227 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$



## Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Sampeling *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena* di Kec. Sigeri, Kab, Pangkep



Proses Maserasi Sampel



Proses partisi dengan menggunakan kloroform



Proses evaporasi ekstrak



Proses kromatografi kolom vakum (KKV)



Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom vakum (KKV)



Fraksi 9 hasil pemekatan



Fraksi 9 sebelum pemurnian



Fraksi 9 setelah pemurnian  
Senyawa I



Uji fitokimia fraksi 9



Uji antioksidan terhadap DPPH