

**FRAKSINASI SENYAWA ANTIMITOSIS EKSTRAK
KLIKA ONGKEA (*Mezzettia parviflora* Becc.)**



**NUR AFRIYANTI SOUMENA
H51102077**

UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terbit	6-3-2007
Asal Dori	Fak. MIPA
Jumlah	1 (satu) ek
Hal	4
No.	963/6-3-7
No.	



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

**FRAKSINASI SENYAWA ANTIMITOSIS EKSTRAK
KLIKA ONGKEA (*Mezzettia parviflora* Becc.)**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk
mencapai gelar sarjana**

**NUR AFRIYANTI SOUMENA
H51102077**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

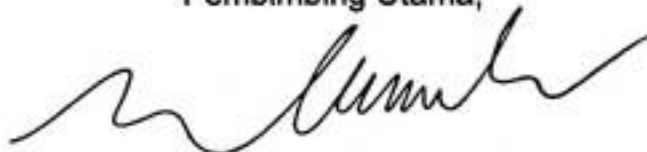
**FRAKSINASI SENYAWA ANTIMITOSIS EKSTRAK
KLIKA ONGKEA (*Mezettia parviflora* Becc.)**

NUR AFRIYANTI SOUMENA

H51102077

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt
NIP. 131 876 917

Pembimbing Pertama,



Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt
NIP. 131 916 413

Pembimbing Kedua,



Mufidah, S.Si, M.Si., Apt
NIP. 132 240 180

Pada Tanggal Februari 2007

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dengan judul "Fraksinasi Senyawa Antimitosis Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)" telah rampung atas limpahan rahmat, hidayah dan tuntunan Allah swt dimana penulis diberikan kesempatan dan kesehatan sehingga selesainya penyusunan skripsi ini, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Pada lembaran awal skripsi ini perkenankan penulis menghaturkan rasa terima kasih yang tulus kepada Bapak Dr. Gemini Alam, M.Si., sebagai pembimbing utama yang di tengah kesibukannya telah membimbing, memberikan arahan, saran, dan pendapat. Kepada Bapak Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., sebagai pembimbing pertama dan Ibu Mufidah, S.Si, MSi., sebagai pembimbing kedua sekaligus penasehat akademik yang telah meluangkan waktu memberikan petunjuk, pemikiran, bimbingan dan saran kepada penulis mulai dari penyusunan rencana penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Selanjutnya ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh staf Jurusan Farmasi atas curahan ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang diberikan

kepada penulis selama menempuh pendidikan farmasi, penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Tak lupa juga mengucapkan rasa terima kasih kepada teman-teman angkatan 2002 yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis untuk membantu penyusunan skripsi ini dan khususnya yang melakukan penelitian pada Laboratorium Fitokimia atas bantuan dan kerja samanya, kepada kakak Abdul Rahim dan Pak Suaib yang senantiasa membantu hingga terselesaikannya penelitian ini.

Akhirnya dengan rasa hormat serta terima kasih yang tak terhingga kepada Ayahanda M.Fihri Soumena dan Ibunda Efie Baadilla serta adikku Ifah atas kasih sayang, motivasi, dukungan, doa-doa yang selalu dipanjatkan kepada penulis serta fasilitas yang diberikan selama menempuh pendidikan di bangku kuliah hingga selesainya penyusunan skripsi ini. Semoga Allah swt selalu memberikat berkah dan hidayah-Nya kepada kita sekalian.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan kelemahan, namun besar harapan penulis kiranya ini dapat bermanfaat besar bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, Februari 2007

NUR AFRIYANTI S.

ABSTRAK

Telah dilakukan fraksinasi senyawa antimitosis dari ekstrak metanol klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh fraksi aktif antimitosis dari ekstrak *Mezzettia parviflora* berdasarkan aktivitas penghambatan terhadap pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi. Ekstrak metanol diperoleh dengan cara maserasi, selanjutnya ekstrak metanol dipartisi dengan etil asetat sehingga diperoleh ekstrak metanol larut dan tidak larut etil asetat. Ekstrak tersebut masing-masing diuji aktivitas antimitosisnya. Ekstrak paling aktif ditunjukkan oleh ekstrak metanol larut etil asetat dengan Inhibition Concentration (IC_{50}) 2.69 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan ekstrak metanol dan ekstrak metanol tidak larut etil asetat memiliki IC_{50} masing-masing 1221.68 $\mu\text{g/ml}$ dan 15.15 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrak yang larut etil asetat kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom cair vakum dan diperoleh 3 fraksi gabungan. Fraksi gabungan diuji kembali aktivitas antimitosisnya. Fraksi III merupakan fraksi yang memiliki persentase penghambatan pembelahan sel paling tinggi dengan nilai IC_{50} 1.33 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan untuk fraksi I memiliki nilai IC_{50} 7.39 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi II dengan nilai IC_{50} 7.48 $\mu\text{g/ml}$, kontrol positif vinkristin memiliki nilai IC_{50} 0.198 $\mu\text{g/ml}$. Identifikasi senyawa yang terdapat pada fraksi III menunjukkan adanya senyawa golongan fenolik yang memiliki gugus orto dihidroksi.

Kata kunci : klika onkea, antimitosis, Inhibition Concentration (IC_{50}).

ABSTRACT

Research about fractionation the antimitotic compound from methanol extract of ongkea cortex (*Mezzettia parviflora* Becc.) has been conducted. This research was aimed to obtain the active antimitotic fractions from extract of *Mezzettia parviflora* Becc., based on the inhibition in mitotic process of sea urchin embryos after fertilization. Methanol extract was obtained by maceration, than it's partited with ethyl acetate so that obtained soluble and insoluble in ethyl acetate. Most active extract was the soluble in ethyl acetate extract with Inhibition Concentration (IC_{50}) 2.69 $\mu\text{g/ml}$, while methanol extract and insoluble in ethyl acetate extract have IC_{50} 1221.68 $\mu\text{g/ml}$ and 15.15 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The soluble in ethyl acetate extract then fractinated with vacuum liquid column cromatography and obtained 3 major fractions. All of fractions were re-tested. The third fraction was a most active fraction with IC_{50} 1.33 $\mu\text{g/ml}$, while the first and second fractions have value of IC_{50} 7.39 $\mu\text{g/ml}$ and 7.48 $\mu\text{g/ml}$, respectively which higher than effect of vincristin with IC_{50} 0.198 $\mu\text{g/ml}$. The thin layer chromatogram indicated that the third fraction showed the existence of phenolic compound.

Key words : ongkea cortex, antimitotic, Inhibition Concentration (IC_{50}).

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Uraian Tanaman <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.	3
II.1.1 Klasifikasi	3
II.1.2 Nama Daerah	3
II.1.3 Morfologi	3
II.1.4 Kandungan Kimia	4
II.1.5 Kegunaan Tanaman	4
II.2 Metode Ekstraksi	4
II.2.1 Tujuan Ekstraksi	4
II.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi	5



II.2.3 Ekstraksi Secara Maserasi.....	5
II.2.4 Ekstraksi Cair-Cair	6
II.3 Metode Pemisahan	7
II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	7
II.3.2 Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Cair Vakum.....	8
II.4 Bioassay	9
II.4.1 Uji Antimitosis Sel Telur Bulubabi	9
II.5 Pembelahan Sel	11
II.6 Mekanisme Kerja Antikanker dengan Siklus Kanker	12
II.7 Uraian Vinkristin	12
II.8 Bulubabi	13
II.8.1 Klasifikasi	13
II.8.2 Morfologi	13
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	16
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan	16
III.2 Penyiapan Sampel Penelitian.....	16
III.2.1 Pengambilan Sampel	16
III.2.2 Pengolahan Sampel	16
III.2.3 Ekstraksi Sampel	17
III.2.4 Partisi dengan Etil Asetat.....	17
III.2.5 Fraksinasi Ekstrak Aktif	17
III.3 Uji Aktivitas Metode Uji Antimitosis Sel Telur Bulubabi	18

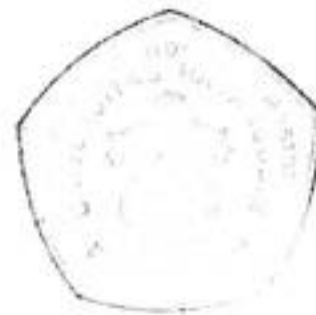
III.3.1 Penyiapan Sel Telur dan Sperma Bulubabi	18
III.3.2 Pelaksanaan Uji	18
III.4 Identifikasi Senyawa Aktif	20
III. 5 Pengolahan dan Analisis Data	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
IV.1 Hasil Penelitian	21
IV.2 Pembahasan	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Analisis KLT Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat dengan Berbagai Penampak Noda.....	22
2. Hasil Pengamatan Persen Penghambatan Pembelahan Sel Telur Bulubabi (<i>Tripneustus gratilla</i> Linn.) pada Ekstrak Metanol, Ekstrak Metanol Larut dan Tidak Larut Etil asetat Klika Ongkea (<i>Mezzettia parviflora</i> Becc.).....	32
3. Hasil Pengamatan Kontrol Negatif	33
4. Hasil Pengamatan Kontrol Positif	33
5. Hasil Perhitungan IC_{50} Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi	34
6. Hasil Pengamatan Persen Penghambatan Pembelahan Sel Telur Bulubabi (<i>Tripneustus gratilla</i> Linn.) pada Fraksi I, Fraksi II, Fraksi III Ekstrak Metanol Larut Etil asetat Klika Ongkea (<i>Mezzettia parviflora</i> Becc.).....	38
7. Hasil Pengamatan Kontrol Negatif	40
8. Hasil Pengamatan Kontrol Positif	40
9. Hasil Perhitungan IC_{50} Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Klika Ongkea (<i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) ..	30
2. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antimitosis dengan Sel Telur Bulubabi (<i>Tripneustus gratilla</i> Linn.) ..	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Tubuh Bulubabi	15
2. Pembelahan Sel Telur Bulubabi Setelah Pemberian Ekstrak Metanol Larut Etil asetat Klika Ongkea (<i>Mezzettia parviflora</i> Becc.)	23
3. Profil KLT Ekstrak Metanol Larut dan Tidak Larut Etil asetat.....	24
4. Profil KLT Hasil Kromatografi Cair Vakum Ekstrak Metanol Larut Etil asetat	25
5. Pembelahan Sel Telur Bulubabi Setelah Pemberian Fraksi III Hasil KCV Ekstrak Metanol Larut Etil asetat	25
6. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Setelah Pemberian Ekstrak Metanol Larut Etil asetat	35
7. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Setelah Pemberian Ekstrak Metanol Tidak Larut Etil asetat.....	36
8. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Setelah Pemberian Ekstrak Metanol	37
9. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Setelah Pemberian Vinkristin sebagai Kontrol negatif	37
10. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Fraksi III Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat	42
11. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Fraksi I Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat.....	43

12. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Fraksi II Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat	44
13. Kurva Hubungan Antara Log-Konsentrasi dan Persentase Penghambatan Pembelahan Sel (Probit) Setelah Pemberian Vinkristin sebagai Kontrol Negatif	44
14. Profil KLT Hasil Kromatografi Cair Vakum Ekstrak Metanol Larut Etil asetat Deteksi UV 254 nm, UV 366 nm dan Asam sulfat 10%	45
15. KLT Fraksi III Hasil Fraksinasi dengan Beberapa Reagen Penyemprot..	46
16. Foto Tanaman Ongkea (<i>Mezzettia parviflora</i> Becc.)	47
17. Pengambilan Sperma dan Ovum dari Bulubabi (<i>Tripneustus</i> <i>gratilla</i> Linn.).....	48
18. Bulubabi (<i>Tripneustus gratilla</i> Linn.) Tampak Bawah	49
19. Bulubabi (<i>Tripneustus gratilla</i> Linn.) Tampak Atas.....	49

BAB I PENDAHULUAN

Kanker atau karsinoma ialah suatu penyakit sel atau pembentukan jaringan baru yang abnormal, dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler (1).

Bahan-bahan alam mempunyai prospek sebagai penghambat kanker, penelitian-penelitian yang telah dilakukan menunjukkan aktivitas antikanker sangat luas dalam tumbuh-tumbuhan. Pada prinsipnya tanaman obat yang digunakan dalam pengobatan kanker berfungsi menghambat pertumbuhan sel kanker, menghancurkan sel kanker, dan memperbaiki fungsi organ vital yang rusak oleh sel kanker (2). Salah satu bahan obat tradisional yang secara empiris digunakan oleh masyarakat Buton, Sulawesi Tenggara untuk pengobatan tumor adalah kiika onkea (*Mezzetia parviflora* Becc.). Tanaman ini termasuk famili Annonaceae.

Annonaceae adalah suatu famili tumbuhan yang besar, menghasilkan berbagai senyawa seperti terpenoid dan flavonoid, disamping minyak atsiri, asam amino, protein, karbohidrat dan lemak. Selain flavonoid sederhana, seperti katecin, epikatecin, kuersetin, kuersitrin, dan rutin, tumbuhan annonaceae juga menghasilkan suatu jenis flavonoid khusus, yaitu flavanon dan dihidrokalkon yang mengandung substituen yang benzil terikat pada

atom karbon (C-benzil). Contohnya uvaretin dari *Uvaria angolensis* dan *U. chanzae* sedangkan isokamanetin dan uvarinol diisolasi dari *U. chaniae*. Beberapa di antara senyawa dari Famili Annonaceae ini memperlihatkan aktivitas antimitosis, antitumor, dan antimikroba (3). Dilaporkan pula adanya suatu komponen kimia yang disebut acetogenins dari *Annona muricata* yang mempunyai aktivitas antitumor, antiparasit serta antimikroba dan toksisitas selektif pada beberapa tipe sel kanker (4).

Pendekatan yang sering dilakukan dalam mencari komponen kimia yang berkhasiat sebagai antikanker dari bahan alam ialah dengan kemotaksonomi, yaitu bahan alam yang termasuk dalam takson tertentu mempunyai kemiripan tanda-tanda anatomi, histologi, morfologi dan kemiripan dalam kandungan komponen kimianya, sehingga cenderung memiliki aktivitas farmakologi yang sama (2), sehingga diduga *Mezzettia parviflora* juga mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antimitosis.

Studi penghambatan perkembangan sel telur bulubabi terfertilisasi merupakan model yang cocok untuk mendeteksi aktivitas antimitosis, teratogenik, dan antineoplastik dari senyawa baru (5). Dalam metode ini, penghambatan pembelahan sel dihitung sebagai Inhibition Concentration 50% (IC₅₀). Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dimaksudkan untuk melakukan fraksinasi ekstrak klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) berdasarkan aktivitas penghambatan mitosis sel telur bulubabi (*Tripneustus gratilla* Linn.) terfertilisasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Uraian Tanaman *Mezzettia parviflora* Becc.

II.1.1. Klasifikasi

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Subclass	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Mezzettia</i>
Spesies	: <i>Mezzettia parviflora</i> Becc. (8)

II.1.2. Nama Daerah

Buton	: Ongkea
Palembang	: Makai
Bangka	: Linang (8)

II.1.3. Morfologi

Mezzettia sp. merupakan pohon tinggi, dengan ketinggian sampai 30 meter dan diameter batang 90 cm, di Sumatera Selatan sering ditemukan di

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Uraian Tanaman *Mezzettia parviflora* Becc.

II.1.1. Klasifikasi

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Subclass	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: Mezzettia
Spesies	: <i>Mezzettia parviflora</i> Becc. (8)

II.1.2. Nama Daerah

Buton	: Ongkea
Palembang	: Makai
Bangka	: Linang (8)

II.1.3. Morfologi

Mezzettia sp. merupakan pohon tinggi, dengan ketinggian sampai 30 meter dan diameter batang 90 cm, di Sumatera Selatan sering ditemukan di

daerah pantai. Batangnya tumbuh tegak lurus, bulat, menghasilkan kayu yang agak berat tetapi mudah dikerjakan, warna kayu putih kotor, dari kayu tersebut dapat dibuat papan yang digunakan dalam ruangan. Kulitnya mudah dikupas. Buahnya dapat menyebabkan pusing dan muntah (8).

II.1.4. Kandungan Kimia

Telah dilaporkan bahwa sekitar 75 spesies yang termasuk 50 genus Annonaceae ternyata mengandung alkaloid. Hampir semua alkaloid yang terdapat pada Annonaceae adalah dari kelompok isokuinolin.

Annonaceae juga menghasilkan berbagai senyawa non-alkaloid, seperti terpenoid dan flavonoid, disamping minyak atsiri, asam amino, protein, karbohidrat, dan lemak (3).

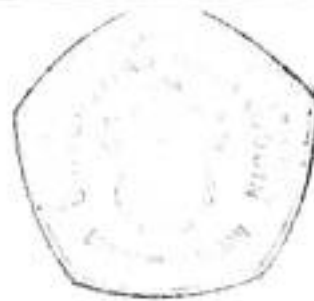
II.1.5 Kegunaan Tanaman

Mezzettia parviflora Becc. secara empirik digunakan oleh masyarakat Kabupaten Buton sebagai obat asma, kolesterol, tekanan darah tinggi, kanker, dan dapat menurunkan bobot badan.

II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.2.1 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan dan biota laut dengan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini berdasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang



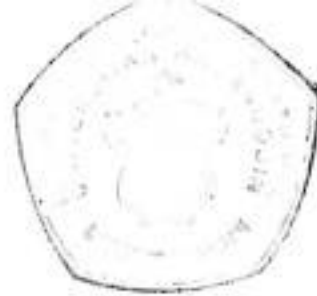
mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan konsentrasi diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (9).

II.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara kering. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu maserasi, perkolasi dan soxhletasi (9).

II.2.3 Ekstraksi Secara Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, dituangi dengan 75 bagian penyari dan ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari sambil sekali-kali diaduk, dikerai dan diperas, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian (9).



mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan konsentrasi diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (9).

II.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara kering. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu maserasi, perkolasi dan soxhletasi (9).

II.2.3 Ekstraksi Secara Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, dituangi dengan 75 bagian penyari dan ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari sambil sekali-kali diaduk, diserkai dan diperas, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian (9).

II.2.4 Ekstraksi cair-cair

Penyarian merupakan proses pemisahan dimana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur.

$$Kd = \frac{C_1}{C_2}$$

Keterangan :

C_1 : Konsentrasi zat pertama
 C_2 : Konsentrasi zat lain
Kd : Koefisien distribusi

Pelarut yang sering digunakan sebagai pelarut pertama adalah air sedangkan sebagai pelarut kedua adalah pelarut organik yang tidak bercampur dengan air. Dengan demikian senyawa organik polar sebagian besar akan terdapat dalam fase organik. Hal ini yang dikatakan "like dissolves like" yang berarti bahwa senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar dan sebaliknya. Dalam suatu larutan encer faktor kadar tidak mempengaruhi koefisien distribusinya.

Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan kedalam dua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu akan dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya keseimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran kedua fase tersebut dalam corong pisah (11).

II.3 Metode Pemisahan

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah cara pemisahan dengan adsorpsi pada lapisan tipis adsorben yang dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa seperti ion-ion anorganik, kompleks senyawa-senyawa organik dengan anorganik dan senyawa-senyawa organik baik yang terdapat di alam maupun senyawa-senyawa organik sintetis (11).

Pada kromatografi lapis tipis, fase diam berupa lapisan tipis (ketebalan 0,1-2 mm) yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat plat polimer atau logam. Lapisan melekat pada permukaan dengan bantuan pengikat, biasanya dengan kalsium sulfat atau amilum (12).

Prinsip KLT adalah pemisahan secara fisikokimia. Lapisan yang memisahkan komponen kimia terdiri dari bahan yang berbutir-butir (fase diam), ditempatkan dalam penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh di dalam bejana yang ditutup rapat berisi fase gerak, pemisahan terjadi selama pengembangan (13).

Lapisan tipis pada KLT sering mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penempakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Indikator fluoresensi ialah senyawa yang

memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar berpanjang gelombang lain, biasanya sinar UV. Indikator fluoresensi yang paling berguna ialah sulfide anorganik yang memancarkan cahaya jika disinari cahaya pada panjang gelombang 254 nm. Beberapa senyawa organik bersinar atau berfluoresensi jika disinari pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm dan dapat tampak dengan mudah (12).

II.3.2 Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Cair Vakum

Kromatografi kolom cair vakum menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek dan dapat pula menggunakan kolom yang lebih panjang. Kolom kromatografi dikemas kering (biasanya dengan penjerap KLT 10-40 mikro meter) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap dipakai. Sampel dilarutkan dalam pelarut yang cocok kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom atau pada lapisan prapenjerap (tanah diatomae, celite) dan dihisap perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan memvakumkannya. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi.

Kromatografi cair vakum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak. Berbeda dengan metode yang

menggunakan tekanan pada bagian atas kolom untuk meningkatkan laju aliran, mengotak-atik kolom mudah karena kepala kolom berada dalam tekanan atmosfer (14).

II.4 Bioassay

Bioassay merupakan metode pengujian aktivitas suatu senyawa dari bahan alam maupun sintetik menggunakan makhluk hidup. Bioassay terdiri dari banyak metode diantaranya yaitu uji toksisitas, uji antimitotik, uji daya hambat dll. Berdasarkan hasil bioassay tersebut dapat dilakukan isolasi senyawa dari bahan alam atau disebut *Bioassay Guided Isolation* (15).

II.4.1 Uji Antimitosis Sel Telur Bulu Babi

Penghambatan pembelahan sel merupakan suatu ukuran aktivitas antimitotik dari senyawa kimia. Senyawa kimia yang bersifat antimitotik seperti vinblastine dan podophyllotoxin telah ditunjukkan penghambatannya terhadap pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi. Metode bioassay ini merupakan metode mudah untuk mendeteksi aktivitas senyawa kimia (20).

Kanker adalah suatu proliferasi sel-sel yang tidak teratur. Pada beberapa kasus, laju proliferasi sangat tinggi. Yang membedakan kanker dengan pembelahan sel normal yaitu sel-sel kanker tidak pernah berhenti membelah (19). Uji aktivitas antikanker didasarkan atas adanya efek penghambatan pada sel. Metode yang sering digunakan untuk aktivitas antikanker yaitu uji antimitosis (20). Metode pengujiannya adalah dengan

penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi (20). Dalam metode ini penghambatan pembelahan sel dihitung sebagai IC_{50} .

Cara penentuan IC_{50} ada beberapa cara yaitu a) dengan metode Reed dan Muench; b) metode grafik; c) perhitungan secara matematik; d) metode grafik Probit. Disamping itu nilai IC_{50} juga dapat digunakan untuk menentukan tingkat efek toksik suatu senyawa sehingga dapat juga untuk memprediksi potensinya (18).

Studi penghambatan perkembangan sel telur bulubabi merupakan model yang cocok untuk mendeteksi aktivitas antimiotik, teratogenik, dan antineoplastik dari senyawa baru. Sel telur bulubabi juga digunakan secara luas sebagai model untuk mengevaluasi perkembangan toksikologi (7).

Sel telur bulubabi berbentuk bola, terdiri atas inti sel, sitoplasma dengan kuning telur dan dikelilingi oleh membrane vitelin. Proses pembelahan sel setelah terjadi fertilisasi terdiri dari beberapa tahap. Pembelahan pertama sel terjadi kira-kira 2-3 jam setelah terjadinya fertilisasi (20). Selanjutnya pembelahan tambahan terjadi dengan interval sekitar 20 menit untuk membentuk 4 sel, 8 sel, 16 sel, dan seterusnya. Setelah 6 jam, akan terbentuk blastula. Perkembangan selanjutnya akan menampilkan terbentuknya gastrula pada 1 atau 2 hari kemudian (21).

II. 5 Pembelahan Sel

Sel merupakan unit terkecil dari makhluk hidup yang dapat melakukan reproduksi yang sering disebut pembelahan sel. Pembelahan sel dapat dibedakan menjadi 2 yaitu, secara mitosis dan meiosis.

Mitosis. Pembelahan mitosis menghasilkan satu sel induk yang diploid ($2n$) menjadi 2 sel anak yang masing-masing diploid dan jumlah kromosom sel anak sama dengan jumlah kromosom sel induknya. Pembelahan mitosis terjadi pada sel somatis (sel penyusun tubuh). Antara mitosis satu dengan mitosis berikutnya terjadi interfase. Interfase merupakan fase terpanjang dalam satu siklus hidup sel. Pada interfase sel tidak terjadi pembelahan, tetapi terjadi kegiatan sintesa zat baru seperti DNA, juga penyediaan energi untuk persiapan pembelahan sel.

Tahap-tahap mitosis : (1) profase, (2) metafase, (3) anafase, (4) telofase.

Meiosis. Pembelahan meiosis (pembelahan reduksi) menghasilkan jumlah kromosom sel anak separuh dari jumlah kromosom sel induknya, dan pembelahan ini hanya terjadi pada sel-sel generatif atau sel-sel gamet seperti sperma dan ovum. Dalam pembelahan meiosis, terjadi dua kali pembelahan sel secara berturut-turut tanpa diselingi adanya interfase, yaitu tahap meiosis I dan meiosis II dengan satu sel induk yang diploid ($2n$) menjadi 4 sel anak yang masing-masing haploid (n). (24)

II.6 Mekanisme Kerja Antikanker dengan Siklus Kanker

Sel tumor dapat berada dalam 3 keadaan : (1) yang sedang membelah (siklus proliferaatif); (2) yang dalam keadaan istirahat (tidak membelah, G_0); dan (3) yang secara permanen tidak membelah. Sel tumor yang sedang membelah terdapat dalam beberapa fase yaitu fase mitosis (M), pascamitosis (G_1), fase sintesis DNA (fase S), fase pramitosis (G_2).

Pada akhir fase G_1 terjadi peningkatan RNA disusul dengan fase S yang merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Setelah fase S berakhir sel masuk dalam fase pramitosis (G_2) dengan ciri : sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis RNA dan protein. Sewaktu mitosis berlangsung (fase M) sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba, dan terjadi pembelahan menjadi 2 sel. Setelah itu sel dapat memasuki interfase untuk kembali memasuki fase G_1 , saat sel berproliferasi, atau memasuki fase istirahat (G_0). Sel dalam fase G_0 yang masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klonogenik atau sel induk. Jadi yang menambah jumlah sel kanker ialah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase G_0 . (1)

II.7 Uraian Vinkristin

Ditinjau dari siklus sel, obat antikanker dapat digolongkan dalam 2 golongan. Yang pertama ialah yang memperlihatkan toksisitas selektif terhadap fase-fase tertentu dari siklus sel dan disebut zat *cell cycle-specific* (CSS), misalnya vinkristin, vinblastin dan asparaginase. Zat CSS ini terbukti

efektif terhadap kanker yang berproliferasi tinggi misalnya kanker sel darah. Golongan kedua ialah zat *cell cycle-nonspecific* (CCNS) misalnya zat alkilator, antibiotik antikanker, dan prokarbazin.

Kerja antikanker pada proses dalam sel pada alkaloid vinka (vinblastin, vinkristin) yaitu zat ini berikatan secara spesifik dengan tubulin, komponen protein mikrotubulus, spindle mitotik, dan memblok polimerisasinya. Akibatnya terjadi disolusi mikrotubulus, sehingga sel terhenti dalam metafase (spindle poison). (1)

II.8 Bulubabi

II.8.1 Klasifikasi

Kingdom	: Protista
Filum	: Echinodermata
Kelas	: Echinoidea
Subkelas	: Regularia
Bangsa	: Aulodonta
Suku	: Toxopneustidae
Marga	: Tripneustus
Jenis	: <i>Tripneustus gratilla</i> Linn. (22)

II.8.2 Morfologi

Bulubabi atau Landak laut hidup di atas batu karang atau dalam lumpur pada daerah pantai atau di dasar laut pada kedalaman sampai

5000 m. Hewan ini bergerak dengan menggunakan duri yang bersendi dan kaki ambulakral. Kecuali itu kaki juga berfungsi meraba objek pada waktu berada di dasar laut.

Pada umumnya landak laut mempunyai jerohan atau viceria tersimpan dalam cangkok yang tersusun menurut 10 jajaran lempengan kapur yang tersambung bersama membentuk bola. Pada cangkok terdapat tonjolan atau tuberculum sebagai tempat persendian duri-duri. Tiap duri merupakan bentuk kristal dari CaCO_3 yang ujung pangkalnya agak melebar tempat sendi dengan tuberculum. Pangkal duri ini terikat dengan otot sehingga duri dapat digerakkan. Di antara duri terdapat tantakel. Tantakel berfungsi menjaga tubuh agar selalu bersih dan untuk menangkap makanan yang kecil-kecil.

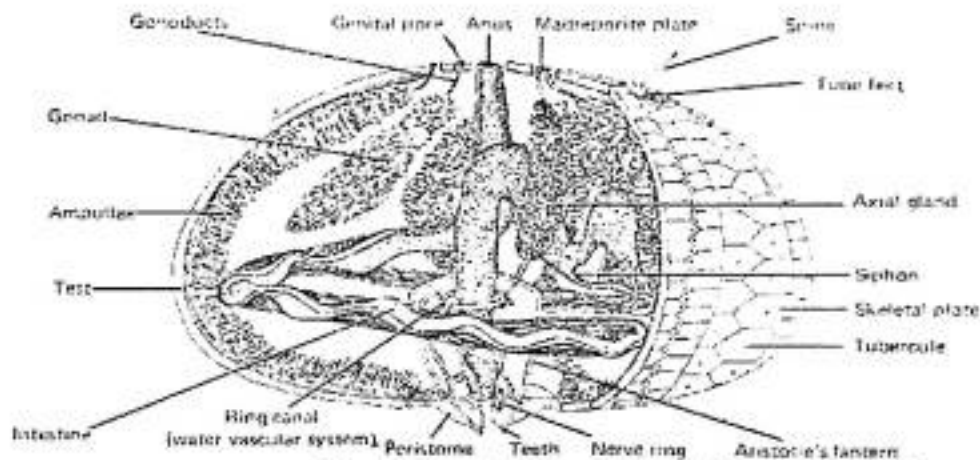
Saluran pencernaan yang panjang melingkar di dalam cangkang. Saluran pencernaan dimulai dari mulut terus ke oesophagus, lambung yang diperluas dengan kantung-kantung, intestinum yang bagian akhir disebut rectum, dan berakhir dengan anus. Pada oesophagus terdapat saluran siphon yang memiliki silia kuat yang menghubungkan oesophagus dengan intestinum.

Anus terletak di pusat tubuh pada permukaan aboral, terletak di antara lempengan kapur yang besar yang mengandung 5 atau 4 atau 2 lubang genital. Mulut yang besar terletak di daerah oral dikelilingi oleh 5 buah gigi yang kuat dan tajam. Gigi tersebut disokong oleh 5 rangka samping di sebelah dalam cangkok yang terkenal sebagai "Lentera aristoteles".



Bulubabi memiliki 10 insang yang menjorok dari membrane peritoneum. Madreporit terdapat di daerah aboral, sedang saluran cincin melingkar oesophagus dan saluran radial tetap dalam interior cangkok yang terhubung dengan kaki ambulakral. Saraf cincin melingkari mulut.

Bulubabi memiliki 5 gonad yang menempel mesenteris ke bagian permukaan aboral. Dari masing-masing gonad terdapat saluran ke lubang genital. Telur-telur dan sperma dilepaskan ke dalam air laut, kemudian terjadi pembuahan yang selanjutnya tumbuh menjadi larva plutea yang akan mengalami metamorphosis setelah 5 atau 6 minggu.



Gambar 1. Anatomi tubuh Bulubabi (21)

Semua Echinoidea membersihkan tubuh dengan jalan menggerakkan duri-duri dan tantakel. Bersama gerakan itu sisa-sisa bahan makanan dikeluarkan dari anus. Hewan ini memakan bermacam makanan di laut, misalnya hewan lain yang telah mati, organisme kecil lainnya, rumput laut, di samping itu juga mencerna lumpur atau pasir yang mengandung bahan organis (23).

BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah aerator, akuarium, bejana maserasi, chamber, mikropipet (*Socorex*), mikroskop (*Nikon*), objek gelas, kromatografi kolom cair vakum, lampu UV 254 nm dan 366 nm, oven listrik (*Memmert*), pompa vakum, rotavapour (*Buchi*), sentrifuse (*Hettich*), tabung eppendorf, timbangan analitik (*Dragon 303*), timbangan kilogram.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air laut bebas protozoa, air suling, DMSO, etil asetat, heksan, klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.), KCl 10 %, lempeng silika gel GF₂₅₄ (*E. Merck*), metanol, bulu babi (*Tripneustes gratilla* Linn.), pereaksi Dragendorf, FeCl₃ 5 %, H₂SO₄ 10 %, Sitro Borat.

III.2 Penyiapan Sampel Penelitian

III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel klika onkea diperoleh dari Kabupaten Buton, Sulawesi Tenggara.

III.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel klika onkea segar dicuci bersih, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian diserbukkan dengan alat penggiling Hummemill.

III.2.3 Ekstraksi Sampel

Sampel ditimbang sebanyak 4,5 kg kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan diekstraksi secara maserasi dengan direndam menggunakan cairan penyari metanol sebanyak 2 liter selama 5 hari sambil diaduk sekali-kali. Wadah maserasi ditutup rapat. Setelah 5 hari, ekstrak disaring tanpa diambil ampasnya. Ekstrak metanol yang telah diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan rotavapour sampai diperoleh ekstrak kental metanol.

III.2.4 Partisi dengan Etil asetat

Ekstrak kental metanol yang diperoleh dipartisi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak ditambahkan etil asetat, dilarutkan dengan bantuan vortex kemudian disentrifuge sehingga terpisah menjadi dua bagian. Bagian yang terpisah tersebut ditempatkan pada wadah yang berbeda dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak metanol yang larut etil asetat dan tidak larut etil asetat. Kedua ekstrak dimonitor profil komponen kimianya dengan KLT dan digunakan sebagai sampel uji aktivitas.

III.2.5 Fraksinasi Ekstrak Aktif

Ekstrak aktif yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antimitosis selanjutnya di KLT untuk menentukan fase gerak yang akan digunakan pada kromatografi cair vakum. Ekstrak aktif difraksinasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom cair vakum dengan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksan; n-heksan:etil asetat (15:1; 10:1; 5:1); metanol. Fase gerak tersebut berdasarkan profil KLT. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan kemudian

di KLT. Fraksi yang memiliki kesamaan profil KLT digabung. Fraksi gabungan digunakan kembali sebagai sampel uji aktivitas antimitosis dan ditentukan golongan senyawa aktifnya menggunakan beberapa macam reagen penampak noda.

III.3 Uji Aktivitas dengan Metode Uji Antimitosis Sel Telur Bulubabi

III.3.1 Penyiapan Sel telur dan Sperma Bulubabi

Bulubabi jantan dan betina diinduksi dengan menyuntikkan 1 ml KCl 10 % ke dalam bagian gonad. Sperma yang berwarna putih susu dan sel telur yang berwarna kuning keemasan ditampung pada gelas kimia yang berbeda. Setelah itu dimasukkan pada lemari pendingin. Fertilisasi dilakukan dengan cara 1 ml sperma dan 4 ml sel telur difertilkan dalam gelas kimia yang berisi 50 ml air laut bebas protozoa.

III.3.2 Pelaksanaan Uji

Ekstrak metanol, ekstrak metanol larut etil asetat dan tidak larut etil asetat masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 100 μ l DMSO kemudian ditambahkan air laut sampai 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/ml sebagai stok. Dari larutan stok ini dipipet menggunakan mikropipet ke dalam tabung eppendorff sebanyak 1, 10, dan 100 μ l. Tabung eppendorff yang telah berisi sampel ditambahkan air laut masing-masing 899 μ l, 890 μ l, dan 800 μ l. Kemudian ditambahkan sel bulu babi terfertilisasi sebanyak 100 μ l (diperoleh konsentrasi akhir larutan 1, 10 dan 100 ppm).

Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap sampel uji dan kontrol. Selanjutnya disimpan pada suhu 15-20°C dengan diselingi pengocokan. Pengamatan sel yang membelah dilakukan setelah 2 jam inkubasi. Kontrol negatif dibuat dua jenis yaitu kontrol air laut dan kontrol dengan menggunakan DMSO sebanyak 100 µl. Kontrol positif menggunakan vinkristin dengan konsentrasi 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, dan 1 µg/ml.

Hasil aktif dari pengujian pertama dikromatografi kolom cair vakum dan fraksi yang diperoleh diuji kembali. Fraksi ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 100 µl DMSO kemudian ditambahkan air laut sampai 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/ml sebagai stok. Dari larutan stok ini dipipet menggunakan mikropipet ke dalam tabung eppendorff sebanyak 0,2; 1; 5; 25 dan 125 µl. Tabung eppendorff yang telah berisi sampel ditambahkan air laut masing-masing 899,8 µl; 899 µl; 895 µl; 875 µl; 775 µl. Kemudian ditambahkan sel telur bulubabi terfertilisasi sebanyak 100 µl (diperoleh konsentrasi akhir larutan 0,2; 1; 5; 25 dan 125 ppm). Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap sampel uji dan kontrol. Selanjutnya disimpan pada suhu 15-20°C dengan diselingi pengocokan. Pengamatan sel yang membelah dilakukan setelah 2 jam inkubasi. Kontrol negatif dibuat dua jenis yaitu kontrol air laut dan kontrol dengan menggunakan DMSO sebanyak 100 µl. Kontrol positif menggunakan vinkristin dengan konsentrasi 0,01 µg/ml, 0,1 µg/ml, dan 1 µg/ml.

III.4 Identifikasi Senyawa Aktif

Fraksi aktif yang memiliki IC_{50} paling rendah ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan n-heksan:etil asetat (1:1), kemudian kromatogramnya disemprot dengan menggunakan penampak noda sebagai berikut :

1. Pereaksi H_2SO_4 10 % : Kromatogram dipanaskan pada $105^{\circ}C$ selama 10 menit dan diamati; kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, coklat, atau hitam.
2. Pereaksi Dragendorf : Akan dihasilkan warna jingga dengan latar belakang kuning untuk senyawa golongan alkaloida.
3. Pereaksi $FeCl_3$: Akan dihasilkan warna hijau atau biru untuk senyawa golongan fenol.
4. Peraksi Sitro Borat : Akan dihasilkan warna kuning untuk senyawa golongan fenolik atau flavonoid.

III.5 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah dengan analisis probit. Dihitung jumlah sel yang membelah dan yang tidak membelah kemudian dilakukan analisis probit terhadap data probit presentase penghambatan dan log konsentrasi. Aktivitas dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Hasil maserasi klika ongkea sebanyak 4,5 kg dengan pelarut metanol sebanyak 2 liter diperoleh 37,5 g ekstrak kental metanol. Sebanyak 21,7 g ekstrak kental metanol dipartisi dengan pelarut etil asetat, diperoleh 3,28 g ekstrak larut etil asetat dan 17,4 g ekstrak tidak larut etil asetat.

Masing-masing ekstrak sebanyak 10 mg ditimbang dan dibuat pengencerannya sesuai perhitungan, diuji aktivitas antimitotiknya yaitu dari ekstrak metanol, ekstrak metanol larut etil asetat dan tidak larut etil asetat, menunjukkan bahwa yang paling aktif adalah ekstrak metanol larut etil asetat dengan $IC_{50} = 2.69 \mu\text{g/ml}$, sedangkan ekstrak metanol dan fraksi yang tidak larut etil asetat memiliki IC_{50} masing-masing 1221.68 $\mu\text{g/ml}$ dan 15.15 $\mu\text{g/ml}$, untuk kontrol positif vinkristin memiliki IC_{50} 0.183 $\mu\text{g/ml}$.

Ekstrak metanol larut etil asetat sebanyak 2 g kemudian dikromatografi cair vakum dan diperoleh 7 fraksi yang kemudian digabung menjadi 3 fraksi. Fraksi gabungan tersebut selanjutnya diuji kembali aktivitas antimitotiknya terhadap pembelahan sel telur bulubabi. Dari hasil pengujian diperoleh bahwa fraksi III yang memiliki aktivitas antimitotik paling tinggi dengan $IC_{50} = 1.33 \mu\text{g/ml}$ sedangkan IC_{50} untuk fraksi I dan II masing-masing 7.39 $\mu\text{g/ml}$ dan 7.48 $\mu\text{g/ml}$, kontrol positif vinkristin memiliki IC_{50} 0.198 $\mu\text{g/ml}$.

Analisis dengan kromatografi lapis tipis terhadap fraksi III hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak metanol larut etil asetat dengan berbagai penampak noda terdapat dalam tabel 1.

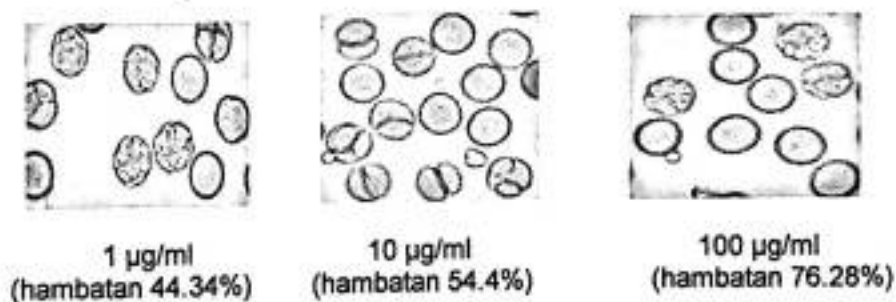
Tabel 1. Hasil Analisis KLT Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat dengan Berbagai Penampak Noda

Sampel	Rf	Penampak noda					
		UV 254 nm	UV 366 nm	H ₂ SO ₄ 10 %	Dragendorff	FeCl ₃ 5%	Sitro Borat + UV 366 nm
Fraksi III	0,33	Ungu	Biru	Ungu	-	Biru	Biru
	0,59	Ungu	Biru	-	-	-	-
	0,73	Ungu	Ungu	Hijau	-	Biru	Biru
	0,79	-	Biru	Ungu	-	-	Biru
	0,89	Hijau	Orange	Hijau	-	Hijau	-
	0,92	-	Orange	Coklat	-	-	Orange

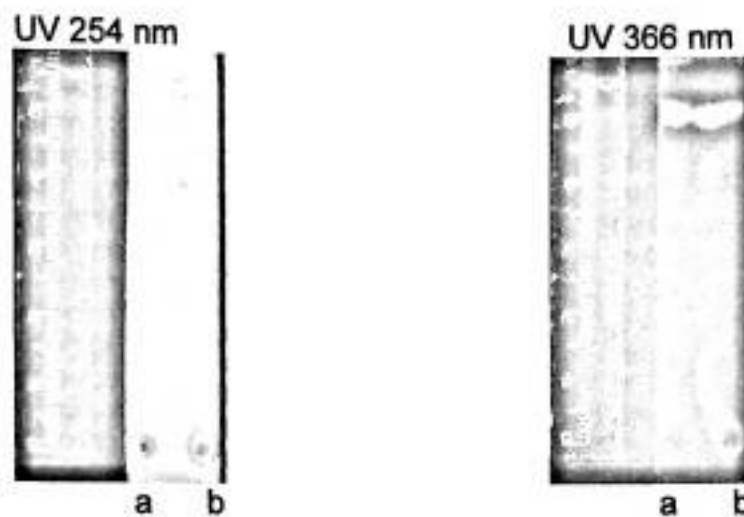
IV.2 Pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan fraksinasi ekstrak metanol klica ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dan dilakukan uji antimitosis pada setiap tahap pengerjaan sehingga diperoleh fraksi aktif antimitosis dari ekstrak tanaman ini. Sampel diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Sebelum diekstraksi, sampel berupa klica diserbukkan terlebih dahulu yang dimaksudkan untuk memperbesar luas permukaan sehingga kontak antara cairan penyari dan sampel lebih besar. Sampel dimaserasi dengan pelarut metanol untuk menyari komponen kimia baik polar maupun nonpolar.

Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipartisi dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan metode padat-cair dan diperoleh ekstrak metanol yang larut dan yang tidak larut etil asetat. Tujuan partisi padat-cair agar memisahkan senyawa polar dan non polar berdasarkan kelarutan dan tingkat kepolarannya. Ekstrak metanol dan kedua ekstrak hasil partisi tersebut kemudian diuji aktivitas antimitotiknya. Ekstrak metanol larut etil asetat menunjukkan aktivitas antimitosis paling besar dengan IC_{50} 2.69 $\mu\text{g/ml}$ dibanding kontrol positif vinkristin memiliki IC_{50} 0.183 $\mu\text{g/ml}$. Penentuan IC_{50} untuk mengetahui efek antimitosis dari ekstrak metanol dan fraksi-fraksi pemisahan klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dengan kontrol negatif air laut dan DMSO serta kontrol positif vinkristin yang dalam hal ini dilakukan terhadap sel telur bulubabi. Pengamatan ini dilakukan setelah inkubasi 2 jam dengan menghitung jumlah sel yang membelah dan tidak membelah.



Gambar 2. Pembelahan sel telur bulubabi setelah pemberian ekstrak metanol larut etil asetat klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)



Gambar 3. Profil KLT ekstrak metanol larut dan tidak larut etil asetat

Keterangan :

a : Ekstrak metanol tidak larut etil asetat

b : Ekstrak metanol larut etil asetat

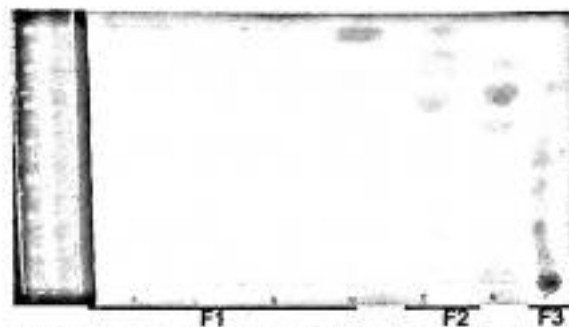
Fase diam = SiO_2

Fase gerak = n-heksan : EtoAc (4:1)

Dari hasil KLT ekstrak metanol larut etil asetat diperoleh tiga spot sehingga untuk pemisahan komponen kimianya dipilih metode kromatografi cair vakum. Metode ini baik untuk memisahkan komponen kimia yang jumlahnya sedikit dalam ekstrak dan hasilnya cepat diperoleh karena dibantu dengan tekanan dari pompa vakum. Silika gel halus digunakan sebagai fase diam dengan beberapa perbandingan eluen sebagai fase gerak. Eluen yang digunakan berdasarkan profil KLT yaitu n-heksan, n-heksan:etil asetat (15:1), (10:1), (5:1) dan terakhir dengan metanol. Penggunaan eluen n-heksan:etil asetat dengan berbagai variasi perbandingan karena diharapkan komponen kimia terelusi sedikit demi sedikit sehingga proses pemisahannya lebih baik.

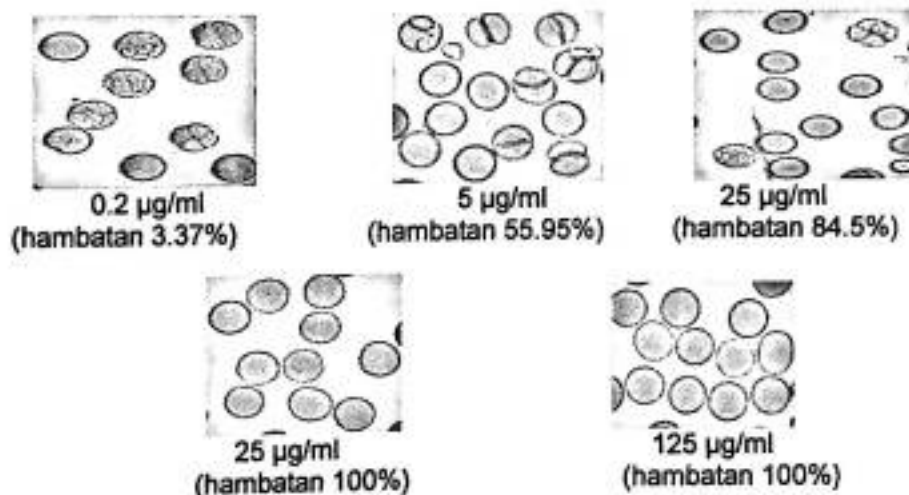


Hasil pemisahan dengan metode kromatografi cair vakum diperoleh 7 fraksi dan selanjutnya tujuh fraksi tersebut diKLT, berdasarkan kesamaan noda pada KLT maka digabung sehingga diperoleh 3 fraksi.



Gambar 4. Profil KLT hasil kromatografi cair vakum ekstrak metanol larut etil asetat (fase diam = SiO_2 , fase gerak = n-heksan: EtoAc (4:1))

Hasil uji antimitosis terhadap 3 fraksi gabungan yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi III memiliki IC_{50} paling tinggi yaitu $1.33 \mu\text{g/ml}$, jika dibandingkan dengan fraksi I dan fraksi II yang masing-masing memiliki nilai IC_{50} $7.39 \mu\text{g/ml}$ dan $7.48 \mu\text{g/ml}$.



Gambar 5. Pembelahan sel telur bulubabi setelah pemberian fraksi III hasil KCV ekstrak metanol larut etil asetat klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

Identifikasi senyawa dengan kromatografi lapis tipis terhadap fraksi 3 menunjukkan ada 4 noda pada sinar UV 254 nm dan 6 noda pada sinar UV 366 nm. Dengan reagen semprot H_2SO_4 10 % menunjukkan 2 noda berwarna ungu, 2 noda berwarna hijau dan 1 noda berwarna coklat, sedangkan dengan reagen semprot Dragendorf tidak ada noda yang tampak. Penampak noda dengan FeCl_3 5 % menunjukkan 2 noda berwarna biru dan 1 noda berwarna hijau sehingga diduga mengandung senyawa golongan fenolik, dengan reagen semprot Sitro Borat menunjukkan tiga noda yang terlihat jelas berwarna biru, menunjukkan hasil yang diduga sebagai senyawa golongan fenolik yang memiliki gugus orto dihidroksi. Pereaksi Sitro Borat ini menjembatani kedua gugus hidroksil pada gugus orto dihidroksi sehingga dapat dideteksi dan spesifik terdeteksi hanya untuk gugus orto.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) memiliki efek antimitosis terhadap sel telur bulubabi terfertilisasi.
2. Ekstrak metanol larut etil asetat menghambat pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi dengan $IC_{50} = 2.69 \mu\text{g/ml}$, sedangkan ekstrak metanol tidak larut etil asetat $IC_{50} = 15.15 \mu\text{g/ml}$.
3. Fraksinasi ekstrak metanol larut etil asetat diperoleh 3 fraksi gabungan. Fraksi 3 menunjukkan aktivitas paling besar terhadap pembelahan sel telur bulubabi dengan $IC_{50} = 1.33 \mu\text{g/ml}$.
4. Fraksi 3 mengandung senyawa golongan fenolik yang memiliki gugus orto dihidroksi.

V.2 Saran

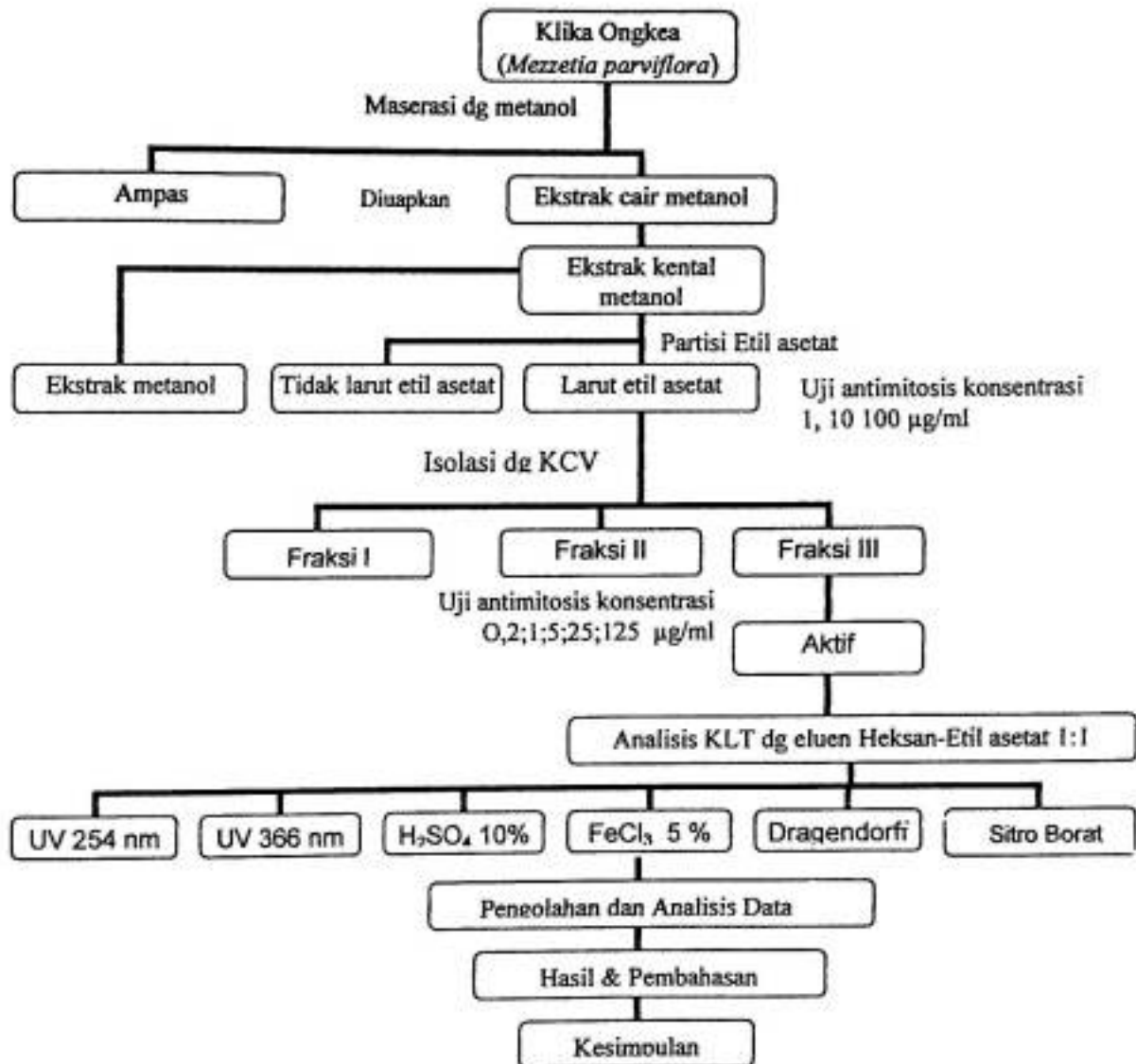
Penelitian ini perlu dilanjutkan untuk memperoleh isolat senyawa aktif dari klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dan mengidentifikasi senyawa aktif hasil isolasi tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

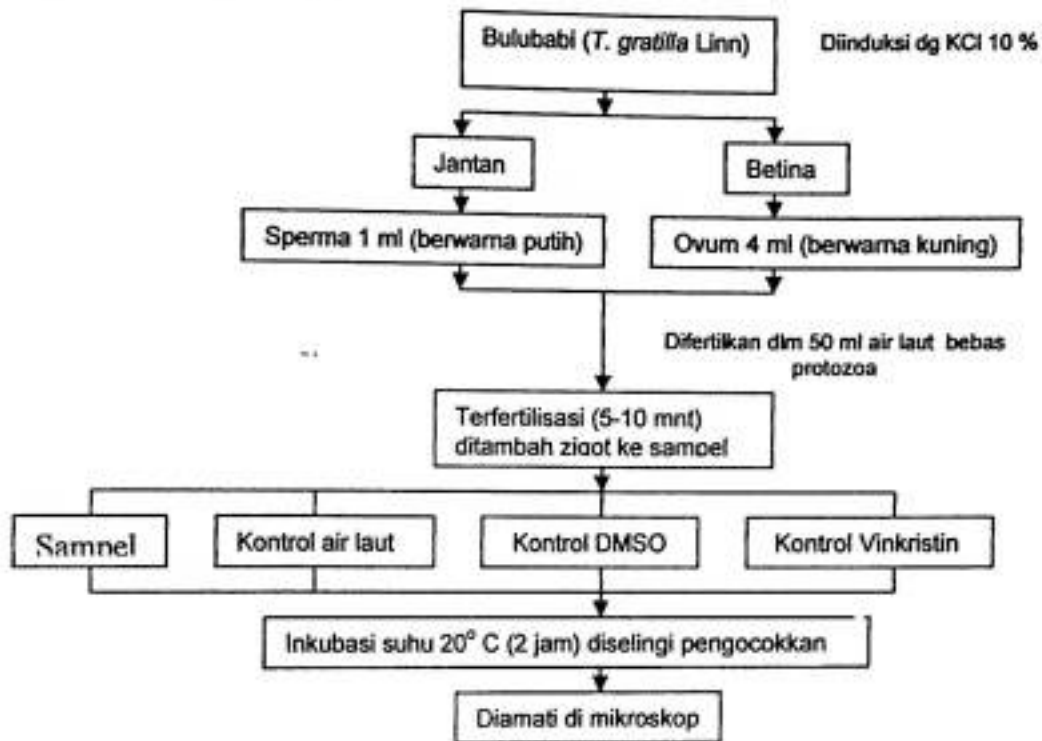
1. Ganiswama, S.G., dkk. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. FK UI. Jakarta. 686.
2. Farnsworth, N.R. 1996. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *Journal of Pharmaceutical Sciences* . Vol 54 : 6. 225-236.
3. Hakim, E.H., Achmad, S.A., Makmur, L., Mujahidin, D., dan Syah, Y.M. 2001. Profil Kimia Annonaceae. *Bull Soc. Nat. Prod. Chem. (Indonesia)*. Vol I : 1. Januari-Juni 2001.
4. BPPT. 2005. Kandungan Senyawa Kimia *Annona muricata* dan *Annona squamosa*. [www. ipteknet.ac.id/survey/survey.html](http://www.ipteknet.ac.id/survey/survey.html). diakses 3 Oktober 2006.
5. Mae, S.H.W., Mubarika, S., Ibnu Ganjar, G., Wahyuono, S. 2003. Pencarian Senyawa Antikanker Dari Bahan Alam. *Majalah Obat Tradisional*. Vol.8.No.26.: 1-3
6. Dinnel, P. A., J.M. Link & Q. J. Stober. 1987. Improved Methodology for Sea Urchin Sperm Cell Bioassay for Marine Waters. *Archieves of Environmental Contamination and Toxycology*. 16 : 288.
7. Malpezzi ELA, Davino SC, Costa LV, Freitas JC, Giesbrecht AM & Roque NF. 1994. Antimitotic Action of Extracts of *Petiveria alliacea* on Sea Urchin Egg Development. *Brazilian Journal of Medica and Biological Research*. Vol 27. 749.
8. Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Cetakan ke-1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta. 771.
9. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Edisi II. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bhakti Husada. Jakarta. 2, 7, 10, 32.
10. Sudjadi. 1988. Metode Pemisahan. Edisi I. Kanisus. Yogyakarta. 60.
11. Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan. Edisi Pertama. Cetakan Pertama. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 9.

12. Gritter, R.J., Bobbits, J.M. Schwarting, A.E. 1991. Pengantar Kromatografi. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata & Iwan Sudiro. Penerbit ITB. Bandung. 6.
13. Stahl, E. 1985. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 73.
14. Hostettmann, K.M., Marston. A. 1985. Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 33-34.
15. Meyer, B.N. 1982. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Drug Information Journal*. Vol. 32. 513-524.
16. Loomis, T.A. 1978. Toksikologi Dasar. Edisi III. Penerjemah Imono Argo. IKIP Semarang Press. 4, 6-21.
17. Casarret, L.J., Doul, J. 1975. Toxicology, The Basic Science of Poison. First Edition. Mac Millan Publishing. Co. Inc. New York. 7-21.
18. Anderson, J.E., Goetz, C.M., Mc Laughlin, J.L. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. in *Natural Product Chemistry*. Editor : Elsevier. Amsterdam. 1.
19. Kimball, J.W. 1983. *Biologi*. Terjemahan oleh H. Siti Soetarni Tjitrosoepomo & Nawangsari Sugiri. 1992. Erlangga. Jakarta. 418.
20. Rahman, A. 2001. *Bioassay Techniques For Drug Development*. Harword academic Publisher. Australia. 39-41.
21. Sumich, J.L. & Dudle, G.H. 1992. Laboratory and Field Investigation In Marine Biology. Ed.4. W.M.C Brown Publishers. 106.
22. Radiopoetra. 1983. Zoologi. Cetakan Kedua. Erlangga. Jakarta. 391-385.
23. Jasin, M. 1992. Zoologi Invertebrata. Sinar Wijaya. Surabaya. 265-267.
24. Sukardja, I.D. 2000. Onkologi Klinik. Edisi 2. Airlangga University Press. Surabaya. 41-44.

Lampiran. 1

Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.)

Lampiran. 2

Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antimitosis dengan Sel Telur Bulubabi (*Tripneustus gratilla*)

raperi Z. Hasil pengamatan pembelahan sel telur *Bulubabi (Tripneustus gratilla)* setelah 2 jam perlakuan pada ekstrak metanol, ekstrak metanol larut dan tidak larut etil asetat klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

Konsentrasi	Replikasi	Ekstrak metanol			Ekstrak metanol larut etil asetat			Ekstrak metanol tidak larut etil asetat		
		Jumlah sel membelah (x)	Jumlah sel tidak membelah (y)	% penghambatan	Jumlah sel membelah (x)	Jumlah sel tidak membelah (y)	% penghambatan	Jumlah sel membelah (x)	Jumlah sel tidak membelah (y)	% penghambatan
1 (µg/ml)	1	178	143	44,54	86	80	43,22	112	64	36,36
	2	141	96	40,5	121	116	48,95	164	114	41
	3	219	141	39,2	139	96	40,85	182	135	42,59
% penghambatan rata-rata				36,75			44,34			39,98
10 (µg/ml)	1	155	113	42,16	130	139	51,67	105	98	48,28
	2	128	91	41,5	82	110	57,29	96	92	48,94
	3	113	78	40,84	54	64	54,24	84	83	49,7
% penghambatan rata-rata				41,5			54,4			48,97
100 (µg/ml)	1	92	80	46,51	53	174	76,65	81	145	64,16
	2	158	136	46,26	92	186	70	66	88	58,67
	3	98	76	43,67	53	167	75,91	97	103	51,5
% penghambatan rata-rata				45,48			76,28			58,11



Tabel 3. Hasil Pengamatan Kontrol Negatif

	Replikasi	Jumlah membelah (sel)	Jumlah tidak membelah (sel)	% penghambatan
Kontrol air laut	1	77	0	0
	2	99	0	0
	3	87	0	0
% penghambatan rata-rata				0
Kontrol DMSO	1	72	0	0
	2	69	0	0
	3	67	0	0
% penghambatan rata-rata				0

Tabel 4. Hasil Pengamatan Kontrol Positif

Konsentrasi Vinkristin	Replikasi	Jumlah membelah (sel)	Jumlah tidak membelah (sel)	% penghambatan
0,01 $\mu\text{g/ml}$	1	42	1	2,38
	2	68	2	2,94
	3	5	1	2,5
% penghambatan rata-rata				2,6
0,1 $\mu\text{g/ml}$	1	84	5	7,69
	2	57	4	7,01
	3	74	6	7,5
% penghambatan rata-rata				7,4
1 $\mu\text{g/ml}$	1	0	52	100
	2	4	42	91,30
	3	0	70	100
% penghambatan rata-rata				97,1

Tabel 5. Hasil Perhitungan IC₅₀ Menurut Metode Grafik Probit Log Konsentrasi

Nama Sampel	% penghambatan rata-rata	Log Konsentrasi (X)	Probit (Y)	Pers. Garis	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak metanol	36.75	0	4.64	$y = 4.645 + 0.115x$ $r = 0.9944$	1221.67
	41.5	1	4.77		
	45.48	2	4.87		
Larut Etil asetat	44.34	0	4.89	$y = 4.823 + 0.41x$ $r = 0.9265$	2.69
	54.4	1	5.1		
	76.28	2	5.71		
Tidak larut Etil asetat	39.98	0	4.72	$y = 4.716 + 0.24x$ $r = 0.9994$	15.15
	48.97	1	4.95		
	58.11	2	5.2		
Vinkristin	2.6	-2	3.05	$y = 6.413 + 1.919x$ $r = 0.918$	0.183
	7.4	-1	3.54		
	97.1	0	6.89		

Perhitungan IC₅₀ ekstrak metanol larut etil asetat

Persamaan garis linear :

$$y = a + bx$$

y = Persentase penghambatan pembelahan sel dalam satuan probit

x = Log-konsentrasi subfraksi I

a = Intersep

b = Kemiringan

Berdasarkan hasil perhitungan regresi diperoleh :

$$a = 4.823$$

$$b = 0.41$$

$$r = 0.9265$$

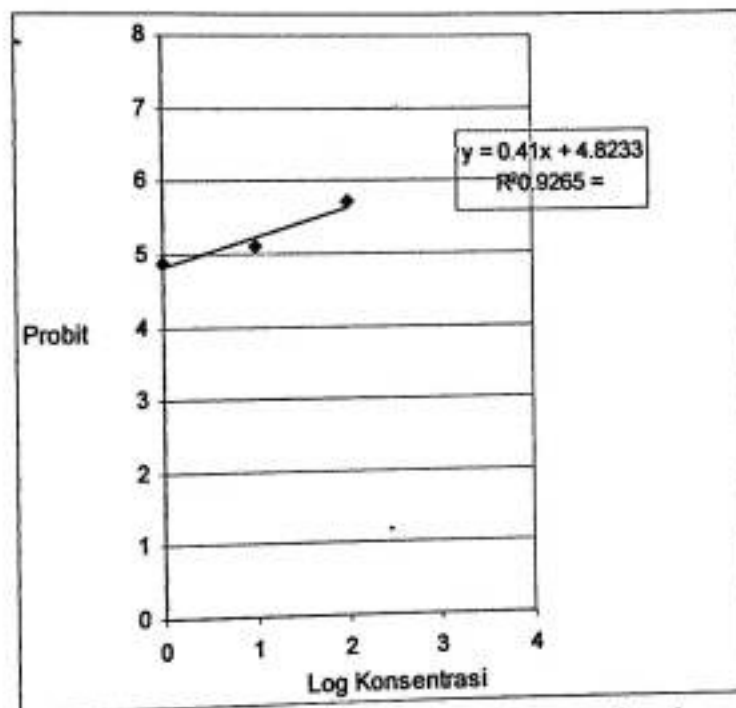
Sehingga diperoleh persamaan regresi :

$$y = 4.823 + 0.41 x$$

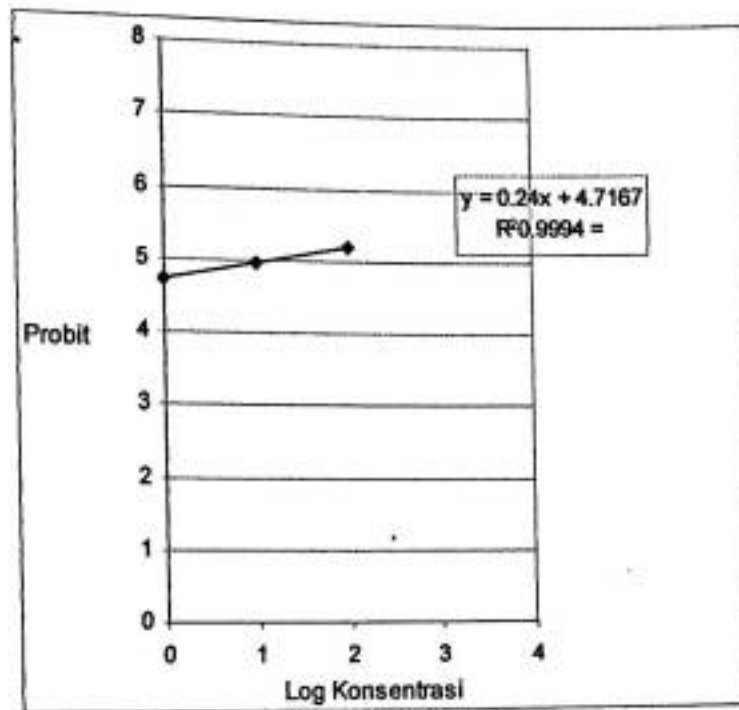
Untuk $\log IC_{50}$ $y = 5$, maka

$$x = \frac{5 - 4,823}{0,41} = 1.418$$

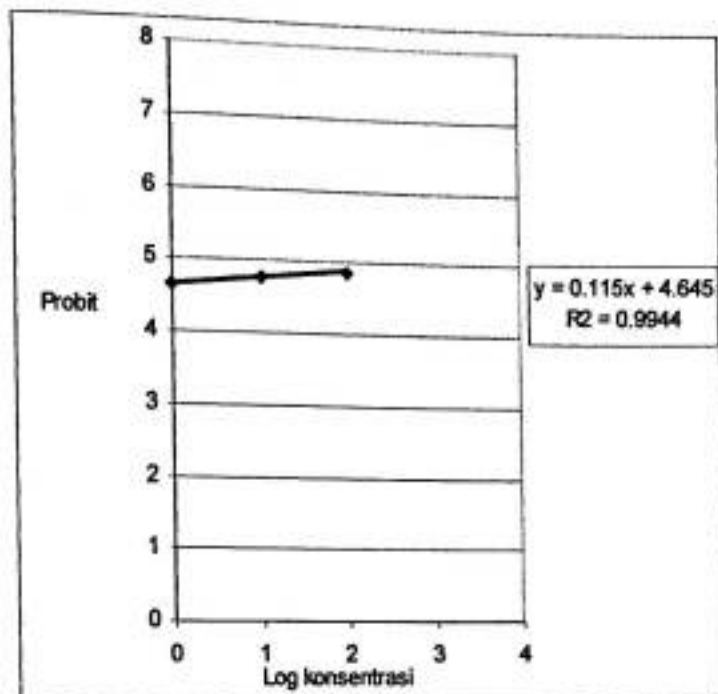
Sehingga $IC_{50} = 2.69 \mu\text{g/ml}$



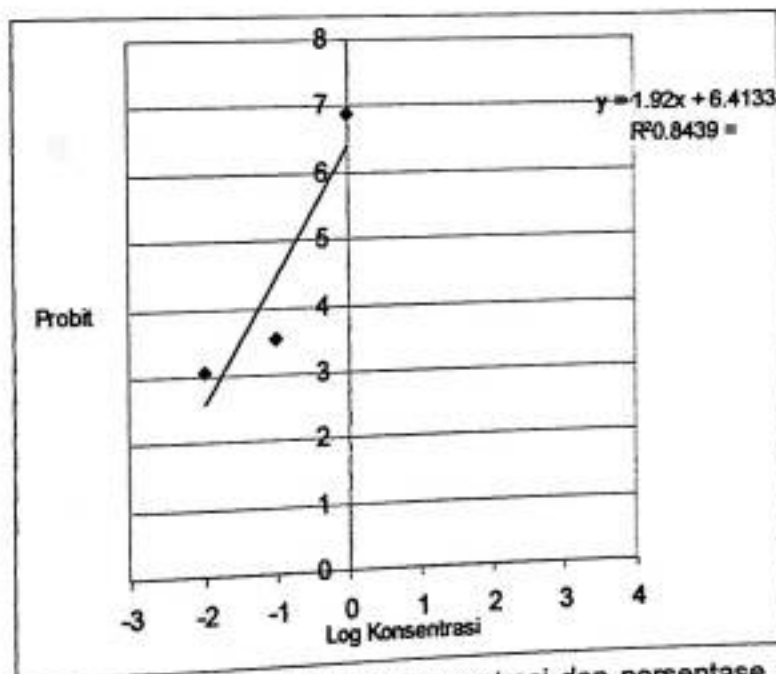
Gambar 6. Kurva hubungan antara log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi dengan ekstrak metanol larut etil asetat



Gambar 7. Kurva hubungan antara log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi dengan ekstrak metanol tidak larut etil asetat



Gambar 8. Kurva hubungan antara log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi ekstrak metanol



Gambar 9. Kurva hubungan antara log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi dengan vinkristin

Konsentrasi	Replikasi	Jumlah sel membelah (x)	Jumlah sel tidak membelah (y)	% penghambatan	Jumlah sel membelah (x)	Jumlah sel tidak membelah (y)	% penghambatan	Jumlah sel membelah (x)	Jumlah sel tidak membelah (y)	% penghambatan
125 ($\mu\text{g/ml}$)	1	133	35	20,8	52	84	61,76	0	157	100
	2	151	41	21,4	68	98	59	0	278	100
	3	147	40	21,3	36	180	83,3	0	264	100
		% penghambatan rata-rata		21,2			69,02			100

Tabel 7. Hasil Pengamatan Kontrol Negatif

	Replikasi	Jumlah membelah (sel)	Jumlah tidak membelah (sel)	% penghambatan
Kontrol air laut	1	78	0	0
	2	92	0	0
	3	90	0	0
% penghambatan rata-rata				0
Kontrol DMSO	1	67	0	0
	2	72	0	0
	3	69	0	0
% penghambatan rata-rata				0

Tabel 8. Hasil Pengamatan Kontrol Positif

Konsentrasi Vinkristin	Replikasi	Jumlah membelah (sel)	Jumlah tidak membelah (sel)	% penghambatan
0,01 $\mu\text{g/ml}$	1	43	1	2,27
	2	69	2	2,81
	3	57	2	3,39
% penghambatan rata-rata				2,82
0,1 $\mu\text{g/ml}$	1	84	7	7,7
	2	57	5	8,1
	3	74	5	6,32
% penghambatan rata-rata				7,37
1 $\mu\text{g/ml}$	1	4	52	92,86
	2	2	42	95,45
	3	0	70	100
% penghambatan rata-rata				96,1

Tabel 9. Hasil Perhitungan IC₅₀ Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Larut Etil asetat

Nama Sampel	% penghambatan rata-rata	Log Konsentrasi (X)	Probit (Y)	Pers. Garis	IC ₅₀ (µg/ml)
Fraksi I	21.2	2.0969	4.19	y = 0.0701x + 4.029 r = 0.8909	7.11
	19.3	1.3979	4.12		
	17.5	0.6989	4.05		
	17.3	0	4.05		
	9.2	-0.6989	3.66		
Fraksi II	69.02	2.0969	4.77	y = 0.1459x + 4.398 r = 0.9031	7.48
	32.43	1.3979	4.53		
	30.87	0.6989	4.48		
	27.91	0	4.39		
	25.9	-0.6989	4.33		
Fraksi III	100	2.0969	-	y = 2.053x + 4.746 r = 0.9492	1.33
	100	1.3979	-		
	84.5	0.6989	5.99		
	55.95	0	5.13		
	3.37	-0.6989	3.12		
Vinkristin	2.82	-2	3.12	y = 1.815x + 6.2783 r = 0.8315	0.198
	6.32	-1	3.52		
	96.1	0	6.75		

Perhitungan IC₅₀ fraksi Iii

Persamaan garis linear :

$$y = a + bx$$

y = Persentase penghambatan pembelahan sel dalam satuan probit

x = Log-konsentrasi subfraksi I

a = Intersep

b = Kemiringan

Berdasarkan hasil perhitungan regresi diperoleh :

$$a = 4.746$$

$$b = 2.053$$

$$r = 0.9492$$

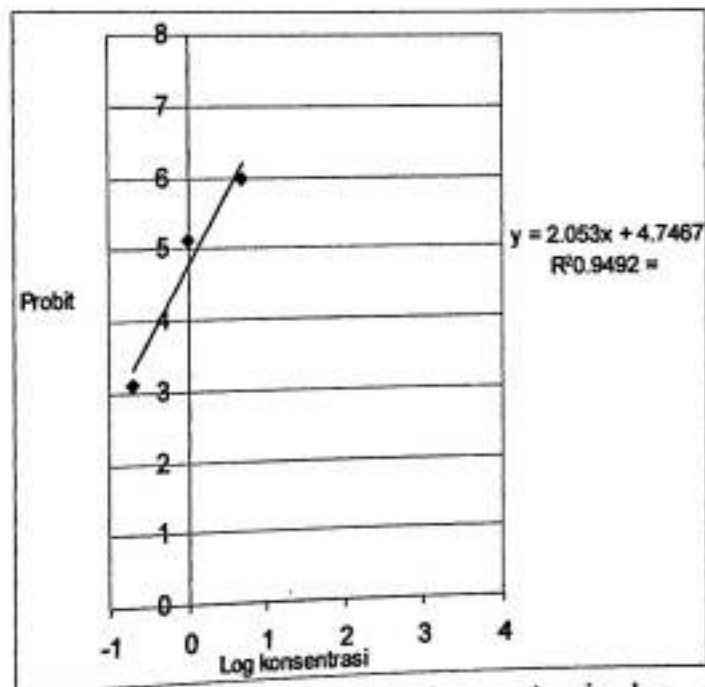
Sehingga diperoleh persamaan regresi :

$$y = 4.746 + 2.053 x$$

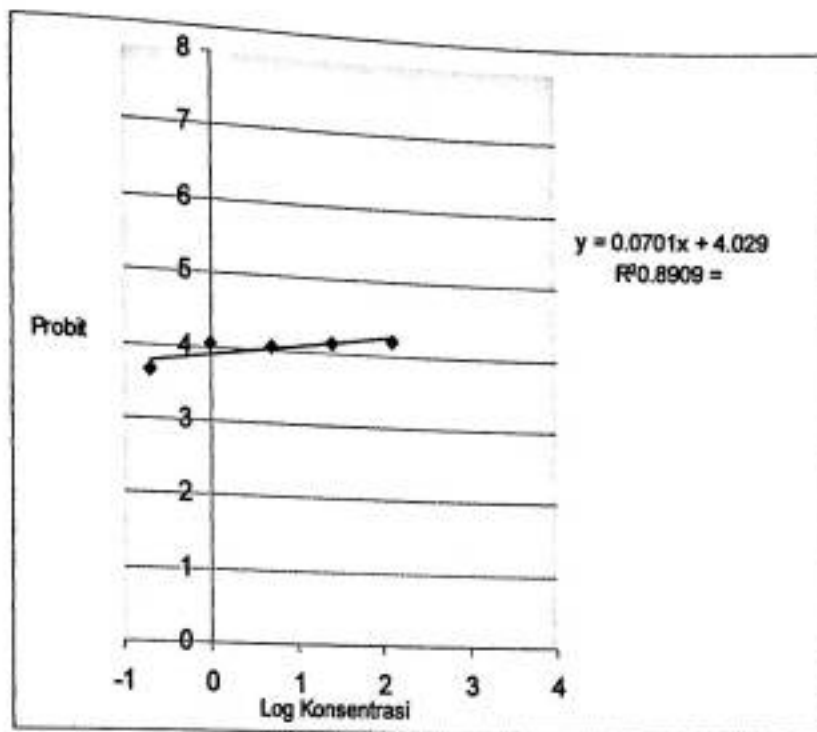
Untuk $\log IC_{50}$ $y = 5$, maka

$$x = \frac{5 - 4.746}{2.053} = 0.124$$

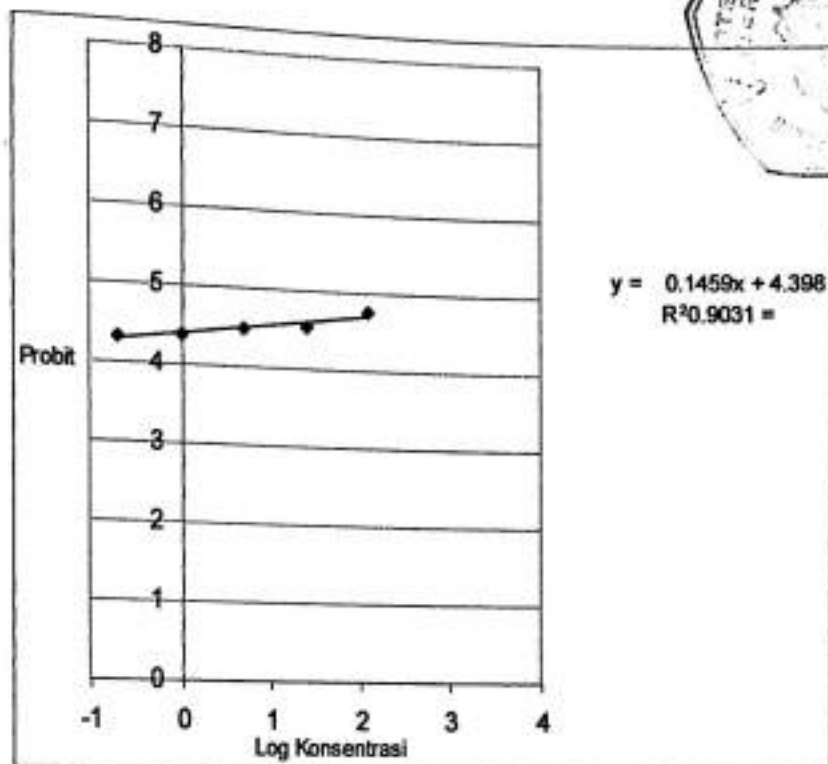
Sehingga $IC_{50} = 1.33 \mu\text{g/ml}$



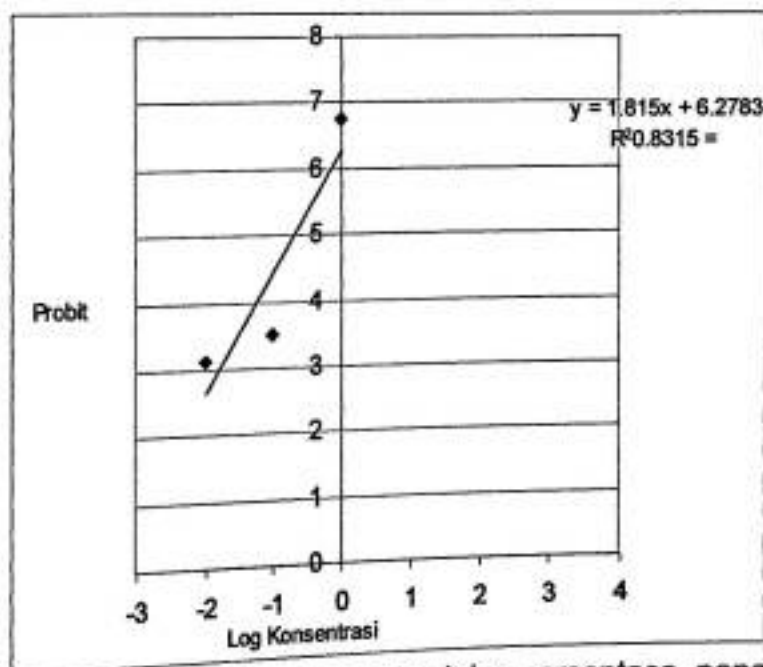
Gambar 10. Kurva hubungan antara log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi fraksi III hasil fraksinasi ekstrak metanol larut etil asetat



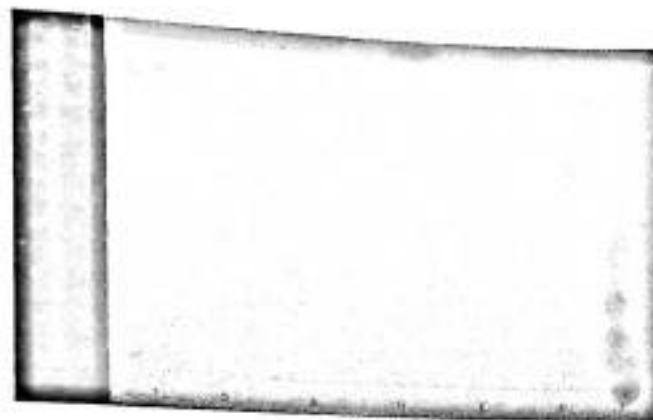
Gambar 11. Kurva hubungan antara log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi fraksi I hasil fraksinasi ekstrak metanol larut etil asetat



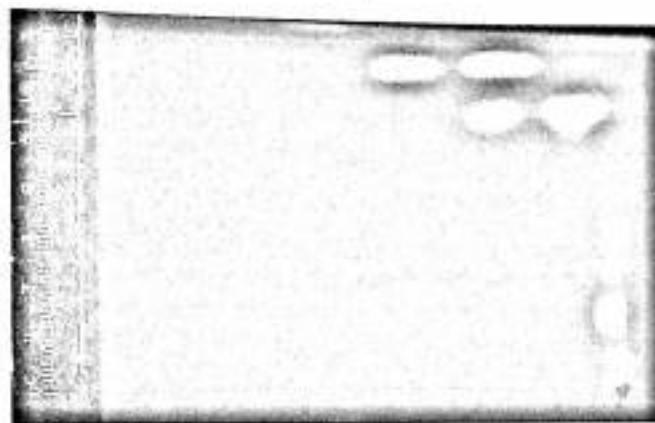
Gambar 12. Kurva hubungan antara log-konsentrasi persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi fraksi II hasil fraksinasi ekstrak metanol larut etil asetat



Gambar 13. Kurva hubungan log-konsentrasi dan persentase penghambatan pembelahan sel telur bulubabi terfertilisasi dengan vinkristin



(a)



(b)



(c)

Gambar 14. Profil KLT hasil kromatografi cair vakum ekstrak metanol larut etil asetat

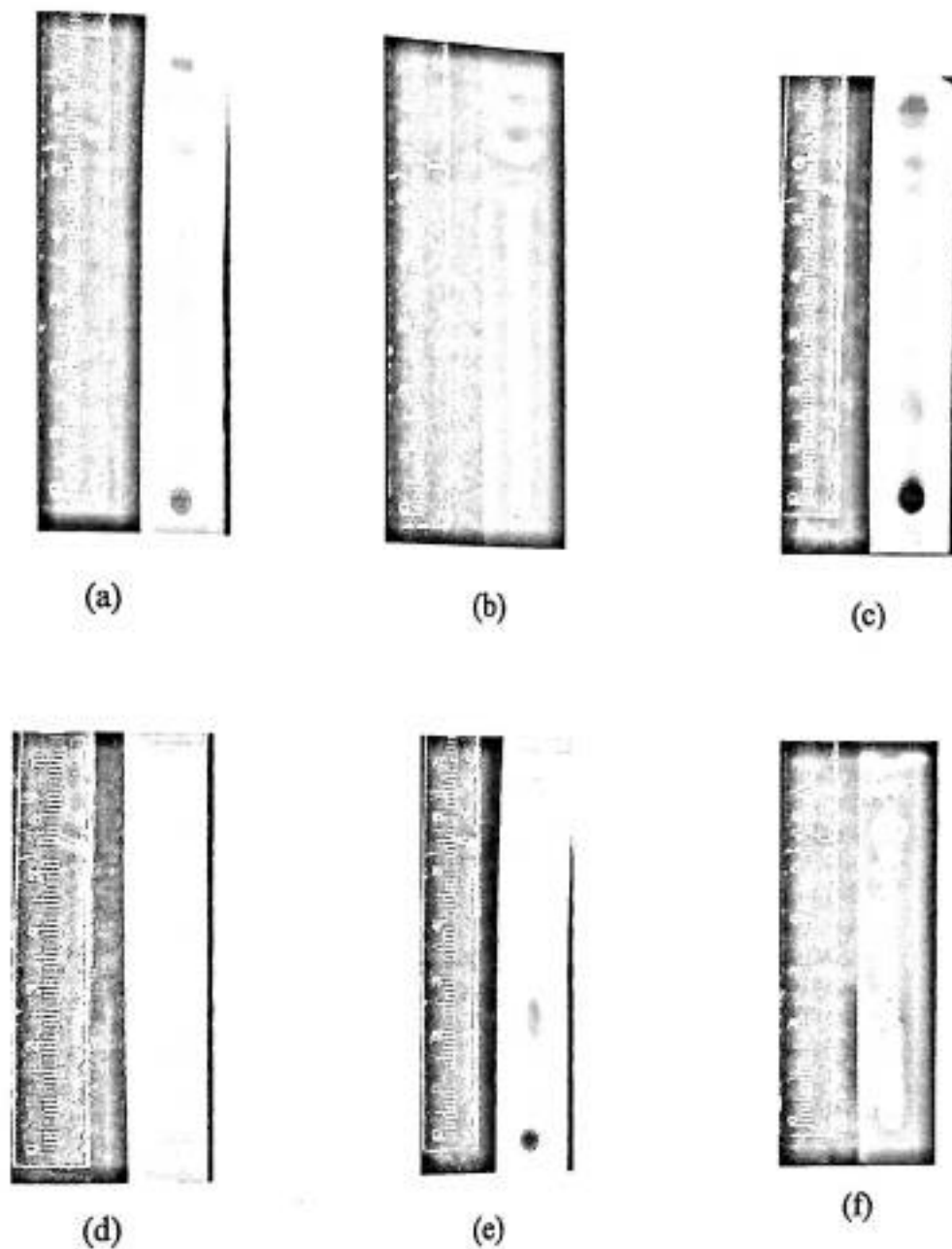
Keterangan :

Fase diam = SiO_2 ; fase gerak = heksan: etil asetat (1:1)

(a) UV 254 nm

(b) UV 366 nm

(c) H_2SO_4 10 %



Gambar 15. KLT Fraksi III hasil fraksinasi kromatografi cair vakum ekstrak metanol larut etil asetat

Keterangan :

Fase Gerak : Heksan : Etil asetat (1:1)

Fase Diam : Lempeng KLT 60 PF₂₅₄

(a) UV 254 nm (c) H₂SO₄ 10 %

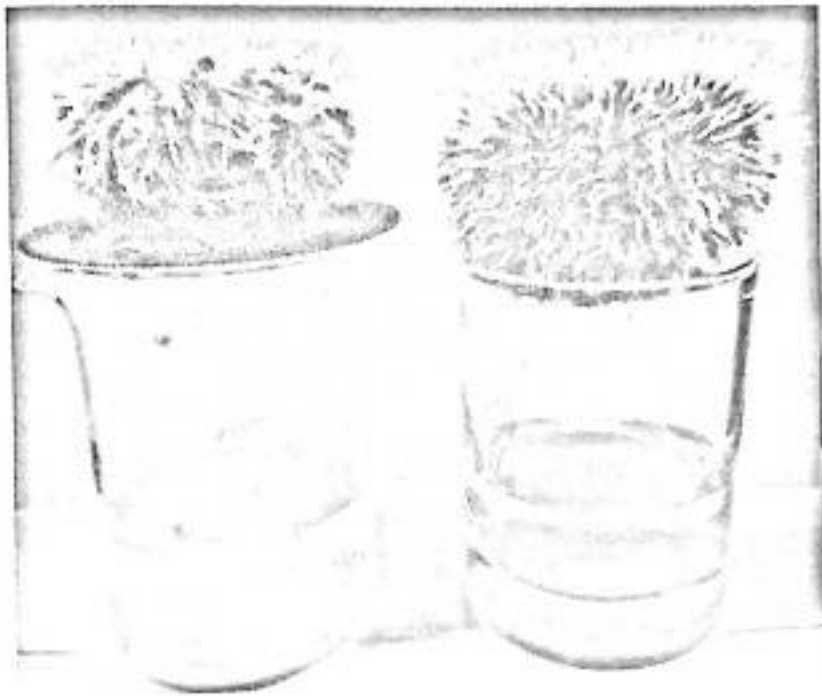
(b) UV 366 nm (d) Reagen Dragendorff

(e) FeCl₃

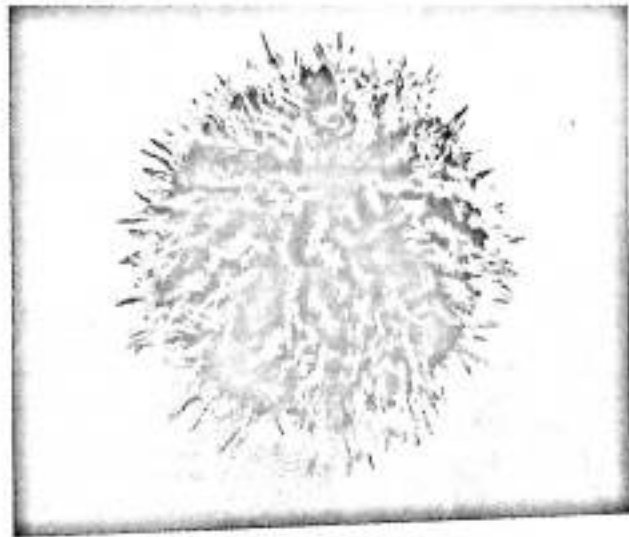
(f) Sitro Borat dan UV 366 nm



Gambar 16. Foto Tanaman Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)



Gambar 17. Pengambilan sperma dan ovum dari Bulubabi (*Tripneustus gratilla* Linn.)



Gambar 18. Bulubabi (*Tripneustus gratilla* Linn.) tampak bawah



Gambar 19. Bulubabi (*Tripneustus gratilla* Linn.) tampak atas

...



LIPI

LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16002, Indonesia P.O Box 208 Bogor
Telp. (0251) 321038 - 321041 Fax. 325854

Bogor, 30 September 2005

Nomor : 847 /IPH.1.02/If.8/2005
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Afrida Udu**
Fak. Farmasi Univ. Muslim Indonesia
Stambuk : 150 210 049
Jl. Perintis Kemerdekaan 3. BTN ANTARA A17/7
Makassar 90245

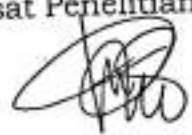
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	-	<i>Mezzettia parviflora</i> Becc.	Annonaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Pjh. Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Dr. Ir. Praptiwi, M.Agr.
NIP. 320004936

Lampiran Surat No. : Tanggal Oktober 2005
Tentang : hasil Identifikasi/determinasi Tumbuhan

Klasifikasi dari *Mezzettia parviflora* Becc.

Divisio : Spermatophyta
Class : Angiospermae
Subclass : Dicotyledonae
Ordo : Ranales
Family : Annonaceae
Genus : Mezzettia
Species : *Mezzettia parviflora* Becc.

Sumber :
Keng, H. 1978 Order and Families of Malayan Seed Plants. Singapore University Press, Singapore