

**KAJIAN METABOLIT SEKUNDER
KAYU BATANG PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn.)
SEBAGAI ANTI TUMOR LEUKEMIA P-388**

**STUDY OF SECONDARY METABOLITES
IN STEM WOOD OF *PALIASA* (*Kleinhovia hospita* Linn.)
AS ANTI TUMOR OF P-388 LEUKEMIA**

IMRAN GAFFAR



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

KAJIAN METABOLIT SEKUNDER
KAYU BATANG PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn.)
SEBAGAI ANTI TUMOR LEUKEMIA P-388

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi S3

Ilmu Kimia

Disusun dan diajukan oleh

IMRAN GAFFAR

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2009

DISERTASI

**KAJIAN METABOLIT SEKUNDER
KAYU BATANG PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn.)
SEBAGAI ANTI TUMOR LEUKEMIA P-388**

Disusun dan diajukan oleh

IMRAN GAFFAR

Nomor Pokok P0700303005

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 27 Pebruari 2009
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasihat,

Prof. Dr. H. Alfian Noor, M.Sc
Promotor

Prof. Dr. Tjodi Harlim
Kopromotor

Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S
Kopromotor

Mengetahui,
Ketua Program Studi S3
Ilmu Kimia ,

Prof. Dr. H. M. Noor Jalaluddin

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,

Prof. Dr. H. Alfian Noor, M.Sc

Prof. Dr. dr. A. Razak Taha, M.Sc

KATA PENGANTAR

Puji syukur yang sangat mendalam penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia serta izin-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan perkuliahan Program Studi Kimia S3, penelitian dan penulisan disertasi ini.

Pada kesempatan ini dengan penuh rasa hormat penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih yang sangat tulus kepada:

1. Prof. Dr. H. Alfian Noor, M.Sc sebagai promotor, yang telah memberikan waktu dan pikirannya dalam memberikan saran, bimbingan dan arahan yang amat berharga dan bermanfaat bagi penulis mulai dari persiapan penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian, penulisan karya ilmiah, dan hingga penulisan disertasi. Begitupula bantuan fasilitas dan penggunaan laboratorium Kimia Radiasi pada penulis selama pelaksanaan penelitian.
2. Prof. Dr. Tjodi Harlim sebagai kopromotor yang telah memberikan motivasi, gagasan dan saran-saran bagi penulis sejak penyusunan proposal hingga penulisan disertasi.
3. Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS sebagai kopromotor, yang dengan penuh perhatian telah memberikan saran, bimbingan dan masukan yang sangat bermanfaat sejak penyusunan proposal sampai penyelesaian disertasi. Kesabaran beliau membimbing penulis dalam penelitian di laboratorium sangat menentukan kesuksesan penelitian.
4. Prof. Dr. H. M. Noor Jalaluddin sebagai Ketua Program Studi yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi sehingga penelitian yang penuh dengan keruwetan yang melelahkan dapat dilalui dan sampai pada Sidang Ujian Promosi Doktor.
5. Prof. Dr. M. Syahrul, M.Agr., Prof. Dr. H. Abd. Rauf Patong, Dr. Sudding, M.S., dan Dr. Prastawa Budi sebagai penguji yang telah banyak memberikan masukan dan saran untuk perbaikan disertasi.
6. Rektor Universitas Hasanuddin, Rektor Universitas Haluoleo, dan Direktur & Asisten Direktur Program Pascasarjana Universitas

Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk menempuh pendidikan Doktor pada Program Studi Kimia.

7. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia atas beasiswa Pendidikan Pascasarjana yang diterima penulis.
8. Dr. Akhmad Darmawan sebagai kepala penanggung jawab Laboratorium NMR, Pusat Penelitian Kimia, LIPI serpong yang membantu analisis spektrum senyawa hasil penelitian, Dr. Beth Paul Naiola sebagai Kepala Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor yang telah membantu identifikasi tumbuhan sampel penelitian, dan Prof. Dr. Euis Holisotan Hakim, M.S Kepala Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam ITB, Bandung yang telah membantu uji sitotoksitas sel tumor leukemia P-388 serta Drs. Beddu Jawahir, MS sebagai Kepala Lab. Organik Jurusan Kimia FMIPA UNHAS dan M. Iqbal, STP, yang telah menyediakan fasilitas penelitian.
9. Tak terlupakan kedua orang tua (Almarhum/almarhumah) yang pernah mengasuh dan membimbing penulis dengan penuh kasih sayang dan pengorbanan yang luar biasa untuk keberhasilan penulis.
10. Bapak/ibu mertua H. Djunaid, S.Ag dan Hj. Haliah yang telah membantu, memotivasi, dan mendoakan penyelesaian studi penulis.
11. Istriku tercinta Sukmawati Djunaid yang dengan penuh pengertian, pengorbanan, kesabaran, dan doanya, serta kakak dan adik ipar.
12. Kakak Ir. Nurdin G. & Eti Rosilowati, adik Marwiah G., S.Ag & Muhtar, S. Ag, Muhlisa G. & Sarusuddin Laksana, Mukmin G. & kel., Muhfiah G. & kel., Bibi Hj. Munirah Ma'ruf & kel., adik tercinta Muhfizah G. dan Abd. Rais G. serta yang lainnya yang tidak sempat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dan doa kepada penulis.

Penulis menyadari disertasi ini masih banyak kekurangan, namun diharapkan dapat bermanfaat bagi kita semua untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan, khususnya kimia organik bahan alam.

Makassar, Februari 2009

Imran Gaffar

PEDOMAN PENGGUNAAN DISERTASI

Disertasi Doktor yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Hasanuddin, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh disertasi haruslah seizin Direktur Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Perpustakaan yang meminjam Disertasi ini untuk keperluan anggotanya harus mengisi nama dan tanda tangan peminjam dan tanggal peminjaman.

KATA PENGANTAR

Puji syukur yang sangat mendalam penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia serta izin-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan perkuliahan Program Studi Kimia S3, penelitian dan penulisan disertasi ini.

Pada kesempatan ini dengan penuh rasa hormat penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih yang sangat tulus kepada:

1. Prof. Dr. H. Alfian Noor, M.Sc sebagai promotor, yang telah memberikan waktu dan pikirannya dalam memberikan saran, bimbingan dan arahan yang amat berharga dan bermanfaat bagi penulis mulai dari persiapan penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian, penulisan karya ilmiah, dan hingga penulisan disertasi. Begipula bantuan fasilitas dan penggunaan laboratorium Kimia Radiasi pada penulis selama penelitian isolasi senyawa.
2. Prof. Dr. Tjodi Harlim sebagai kopromotor yang telah memberikan motivasi, gagasan dan saran-saran bagi penulis sejak penyusunan proposal hingga penulisan disertasi.
3. Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS sebagai kopromotor, yang dengan penuh perhatian telah memberikan saran, bimbingan dan masukan yang sangat bermanfaat sejak penyusunan proposal sampai penyelesaian disertasi. Kesabaran beliau membimbing penulis dalam penelitian di laboratorium sangat menentukan kesuksesan penelitian.
4. Prof. Dr. H. M. Noor Jalaluddin sebagai Ketua Program Studi yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi sehingga penelitian yang penuh dengan keruwetan yang melelahkan dapat dilalui dan sampai pada sidang Promosi Doktor.
5. Prof. Dr. M. Syahrul, M.Agr., Prof. Dr. H. Abd. Rauf Patong, Dr. Sudding, M.S., dan Dr. Prastawa Budi sebagai penguji yang telah banyak memberikan masukan dan saran untuk perbaikan disertasi.
6. Rektor Universitas Hasanuddin, Rektor Universitas Haluoleo, dan Direktur & Asisten Direktur Program Pascasarjana Universitas

Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk menempuh pendidikan Doktor Program Studi Kimia.

7. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia atas beasiswa Pendidikan Pasacæsarjana yang diterima penulis.
8. Dr. Akhmad Darmawan sebagai kepala penanggung jawab Laboratorium NMR, Pusat Penelitian Kimia, LIPI serpong yang membantu analisis spektrum senyawa hasil penelitian, Dr. Beth Paul Naiola sebagai Kepala Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor yang telah membantu identifikasi tumbuhan sampel penelitian, dan Prof. Dr. Euis Holisotan Hakim, M.Si kepala Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam ITB, Bandung yang telah membantu uji sitotoksisitas sel tumor leukemia P-388 serta Drs. Beddu Jawahir, MS sebagai Kepala Lab. Organik Jurusan Kimia FMIPA UNHAS dan M. Iqbal, STP, yang telah menyediakan fasilitas penelitian.
9. Tak terlupakan kedua orang tua (Almarhum/almarhumah) yang pernah mengasuh dan membimbing penulis dengan penuh kasih sayang dan pengorbanan yang luar biasa untuk keberhasilan penulis.
10. Bapak/ibu mertua H. Djunaid, S.Ag dan Hj. Haliah yang telah membantu, memotivasi, dan mendoakan penyelesaian studi penulis.
11. Istri tercinta Sukmawati Djunaid yang dengan penuh pengertian, pengorbanan, kesabaran, dan doanya, serta kakak dan adik ipar.
12. Kakak Ir. Nurdin G. & Eti Soesilowati, Adik Marwiah G., S.Ag. & Muhtar, S. Ag., Muhlisa G. & Sarsuddin Laksana serta yang lainnya yang tidak sempat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan, dukungan dan doa kepada penulis.

Penulis menyadari disertasi ini masih banyak kekurangan, namun diharapkan dapat bermanfaat bagi kita semua untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan, khususnya kimia organik bahan alam.

Makassar, Februari 2009

Imran Gaffar

ABSTRAK

IMRAN GAFFAR. *Kajian metabolit Sekunder Kayu batang Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) sebagai Anti Tumor Leukemia P-388* (dibimbing oleh Alfian Noor, Tjodi Harlim, dan Nunuk Hariani Soekamto).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan struktur senyawa metabolit sekunder kayu batang paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) dan sifat bioaktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan sel murin leukemia P-388. Sampel dimaserasi dengan metanol lalu dievaporasi hingga diperoleh maserat kental. Selanjutnya, maserat diekstraksi dengan n-heksan, metilen klorida, dan etil asetat. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan kromatografi kolom vakum (KKV) dan kromatografi kolom tekan (KKT). Untuk memperoleh senyawa murni, komponen fraksi selanjutnya dimurnikan dengan menggunakan KKT dan atau rekristalisasi. Penentuan struktur senyawa yang ditemukan menggunakan analisis data spektroskopi infra merah (IR), ^1H dan ^{13}C NMR, DEPT, HMQC, COSY, dan HMBC. Uji bioaktivitas senyawa yang ditemukan diukur pada konsentrasi senyawa yang menghambat 50 % pertumbuhan sel tumor leukemia P-388 (IC_{50}).

Metabolit sekunder yang ditemukan yaitu (1) asam 3-asetoksi-12-oleanen-28-oat, (2) 2-(2'-etilheksoksi)-3-[[4''-(2''',-2''''-dietoksi)propil]bisiklo-[2,2,1]hept-1''-il]metoksi}p-xylene, (3) etil 2-hidroksi-2-metil-3-(12'-metil-1',4',7',10'-tetraoksasiklotetradekan-11',13'-dion-12'-il) propanoat, (4) metil 2-(2'-hidroksi-1',4',7'-trioksan-2-il)asetat, (5) β -sitosterol. Senyawa 2 dan 4 menunjukkan bioaktivitas anti tumor sel leukemia P-388 dengan IC_{50} 56,0 & 76,0 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan senyawa 3 sangat aktif pada uji bioaktivitas yang sama dengan IC_{50} 14,2 $\mu\text{g/ml}$.

ABSTRACT

IMRAN GAFFAR. *Study of Secondary Metabolites in Stem Wood of Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) as Anti Tumor of P-388 Leukemia (Supervised by Alfian Noor, Tjodi Harlim, and Nunuk Hariani Soekamto).*

This research aimed to find out structures of secondary metabolites in stem wood of *paliasa (Kleinhovia hospita Linn.)* and their bioactivities toward inhibition of P-388 leukemia murine cell growth. Sample was macerated with methanol and evaporated till concentration. Macerate then was extracted by n-hexane, methylene chloride, and ethyl acetate. Extract gotten was fractionated by using (VCC) vacuum and (FCC) flash column chromatography. For finding pure compound, fraction component was purified with FCC and or recrystallization methods. Determination of compound structure isolated used analysis of IR, ^1H and ^{13}C NMR, DEPT, HMQC, COSY, and HMBC spectroscopy data. Compound bioactivity test were determined by inhibition concentration of the compounds found upon 50 percent (IC_{50}) of P-388, leukemia tumor cell growth.

Secondary metabolite compounds found were (1) 3-acetoxi-12-oleanen-28-ic acid, (2) 2-(2'-ethylhexoxy)-3-{{4''-(2''',2'''-diethoxypropil) bicyclo[2,2,1]hept-1''-yl]methoxy} *p*-xylene, (3) ethyl 2-hydroxy-2-methyl-3-(12'-methyl-1',4',7',10'-tetraoxacyclotetra-decan-11',13'-dion-12'-yl)propanic with IC_{50} 14,2 $\mu\text{g/ml}$, (4) methyl 2-(2'-hydroxy-1',4',7'-trioxanan-2-yl)acetic, and (5) β -sitosterol. These 2 and 4 compounds showed anti tumor bioactivity toward P-388 leukemia cell, while 3 compound showed highest anti tumor for the same bioactivity test.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN DESERTASI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
PUBLIKASI ILMIAH	xv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Masalah Penelitian	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Tumbuhan Paliasa	9
1. Taksonomi	9
2. Morfologi	10
3. Khasiat	11
B. Senyawa Metabolit Sekunder Paliasa	12
C. Metabolit Sekunder Kayu Batang <i>K. hospita</i>	14

D. Metabolit Sekunder Daun, Kulit, dan Akar <i>K. hospita</i>	16
E. Uji Bioaktivitas	23
F. Kerangka Pikir	25
G. Hipotesis	26
III. Metode Penelitian	
A. Desain Penelitian	28
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	28
C. Bahan dan Alat yang Digunakan	29
D. Tahap-tahap Kerja Penelitian	30
1. Metode pengambilan sampel	30
2. Isolasi dan pemurnian	31
E. Penentuan Struktur	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Skrining Sampel Penelitian	34
B. Fraksinasi Ekstrak Metilen Klorida	35
C. Fraksinasi Ekstrak n-heksan	39
D. Penentuan Struktur Senyawa 1	41
E. Penentuan Struktur Senyawa 2	48
F. Penentuan Struktur Senyawa 3	54
G. Penentuan Struktur Senyawa 4	58
H. Identifikasi Senyawa 5	61
I. Mekanisme biosintesis β -sitosterol dan Asam 3-asetoksi-12-oleanen-28-olat	62
J. Uji Bioaktivitas Senyawa Hasil Penelitian	64
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	67
B. Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN-LAMPIRAN	75
RIWAYAT HIDUP	85

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Tingkat bioaktivitas (LC ₅₀) ekstrak dari kayu batang <i>K. hospita</i> Linn. terhadap <i>A. salina</i>	34
Tabel 2. Data bioaktivitas 7 fraksi gabungan ekstrak metilen klorida	35
Tabel 3. Data uji gologan senyawa 1 dan senyawa 2 serta eluen dan nilai R _f -nya	36
Tabel 4. Data kromatogram KLT kristal FB dan senyawa 2 sebagai pembanding serta nilai R _f -nya	36
Tabel 5. Data kromatogram KLT senyawa 3	37
Tabel 6. Data kromatogram KLT senyawa 4	38
Tabel 7. Data bioaktivitas 7 fraksi gabungan ekstrak n-heksan	37
Tabel 8. Data kromatogram KLT kristal FK dan senyawa 1 sebagai pembanding serta nilai R _f -nya	40
Tabel 9. Data kromatogram KLT kristal FJ dan senyawa β-sitosterol sebagai pembanding serta nilai R _f -nya	40
Tabel 10. Data kromatogram KLT kristal fraksi I dengan senyawa 1 dan β-sitosterol sebagai pembanding serta nilai R _f -nya	41
Tabel 11. Data NMR (CDCl ₃) senyawa 1 pada ¹ H NMR (500 MHz) dan ¹³ C NMR (125 MHz)	42
Tabel 12. Data NMR (CDCl ₃) senyawa 2 pada ¹ H NMR (500 MHz) dan ¹³ C NMR (125 MHz)	50
Tabel 13. Data NMR (CDCl ₃) senyawa 3 pada ¹ H NMR (500 MHz) dan ¹³ C NMR (125 MHz)	55
Tabel 14. Data spectrum ¹³ C NMR, ¹ H NMR, DEPT 135, dan H-C HMQC senyawa 4	59
Tabel 15. Data uji bioaktivitas senyawa hasil penelitian terhadap sel leukemia (P-388) dan <i>A. salina</i>	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Jalur hubungan pembentukan senyawa metabolit primer dan sekunder	13
Gambar 2. Diagram alir kerangka pikir	26
Gambar 3. Alur fraksinasi ekstrak metilen klorida	32
Gambar 4. Alur fraksinasi ekstrak n-heksan	33
Gambar 5. (a) spektrum ^{13}C NMR dan (b) spektrum DEPT 135 Senyawa 1	43
Gambar 6. Spektrum ^1H NMR senyawa 1	44
Gambar 7. Korelasi spesifik spectrum 2D COSY dan HMBC Senyawa 1	45
Gambar 8. Spektrum 2D HMBC spesifik karbon karbonil asam (C-28) dan ester (C-1') senyawa 1	46
Gambar 9. Struktur senyawa asam 3-asetoksi-12-oleanen -28-olat	47
Gambar 10. Spektrum IR senyawa 2	49
Gambar 11. (a) spectrum ^{13}C NMR dan (b) dan DEPT 135 Senyawa 2	51
Gambar 12. Spektrum HNMR senyawa 2	52
Gambar 13. Struktur senyawa 2-(2'-etilheksoksi)-3-{{4''-(2''',-2'''-di-etoksipropil)bisiklo-[2,2,1]hept-1''-il]metoksi}p-xylen	53
Gambar 14. Korelasi H-H COSY dan H-C HMBC senyawa 2	53
Gambar 15. Struktur senyawa etil 2-hidroksi-2-metil-3-(12'-metil-1',4',-7',10'-tetra-oksasiklotetradekan -11',13'-dion-12'-il)propanoat	56
Gambar 16. Korelasi H-H COSY dan H-C HMBC senyawa 3	57
Gambar 17. Sepektrum IR senyawa 4	58
Gambar 18. Struktur Senyawa 4 metil 2-(2'-hidroksi-1',4',7'-trioksan-2'-il)asetat	60

Gambar 19. Struktur β -sitosterol	62
Gambar 18. Mekanisme biosintesis β -sitosterol dan asam 3-asetoksi-12-oleanen-28-olat	63

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan Keterangan
A	<i>Artemia, Artocarpus</i>
BST	Brine shrimp lethality test
COSY	Correlated spectroscopy
DEPT	Distortionless enhancement by polarisation transfer
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
IC	Inhibition concentration
KKT	Kromatografi kolom tekan
KKV	Kromatografi kolom vakum
KLT	Kromatografi lapis tipis
LC	Lethal concentration
NCI	National Cancer Institute
Prosea	Plant Resources in South East Asia

PUBLIKASI ILMIAH

1. *Imran Gaffar, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, dan Tjodi Harlim.* Senyawa metil 2-(2'-hidroksi-1',4',7'-trioksan-2-il)asetat dari Ekstrak Kayu Batang Tumbuhan (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Informasi Sains dan Teknologi Kimia.* 2 (2): 84-90, ISSN 1693-5861. 2005.
2. *Imran Gaffar, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, dan Tjodi Harlim.* Skrining Bioaktivitas Jaringan Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia Hospita* L.) Asal Sulawesi Selatan. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia, Chemica.* 8(2): 68-75, ISSN 1411-6502. 2007.
3. *Imran Gaffar, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, dan Tjodi Harlim.* Senyawa Triterpenoid Asam 3-asetoksi-12-oleanen-28-olat dari Ekstrak Metilen Klorida pada Tumbuhan (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Informasi Teknologi.* 14 (2): 92-100. ISSN 0653-1597. Terakreditasi berdasarkan SK Dirjen Dikti Depdiknas No. 26/Dikti/Kep/2005. 2008.
4. *Imran Gaffar, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, dan Tjodi Harlim.* Senyawa etil 2-hidroksi-2-metil-3-(12'-metil-1',4',7',10'-tetraoksasiklo-tetradekan-11',-13'-dion-12'-il)propanoat dari ekstrak metilen Klorida pada Tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn. *Jurnal Sains dan Teknologi.* PPS UNHAS. 2008. (In press).
5. *Imran Gaffar, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, dan Tjodi Harlim.* Penentuan Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-heksan pada Jaringan Kayu Batang *Kleinhovia hospita* Linn. *Informasi Sains dan Teknologi. Jurnal Teknologi Kimia.* 2008. (In press).
6. *Imran Gaffar, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, dan Tjodi Harlim.* Senyawa 2-(2'-etilheksoksi)-3-[[4''-(2''',-2'''-dietoksiopropil)bisiklo-[2,2,1]-hept-1''-il]metoksi]p-xilen dari Ekstrak Metilen Klorida pada Tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn. *Jurnal Sains dan Matematika.* Jurusan Kimia FMIPA UNHAS. 2008. (In press).

PUBLIKASI ILMIAH

7. Gaffar, I., Noor, A., Soekamto, N. H, dan Harlim, T. 2005. Senyawa metil 2-(2'-hidroksi-1',4',7'-trioksanan-2-il)asetat dari Ekstrak Kayu Batang Tumbuhan (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Informasi Sains dan Teknologi Kimia*. 2 (2): 84-90, ISSN 1693-5861.
8. Gaffar, I., Noor, A., Harlim, T., dan Soekamto, N. H. 2007. Skrining Bioaktivitas Jaringan Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia Hospita* L.) Asal Sulawesi Selatan. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia, Chemica*. 8(2): 68-75, ISSN 1411-6502.
9. Gaffar, I., Noor, A., Harlim, T., dan Soekamto, N. H. 2008. Senyawa Triterpenoid Asam 3asetoksi-12-oleanen-28-oat dari Ekstrak Metilen Klorida pada Tumbuhan (*Kleinhovia hospita* Linn.). *Informasi Teknologi*. 14 (2): 92-100. ISSN 0653-1597. Terakreditasi berdasarkan SK Dirjen Dikti Depdiknas No. 26/Dikti/Kep/2005.
10. Gaffar, I., Noor, A., Soekamto, N. H., dan Harlim, T. 2008. Senyawa etil 2-hidroksi-2-metil-3-(12'-metil-1',4',7',10'-tetraoksasiklo-tetradekan-11',-13'-dion-12'-il)propanoat dari ekstrak metilen Klorida pada Tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn. *Jurnal Sains dan Teknologi*. PPS UNHAS (In press).
11. Gaffar, I., Noor, A., Soekamto, N. H., dan Harlim, T. 2008. Senyawa 2-(2'-etilheksoksi)-3-[[4''-(2''',-2''')-dietoksipropil]bisiklo-[2,2,1]hept-1''-il] metoksi]p-xylen dari Ekstrak Metilen Klorida pada Tumbuhan *Kleinhovia hospita* Linn. *Jurnal Sains dan Matematika*. Jurusan Kimia FMIPA UNHAS. (In press).
12. Gaffar, I., Noor, A., Soekamto, N. H., dan Harlim, T. 2008. Penentuan Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-heksan pada Jaringan Kayu Batang *Kleinhovia hospita* Linn. *Informasi Sains dan Teknologi. Jurnal Teknologi Kimia*. (In press).

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Area hutan tropis dunia hanya 7% dari luas permukaan bumi, namun lebih dari 50% spesies organisme terdapat dalam area tersebut (Gressler et al., 2007). Keanekaragaman tumbuhan tropis dunia merupakan sumber daya organik yang potensial untuk memperoleh kerangka molekul senyawa metabolit yang beranekaragam. Menurut Achmad (2006), sumber daya organik merupakan gudang senyawa kimia yang sangat potensial sebagai sumber senyawa baru yang unik yang tidak dapat ditemukan di laboratorium dan merupakan bahan yang sangat berguna untuk berbagai keperluan seperti obat-obatan, agrokimia, dan bahan baku industri.

Tumbuhan tropis diyakini memiliki kemampuan merekayasa beranekaragam senyawa kimia yang mempunyai berbagai bioaktivitas tertentu. Kemampuan tersebut salah satunya akibat mekanisme pertahanan diri terhadap ancaman lingkungan, karena pada umumnya hidup di bawah kondisi lingkungan yang keras, baik faktor iklim maupun gangguan dari herbivora, serangga, dan hama penyakit. Untuk itu, tumbuhan tropis dapat menghasilkan senyawa-senyawa kimia alami yang bersifat pestisida, insektisida, antifungi, dan sitotoksik (Verpoorte, 2000; Nasir, 2002; Wink, 2003).

Indonesia memiliki hutan tropis yang cukup luas, tergolong sebagai negara *megabiodiversity* yang memiliki sekitar 54% spesies dari seluruh

spesies tumbuhan tropis dunia dan di dalamnya terkandung beranekaragam sumber daya genetik yang merupakan penyimpanan bahan-bahan kimia yang sangat prospektif untuk diteliti (Achmad, 2004). Banyak senyawa kimia organik bahan alam diketahui sangat potensial sebagai molekul rujukan untuk menemukan atau mensintesis senyawa-senyawa kimia yang bermanfaat. Keanekaragaman genetik dan sumber daya organik dapat dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai aset strategis yang menopang pembangunan nasional. Hingga saat ini sebagian besar sumber daya alam yang dimaksud di atas belum banyak diteliti secara kimiawi (Usman dkk., 2005a; Usman, 2005b). Oleh karenanya, Indonesia adalah suatu negara yang sangat potensial untuk mengembangkan kimia organik bahan alam.

Menurut Gressler et al. (2007), tumbuhan tropis dunia diperkirakan lebih dari 250.000 spesies dan 1500 spesies diantaranya merupakan famili Sterculiaceae yang terdapat dalam 70 genus. Di Brazil, kulit layu spesies *Waltheria douradiflora* dari famili tersebut telah digunakan sebagai obat anti bakteri dan ditemukan mengandung senyawa alkaloid (Morel et al., 2005). Menurut Hamza et al. (2006), ekstrak metanol dari *Sterculia lychnophora* mampu memperbaiki sel-sel hati mencit dan infus daunnya dapat berfungsi sebagai antitumor. Penelusuran struktur senyawa dari tumbuhan tersebut ditemukan mengandung alkaloid yaitu Sterculine I (21) dan Sterculine II (22) (Wang et al., 2003).

Salah satu tumbuhan famili Sterculiaceae yang tersebar di seluruh kepulauan Indonesia dan sangat potensial untuk diteliti adalah *Kleinhovia hospita* Linn. (Bisset, 1955). Secara tradisional daun tumbuhan *K. hospita*

telah dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat luas, khususnya di Sulawesi Selatan dan dipercaya berkhasiat sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver (Raflizar dkk., 2006). Penggunaan tumbuhan tersebut sebagai obat tersebar di seluruh Nusantara termasuk di Sulawesi Selatan, Maluku, Ternate dan Papua, bahkan sampai di Papua New Guinea (PNG) dan Kepulauan Solomon di Kawasan Pasik (Heyne, 1987). Oleh karena itu, tumbuhan ini diyakini dapat menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas tertentu dan efek terapeutik yang ampuh.

Menurut Latif et al. (1997), kambium *K. hospita*. digunakan sebagai anti tumor dalam sarkoma mencit. Sementara ekstrak daun *K. hospita* juga dapat melindungi radang hati pada tikus putih betina *Strain wistar* yang diakibatkan oleh CCl_4 (Raflizar dkk., 2006). Menurut Muhtadi dkk. (2006), tumbuhan tropis merupakan gudang senyawa anti tumor leukemia P-388 yang sangat potensial, pada kulit batang *Dipterocarpus hasseltii* ditemukan senyawa metabolit sekunder; e-veniverin, laevifonol, a-veniferin, dan hopeafenol, yang mempunyai bioaktivitas yang cukup tinggi terhadap sel tumor P-388 dengan IC_{50} berturut-turut; 7,8, 51,5, 25,8, 5,7 $\mu\text{g/ml}$. Tukiran dkk. (2001) menemukan bahwa senyawa metabolit sekunder dari *Shorea selanica* Blume juga bersifat sitotoksik terhadap sel tumor P-388. Begitu pula senyawa metabolit dari *Shorea leprosula* Miq. memiliki sifat sitotoksik yang sama (Winata dkk., 2003). Sementara pada *Artocarpus altilis* ditemukan senyawa artoindonesianin B yang juga bersifat sitotoksik terhadap sel tumor P-388 (Erwin dkk., 2001).

Secara *in vitro*, penelitian tentang bioaktivitas ekstrak dan senyawa bahan alam terhadap daya hambat pertumbuhan sel tumor/kanker dalam tahap skrining dapat menggunakan uji BST (*Brine shrimp lethality test*) dengan memantau letalitas *Artemia salina* setelah pemberian sampel bahan alam (Anderson et al., 1990). BST merupakan uji primer yang telah ditemukan mempunyai korelasi positif terhadap uji sekunder dalam penentuan daya hambat pertumbuhan tumor dan kanker akibat pemberian sampel bahan alam (Mc Laughlin et al., 1991).

Penelitian senyawa metabolit sekunder dari daun *K. hospita* telah dilakukan dan ditemukan 109 isolat dalam berbagai tingkat kepolaran. Isolat tersebut merupakan senyawa golongan terpenoid, steroid, dan fenolik (Noor dan Kumanireng, 2004). Sementara penelitian yang dilakukan oleh Taebe (2004) berhasil mengidentifikasi adanya golongan senyawa flavonoid dan alkaloid. Selain itu, pada fraksi metilen klorida dari fraksi aktif diisolasi senyawa turunan kumarin yang diduga sebagai skopoletin (Wiwi, 2005). Menurut Dini (2005), ekstrak kloroform kulit batang *K. hospita* mengandung beberapa senyawa metabolit dari golongan senyawa: steroid, triterpenoid yang diduga sebagai lupeol, fenol diduga sebagai turunan stilben, turunan asam karboksilat, dan golongan alkaloid. Sementara menurut Anastasia (2005), pada ekstrak aktif etil asetat dari daun *K. hospita* terdapat senyawa metabolit sekunder turunan terpenoid dan stilben. Penelitian lain ditemukan pula bahwa daun, kulit dan batang *K. hospita* diidentifikasi mengandung minyak atsiri, triterpenoid, sianogenin, asam lemak, dan siklopropenil (Watson and Dallwitz, 1992). Informasi lain

menunjukkan bahwa daun paliasa juga mengandung flavonoid (Taebe, 2004).

Menurut Soekamto dkk. (2003a) jaringan kayu batang tumbuhan merupakan sumber metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas tinggi. Ekstrak aseton jaringan tersebut dari *Morus macroura* Miq. ditemukan turunan stilben, oksiresveratrol dengan $LC_{50} > 500$ & IC_{50} 8,4 $\mu\text{g/ml}$, turunan 2-aril benzofuran, morasin M dengan LC_{50} 61,7 & IC_{50} 2,4 $\mu\text{g/ml}$, dan turunan kumarin, umbeliferon LC_{50} 131,0 $\mu\text{g/ml}$, sedang ekstrak etil asetat kayu akar tumbuhan ini ditemukan senyawa metabolit dengan tingkat bioaktivitas yang lebih rendah dibandingkan kayu batangnya; andalasin A dengan $LC_{50} > 500$ $\mu\text{g/ml}$ dan andalasin B dengan LC_{50} 227,0 $\mu\text{g/ml}$. Pendapat tersebut sesuai dengan temuan Atun dkk. (2003), senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol jaringan kayu batang *Vetiva umbonata* Burck. memiliki tingkat sitotoksitas yang sangat tinggi terhadap sel murin leukemia P-388; stenofilol dengan IC_{50} 8,8 $\mu\text{g/ml}$ dan hopeafenol dengan IC_{50} 2,9 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian metabolit sekunder dari jaringan kayu batang tumbuhan famili Sterculiaceae ditemukan turunan alkaloid dari spesies *Melochia corchorifolia*; franganine, lotusamine-A dan adouetine-Y. Sementara dari spesies *Waltheria americana*; juga ditemukan adouetine-Y dan adouetine-Z (Tan and Zhou, 2006).

Kayu batang *K. hospita* diidentifikasi mengandung flavonol, kaemferol, dan kuersetin (Watson and Dallwit, 1992). Pawiroharsono (2001), menemukan bahwa senyawa kaemferol dan kuersetin dapat berfungsi sebagai antitumor. Menurut Harjianti (2009), pemicu

tumor/kanker leukemia adalah efek dari radiasi dan pestisida, namun yang sangat sering pula dijumpai adalah efek dari virus hepatitis. Menurut Raflizar (2006), virus hepatitis dapat dicegah atau pun disembuhkan dengan mengkonsumsi ekstrak tumbuhan paliasa *K. hospita*. Oleh karena itu, secara empiris tumbuhan paliasa ini dapat digunakan sebagai obat hepatitis juga diduga sebagai antitumor leukemia P-388. Penelitian Gaffar dkk. (2007), dalam skrining bioaktivitas jaringan kayu batang, kayu akar, kulit batang, kulit akar, dan daun tumbuhan *K. hospita* ditemukan bahwa jaringan kayu batang tumbuhan ini memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *A. salina* dengan LC₅₀ 65,62 µg/ml. Dengan demikian, penelitian tentang senyawa metabolit sekunder pada jaringan kayu batang *K. hospita* dan sifat bioaktivitasnya terhadap sel leukemia P-388 perlu dilakukan.

Data-data tersebut di atas umumnya menunjukkan informasi identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada *K. hospita*. Sementara informasi mengenai struktur beberapa senyawa metabolit tersebut yang bersifat farmasetik yang terkandung dalam tumbuhan tersebut utamanya pada jaringan bagian kayu batangnya belum ditemukan. Bahkan, *Prosea Handbook on Medicinal and Poisonous Plants in Southeast Asia 2002*, yang berisi daftar seluruh jenis tumbuhan obat dan beracun di Asia Tenggara (Valkenburg and Bunyapraphasara, 2002), sama sekali tidak mencantumkan atau memuat tentang *K. hospita* sebagai informasi ilmiah. Padahal sejak lama tumbuhan ini telah digunakan sebagai bahan obat tradisional untuk penyembuhan penyakit di banyak tempat. Karena itu, pada penelitian ini diharapkan adanya perolehan senyawa-senyawa kimia spesifik pada tumbuhan *K. hospita* yang kemungkinan

dapat berupa senyawa-senyawa metabolit baru atau “*novel substance*” yang berkhasiat utamanya sebagai bahan anti tumor sel murin leukemia P-388 khususnya pada jaringan yang memiliki bioaktivitas tertinggi yaitu kayu batang.

B. Masalah Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk menentukan struktur senyawa metabolit sekunder pada jaringan kayu batang *K. hospita* dan uji bioaktivitasnya terhadap daya hambat pertumbuhan sel tumor leukemia P-388. Karena itu, masalah yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut

1. Apakah terdapat metabolit sekunder anti tumor leukemia P-388 dalam kayu batang *K. hospita*.
2. Bagaimana struktur metabolit sekunder yang diperoleh dari kayu batang *K. hospita* dan bioaktivitasnya.

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan bioaktivitas metabolit sekunder yang ditemukan dalam kayu batang *K. hospita* terhadap sel leukemia P-388.
2. Menentukan struktur metabolit sekunder kayu batang *K. hospita* dan tingkat bioaktivitasnya terhadap sel leukemia P-388.

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Menambah khasanah pengetahuan kimia organik tumbuhan *K. hospita*.
2. Mengsosialisasikan khasiat *K. hospita* sebagai obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Keanekaragaman hayati tumbuhan tropis Indonesia merupakan sumber kekayaan yang potensial. Indonesia dikenal sebagai salah satu negara pemilik hutan tropis terbesar di dunia, menempati urutan ke-3 setelah Brazilia dan Zaire (Zuhud dan Haryanto, 1994). Sekitar 250.000 spesies tumbuhan dunia, diperkirakan 30.000 spesies terdapat di seluruh kepulauan yang ada di Indonesia (Achmad, 2006). Dari keanekaragaman spesies tersebut, Indonesia mempunyai potensi yang sangat besar untuk pengembangan dan penemuan senyawa-senyawa kimia baru atau senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek terapeutik yang ampuh dan bioaktivitas.

A. Tinjauan Tumbuhan Paliasa

1. Taksonomi

Secara taksonomi, tumbuhan paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) diklasifikasikan sebagai berikut (Latif et al., 1997; ITS Report, 1999):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta – vasculer plants
Divisi	: Magnoliophyta – angiospermes
Kelas	: Magnolipsida – dicotyledones
Subkelas	: Dilleniidae

Order	: Malvales
Family	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Kleinhovia</i>
Spesies	: <i>Kleinhovia hospita</i> Linn.

Tumbuhan *K. hospita* tumbuh di daerah tropis dan subtropis, sehingga ditemukan tersebar luas di beberapa pulau di Indonesia. *K. hospita* ini banyak dikenal, namun dengan nama yang berbeda-beda berdasarkan daerah tempat tumbuhnya seperti; di Ambon dikenal dengan nama kinar; di Bali dengan nama kalimaha; Makassar paliasa atau kauwas, di daerah Bugis dengan aju pali atau paliasa; Flores dengan nama kadangan; di Jawa kayu tahun, kutamaha, timanga, katimanggu, dan timaha; di Lampung dan Madura dengan nama manggar; Papua dengan noton; Sunda dengan tangkele atau tangkolo; Sumba dengan nundang; Ternate dengan nama ngaru; serta di Timor dengan nama binak (Bisset, 1955; Heyne, 1987; Latif et al., 1997).

2. Morfologi

K. hospita merupakan tumbuhan dengan ketinggian rata-rata 5-20 m. Daunnya bertangkai panjang, berbentuk jantung, panjang 4,5-27 cm dan lebar 3-24 cm, pada pangkalnya bertulang daun menjari. Bunga dalam malai di ujung lebar, berambut halus. Daun pelindung berbentuk oval. Tajuk kelopak berbentuk lanset, panjang 6-10 mm, warna merah, berambut berbentuk bintang. Daun mahkota berbentuk pita lebar dengan pangkal

berbentuk kantong duduk, panjang 6 mm, berwarna merah, yang lainnya lebih pendek, oval melintang dengan tepi melipat ke dalam yang melengket satu sama lain dengan ujung berwarna kuning. Dasar bunga memanjang membentuk tiang yang tipis, pada pangkalnya dikelilingi oleh tonjolan dasar bunga yang berbentuk cawan. Benang sari tersusun dalam 5 berkas tiga-tiga. Berkas kecil berbentuk gigi. Kepala sari tertancap secara perisai. Bakal buah beruang 5, tangkai putik 1. Buah kotak berbentuk pir, menggelembung seperti selaput, bersudut 5, panjang lebih kurang 2 cm, membuka menurut ruang (Dini, 2005; Waston and Dallwit, 1992). *K. hospita* tumbuh secara liar atau ditanam sebagai tanaman hias pada ketinggian kurang dari 500 m di atas permukaan laut, terutama di tepian berair atau tempat lembab.

3. Khasiat

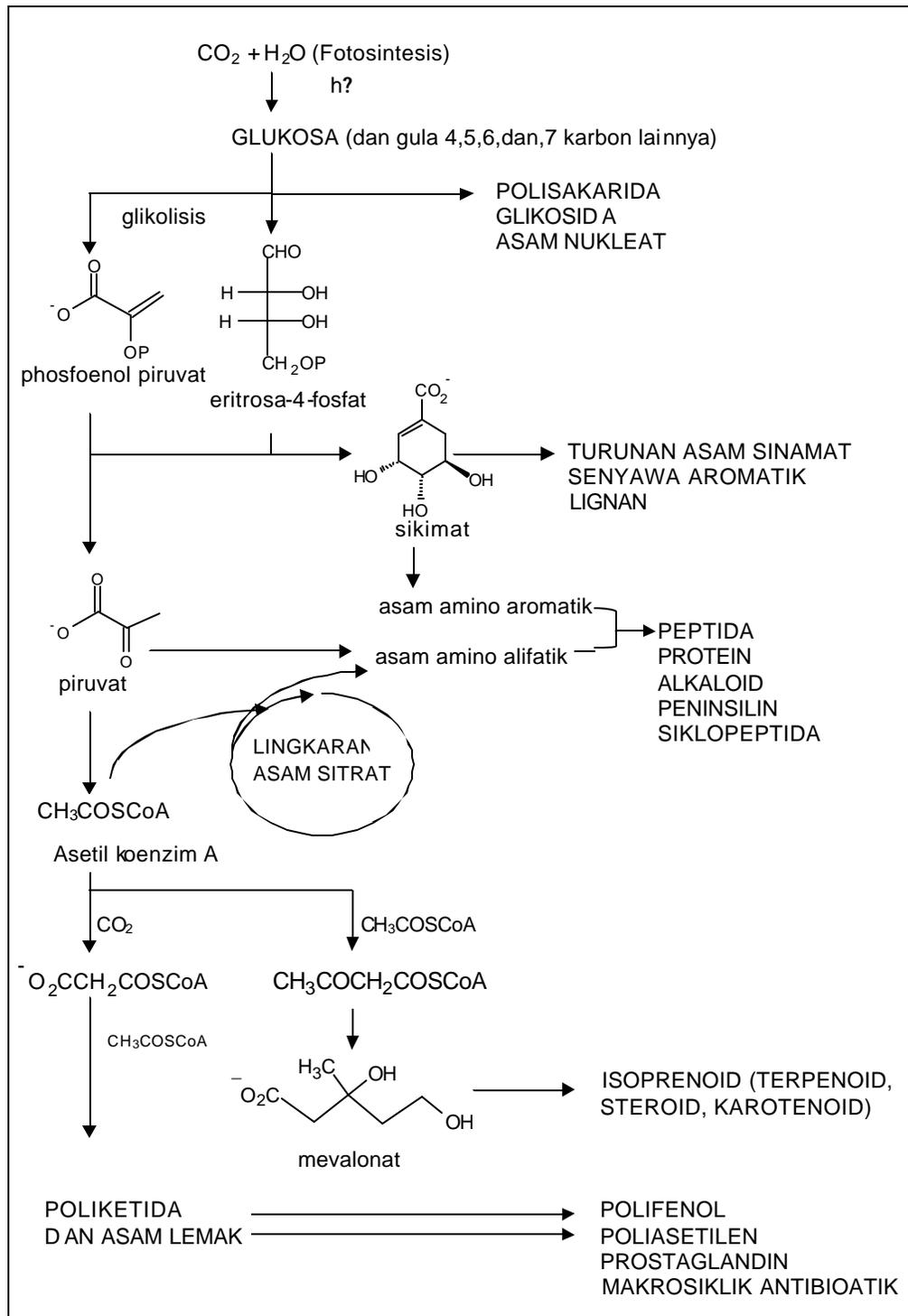
Berdasarkan pengalaman empiris, khasiat ekstrak daun *K. hospita* dipercaya dapat mengobati penyakit hepatitis, kolesterol tinggi, gula, dan hipertensi (Herlina, 1993). Bahkan, di beberapa tempat diketahui kambium tumbuhan tersebut digunakan untuk menyembuhkan pneumonia dan juga menghilangkan kutu rambut (Latif et al., 1997). Penelitian yang dilakukan oleh Raflizar dkk. (2006) adalah pengujian ekstrak daun *K. hospita* terhadap 63 ekor tikus putih betina *Strain wistar* yang menderita radang hati. Perlakuan dimulai dengan semua tikus diberikan CCl_4 dosis 0,55 mg/kg berat badan untuk merusak organ hati tikus, kecuali kelompok kontrol negatif. Sedangkan tikus kelompok kontrol positif diberikan larutan

CCl_4 tanpa pemberian ekstrak daun tumbuhan tersebut. Pemberian ekstrak daun *K. Hospita* dengan dosis variasi dilakukan setelah 24 jam dan 48 jam pemberian CCl_4 . Pada hari ke-2, semua tikus dibunuh dan diambil sampel darahnya melalui jantung serta organ hati untuk pemeriksaan hasil perlakuan. Hasil penelitian memperlihatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan, dimana ekstrak daun *K. hospita* dapat melindungi radang hati yang diakibatkan oleh CCl_4 .

Menurut Heyne (1987), daun *K. hospita* dapat digunakan sebagai pengharum rambut dan mengobati iritasi mata. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak metanol dan ekstrak eter daun tumbuhan tersebut juga mampu meningkatkan regenerasi sel-sel hati mencit (Suryawati, 1991). Para pemakai daun *K. hospita* sebagai obat tradisional umumnya berasal dari keluarga ekonomi menengah ke bawah dan kebanyakan digunakan sebagai obat alternatif apabila obat modern tidak tersedia atau tidak lagi efektif.

B. Senyawa Metabolit Sekunder Paliasa

Tiap-tiap tumbuhan tumbuh sebagai jenis atau spesies tertentu, maka senyawa metabolit yang disintesisnya akan spesifik pula (Achmad, 2004; Mann, 1994), termasuk pada tumbuhan paliasa *K. hospita*. Senyawa metabolit sekunder umumnya digunakan oleh tumbuhan yang bersangkutan untuk mempertahankan diri agar tetap tumbuh pada lingkungannya, biasanya bersifat toksik atau beracun bagi makhluk hidup



Gambar 1. Jalur hubungan pembentukan senyawa metabolit primer dan sekunder (Mann, 1994)

lainnya tetapi aman terhadap dirinya, dan merupakan senyawa kimia yang spesifik pada tumbuhan tersebut.

Ada dua kelas utama senyawa metabolit yaitu senyawa metabolit primer dan sekunder. Senyawa metabolit primer merupakan substans yang dihasilkan dari proses metabolisme dasar untuk pertumbuhan atau perkembangan organisme yang bersangkutan. Metabolit ini tersebar secara alamiah sebagai bahan dasar pada setiap organisme termasuk tumbuhan, terdiri dari protein, karbohidrat, lemak, asam nukleat (Mann, 1994) dan bahan pendukung lainnya yaitu vitamin dan mineral (Poedjiadi, 1994). Tumbuhan tingkat tinggi, seperti paliasa, memiliki potensi untuk mensintesis beberapa senyawa metabolit sekunder (Achmad, 1986; Mann, 1994). Jalur pembentukan senyawa metabolit primer dan hubungannya dengan pembentukan metabolit sekunder ditunjukkan oleh Gambar 1.

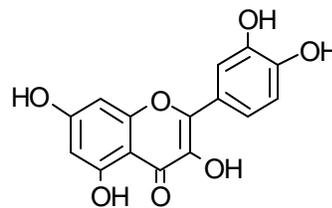
C. Metabolit Sekunder Kayu Batang *K. hospita*

Struktur senyawa metabolit sekunder pada jaringan kayu batang tumbuhan *K. hospita* belum diteliti, namun penelitian identifikasi senyawa pada jaringan tersebut telah dilakukan. Menurut Latif et al. (1997), kayu batang tumbuhan *K. hospita* mengandung senyawa sianogen yang berfungsi membasmi ektoparasit seperti kutu, asam lemak dan terpenoid. Sementara penelitian Watson and Dallwit (1992), kayu batang tumbuhan tersebut diidentifikasi mengandung senyawa flavonoid yang terdiri atas flavonol (1), kaemferol (2), kuersetin (3), dan sianidin (4) (Waston and Dallwit, 1992). Senyawa (2) dan (3) tersebut terbukti sebagai

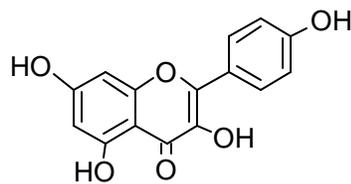
senyawa proteksi dalam mutagenik pada sel-sel prokariotik dan eukariotik. Bahkan, terbukti dapat menghambat bioaktivitas senyawa promotor terbentuknya tumor, sehingga disebut sebagai senyawa antitumor serta berfungsi sebagai antioksidan (Pawiroharsono, 2001).



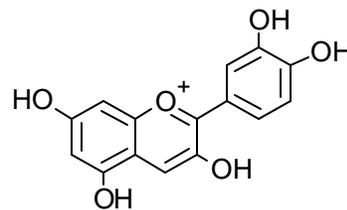
(1)



(2)



(3)



(4)

Menurut Gaffar dkk. (2007), pada skrining bioaktivitas jaringan kayu batang, kayu akar, kulit batang, kulit akar, dan daun tumbuhan *K. hospita* ditemukan bahwa jaringan kayu batang tumbuhan ini memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *A. salina* dengan LC_{50} 65,62 $\mu\text{g/ml}$. Dengan demikian, penelitian tentang senyawa metabolit sekunder pada jaringan kayu batang *K. hospita* dan uji bioaktivitasnya terhadap sel leukemia P-388 perlu dilakukan.

Beberapa senyawa kimia organik bahan alam yang lazim ditemukan dalam jaringan tumbuhan tingkat tinggi merupakan golongan senyawa: terpenoid, triterpenoid dan steroid, fenil propanoid, poliketida, flavonoid,

dan alkaloid (Achmad, 2004; Mann, 1994). Karena keberadaan senyawa kimia tersebut secara lazim pada tumbuhan tingkat tinggi, maka kemungkinan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada sampel jaringan kayu batang *K. hospita* merupakan golongan dari beberapa senyawa-senyawa kimia tersebut.

D. Metabolit Sekunder Daun, Kulit , dan Akar *K. hospita*

Pada jaringan daun dai tumbuhan *K. hospita* telah diidentifikasi sebanyak 109 isolat. Analisis isolat dengan menggunakan spektroskopi ultra violet, infra merah, dan GC-MS ditemukan adanya senyawa terpenoid, asam karboksilat, ester, dan juga fenolik dengan ikatan terkonjugasi (Noor dan Kumanireng, 2004). Penelitian lain yang dilakukan sebelumnya, ditemukan bahwa pada daun tumbuhan *K. hospita* mengandung minyak atsiri, triterpenoid dan ester (Khaeruddin, 1989). Sedang penelitian yang dilakukan oleh Ulfa (2006), berhasil mengidentifikasi senyawa triterpenoid, steroid, asam karboksilat, fenil propanoid, alkaloid, dan ester pada jaringan kulit batang *K. hospita*.

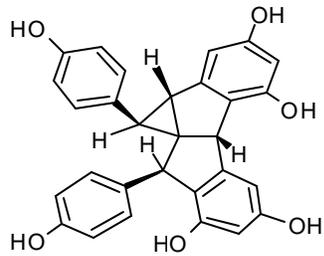
Secara umum senyawa metabolit yang terdapat pada tumbuhan dan berhubungan dengan tumbuhan paliasa adalah sebagai berikut :

1. Fenol

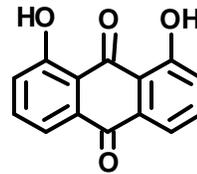
Senyawa fenol termasuk golongan senyawa yang sangat besar jumlahnya. Struktur dasarnya terdiri dari benzen yang tersubstitusi oleh gugus hidroksil. Senyawa fenol ditemukan pula pada jaringan daun

K. hospita dan merupakan golongan flavonoid dan stilben (Anastasia, 2005). Senyawa stilben yang ditemukan mempunyai kemiripan 46,53% dengan ampelopsin F (5) yaitu suatu senyawa yang diisolasi sebelumnya dari kayu akar *Caragana sinaca* dengan menggunakan pelarut etil asetat. Senyawa (5) ini bermanfaat sebagai obat anti-HIV. Selain itu, pada jaringan yang sama ditemukan pula senyawa fenol golongan kuinon yaitu antrakuinon (6) (Raflizar dkk., 2006).

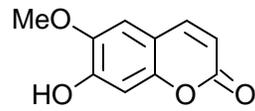
Pada famili yang sama, Sterculiaceae, senyawa fenol telah banyak ditemukan. Fenil propanoid, merupakan salah satu kelompok senyawa fenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Skopoletin (7-hidroksi-6-metoksi-kumarin) (7) diindikasikan ada pada tumbuhan moghat, *Glossostemon bruguien* (Meselhy, 2003). Fenol kelompok flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi yang mempunyai beberapa fungsi fisiologi, biokimia dan ekologi seperti : sebagai protektor terhadap sinar ultra violet, sebagai zat warna pada bunga, dan untuk pertahanan pada tumbuhan (Martens and Mithofer, 2005). Senyawa flavonoid seperti katecin (8) ditemukan dalam kayu batang tumbuhan *Cola nitida* dan *Cola acuminata*. Senyawa ini juga terdapat pada tumbuhan *Guazuma ulmifolia* yang dijumpai di hutan Amazon (Martens and Mithofer, 2005). Apigenin (9) dan luteolin (10) berhasil diisolasi pada ekstrak metanol kayu akar tumbuhan famili Sterculiaceae lainnya yaitu moghat yang banyak digunakan sebagai obat kejang-kejang pada penyakit encok oleh masyarakat Irak dan Iran, juga mempunyai potensi anti inflamasi dengan indometasin yang telah banyak dipasarkan (Meselhy, 2003).



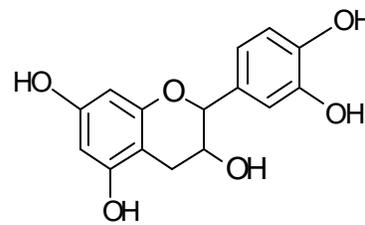
(5)



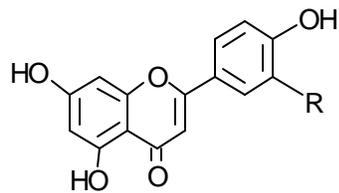
(6)



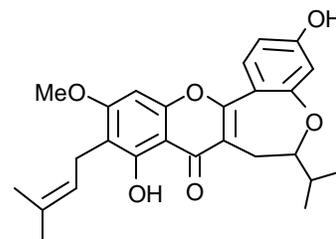
(7)



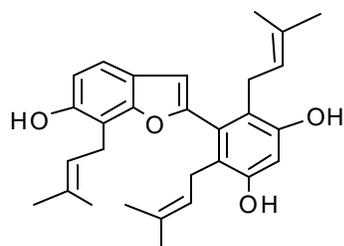
(8)



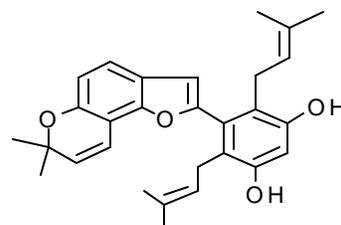
(9) Apigenin R = H
 (10) Luteolin R = OH



(11)



(12)



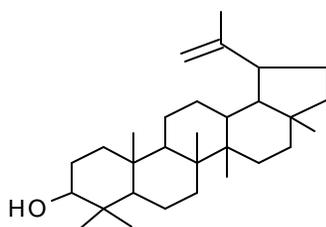
(13)

Senyawa flavonoid yang mempunyai bioaktivitas menarik dapat diperoleh dari tumbuhan tingkat tinggi seperti senyawa dari genus

Artocarpus atau tumbuhan nangka-nangkaan yaitu artoindosianin B (11) yang bersifat sitotoksik terhadap sel tumor leukemia P-388, diisolasi dari *Artocarpus altilis* asal kabupaten Sopeng (Erwin dkk., 2001). Sementara senyawa turunan 2-arilbenzofuran, artoindosianin X (12) dan Y (13) juga memperlihatkan sifat bioaktif terhadap benur udang *A. salina* yang diisolasi dari *Artocarpus fretessi* Hassk (Moraceae) asal Kabupaten Luwu (Soekamto dkk., 2003b).

2. Terpenoid

Terpenoid juga merupakan golongan senyawa bahan alam yang sangat besar jumlahnya, sebagai produk metabolit sekunder dari makhluk hidup terutama pada tumbuhan tingkat tinggi. Senyawa terpenoid kebanyakan merupakan senyawa volatil termasuk minyak atsiri. Senyawa golongan ini yang diidentifikasi pada tumbuhan *K. hospita* adalah triterpenoid (Noor dan Kumanireng, 2004). Triterpenoid mempunyai kerangka utama yaitu skualen sebagai dasar biosintesis senyawa-senyawa steroid seperti kolesterol. Penelitian *K. Hospita* juga telah dilakukan oleh



(14)

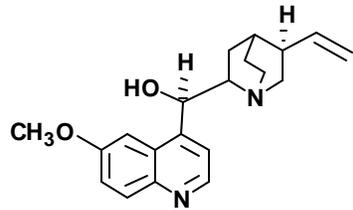
Dini (2005), mendapatkan kristal murni yang diidentifikasi sebagai senyawa golongan terpenoid dan diduga lupeol (14).

3. Alkaloid

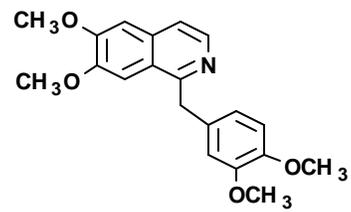
Alkaloid adalah senyawa organik yang mengandung nitrogen dalam bentuk heterosiklik dan bersifat basa. Senyawa ini tersebar luas pada tumbuh-tumbuhan dan banyak yang mempunyai efek fisiologis yang kuat. Seperti kuinin (15), merupakan alkaloid turunan kuinolin yang diisolasi dari tumbuhan Chinkona dan berfungsi sebagai anti malaria. Alkaloid opium seperti papaverin (16), kodein (17), heroin (18), morfin (19), dan nikotin (20) diisolasi dari getah dan biji buah opium, *Papaver sommiferum* (Tobing, 1989; Achmad, 2004). Senyawa alkaloid memegang peranan yang sangat penting dalam bidang kesehatan dan biologi. Senyawa alkaloid pertama yang dipasarkan secara komersial adalah morfin (19) pada tahun 1826. Pada akhir abad ke-20, dari 119 senyawa yang berhasil diisolasi pada 90 jenis tumbuhan yang digunakan untuk bahan obat-obatan, 54 diantaranya adalah senyawa alkaloid (Hadi and Bramner, 2001).

Senyawa alkaloid juga telah diidentifikasi pada daun, akar, dan batang tumbuhan *Sterculia foetida* L. (famili Sterculiaceae) yang ada di kotaraja Lombok Timur. Senyawa ini banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit malaria dan demam (Hadi and Bramner, 2001). Sterculinine I (21) dan Sterculine II (22) adalah senyawa alkaloid yang ditemukan pada biji tumbuhan *Sterculia lychnophora*. Tumbuhan ini banyak

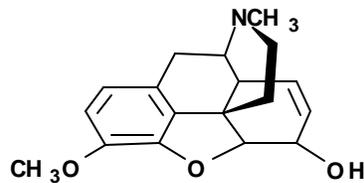
digunakan oleh masyarakat Cina sebagai obat tradisional untuk penyakit radang dan sembelit (Wang et al., 2003).



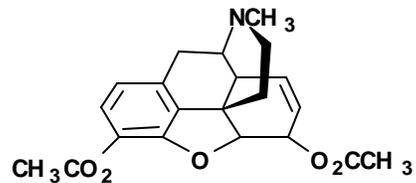
(15)



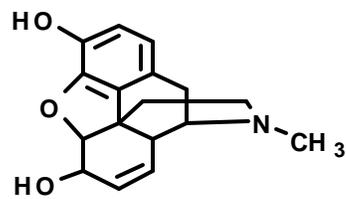
(16)



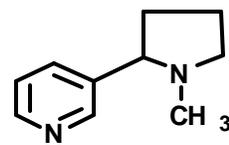
(17)



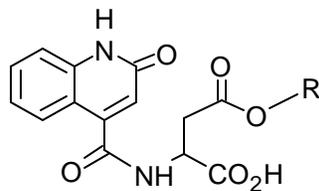
(18)



(19)



(20)

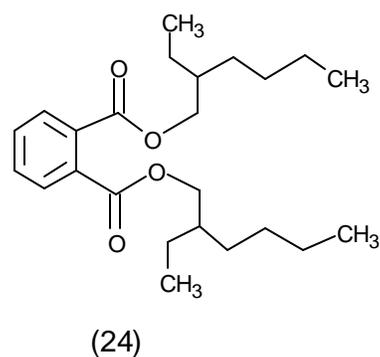
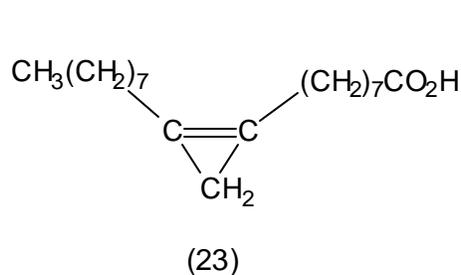


(21) R = n-butyl

(22) R = metil

4. Asam organik dan turunannya

Penelitian pada kulit batang *K. hospita* dari ekstrak n-heksan dan kloroform telah berhasil diidentifikasi beberapa golongan senyawa termasuk asam organik (Dini, 2005; Ulfa, 2006). Informasi tentang senyawa asam ini telah membuktikan hasil penelitian sebelumnya bahwa pada tumbuhan famili Sterculiaceae terdapat kecenderungan untuk ditemukan beberapa senyawa asam organik. Salah satu asam organik yang pernah ditentukan strukturnya adalah turunan asam siklopropena, asam sterkulat (23) sebagai *senyawa asam tak biasa* yang ditemukan dalam tumbuhan *Sterculia*, Sterculiaceae. Senyawa (23) ini diduga keras mempunyai sifat bioaktivitas sebagai racun serangga (Harborne, 1984). Penelitian lain pada daun *K. hospita* telah ditemukan senyawa turunan asam karboksilat, di(2-etilheksil) ftalat (24), melalui uji UV-Vis, IR dan GC-MS, dengan tingkat kemiripan 53% terhadap spektrum data baku (Noor dan Kumanireng, 2004).



E. Uji Bioaktivitas

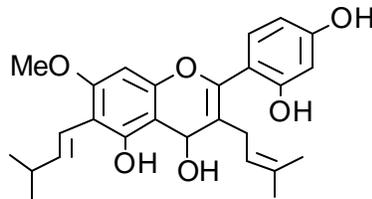
Bioaktivitas biasanya digunakan untuk menguji adanya sifat toksik dari senyawa hasil isolat terhadap sampel uji. Istilah bioaktivitas digunakan untuk senyawa toksik yang aktif atau sangat aktif dan dianggap aman bagi manusia. Istilah toksisitas digunakan untuk senyawa kimia yang dapat bersifat racun dan membunuh organisme tertentu utamanya mikroorganisme; jamur, bakteri, dan virus. Senyawa kimia yang bersifat sitotoksik menghambat pertumbuhan sel virus dan tumor dalam jaringan (Munro et al., 1987).

Pada uji bioaktivitas, ada dua perlakuan yang digunakan yaitu secara *in vivo* dan *in vitro*. Namun, model *in vitro* masih tetap unggul sebagai praskrining yang sederhana, cepat, lebih sensitif, dan sedikit lebih murah. Suatu uji *in vitro* yang digunakan sebagai uji bioaktivitas terhadap hasil isolasi bahan alam adalah menggunakan sel kanker seperti P-388 (sel leukemia). Model ini merupakan pendekatan model *in vivo* sebagai langkah skrining untuk senyawa antikanker. Pendekatan semacam ini banyak dilakukan dengan menggunakan fasilitas Lembaga Kanker Nasional Amerika (NCI). Untuk uji sitotoksitas ini tidak selamanya menggunakan fasilitas NCI, tetapi dapat pula dilakukan pendekatan alternatif yang relatif lebih sederhana selain menggunakan sel kanker P-388. Pendekatan alternatif tersebut adalah menggunakan larva udang yaitu *Artemia salina* dan sangat cocok pada uji bioaktivitas untuk “screening crude sample” (Mc. Laughlin et al., 1991).

Uji bioaktivitas primer yang lazim digunakan pada ekstrak maupun senyawa-senyawa murni bahan alam adalah "*Brine shrimp lethality test* (BST)". Uji bioaktivitas ini dilakukan terhadap udang *A. salina*. BST merupakan uji bioaktivitas yang mempunyai korelasi positif dengan uji-uji sekunder seperti antitumor sel leukemia P-388 maupun kanker. Penggunaan *A. salina* dalam uji bioaktivitas merupakan uji letalitas sebagai indikator untuk uji sitotoksik dan sangat baik pula untuk evaluasi secara cepat dari hasil ekstraksi kimia bahan alam yang mengandung senyawa bioaktif (Meyer et al., 1982). Bioaktivitas ekstrak dari isolat bahan alam ditentukan dengan nilai LC_{50} yang menggunakan *Bliss Method*. Senyawa murni digolongkan tidak aktif jika memiliki nilai LC_{50} lebih dari 200 $\mu\text{g/ml}$, sedang ekstrak lebih dari 500 $\mu\text{g/ml}$ terhadap *A. salina* (Anderson et al., 1990).

Uji bioaktivitas dengan menggunakan *A. salina* telah lama dikembangkan. Metode ini kemudian dikembangkan dalam skrining ekstrak terhadap 41 spesies *Euphorbiacea* baik terhadap bioaktivitas *A. salina* maupun sel leukemia P-388. Dari jumlah tersebut terdapat 24 ekstrak yang bersifat sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 dengan $IC_{50} = 30 \mu\text{g/ml}$; dan dari 24 ekstrak bioaktif ini terdapat 18 ekstrak yang bersifat toksik terhadap *A. salina*. Karena itu, kedua metode tersebut mempunyai hubungan bioaktivitas dan dapat dikatakan bahwa senyawa-senyawa yang memberikan bioaktivitas terhadap *A. salina* juga dapat memberikan bioaktivitas terhadap sel leukemia P-388 (Meyer et al, 1982). Pada senyawa murni, korelasi uji bioaktivitas tersebut telah didukung oleh penelitian, menunjukkan bahwa senyawa artocarpin (25) bersifat toksik

terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC_{50} 24,50 $\mu\text{g/ml}$ dan juga bersifat sitotoksik terhadap sel murin P-388 dengan nilai IC_{50} 1,80 $\mu\text{g/ml}$.

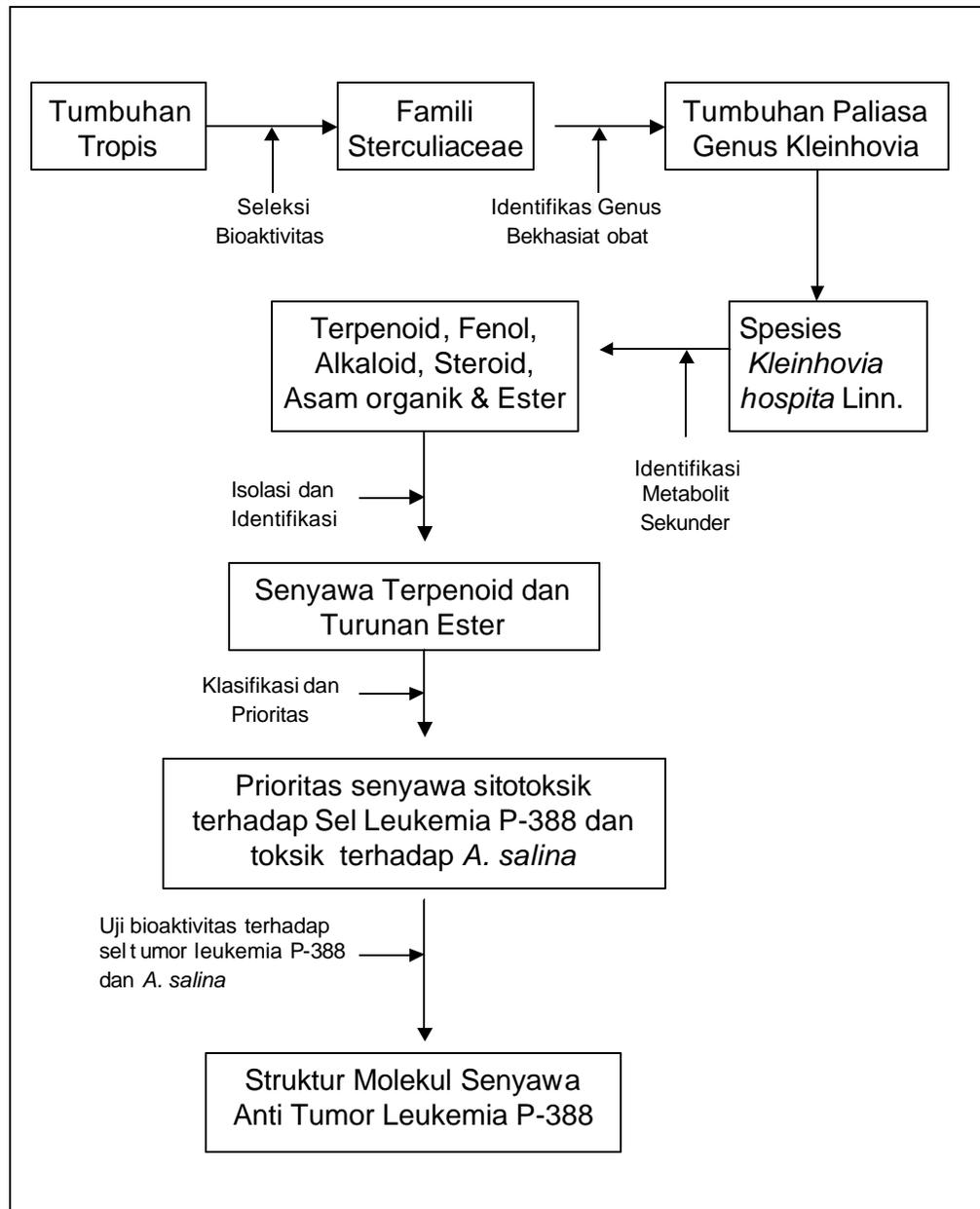


(25)

Di samping itu dilaporkan pula bahwa penggunaan *A. salina* sebagai uji bioaktivitas mempunyai keuntungan yaitu metodenya lebih cepat, sederhana, dan jumlah sampel yang digunakan juga relatif lebih sedikit. San (1993), telah melakukan studi uji bioaktivitas terhadap berbagai senyawa isolat bahan alam dan menyimpulkan bahwa penggunaan *A. salina* dalam uji bioaktivitas sangat baik digunakan untuk skrining ekstrak maupun fraksi-fraksi hasil fraksinasi.

F. Kerangka Pikir

Dari uraian latar belakang, permasalahan, dan tinjauan pustaka di atas dapat dibuat alur kerangka pikir yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir kerangka pikir

G. Hipotesis

Dari latar belakang permasalahan dan kerangka pikir di atas dapat dibuat hipotesis sebagai berikut :

1. Senyawa metabolit sekunder *K. hospita* memiliki sifat bioaktif terhadap sel tumor leukemia P-388.
2. Pada *K. hospita* terdapat metabolit sekunder yang termasuk golongan terpenoid, steroid, fenolik, dan alkaloid.