



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL SERTA
UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA DARI EKSTRAK ETIL
ASETAT DAUN SUKUN (*ARTOCARPUS ALTILIS*)**

TESIS

**A.DJAMILAH
0806421621**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA
DEPOK
DESEMBER 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL SERTA
UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA DARI EKSTRAK ETIL
ASETAT DAUN SUKUN (*ARTOCARPUS ALTILIS*)**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar magister sains**

**A.DJAMILAH
0806421621**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA
DEPOK
DESEMBER 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : A.DJAMILAH

NPM : 0806421621

Tanda Tangan :



Tanggal : DESEMBER 2010



HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : A.Djamilah
NPM : 0806421621
Program Studi : Ilmu Kimia
Judul Tesis : Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Serta Uji
Bioaktivitas senyawa dari Ekstrak etil asetat daun
sukun *Artocarpus altilis*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc

Pembimbing : Dr. Jamilah Abbas, M.Sc

Penguji : Dr. rer.nat. Budiawan

Penguji : Dr. Antonius Herry C.

Penguji : Dr. Endang Saepudin

Penguji : Dr. Yoki Yulizar

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Desember 2010

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini, sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Kimia di Program Pasca Sarjana FMIPA Universitas Indonesia.

Selanjutnya penulis menyampaikan terimakasih tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. Soleh Kosela M,Sc selaku pembimbing utama dan Dr. Jamilah Abbas M,Sc selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing dan memberikan arahan serta saran dalam menyelesaikan penelitian ini.
2. Kepala SMA Negeri 97 Jakarta yang telah memberikan izin dan kesempatan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan S2.
3. Pemerintah Republik Indonesia melalui Dinas Pendidikan DKI Jakarta yang telah memberi izin dan memberikan beasiswa dalam mengikuti pendidikan Program Pascasarjana di Universitas Indonesia.
4. Prof Sumi Hudyono PWS selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran dan bimbingan selama mengikuti perkuliahan dan menyelesaikan penelitian ini.
5. Dr. Endang Saepudin dan Dr.Asep S. selaku Ketua dan Sekretaris Program Studi beserta seluruh staf pengajar pascasarjana Ilmu Kimia.
6. Kepala Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi- LIPI Bogor, yang telah mengidentifikasi Tumbuhan sukun.
7. PRIMKOPPOL PUSLABFOR POLRI, yang telah menentukan massa senyawa dengan GC-MS.
8. Bapak Dr. L.Broto S. Kardono, Apt. Apu selaku Pimpinan Pusat Penelitian Kimia Serpong yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas Penelitian di laboratorium Kimia Bahan Alam Puslit LIPI Serpong.
9. Ibu Mimin, Ibu Mega, Bapak Ahmad Darmawan Msi, Ibu Sofa Fajriah, Bapak Roqib dan seluruh staf BAP yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian di Puslit Kimia LIPI Serpong.

10. Seluruh dosen dan staf karyawan Jurusan Kimia FMIPA UI, serta rekan – rekan mahasiswa yang telah memberi bantuan dan dorongan semangat kepada penulis.
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Akhirnya, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada orang tua, mertua, suami dan anak-anak tercinta atas pengorbanan dan dorongan semangat serta do'a selama penulis melakukan penelitian dan penulisan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan tesis ini, sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik untuk perbaikan.

Semoga Allah SWT meberikan balasan atas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan penulis sangat berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya khususnya pada ilmu kimia.

Depok, Desember 2010

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : A.Djamilah
NPM : 0806421621
Program Studi : Magister Ilmu Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Serta Uji Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun *Artocarpus Altilis*.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Desember 2010

Yang menyatakan


(A.Djamilah)

ABSTRAK

Nama : A.Djamilah
Program Studi : Magister Ilmu Kimia
Judul : Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Serta Uji Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun *Artocarpus Altilis*.

Tumbuhan sukun (*Artocarpus altilis*) adalah salah satu tumbuhan nangka-nangkaan (*Artocarpus*) dari suku *Moraceae* yang dikenal baik di Indonesia, merupakan tanaman asli Asia Selatan, Asia Tenggara, New Guinea dan Pasifik Selatan. Dua senyawa berhasil di isolasi dari ekstrak etil asetat daun sukun (*Artocarpus altilis*) yaitu β -Sitosterol yang berupa kristal jarum berwarna putih mempunyai titik leleh 133-135 °C yang memiliki massa molekul 414 dan suatu senyawa JS7 turunan flavonoid berupa padatan kuning cerah dengan massa molekul 404, Senyawa tersebut dapat dipisahkan dengan menggunakan metode ekstraksi secara maserasi, fraksinasi dengan berbagai cara kromatografi, dan pemurnian dengan cara kristalisasi menggunakan sistem dua pelarut. Struktur molekul ditentukan dengan memanfaatkan data fisika dan spektroskopi UV, IR dan ¹H dan ¹³C-NMR. Uji antioksidan menggunakan metode *radical scavenger* terhadap DPPH menunjukkan senyawa turunan flavonoid JS7 kurang aktif sebagai antioksidan dengan IC₅₀ 137,00 µg/mL dan uji antikanker menggunakan sel leukemia L-1210 cukup potensial sebagai antikanker dengan IC₅₀ sebesar 5,12 µg/mL.

Kata kunci : Sukun (*Artocarpus altilis*). *Moraceae*, antioksidan, antikanker, sel leukemia L-1210.

ABSTRACT

Name : A. Djamilah
Study Program : Magister of Chemistry
Title : Isolation and Molecular Structure Determination and
Biological Activity Test of the Ethyl Acetate Extract of
breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*).

Breadfruit (*Artocarpus altilis*) is one of the *Moraceae* family well known in Indonesia, is a native plant of South Asia, Southeast Asia, New Guinea and the South Pacific. Two compounds successfully were isolated from the ethyl acetate extract of breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*), there are β -sitosterol (white needle crystals) with melting point of 133 -135 ° C, which has a molecular mass of 414 and one derivative of flavonoid compounds JS7 a bright yellow solid with a molecular mass of 404, these compounds were separated by maceration extraction, fractionation and isolation on chromatography, and purification methods. Crystallization was done by using two solvent systems. The molecular structure were determined by utilizing the physical and spectroscopic data of UV, IR and ^1H and ^{13}C -NMR. The isolated compound showed antioxidant activity in DPPH method, JS7 flavonoid derivative compound showed less active as an antioxidant with $\text{IC}_{50} = 137,00 \text{ ug / mL}$ and anti-cancer test using L-1210 live cell leukemia a cell exhibited a significant against L1210 cell live with $\text{IC}_{50} = 5,12 \text{ gram/mL}$.

Keywords: Breadfruit (*Artocarpus altilis*), *Moraceae*, antioxidant, anticancer, Leukemia cells L-1210.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Perumusan Masalah	2
1.3.Hipotesis Penelitian	2
1.4.Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Deskripsi tanaman Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	4
2.2. Taksonomi Tumbuhan Sukun	4
2.3. Morfologi Tanaman Sukun	5
2.4. Kandungan kimia beberapa marga <i>Artocarpus</i>	6
2.4.1 . <i>Artocarpus communis</i>	6
2.4.2. <i>Artocarpus altilis</i>	13
2.4.3 <i>Artocarpus reticulatus</i>	15
2.4.4. <i>Artocarpus teysmani</i>	15
2.5. Ekstraksi dan Partisi	17
2.5.1. Ekstraksi	17
2.5.2. Partisi	18
2.6. Pemisahan dan Pemurnian	19

2.7.	Analisa dengan spektroskopi	20
2.7.1.	Spektroskopi ultra violet	20
2.7.2.	Spektroskopi Infra merah	21
2.7.3.	Spektroskopi Resonansi magnetik inti	22
2.8.	Uji Bioaktivitas	22
2.8.1.	Antioksidan	22
2.8.2.	Peristiwa kanker (Karsinogenesis)	25
BAB III. METODELOGI PENELITIAN		27
3.1	Tumbuhan	27
3.2.	Bahan	27
3.3.	Alat-alat	27
3.4.	Tahapan penelitian	28
3.4.1	Pengumpulan bahan	28
3.4.2	Determinasi tanaman	28
3.4.3	Penyediaan simplisia	28
3.4.4.	Isolasi	28
3.4.4 a	Maserasi dengan pelarut metanol	28
3.4.4.b	Ekstraksi, fraksinasi dengan pelarut <i>n</i> -heksana, etil asetat dan <i>n</i> -butanol	28
3.4.4.c	Pemisahan fraksi etil asetat dari daun sukun . (<i>Artocarpus altilis</i>)	29
3.5.	Penentuan struktur molekul	31
3.6.	Uji Bioaktivitas	31
3.6 .1	Uji aktivitas antioksidan	31
3.6.2	Uji aktivitas antikanker dengan sel Leukimia L1210	32
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		34
4.1	Hasil penelitian	34
4.1.1	Hasil ekstraksi,partisi,dan isolasi	34
4.1.2	Karakterisasi Hasil isolasi.....	34
4.1.2.1	Isolat 1 JS1	34
4.1.2.2	Isolat 2 JS7.....	35
4.1.3.1.	Uji antioksidan menggunakan metode DPPH	35

4.1.3.2. Uji aktivitas antikanker dengan sel leukemia L-1210 ...	36
4.2. Pembahasan	38
4.2.1. Pembahasan umum	38
4.2.2. Pembahasan hasil isolasi	40
4.2.3.1. Pembahasan hasil uji anti oksidan	53
4.2.3.2 Pembahasan hasil uji anti kanker	54
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	60



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Berbagai senyawa yang telah diisolasi dari beberapa spesies <i>Artocarpus</i>	17
Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan	36
Tabel 3. Hasil uji antikanker dengan sel leukemia L- 1210	37
Tabel 4. Perbandingan data pergeseran kimia ^{13}C -NMR JS1 dan β -sitosterol	43
Tabel 5. Perbandingan data fragmentasi spektrum massa senyawa JS1 dengan β - sitosterol	44
Tabel 6. Data pergeseran kimia H-NMR , C-NMR dan HMQC serta HMBC senyawa JS 7	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Sukun	5
Gambar 2. Artonin E (1)	6
Gambar 3. Artonin F (2)	7
Gambar 4. Siklomorusin (3) dan Sikloartomunin(4)	7
Gambar 5. Sikloartomunosanton (5) dan sikloartobilosanton (6)	8
Gambar 6. Artomunosanthotrione epoksida (7)	8
Gambar 7. Siklocomunol (8)	9
Gambar 8. Siklocommunin (9)	9
Gambar 9. Dihidroisosikloartomunin (10)	9
Gambar 10. Dihydroarthomunosanton (11)	10
Gambar 11. arthomunoisosanton (12)	10
Gambar 12. siklocomunometonol (13)	11
Gambar 13. Artomunoflavanon (14)	11
Gambar 14. Artochamin B (15)	11
Gambar 15. Artochamin D (16)	12
Gambar 16. -(4-dihidroksiphenil)-3-[8-hidroksi-2-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-2,1-benzopyran-5-yl]-1-propanon (17)	12
Gambar 17. . AC-5-1 (18)	13
Gambar 18. Sikloaltilisin 6 (19)	13
Gambar 19. Sikloaltilisin 7 (20).....	14

Gambar 20. 2-geranil-2', 4', 3, 4- tetrahidroksidihidroalkon (21)	14
Gambar 21. . 8- geranil- 4',5,7-trihidroksiflavanon (22)	15
Gambar 22. Katekin (23)	15
Gambar 23. Artonol B (24)	16
Gambar 24. Sikloarthobilosanton (25)	17
Gambar 25. Skema Spektrofotometer UV-VIS	21
Gambar 26. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan	24
Gambar 27. Skema langkah kerja.....	30
Gambar 28. Struktur molekul β -sitosterol	42
Gambar 29. Pola fragmentasi β -sitosterol	45
Gambar 30. Struktur molekul β -sitosterol	46
Gambar 31. Biosintesis β -sitosterol	48
Gambar 32. Kerangka dasar flavonoid tergeranilasi	49
Gambar 33. Struktur molekul flavonoid tergeranilasi dengan HMQC serta HMBC	51
Gambar 34. Biosintesis Prenil Flavonoid	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil identifikasi tanaman sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	60
Lampiran 2. Data UV-VIS JS1	61
Lampiran 3. Data IR JS1	62
Lampiran 4. Data GC – MS JS1	63
Lampiran 5. Data H- NMR JS1	64
Lampiran 6. Data C- NMR JS1	65
Lampiran 7. Data UV-VIS JS7	66
Lampiran 8. Data IR JS7	67
Lampiran 9. Data LC-MS	68
Lampiran 10. Data LC-MS	69
Lampiran 11. Data H-NMR JS7	70
Lampiran 12. Data C-NMR JS7	71
Lampiran 13. Data DEPT 1 JS1	72
Lampiran 14. Data DEPT 2 JS1	73
Lampiran 15. Data DEPT 3 JS1	74
Lampiran 16. Data DEPT 1 JS7	75
Lampiran 17. Data DEPT 2 JS7	76
Lampiran 18. Data HMQC JS7	77
Lampiran 19. Data HMBC JS7	78
Lampiran 20. Data HMBC JS7	79

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman flora Indonesia sangat mendukung dalam penyediaan bahan baku obat tradisional. Obat tradisional, terutama berasal dari tumbuh-tumbuhan yang telah lama dikenal dan dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat Indonesia. Penggunaannya untuk mengobati suatu penyakit adalah berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun. Dari empat puluh ribu jenis flora yang tumbuh di dunia, tiga puluh ribu jenis di antaranya tumbuh di Indonesia. Mengingat potensi yang demikian itu, maka penelitian terhadap kandungan senyawa kimia tumbuhan hutan tropis perlu dilakukan terus menerus dan sistematis (Farnsworth, N.R. 1983).

Khasiat tumbuhan obat disebabkan oleh kandungan zat berkhasiat yang terdapat dalam tanaman. Kandungan kimia yang ada dalam suatu tanaman sangat banyak jenisnya dan juga jumlah kandungannya relatif sedikit. Oleh karena itu cara mengisolasi senyawa-senyawa kimia tersebut merupakan permasalahan yang cukup kompleks. Selain itu uji yang dilakukan tidak hanya penentuan strukturnya saja, tetapi juga uji aktivitas, uji toksisitas dan kadang-kadang diperlukan percobaan transformasi, supaya senyawa yang diisolasi dapat diubah menjadi senyawa yang berkhasiat atau ditingkatkan khasiatnya (Zaini, N.C. 1993).

Tumbuhan sukun (*Artocarpus altilis*), adalah salah satu tumbuhan “nangka-nangkaan” yang dikenal dengan baik di Indonesia. Selain sebagai penghasil buah dan kayu yang bernilai ekonomi, daun tumbuhan ini termasuk tanaman obat sebagai obat luar untuk penyembuhan pembengkakan limfa (Heyne, 1987). Berdasarkan laporan terdahulu, sejumlah turunan flavon terpenilasi telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari bagian akar dan ranting tumbuhan ini (Chen *dkk*, 1993; Hano *dkk*, 1994). Sementara itu, dua turunan dihidrokalkon dan satu flavanon tergeranilasi yang bersifat inhibitor terhadap *cathepsin K* juga telah dilaporkan sebagai komponen aktif dari bagian pucuk (Patil *dkk*, 2002). Tambahan pula, suatu turunan dihidrokalkon tergeranilasi yang bersifat inhibitor

terhadap enzim 5α -reduktase juga telah ditemukan dari bagian daun tumbuhan ini yang berasal dari Thailand (Shimizu *dkk*, 2000), dari daun tumbuhan sukun yang dikumpulkan dari daerah Cianjur Jawa Barat Indonesia telah berhasil diisolasi dua senyawa turunan geraniol berupa dihidrokalkon dan flavanon yaitu 2-geraniol-2',4',3,4-tetrahidroksi dihidro kalkon dan 8-geraniol-4',5,7-trihidroksiflavanon (Yana *dkk*, 2006), pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan efek biologis yang potensial dari senyawa tersebut sebagai inhibitor 5-lipooksidase (Fujimoto *dkk*, 1987) yang berperan dalam proses alergi dan *cathepsin* K (Patil *dkk*, 2002) suatu enzim sistein protease yang terlibat dalam proses osteoporosis serta antiinflamasi (Khosihara *dkk*, 1988).

Dalam penelitian ini, dilakukan isolasi senyawa yang dikandung dalam sukun (*Artocarpus altilis*) yang dikumpulkan dari daerah Semplak Bogor. Selanjutnya senyawa yang diisolasi ditentukan struktur molekulnya berdasarkan data spektroskopi antara lain spektrofotometer inframerah (IR), spektrometer resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) dan karbon ($^{13}\text{C-NMR}$) dengan teknik HMQC (*Hetero Single Quantum Coherence*) dan HMBC (*Hetero multiple Bond Coherence*), serta spektrometer massa. Untuk mengamati potensi bioaktivitasnya dilakukan uji bioassay, uji antioksidan dengan metode DPPH dan uji antikanker menggunakan sel leukemia L-1210.

1.2. Perumusan Masalah

Dari penelusuran literatur, bahwa tanaman sukun banyak mengandung senyawa flavonoid, santon, steroid dan triterpen, dari data tersebut maka pada penelitian ini dicoba mengisolasi senyawa dari daun sukun serta uji antioksidan dan antikanker.

1.3. Hipotesis Penelitian

Ekstrak etil asetat daun sukun mengandung senyawa santon, flavonoid, triterpen dan sterol serta memiliki aktivitas biologi.

1.4. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati potensi bioaktivitas yaitu aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan aktivitas antikanker senyawa hasil isolasi serta mengisolasi dan menentukan struktur senyawa yang dikandungnya. Dari penelitian ini diharapkan dapat di ketahui komponen zat aktif serta kemungkinan pemanfaatannya sebagai sumber obat.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Deskripsi tanaman sukun (*Artocarpus Altilis*)

Artocarpus adalah merupakan salah satu genus tumbuhan dalam famili *Moraceae*, dari seluruh spesies tumbuhan *Artocarpus*, 50 diantaranya merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara, New Guinea dan Pasifik Selatan. Tumbuhan *Artocarpus* merupakan tanaman yang telah dibudidayakan untuk diambil manfaatnya.

Di Indonesia terdapat 24 spesies *Artocarpus*, yang sebagian besar telah dimanfaatkan sebagai tanaman penghasil bahan pangan, papan dan obat-obatan tradisional (Heyne, 1987; Whitmore dkk, 1989)

Di Indonesia, daerah penyebaran hampir merata di seluruh daerah, terutama Jawa Tengah dan Jawa Timur. Mengingat penyebaran sukun terdapat di sebagian besar kepulauan Indonesia, serta jarang terserang hama dan penyakit yang membahayakan, maka hal ini memungkinkan sukun untuk dikembangkan.

2.2. Taksonomi Tumbuhan Sukun

Tumbuhan sukun (*Artocarpus altilis*) secara taksonomi mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Hutapea, R. 1991, Verheij 1992, Rendle 1979) :

Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Urticales
Suku : Moraceae
Marga : *Artocarpus*
Jenis : *Artocarpus Altilis*

Beberapa sinonim: *Artocarpus communis*, *Artocarpus communis* Forst,
breadfruit, *Artocarpus incisa* L. f. ; *A. altilis* (Park.) Fosberg
Nama daerah : Sukun (Aceh, Jawa, Bali) , Hatopul (Batak) , Amu (Melayu),
Karara Bima (Flores).

2.3. Morfologi Tanaman Sukun

Tanaman sukun merupakan tanaman dengan morfologi sebagai berikut :

- Habitus : Pohon.tinggi 10-25 m
- Batang : Tegak, berkayu, bulat, percabangan simpopodial, coklat.
- Daun : Tunggal, tersebar, panjang 40-60 cm, lebar 30-35cm, tepi tertoreh, ujung meruncing, pangkal membulat, pertulangan menjari, daging daun tebal, permukaan licin, tulang daun menonjol, permukaan atas berbulu, hijau, tangkai bulat, panjang 3-4 cm, hijau.
- Bunga : Tunggal, diketiak daun, tangkai silindris, panjang 2-3 cm, hijau muda, kelopak lonjong, permukaan bagian dalam licin, bagian luar berambut, kehijauan.
- Buah : Buni, lonjong, diameter 6-10 cm, permukaan bergerigi tumpul, teratur, bergetah, hijau.
- Akar : Tunggang, coklat.

Berikut adalah gambar tumbuhan sukun.



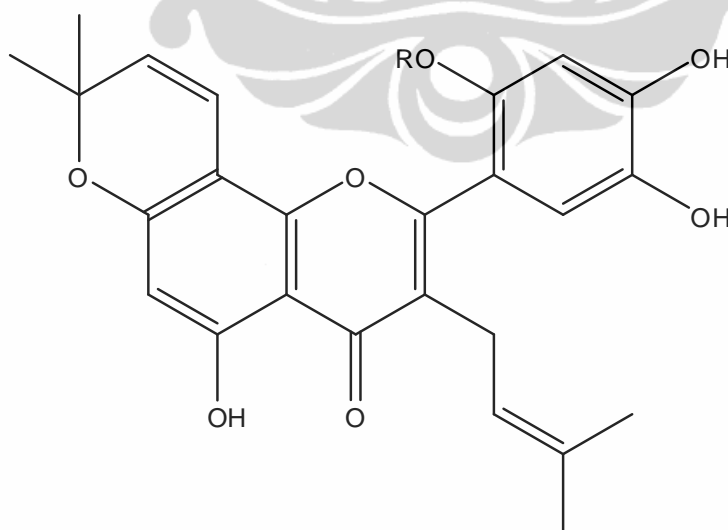
Gambar 1. Tanaman Sukun

2.4. Kandungan kimia beberapa marga *Artocarpus*

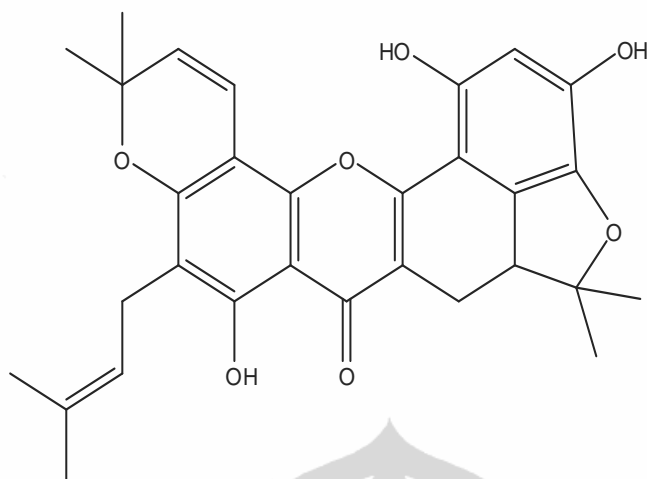
Berdasarkan penelusuran literatur, tumbuhan dari genus *Artocarpus* mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, baik berupa senyawa turunan fenol maupun nonfenol. Senyawa nonfenol yang telah ditemukan pada tumbuhan *Artocarpus* adalah golongan terpenoid dan steroid. Jenis senyawa terpenoid yang banyak ditemukan adalah triterpen, sedangkan senyawa steroid yang banyak ditemukan adalah stigmasterol dan β -sitosterol. *Artocarpus* merupakan salah satu genus tumbuhan yang termasuk famili *Moraceae* yang kaya akan senyawa-senyawa turunan fenol. Sampai saat ini telah berhasil diisolasi ratusan senyawa turunan fenol. Senyawa-senyawa tersebut terdiri dari golongan flavonoid, santon dan stilben, serta senyawa-senyawa yang merupakan aduk Diels-Alder, yang umumnya mengandung substituen isoprena. Berikut ini disajikan beberapa senyawa kimia yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Artocarpus* dan disertai gambar strukturnya.

2.4.1. *Artocarpus comunis*

Dari kulit batang tumbuhan ini telah berhasil di isolasi dua senyawa prenilflavonon yaitu Artonin E (1) dan F (2) Yosio H, dkk. 1990

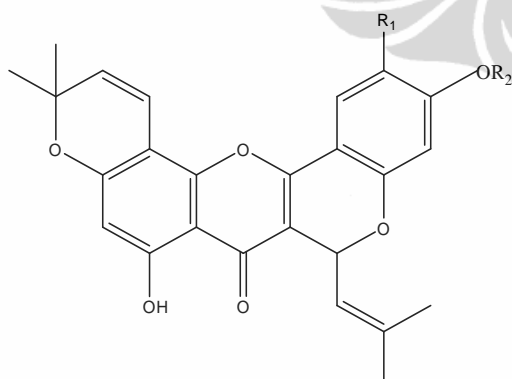


Gambar 2. Artonin E (1)



Gambar 3. Artonin F (2)

Chun-Nan Lin dkk dari fakultas Farmasi Kaohsiung Medical College, Taiwan pada tahun 1990 telah berhasil mengisolasi prenilflavonoid dan piranodihidro benzosanton dari kulit akar tumbuhan ini, yaitu siklomorusin (3), sikloartomunin (4), dan dihidrosikloarthomunin (5) yang termasuk prenilflavonoid serta sikloartomunosanton (6), yang merupakan dihidrobenzosanton dengan struktur sebagai berikut.



$$3.R^1 = H, R^2 = H$$

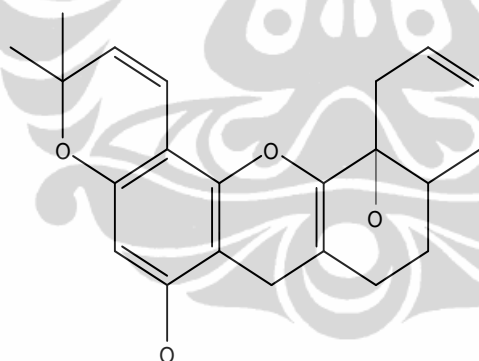
$$4.R^1 = OH, R^2 = Me$$

Gambar 4. Siklomorusin (3)

Sikloartomunin(4)

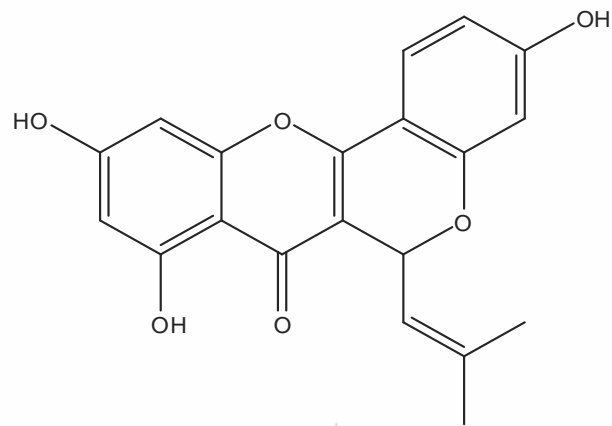
Gambar 5. Sikloartomunosanton (5) sikloartobilosanton (6)

Pada tahun 1991 Chun-Nan Lin dkk kembali, berhasil mengisolasi Artomunosanthotrione epoksida (7) dari kulit akar *Artocarpus comunis* dengan struktur sebagai berikut:

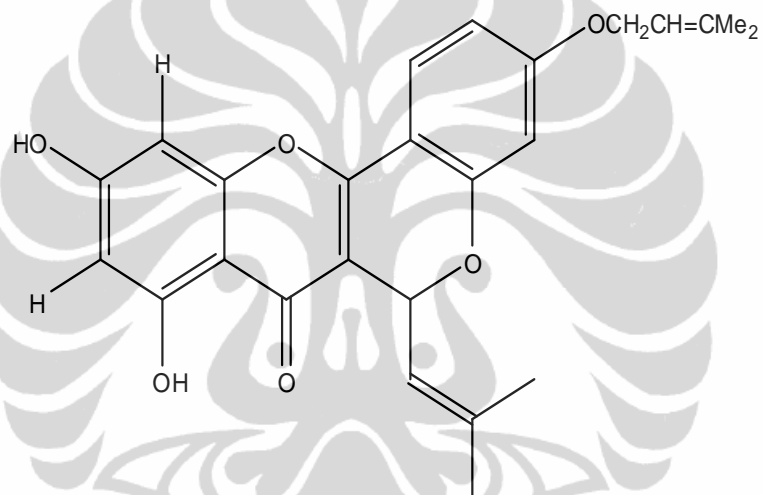


Gambar 6. Artomunosanthotrione epoksida (7)

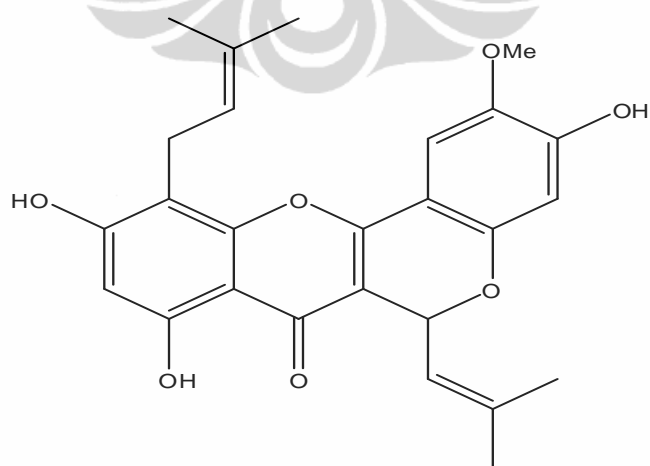
Kemudian pada tahun 1992, Chun-Nan Lin dkk, kembali berhasil mengisolasi 3 senyawa turunan Piranoflavonoid dari kulit akar tanaman yang sama yaitu : Siklocomunol (8), Siklocommunin (9), Dihidroisosikloartomunin (10), dengan struktur sebagai berikut :



Gambar 7. Siklocomunol (8)

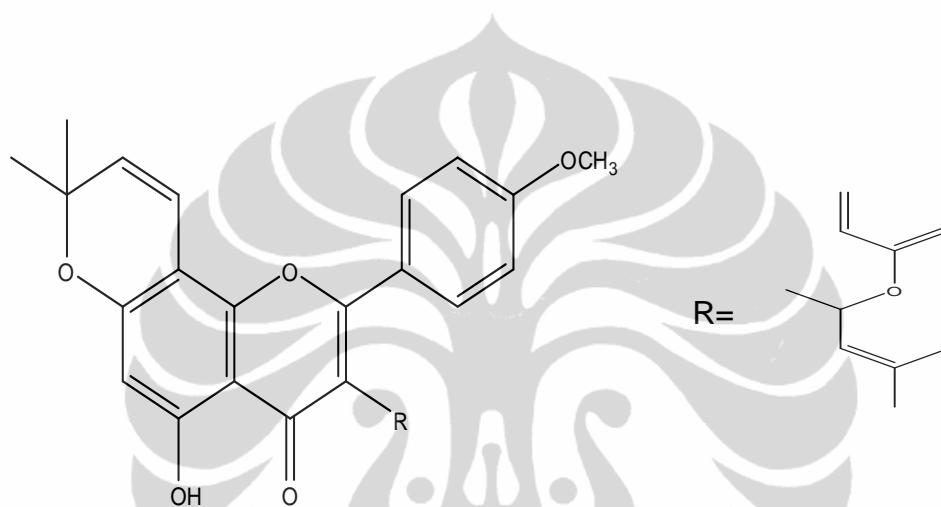


Gambar 8. Siklocommunin (9)

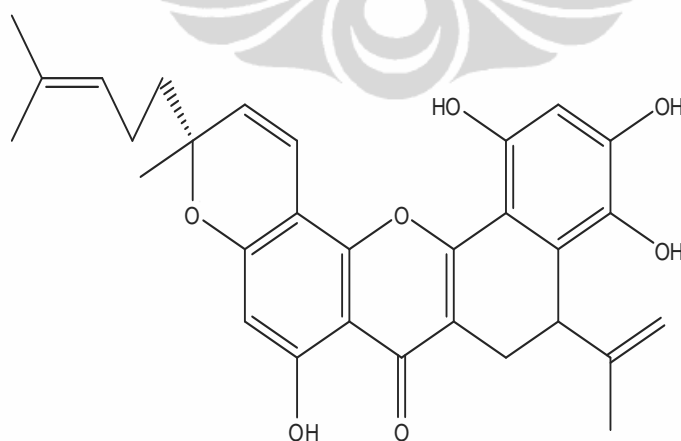


Gambar 9. Dihidroisosikloartomunin (10)

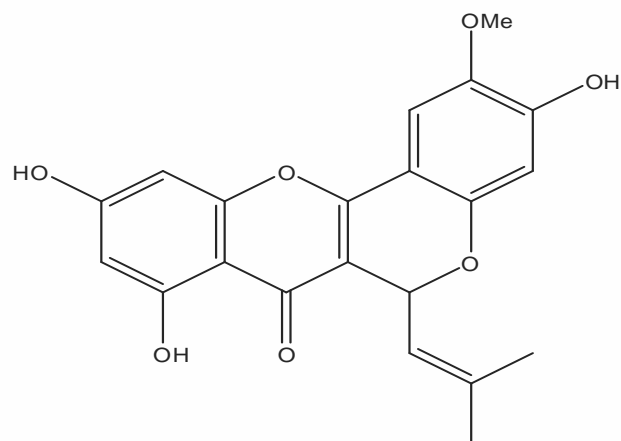
Pada tahun 2005 Jing-Ru Weng dkk dari fakultas kedokteran universitas china, Taichung, Taiwan bekerja sama dengan fakultas farmasi Kaohsiung, Taiwan dan fakultas kedokteran kaohsiung Taiwan berhasil mengisolasi empat flavonoid yaitu dihidroarthomunosanton (11), arthomunoisosanton (12), siklocomunometonol (13), dan artomunoflavanon (14) bersama-sama dengan artochamin B (15), dan D (16) dari kulit akar tumbuhan ini. Senyawa 15 dan 16 memiliki aktivitas biologi sebagai anti platelet yang signifikan. Dengan struktur molekul sebagai berikut:



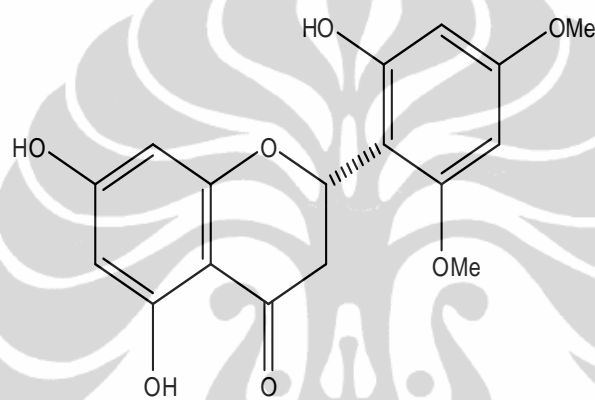
Gambar 10. Dihydroarthomunosanton (11)



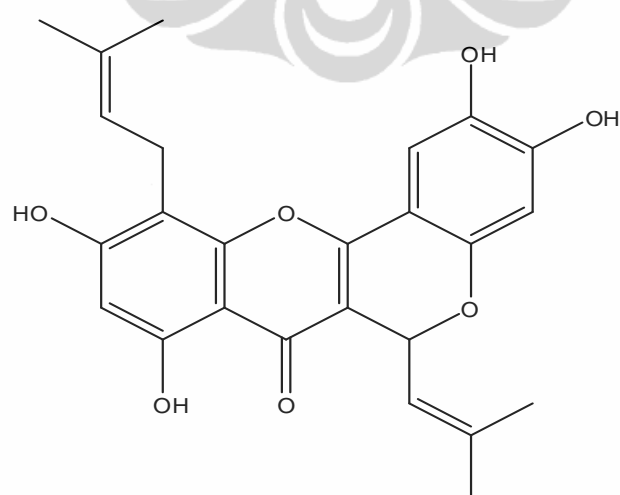
Gambar 11. arthomunoisosanton (12)



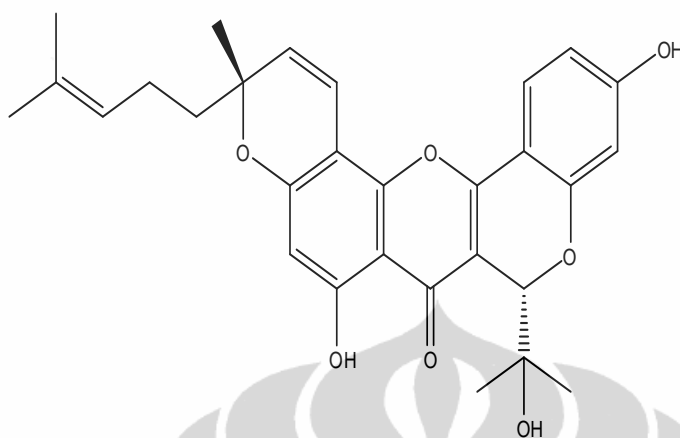
Gambar 12. siklocomunometonol (13)



Gambar 13. Artmunoflavanon (14)

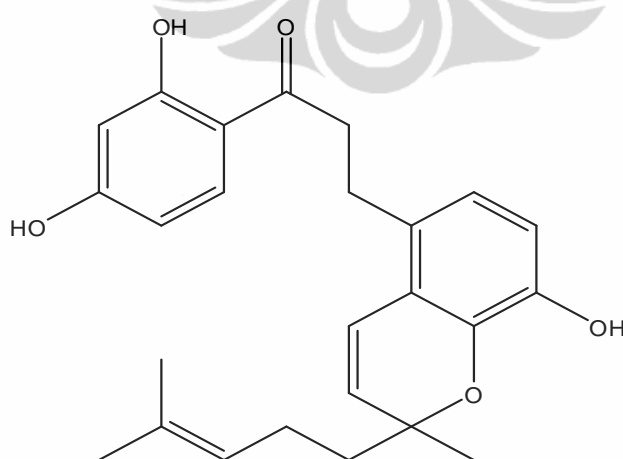


Gambar 14. Artochamin B (15)



Gambar 15. Artochamin D (16)

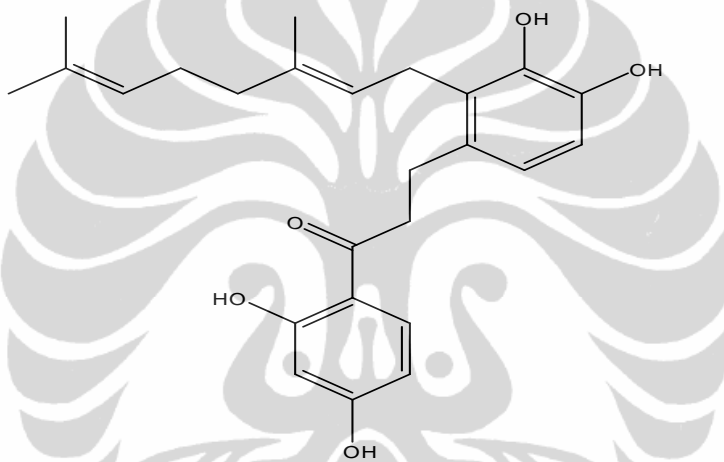
Pada tahun 2008, Puspa D.N. Lotulung dkk dari pusat penelitian kimia LIPI Serpong Indonesia telah berhasil mengisolasi senyawa prenil flavonoid yaitu 1-(4-dihidroksiphenil)-3-[8-hidroksi-2-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-2,1-benzopyran-5-yl]-1-propanon (17), dari daun tumbuhan ini yang aktif bersifat cytotoksik secara signifikan terhadap sel kanker leukemia P-388, dengan struktur sebagai berikut:



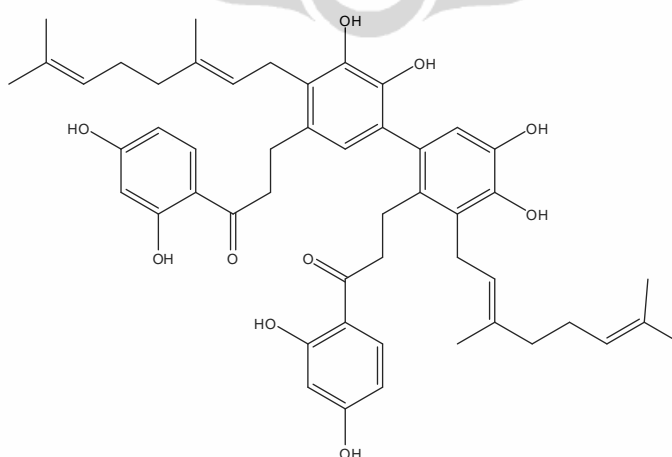
Gambar 16. 1-(4-dihidroksiphenil)-3-[8-hidroksi-2-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-2,1-benzopyran-5-yl]-1-propanon (17)

2.4.2. *Artocarpus altilis*

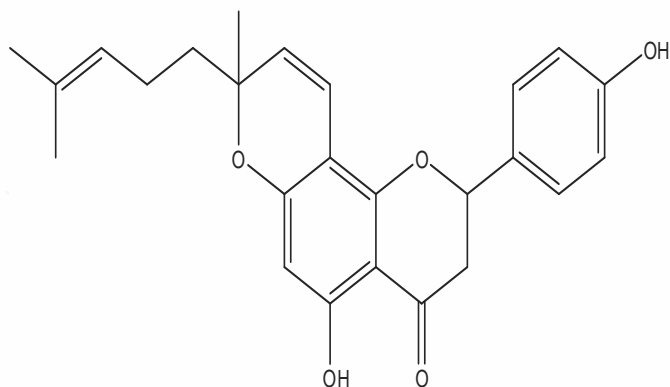
Pada tahun 2001, Ashok D. Patil dkk dari pusat penelitian obat Cambridge, Massachusetts bekerja sama dengan pusat penelitian biomolekular, analitik science dan biokimia sel, GlaxoSmithKline, Swederland, telah berhasil mengisolasi senyawa dimer dihidrocalcon dan prenil flavon baru yaitu AC-5-1 (18), Sikloaltilisin 6 (19) dan Sikloaltilisin 7 (20), dari tunas tanaman ini yang potensial sebagai inhibitor terhadap cathepsin K yang berperan pada proses osteoporosis. Dengan struktur sebagai berikut:



Gambar 17. AC-5-1 (18)

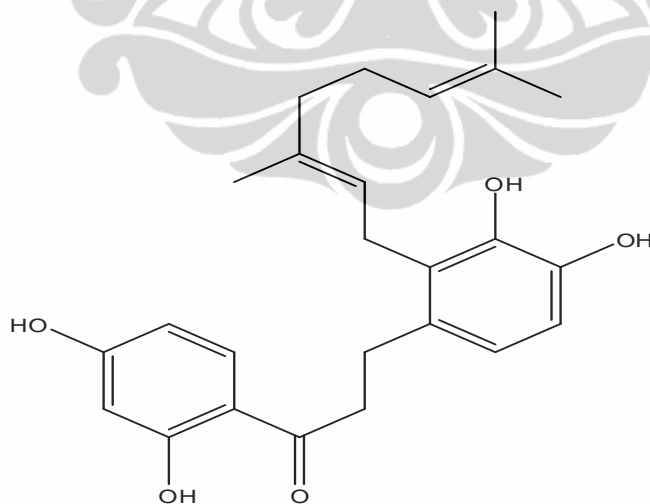


Gambar 18. Sikloaltilisin 6 (19)

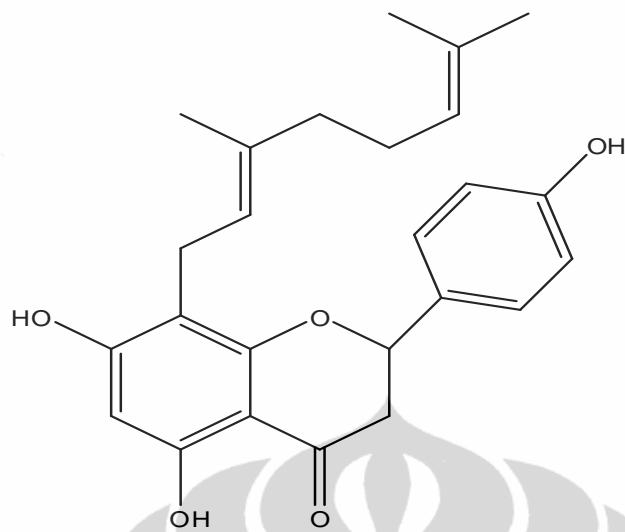


Gambar 19 Sikloaltisin 7 (20)

Pada tahun 2006 Yana Maulana Syah dkk dari FMIPA ITB Bandung bekerja sama dengan Fakultas teknologi dan ilmu pengetahuan alam Universitas Nasional Malaysia, telah berhasil mengisolasi dua senyawa flavonoid tergeranilasi dari daun tumbuhan ini yaitu 2-geranil-2', 4', 3, 4- tetrahidroksidihidroalkon (21), dan 8- geranil- 4',5,7-trihidroksiflavanon (22) dengan struktur sebagai berikut:



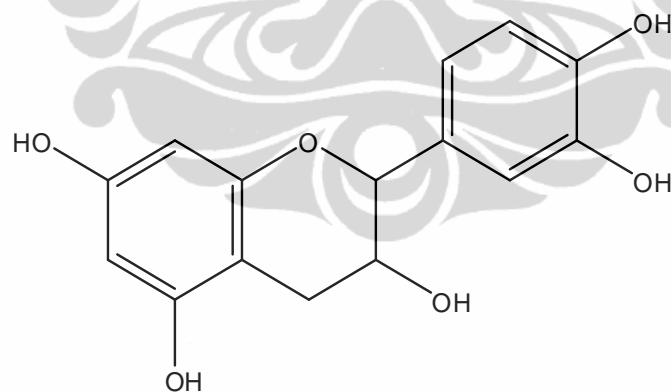
Gambar 20. 2-geranil-2', 4', 3, 4- tetrahidroksidihidroalkon (21)



Gambar 21. 8- geranyl- 4',5,7-trihidroksiflavanon (22)

2.4.3. *Artocarpus reticulatus*

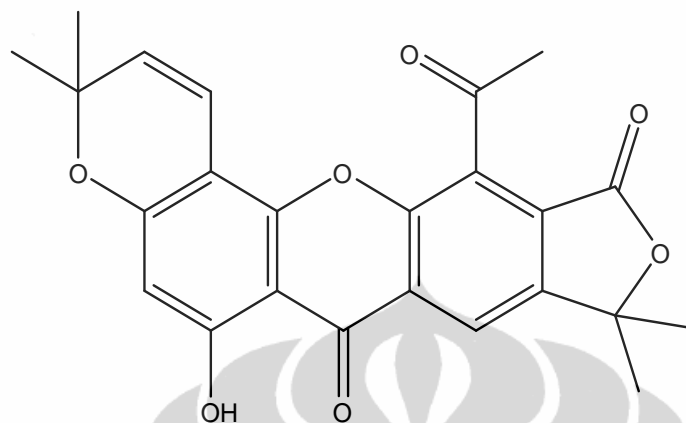
Dari kulit akar tumbuhan ini telah berhasil di isolasi senyawa katekin (23) yang berfungsi sebagai antihipertensi, Udjiana, S.Sigit 1998.



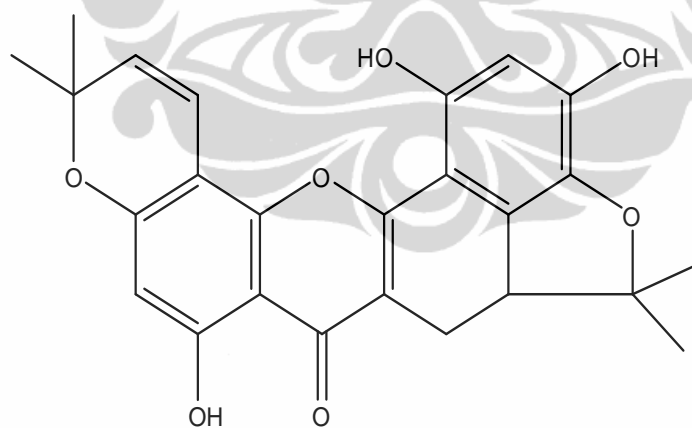
Gambar 22. Katekin (23)

2.4.4. *Artocarpus teysmani*

Dari kulit akar dan kulit batang tanaman ini telah berhasil di isolasi dua senyawa yaitu Artonol B (24) dan Sikloarthobilosanton (25) yang merupakan kristal jingga dan kuning (Makmur, Lukman dkk.1999)



Gambar 23 Artonol B (24)



Gambar24. Sikloarthobilosanton (25)

Tabel 1. Berbagai senyawa yang telah di isolasi dari beberapa spesies *Artocarpus*

Nama Senyawa	Golongan Senyawa	Spesies	Pustaka Rujukan
(24R) dan (24S)- 9,91-siklolanos-tan- 3-on-24,25- diol	Triterpen	<i>A.heterophyllus</i> (<i>nangka</i>)	Barik (1994)
β -sitosterol	Steroida	<i>A.chaplasha</i>	Mahato (1972)
morin	Flavonoid sederhana	<i>A. communis</i> (<i>keluwih</i>)	Shieh (1992)
artonin N	Flavonoid terprenilasi	<i>A. incissa</i>	Venkataraman (1972)
antonol B	Santon	<i>A. rigida</i>	Hano (1993)
oksiresveratrol	Stilbena	<i>A. heterophyllus</i>	Hano (1994)
artonin X	Aduct Diles-Alder	<i>A. chaplasha</i>	Venkataraman (1972)

2.5. Ekstraksi dan Partisi

2.5.1. Ekstraksi (Harbone, J.B., 1987; Simes, dkk., 1995)

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa-senyawa kimia dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan lain-lain menggunakan pelarut tertentu. Teknik yang umum untuk ekstraksi senyawa kimia adalah dengan cara maserasi, sokletasi, perkolasi dan perebusan.

Maserasi merupakan proses penyarian sederhana yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai selama 3-5 hari. Pelarut akan menembus ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan larutan di luar sel maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang

sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan dari metoda maserasi yaitu, teknik pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana serta dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil.

Sokletasi merupakan teknik penyarian dengan pelarut organik menggunakan alat soklet. Pada cara ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Tapi metoda sokletasi ini tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil

Perkolasi merupakan teknik penyarian dengan pelarut organik menggunakan alat perkolator. Pada cara ini pelarut dialirkan melewati sampel sehingga penyarian lebih sempurna. Tapi metoda ini membutuhkan pelarut yang relatif banyak.

Perebusan merupakan teknik penyarian menggunakan pelarut air. Pada cara ini sampel direndam dengan pelarut kemudian dipanaskan sampai mendidih. Metoda perebusan merupakan metoda yang paling kuno dan sekarang jarang digunakan, karena proses penyarian kurang sempurna dan tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil.

2.5.2. Partisi (Harbone, J.B., 1987)

Partisi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang umum dipakai untuk partisi adalah *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan *n*-heksana, etil asetat untuk menarik senyawa semipolar, sedangkan *n*-butanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses partisi ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga. Tiap-tiap fraksi diuapkan secara *in vacuo* sampai kental dengan *rotary evaporator*.

2. 6. Pemisahan dan Pemurnian

Metoda yang umum digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa, yaitu metoda kromatografi. Untuk tujuan kualitatif dapat digunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sedangkan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom.

Pemisahan pada kromatografi berdasarkan pada perbedaan distribusi komponen pada fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam (adsorban) dapat berupa zat padat yang disusun secara merata di dalam suatu kolom (kromatografi kolom) dan fasa gerak berupa eluen yang akan lewat di dalamnya akibat pengaruh gaya gravitasi. Atau berupa plat tipis (Kromatografi Lapis Tipis) dimana eluen dibiarkan meresap naik berdasarkan daya kapilaritas. Komponen yang akan dipisahkan mempunyai aktivitas yang berbeda terhadap adsorban sehingga komponen yang non polar dan yang polar akan terpisah. Pada kromatografi kolom fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel. Sedangkan fasa geraknya dapat dimulai dari pelarut non polar kemudian kepolaran ditingkatkan secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal atau kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai dengan tingkat kepolaran yang dibutuhkan. Kromatografi Lapis Tipis dapat dipakai untuk memilih sistem pelarut yang akan digunakan pada kromatografi kolom (Gritter, dkk, 1987; Adnan, M., 1997)

Fraksi yang keluar dari kolom kromatografi ditampung dan dimonitor dengan Kromatografi Lapis Tipis. Fraksi-fraksi yang nilai R_f sama digabung, kemudian pelarutnya diuapkan sehingga akan diperoleh beberapa fraksi. Noda pada plat KLT dideteksi dengan lampu UV $\lambda_{254/366}$ untuk senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor dan dengan penampak noda seperti iod, $FeCl_3$, H_2SO_4 dalam metanol 10%.

Senyawa hasil isolasi jarang didapatkan berupa senyawa murni, biasanya terdiri dari beberapa senyawa. Salah satu cara pemurniannya adalah dengan rekristalisasi, yaitu berdasarkan perbedaan kelarutan antara zat utama yang dimurnikan dengan senyawa minor dalam suatu pelarut tunggal atau campuran pelarut yang cocok pada suhu tertentu. Pelarut yang digunakan dipilih berdasarkan kemampuan melarutkan zat yang akan dimurnikan. Adanya perbedaan kelarutan

akibat pemanasan atau penambahan pelarut lain akan menyebabkan senyawa utama akan mengkristal lebih dahulu. Proses rekristalisasi ini diulang beberapa kali sehingga didapatkan senyawa berbentuk kristal yang lebih murni dan ditandai dengan jarak titik leleh yang tajam.

2.7. Analisa dengan spektroskopi

2.7.1 Spektroskopi ultraviolet (Silverstein, dkk., 1991; Sastromihardjojo, 1992; Dachryanus, 2004; Hesse, 1991)

Spektrofotometer ultraviolet (UV) dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif, tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 190-380 nm pada daerah UV dekat dan 380-780 nm pada cahaya tampak menggunakan sumber cahaya yang mendekati monokromatik. Senyawa-senyawa yang dapat dianalisa dengan spektroskopi UV adalah senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor. Spektrofotometer UV digunakan untuk mengukur transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan elektronik. Transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan π (orbital pasangan bebas) dengan orbital non ikatan π^* (orbital anti ikatan).

Komponen spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak terdiri dari:

a. Sumber cahaya

Sumber cahaya yang biasa digunakan adalah lampu wolfram. Lampu hydrogen atau lampu deuterium digunakan untuk sumber pada daerah ultraviolet.

b. Monokromator

Digunakan untuk memperoleh sumber cahaya yang monokromatis, dapat berupa prisma atau grating.

c. Sel absorpsi

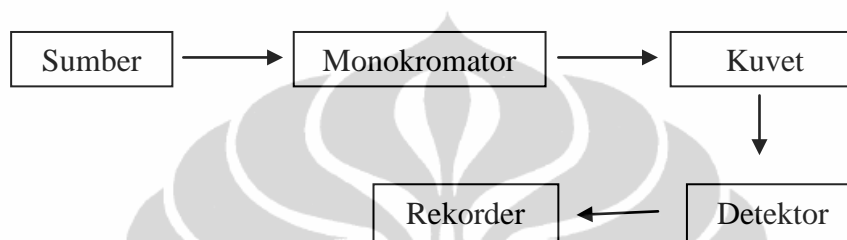
Pada daerah cahaya tampak dapat digunakan kuvet kaca tetapi pada daerah UV harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini.

d. Detektor

Detektor memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

e. Rekorder

Secara skematis komponen spektrofotometer UV-VIS ditunjukkan sebagai berikut:



Gambar 25. Skema Spektrofotometer UV-VIS

Keuntungan selektif dari spektroskopi UV adalah dapat menentukan gugus karakteristik dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Parameter yang diperoleh dari spektroskopi UV adalah harga panjang gelombang maksimum (λ_{mak}) dan absorban (A) dari senyawa yang dianalisa.

2.7.2. Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi inframerah dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik, daerah inframerah berkisar pada bilangan gelombang $12800-10\text{ cm}^{-1}$ atau panjang gelombang $0,78-1000\ \mu\text{m}$. Sinar IR mengeksitasi bagian molekul menjadi getaran mekanik, dan garis absorpsi melalui eksitasi cahaya rotasi molekul dipertebal dan dengan demikian diregistrasi sebagai pita. Setiap molekul mempunyai spektrum IR yang karakteristik pada konsentrasi ukur tertentu, yang dapat dibedakan dari spektrum molekul lainnya dan melalui posisi serta intensitas pita absorpsi dapat digunakan untuk penentuan struktur, pemeriksaan kemurnian, identifikasi dan penentuan kuantitatif.

Spektrofotometer inframerah berfungsi mengukur perubahan vibrasi ikatan antara atom-atom yang ada dalam senyawa organik. Spektrum IR dapat

memberikan informasi jenis gugus fungsi dari suatu senyawa seperti hidroksi (-OH), amida (CONH), karbonil, aromatic, dan ikatan rangkap. Parameter yang ditentukan adalah bilangan gelombang (cm^{-1}) dari puncak-puncak yang muncul pada spektrum inframerah.

2.7.3. Spektrometer resonansi magnetik inti ^1H (^1H NMR)

Spektrosfotokopi resonansi magnet inti didasarkan pada pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik pada daerah frekuensi radio 400 – 600 MHz atau panjang gelombang 75 – 0,5 m, oleh partikel (inti atom) yang berputar di dalam medan magnet. NMR bekerja secara spesifik sesuai dengan inti atom yang dipakai. ^1H NMR paling banyak dipakai karena inti proton paling peka terhadap medan magnet dan paling melimpah di alam (Hendayana, dkk, 1994). Spektroskopi NMR pada hakekatnya merupakan sarana untuk menentukan struktur senyawa organik dengan mengukur momen magnet atom hidrogennya. Pada kebanyakan senyawa, atom hidrogen terikat pada gugus yang berlainan (seperti $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CHO}$, $-\text{CHOH}$ dan sebagainya) dan spektrum NMR proton merupakan rekaman sejumlah atom hidrogen yang berada dalam keadaan lingkungan yang berlainan tersebut. Pelarut untuk pengukuran NMR harus tidak mengandung proton karena dapat mengganggu. Pelarut yang lazim digunakan CCl_4 , CDCl_3 , D_2O .

2.8. Uji Bioaktivitas

2.8.1. Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Packer, 1999).

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi

dalam makanan dan polutan lain. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas bersifat kronis, yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata. Contoh penyakit yang sering dihubungkan dengan radikal bebas adalah serangan jantung dan kanker. Untuk mencegah atau mengurangi penyakit kronis karena radikal bebas diperlukan antioksidan.

Radikal bebas yang mengambil elektron dari sel tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbullah sel-sel mutan. Bila perubahan DNA ini terjadi bertahun-tahun, maka dapat menjadi penyakit kanker. Tubuh manusia, sesungguhnya dapat menghasilkan antioksidan tetapi jumlahnya sering sekali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Atau sering sekali, zat pemicu yang diperlukan oleh tubuh untuk menghasilkan antioksidan tidak cukup dikonsumsi. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan glutathione, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya saja, tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg untuk memicu tubuh menghasilkan glutathione ini. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stres oksidatif dan penyakit-penyakit kronis yang dihasilkannya (Sjamsul Arief, 2007).

Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Akibatnya intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Literatur medis membuktikan bahwa stres oksidatif adalah penyebab utama penuaan dini dan timbulnya penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, *alzheimer*, dan lain-lain. Stres oksidatif dapat dicegah dan dikurangi dengan asupan antioksidan yang cukup dan optimal ke dalam tubuh.

Karakteristik yang diperlukan suatu molekul senyawa agar efektif sebagai antioksidan adalah (Packer, 1999) :

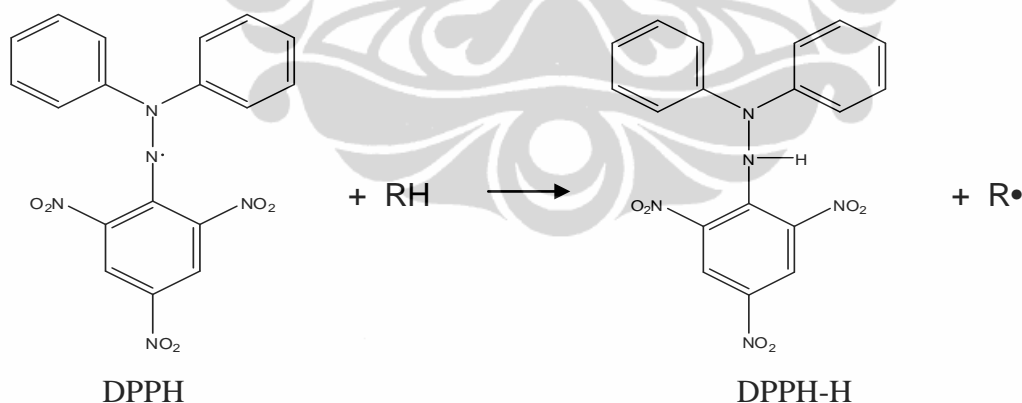
1. Molekul memiliki hidrogen atau substituen pendonor elektron dengan potensial reduksi yang cukup, dibanding dengan radikal yang akan ditangkap.
2. Molekul memiliki kemampuan mendelokalisasi radikal yang telah dihasilkan, baik radikal fenoksil yang berasal dari α -tokoferol atau Butil

Hidroksi Toluena (BHT) dan Butil Hidroksi Anisol (BHA), radikal ariloksil dan flavonoid, radikal rantai hidrokarbon tidak jenuh seperti β -karoten.

3. Molekul memiliki potensial kelat-metal transisi yang tergantung pada gugus fungsi dan susunan molekulnya.
4. Kemampuan menembus sel target yang bergantung pada lipofilisitas atau hidrofilitas antioksidan atau koefisien partisi.

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diukur dari kemampuannya menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan. Jika disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik akan stabil selama bertahun-tahun (Packer, 1999).

Mekanisme reaksi yang terjadi antara antioksidan dengan DPPH ditujukan pada reaksi berikut:



Gambar 26. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan

Peredaman warna DPPH terjadi karena adanya senyawa yang dapat memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin).

2.8.2. Karsinogenesis (Peristiwa kanker)

Antikanker secara umum didefinisikan sebagai senyawa yang dapat mengeliminasi (membunuh) sel-sel kanker dengan sesedikit mungkin efek yang merugikan terhadap jaringan normal. Sel kanker tumbuh potensial lebih cepat dari jaringan normal. Karena itu senyawa-senyawa penghambat pertumbuhan kanker dapat memperlambat proses proliferasi penyakit kanker. Tetapi untuk penyembuhan sesungguhnya sel kanker atau tumor harus mati.

Kanker secara umum didefinisikan sebagai perbanyakan sel yang tak terkendali/abnormal. Sel-sel kanker merusak dan menyerang seluruh jaringan tubuh melalui aliran darah dan pembuluh getah bening sehingga dapat tumbuh dan berkembang ditempat baru, kanker adalah sebutan untuk tumor yang bersifat ganas. Tumor adalah pembengkakan/pembesaran sebagian tubuh disebabkan perbanyakan sel secara abnormal disertai dengan metastase atau penyebaran kebagian lain dalam tubuh inang. Tumor dapat bersifat jinak atau ganas. Tumor yang bersifat jinak tumbuh membesar tetapi tidak menyebar atau menggerogoti jaringan tubuh lainnya. Sedangkan tumor yang bersifat ganas (kanker) tumbuh membesar serta menyebar atau menggerogoti jaringan tubuh lainnya, kanker dapat menyerang setiap jaringan tubuh manusia kecuali rambut dan kuku (Welvaart,1999). Kanker paru-paru menyerupai jaringan normal sehingga susah untuk dideteksi dibandingkan kanker usus dan kanker otak. Berbagai macam organ tubuh dapat terkena kanker, tetapi sifat kankernya berbeda-beda satu sama lain. Organ tubuh manusia yang berpotensi terkena kanker diantaranya lambung, kulit, paru-paru, payudara, organ sistem reproduksi (servik, ovarium pada wanita dan prostat pada pria), usus besar (kolon dan rektum), kelenjar getah bening, hati, otak dan rongga mulut (Dey dan Harbone,1991)

Sebagian besar penyebab kanker merupakan hasil dari interaksi antara faktor lingkungan hidup dan faktor lingkungan kerja yang disebut zat karsinogenik yang diantaranya adalah berasal dari zat kimia, radiasi (sinar UV dan sinar X) dan biologi (virus spesial yang dapat menghasilkan zat karsinogenik) atau virus penyebab kanker terdiri dari dua macam, pertama pada kasus virus DNA kedua pada kasus virus RNA.

Pada kasus virus DNA, rantai DNA dari virus dapat langsung masuk kedalam kromosom, yang menyebabkan mutasi mengarah ke kanker. Kedua pada kasus virus RNA, beberapa virus ini membawa enzim transkriptase balik yang menyebabkan DNA ditranskripsi ini masuk dengan sendirinya kedalam genom sel binatang atau manusia sehingga timbul kanker.

Zat-zat kimia penyebab kanker (karsinogenik) dibagi dua bagian yaitu pertama yang menyebabkan kanker secara langsung dan kedua secara tidak langsung. Zat kimia yang bersifat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker) secara langsung diantaranya nitrosometilurea, benzilklorida, nitrogen mustard, Zat-zat kimia yang menyebabkan kanker secara langsung yaitu zat-zat kimia yang bersifat elektrofilik dan zat-zat kimia yang secara tidak langsung dapat menyebabkan kanker adalah zat kimia yang tidak bersifat elektrofilik tapi didalam tubuh bisa berubah menjadi elektrofilik, misalnya senyawa PAH. Zat-zat kimia yang bersifat karsinogenik yang berasal dari lingkungan misalnya aflatoksin, asbest, benzen, cadmium, tar batubara, DDT dan solar (Doll and peto, 1981). Pengobatan tumor dan kanker secara umum dapat dilakukan dengan cara operasi atau pembedahan, terapi radiasi, dan kemoterapi dengan menggunakan obat antikanker (antineoplastik).

Antikanker atau antineoplastik sebagai salah satu alternatif untuk pengobatan penyakit kanker. Antikanker diharapkan memiliki toksisitas selektif artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal. Pada umumnya antineoplastik menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas, karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat, Tetapi hanya dapat dikatakan berhasil baik, bila dosis yang digunakan dapat mematikan sel tumor yang ganas dan tidak terlalu mengganggu sel normal (Ganiswara,S dkk, 1995).

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker adalah sebagai berikut : Golongan alkaloid dimer, Senyawa diterpenoid, Senyawa polifenol meliputi flavonoid dan santon.

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Puslit Kimia- LIPI Serpong dan mengikuti metoda yang lazim digunakan dalam kimia organik bahan alam, yaitu diawali dengan pemilihan tumbuhan. Pada penelitian ini dipilih daun tumbuhan sukun (*Artocarpus altilis*).

3.1. Tumbuhan

Bagian tumbuhan yang diteliti adalah daun sukun (*Artocarpus altilis*). Sampel dikumpulkan dari daerah Parung Bogor kemudian di determinasi di Herbarium Bogoriense, Puslit Biologi LIPI Cibinong Bogor.

3.2. Bahan

Bahan kimia yang digunakan antara lain: *n*-heksana,etil asetat,dikloro metana,etanol 70 % , *n*-butanol, aseton, metanol, dimetil sulfoksida (DMSO), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH), plat KLT alumunium silika 60 GF₂₅₄ (Merck 7731), air suling.

3.3. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, *rotari evaporator*, pipet mikro, kolom kromatografi, NMR JNM-ECA 500 MHz merk JEOL, Spektrofotometer UV-VIS merk Hitachi, LC-MS merk Mariner Bioered (70 ev) dengan panjang kolom 150 milimeter, diameter 2 milimeter, GC-MS 6890N- 5973 inert merk Agilent teknologi USA dengan panjang kolom 30 meter, diameter kolom 0,25 milimeter, Spektrum IR diukur dengan alat FTIR Prestige 21 merk Shimadzu, pelet dibuat dengan bubuk KBr, penentuan titik leleh dengan alat Fisher Scientific serial 903N0056.

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1. Pengumpulan bahan

Sampel daun sukun dikumpulkan dari daerah Parung Bogor.

3.4.2. Determinasi Tanaman

Sampel daun sukun (*Artocarpus altilis*) dikumpulkan dari daerah sempalak Bogor dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, LIPI Bogor (Lampiran 1).

3.4.3. Penyediaan simplisia

Daun sukun yang diperoleh dibersihkan kemudian potong kasar dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50 ° C hingga kering dan beratnya konstan.

3.4.4. Isolasi

a. Maserasi dengan pelarut etanol 70 %

Sebanyak 3,2 kg daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang telah kering di masukan kedalam alat maserasi, kemudian dimasukan etanol 70 % kurang lebih 10 liter hingga terendam selama 3 hari. Setelah itu isolat dikeluarkan melalui kran perendaman dan ditampung, perendaman di ulang sebanyak 3 kali dengan menggunakan pelarut yang sama. Kemudian isolat diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar berwarna coklat pekat sebanyak 477,5 gram.

b. Ekstraksi, Fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol

Ekstrak kasar etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) dipartisi dengan campuran *n*-heksana dan air dengan perbandingan 1 : 1, kemudian dipisahkan. Fraksi *n*- heksana yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kering sebanyak 3,4 gram. Fraksi air yang diperoleh dipartisi lebih lanjut menggunakan campuran pelarut etil asetat dan air dengan perbandingan 1 : 1. Fraksi etil asetat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat kering sebanyak 56,3 gram.

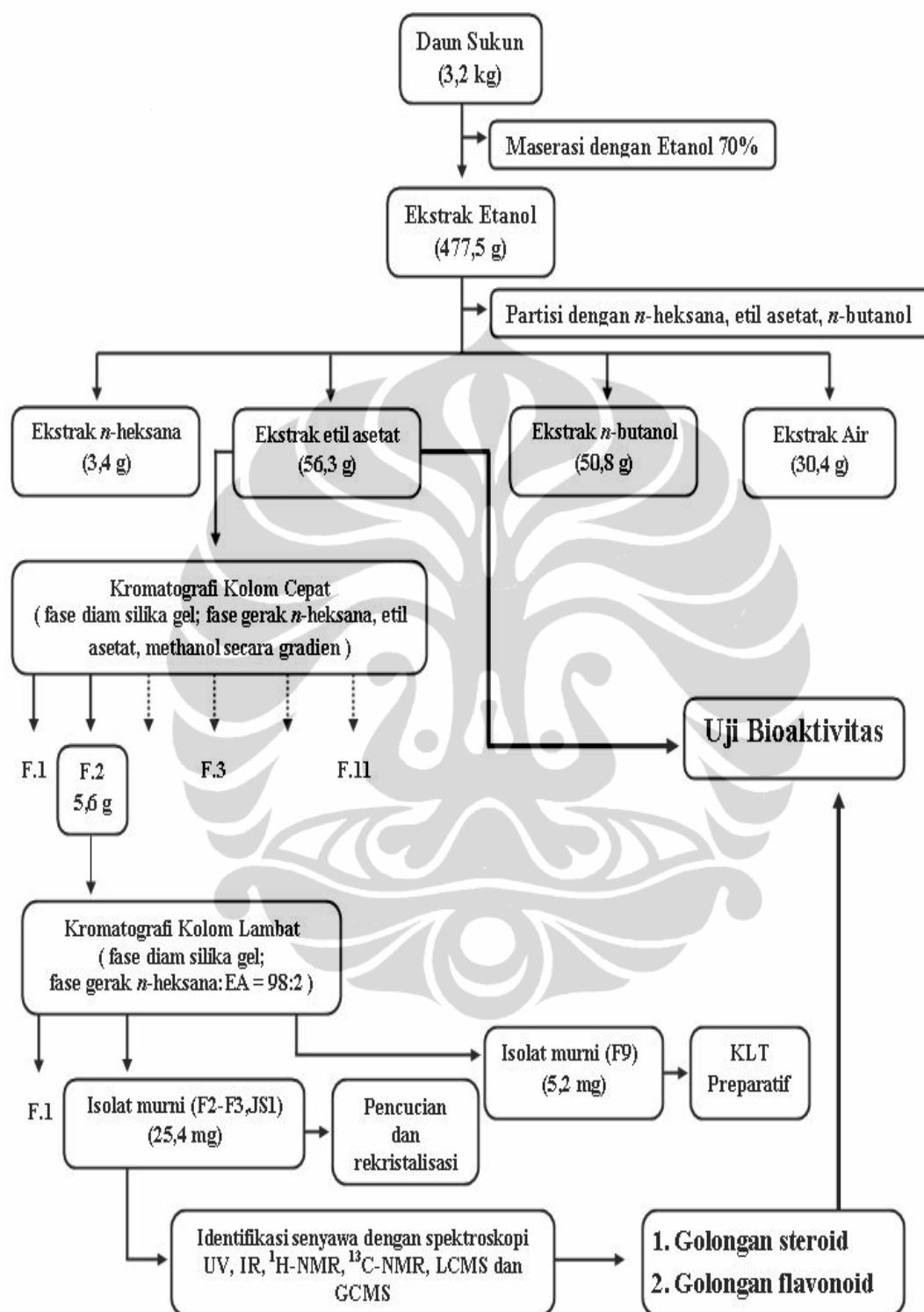
Fraksi air yang diperoleh dipartisi lebih lanjut menggunakan campuran pelarut *n*-butanol dan air dengan perbandingan 1 : 1. Kemudian kedua fraksi diuapkan hingga kering, fraksi *n*-butanol yang diperoleh 50,8 gram dan fraksi air sebanyak 30,4 gram.

c. Pemisahan fraksi etilasetat dari daun sukun (*Arthocarpus altilis*)

Sebanyak 56,3 gram fraksi etil asetat dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi vakum cair menggunakan silika gel GF₂₅₄ sebanyak 500 gram sebagai fasa diam dan fasa geraknya menggunakan campuran dua pelarut yaitu *n*-heksana dan etil asetat serta etil asetat dan metanol dengan sistem gradien kepolaran, dan diperoleh 11 fraksi.

Fraksi terpilih yaitu fraksi 2, yaitu fraksi dari kolom kromatografi vakum cair dengan eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 20 : 1, sebanyak 5,6 gram dipisahkan kembali menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel kieselgel 60 G Merck sebanyak 84 gram dan fasa gerak campuran *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 98 : 2. Hasil kolom ditampung dan diuapkan lalu di uji menggunakan KLT, hasil KLT dengan spot yang sama digabung. Dari botol tampungan 5-17 (F2) merupakan gum berwarna kuning yang tercampur dengan kristal, kemudian dicuci berulang-ulang dengan metanol hingga terpisah antara gum dan kristalnya. Langkah selanjutnya Kristal dilarutkan dalam diklorometana untuk diuji noda KLT, hasil KLT terdapat dua noda, langkah selanjutnya dilakukan rekristalisasi menggunakan diklorometana dan metanol. Dari kolom pertama ini diperoleh kristal putih (dengan kode JS1) sebanyak 25,5 miligram setelah di rekristalisasi. Dengan langkah kerja seperti terlihat pada Gambar . 27 sebagai berikut.

Dari botol tampungan ke 93-99 (F9) sebanyak 246,2 mg terdapat noda dominan berwarna kuning pada hasil KLT, langkah selanjutnya untuk F9 ini dilakukan KLT preparatif dan diperoleh isolat berwarna kuning sebanyak 5,2 mg yang diberi kode JS7.



Gambar 27. Skema langkah kerja.

3.5. Penentuan Struktur Molekul

Senyawa JS1 dan JS7 diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer infra merah (IR), spektrometer resonansi magnetik inti (NMR) dengan teknik dua dimensi (2D): HMQC dan HMBC serta LC-MS dan GC - MS.

3.6. Uji Bioaktivitas

3.6.1. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji antioksidan dilakukan terhadap fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-butanol serta senyawa JS1 dan JS7. Selanjutnya zat tersebut baru dikarakterisasi.

Adapun langkah – langkah pengujian aktivitas antioksidan meliputi :

1. Pembuatan larutan DPPH 0,5 M

3,9 mg DPPH (Mr : 394,32) dilarutkan ke dalam 100 mL metanol p.a.

Larutan disimpan dalam botol gelap.

Ditimbang sebanyak 4 mg sampel kemudian dilarutkan dalam 4 mL metanol (1000 ppm). Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, dan 100 dan 200 ppm, dengan cara memipet 25 μ L, 125 μ L, 250 μ L dan 500 μ L larutan induk ke dalam tabung reaksi, kemudian masing – masing ditambahkan 500 μ L larutan DPPH 0,5 mM dan diencerkan dengan metanol sampai 2,5 mL, kemudian di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Aktivitas antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel.

Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel tersebut dinyatakan dengan persen inhibisi (% inhibisi) dengan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(\frac{(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{sampel}})}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\%$$

Keterangan : Abs_{kontrol} = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

Abs_{sampel} = Absorbansi sampel setelah 30 menit

Selanjutnya nilai hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai IC_{50} dari perhitungan artinya pada saat persentase inhibisi sebesar 50 %.

3.6.2. Uji aktivitas antikanker dengan sel murine leukemia L-1210

Pengujian aktivitas sitotoksik /antikanker dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi dengan menggunakan sel leukimia L-1210.

Pembuatan media RPMI-1640 seberat 10,4 g yang mengandung L-glutamin dilarutkan dalam 1 L air steril (A). Kemudian 1,3 g $NaHCO_3$ dilarutkan dalam 50 mL air steril (larutan B). Sebanyak 25 mL larutan B ditambahkan ke dalam 475 mL larutan A, maka diperoleh 500 mL media (C). Untuk keperluan uji, 15 mL *calf bovine serum* ditambahkan ke dalam 85 mL larutan C. Semua pekerjaan dilakukan di ruang steril. Sel leukemia L1210 disuspensikan ke dalam media yang telah mengandung *calf bovine serum* sehingga jumlah sel sekitar 2×10^5 sel/mL. Sel leukemia L1210 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari *The institute of Physical and Chemical Research Jepang*.

Pengujian aktivitas dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi yaitu senyawa JS7. Pengujian aktivitas sitotoksik senyawa dilakukan dengan variasi dosis 1; 2; 4; 8; 16 $\mu\text{g/mL}$ DMSO. Media yang telah mengandung suspensi sel leukemia L1210 (2×10^5 sel/mL) dan zat uji dimasukkan ke dalam *multi well plate tissue's culture* sehingga volume total 1 mL dalam setiap sumuran. Sebagai kontrol digunakan 10 μL DMSO yang telah ditambahkan 990 μl suspensi sel. Percobaan dilakukan duplo, selanjutnya suspensi sel yang telah diisi zat uji diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam inkubator 5% CO_2 . Perhitungan sel dilakukan menggunakan *haemocytometer Neubauer improved*. Untuk membedakan antara sel hidup dengan sel mati maka sebelum dilakukan penghitungan, 90 μL suspensi dimasukkan ke dalam *sero cluster plate* (96 sumuran) dan ditambah 10 μL larutan 1% *tryphan blue* dan dihomogenkan. Sebanyak 10 μL larutan dialirkan ke dalam *haemocytometer Neubauer improved*. Setelah itu jumlah sel yang masih hidup dihitung di bawah mikroskop. Sel hidup terlihat sebagai bulatan bening dengan

bintik biru inti sel di tengah bulatan, sedangkan sel mati terlihat sebagai bercak biru pekat yang bentuknya tidak teratur.

Persentase penghambatan zat uji terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = (1 - A/B) \times 100\%$$

A : jumlah sel hidup dalam media yang mengandung zat uji

B : jumlah sel hidup dalam media yang tidak mengandung zat uji
(kontrol)

Selanjutnya data persentase inhibisi diplotkan untuk memperoleh IC_{50} . Kemudian dibuat grafik antara konsentrasi (x) dan % inhibisi (y) sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = a + bx$. Dengan memasukkan nilai $y = 50$, maka diperoleh nilai x (konsentrasi), nilai IC_{50} yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat perkembangbiakan sel sebanyak 50% setelah masa inkubasi 48 jam.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi, partisi, dan isolasi

1. Dari 3,2 kg sampel daun sukun (*Arthocarpus altilis*) kering diperoleh ekstrak kental etanol sebanyak 477,5 g. Hasil partisi ekstrak tersebut diperoleh masing-masingnya fraksi *n*-heksana 3,4 g, fraksi etil asetat 56,3 g, fraksi *n*-butanol 50,8 g dan fraksi air sebanyak 30,4 g.
2. Dari fraksi 2 etil asetat setelah dikolom ulang kemudian rekristalisasi dan KLT preparatif berhasil diisolasi 2 senyawa yaitu JS1 dan JS7. Molekul JS1 berupa kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 133-135 °C sebanyak 25,4 mg yang memiliki R_f 0,5 dengan fase gerak *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 8:2. Sedangkan molekul JS7 berupa padatan berwarna kuning cerah sebanyak 5,2 mg yang memiliki R_f 0,7 dengan fase gerak *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 7:3.

4.1.2 Karakterisasi Hasil Isolasi

1. Isolat 1 (JS1)

Spektrum UV-Vis isolat 1 (JS1) dalam pelarut diklorometana memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{maks}) 223,0 nm (Lampiran 2). Data spektrum IR diperoleh serapan pada bilangan gelombang (ν) 3250 dan 2935 cm^{-1} (Lampiran 3). Pemeriksaan berat molekul senyawa JS1 dengan GC-MS menunjukkan berat molekul relatif pada m/z 414 dengan waktu retensi 30,185 menit dalam pelarut diklorometan (Lampiran 4). Pemeriksaan spektrum 1H -NMR dalam pelarut aseton memperlihatkan signal proton pada pergeseran kimia (δ_H) 5,31 (1H); 3,69 (1H); dan 1,94; 1,14; 1,64(1H) ppm. Adanya kumpulan signal proton pada pergeseran kimia (δ_H) antara 0,72 sampai 2,22 ppm (Lampiran 5). Sedangkan pemeriksaan spektrum ^{13}C -NMR dalam pelarut aseton memperlihatkan signal karbon pada pergeseran kimia (δ_C) 142,4 (s); 121,6 (d) menyatakan atom karbon yang berikatan rangkap (C=CH); 71,8 ppm menyatakan atom karbon yang mengikat gugus -OH (C-OH). Adanya

kumpulan signal karbon pada pergeseran kimia (δ_C) antara 12,3 sampai 51,3 ppm (Lampiran 6)

2. Isolat 2 (JS7)

Spektrum UV isolat 2 (JS7) dalam pelarut metanol memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{maks}) 206,5, 220 dan 273 nm (Lampiran 7). Data spektrum IR diperoleh serapan pada bilangan gelombang (ν) 3427, 3402, 3348, 3288, 2920, 2854, 1703, 1672, 1637, 837,767 dan 731 cm^{-1} (Lampiran 8). Pemeriksaan berat molekul senyawa JS7 dengan LC-MS menunjukkan berat molekul relatif pada m/z 404 dengan waktu retensi 4,3 menit dalam pelarut metanol (Lampiran 9 dan 10). Pemeriksaan spektrum 1H -NMR dalam pelarut $CDCl_3$ memperlihatkan signal proton pada pergeseran kimia (δ_H) 7,88 (1H, d, J 8,55); 7,79 (1H, d, J 8,55); 7,69 (1H, d, J 8,6); 7,63 (1H, d, J 7,95); 7,03 (2H, d, J 5,5); 6,92 (1H, d J 4,375); 6,87 (1H); 6,85 (1H, s); 6,73 (1H); 6,63 (1H); 6,61 (1H); 5,76 (1H); 5,71 (1H); 5,12 (6H, m); 4,12 (1H) dan 3,64 (2H, m) ppm (Lampiran 11). Sedangkan pemeriksaan spektrum ^{13}C -NMR dalam pelarut $CDCl_3$ memperlihatkan signal karbon pada pergeseran kimia (δ_C) 168,3; 164,2; 147,6; 146,3; 132,3; 131,5; 126,5; 124,9; 123,9; 119,3; 115,3; 112,6; 107,9; 40,9; 29,9; 29,6; 26,2; 25,8; 23,6; 22,9; 22,9; 17,9; dan 14,3 ppm (Lampiran 12).

4.1.3. Hasil uji bioaktivitas

1. Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap fraksi-fraksi hasil partisi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} 94,36 $\mu g/mL$, sebaliknya fraksi *n*-heksana dan *n*-butanol masing-masing memiliki IC_{50} 263,11 dan 3252,94 $\mu g/mL$ dengan quersetin sebagai pembanding. Lebih lengkapnya pada Tabel 2 dibawah ini :

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan.

No	Nama Sampel	Absorban	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC-50
1	Blanko	2,181			5,63
	Quercetin	0,123	10	94,36	
		1,412	5	35,26	
		1,918	1	12,06	
2	Fraksi Hexan	1,161	400	46,77	423,81
		1,553	200	28,79	
		1,816	100	16,74	
		1,917	50	12,10	
		2,074	10	4,91	
3	Fraksi Etil aasetat	0,173	200	92,07	87,33
		0,640	100	70,66	
		1,349	50	38,15	
		1,954	10	10,41	
		2,030	5	6,92	
4	Fraksi <i>n</i> -Butanol	2,031	200	6,88	2901,94
		2,068	100	5,18	
		2,084	50	4,45	
		2,100	10	3,71	
5	JS-7	0,918	200	55,34	137,00
		1,346	100	34,47	
		1,610	50	21,84	
		1,738	10	15,53	
		1,870	5	9,22	

2. Uji aktivitas antikanker dengan sel leukemia L-1210

Hasil uji aktivitas antikanker dengan sel leukimia L-1210 terhadap senyawa JS7 cukup potensial sebagai antikanker dengan IC_{50} 5,1209. Data lengkap hasil uji antikanker dengan sel leukemia L-1210 terhadap senyawa JS7 disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji antikanker dengan sel leukemia L-1210

Konsen- Trasi	Jumlah sel hidup dan mati						jumlah sel	%	%
	1	2	3	4	5	SUM	$\times 10^4$	Sel hidup	Inhibisi
K -	11	10	8	9	9	235	230,0	100	
	8	10	8	9	10	225			
1 ppm	7	7	8	8	6	180	175,5	93,48	6,52
	5	7	7	8	8	175			
2 ppm	5	7	6	5	6	145	152,5	66,30	33,70
	7	6	7	6	6	160			
4 ppm	5	6	4	6	5	130	122,5	53,26	46,74
	4	5	4	6	4	115			
8 ppm	3	4	3	4	4	90	95,0	41,30	58,70
	4	4	5	3	4	100			
16 ppm	2	3	2	2	1	50	47,5	20,65	79,35
	1	1	2	3	2	45			

Kons Ppm	% Inhibisi	IC ₅₀
0		5,12
1	6,52	
2	33,70	
4	46,74	
8	58,70	
16	79,35	
R	0,9692	

4.2. Pembahasan

4.2.1. Pembahasan Umum

Ekstraksi kandungan kimia dari daun sukun (*Arthocarpus altilis*) kering dimulai dengan memotong-motong kasar daun sukun. Pemotongan ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel, agar kontak antara pelarut dengan sampel semakin luas, sehingga mempermudah penetrasi pelarut kedalam sel dan proses pelarutan senyawa-senyawa yang terkandung didalam sampel menjadi sempurna. Penyarian sampel dilakukan dengan cara maserasi karena merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana baik dalam penggunaan alat-alat maupun dalam proses pengerjaannya yaitu cukup dengan merendam sampel dalam pelarut organik selama 3-5 hari sambil sesekali dikocok, kemudian disaring. Perendaman dilakukan secara berulang sampai filtrat menjadi bening, karena dianggap proses penyarian telah sempurna. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut dalam maserasi ini karena selain lebih aman daripada metanol juga mampu melarutkan hampir semua senyawa organik baik polar maupun non polar. Dengan keberadaan air 30% diharapkan juga mampu menarik senyawa-senyawa yang larut dalam air.

Ekstrak etanol 70% yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya secara *in vacuo* menggunakan *rotary evaporator*, Ekstrak etanol dikeringkan dan ditimbang diperoleh ekstrak kental etanol 477,5 g.

Partisi dilakukan dengan menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya. Pelarut *n*-heksana akan menarik senyawa-senyawa non polar karena sifatnya yang non polar, etil asetat untuk menarik senyawa-senyawa yang semi polar dan senyawa polar ditarik dengan pelarut *n*-butanol yang bersifat polar. Partisi diawali dengan pelarut *n*-heksana : air dengan perbandingan sama (1:1) selama 1 hari 3 kali berturut-turut sampai eluat (*n*-heksana) bening, dimana diasumsikan senyawa-senyawa non polar telah ditarik pelarut *n*-heksana secara sempurna. Selanjutnya menggunakan pelarut semi polar dengan perbandingan yang sama, etil asetat : air (1:1) selama 1 hari 3 kali berturut-turut sampai eluat (etil asetat) bening, dimana diasumsikan senyawa-senyawa semi polar telah ditarik pelarut etil asetat secara sempurna. Hal yang sama juga dilakukan terhadap *n*-butanol yang bersifat polar. Namun karena *n*-butanol dan air sama-sama polar, batas antara kedua pelarut sangat lama terbentuk yang membutuhkan waktu yang

lebih lama. Pelarut hasil partisi kemudian diuapkan secara *in vacuo* dengan menggunakan *rotary evaporator*, khusus pelarut air dikeringkan dalam oven 50°C. Ekstrak kering kemudian ditimbang dengan berat masing-masing: *n*-heksana 3,4 g; etil asetat 73,9 g; *n*-butanol 50,8 g; dan ekstrak kental fraksi air 30,4 g.

Penelusuran tahap awal terhadap senyawa aktif antioksidan menggunakan kolom cepat. Sebanyak 73,9 g fraksi etil asetat difraksinasi dengan teknik kromatografi kolom cepat menggunakan fase diam silika G 60 (230 - 400 mesh) dan fase gerak *n*-heksana yang ditingkatkan kepolarannya dengan penambahan etil asetat dan metanol secara bergradien (*n*-heksana : etil asetat : 100%; 20:1; 10:1; 5:1; 1:1; 1:5; 1:3; etil asetat : metanol :100%; 1:10; 1:5; dan 1:1). Eluen yang digunakan masing-masing fraksi sama yaitu 400 mL. Hasil kromatografi kolom cepat sebanyak sembilan fraksi, setelah pelarutnya diuapkan secara *in vacuo* diperoleh fraksi 1 seberat 9,45 g; fraksi 2 seberat 5,6 g; fraksi 3 seberat 6,8 g; fraksi 4 seberat 9,9 g; fraksi 5 seberat 8,05 g; fraksi 6 seberat 6,2 g; fraksi 7 seberat 4,8 g; fraksi 8 seberat 7,9 g dan fraksi 9 seberat 15,2 g. Fraksi-fraksi ini dimonitor dengan menggunakan plat KLT pada sinar UV dengan λ_{\max} 254 dan 366 dan penyemprotan dengan H₂SO₄ 5% dalam metanol, noda yang menunjukkan kemiripan (*R_f*) digabung untuk dimurnikan lebih lanjut.

Dari sembilan fraksi, dipilih fraksi kedua karena merupakan pekatan warna hitam yang terdapat kristal. Fraksi diperoleh dari kolom cepat dengan eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 20 : 1. Fraksi dua sebanyak 5,6 gram dikolom lambat menggunakan silika gel kieselgel G 60 (70 - 230 mesh) sebanyak 112 gram dengan metode isokratik dengan eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 98 : 2. Pemilihan eluen secara isokratik diharapkan kecepatan pemisahan komponen senyawa berlangsung konstan.

Hasil kolom ditampung dengan botol masing-masing sebanyak 100 mL kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan di peroleh 22 fraksi. Tampungan 3 (fraksi 3) memperlihatkan kristal bercampur dengan gum berwarna kuning, kemudian fraksi tiga ini direkristalisasi menggunakan diklorometana dan metanol dan diperoleh kristal jarum berwarna putih sebanyak 9,3 mg. Dengan cara yang sama fraksi 4 diperoleh kristal jarum berwarna putih

sebanyak 16,1 mg dan di beri kode JS1. Fraksi 9 dimurnikan lebih lanjut dengan metode preparatif menggunakan plat silika gel dan diperoleh senyawa JS7 sebesar 5,2 mg.

4.2.2 Pembahasan Senyawa Hasil Isolasi

a. Isolat 1 (JS1)

Hasil isolasi ekstrak etil asetat daun sukun (*Arthocarpus altilis*) diperoleh kristal jarum berwarna putih dengan titik leleh 133-135°C. Analisis dengan *spectroscopy* UV-Vis menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{maks}) 223,0 nm yang menunjukkan adanya ikatan rangkap terisolir dimana terjadi transisi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$. Analisis GC-MS menunjukkan senyawa ini memiliki berat molekul 414. Dari penyidikan spektrum infra merah senyawa ini menunjukkan pita serapan tajam pada bilangan gelombang (ν) 3250 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus -OH dan bilangan gelombang (ν) 2935 cm^{-1} dan 2887 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur dari ikatan -C-H alifatis.

Dari spektrum resonansi magnetik inti proton 1H -NMR adanya sinyal pergeseran kimia (δ_H) : 1,02; 0,96; 0,86; 0,84; dan 0,72 ppm menunjukkan adanya enam metil. Pergeseran kimia (δ_H) 3,69 ppm (1H,m) merupakan proton dari gugus metin yang mengikat gugus -OH. Pergeseran kimia (δ_H) :5,31 ppm (1H,d) merupakan proton yang terikat pada ikatan rangkap, sedangkan pergeseran kimia (δ_H) antara 1,02 sampai 0,72 ppm menunjukkan adanya ikatan sp^3 yang diperkirakan dari gugus metilen dan gugus metin.

Dari spektrum ^{13}C -NMR dan DEPT (Lampiran 6 dan 13-15), memberikan gambaran senyawa yang diteliti mengandung 29 karbon yang berupa 6 gugus metil, 11 gugus metilen, 9 gugus metin dan 3 karbon kuartener. Enam gugus metil diperlihatkan oleh puncak-puncak karbon pada pergeseran kimia (δ_C) :20,2; 19,9; 19,3; 12,3; 12,2 dan 12,2 (hal ini sesuai dengan data 1H -NMR). Sembilan gugus metin ditunjukkan oleh pergeseran kimia (δ_C) : 121,6; 71,8; 57,7; 56,9; 51,2; 46,7; 37,0; 32,8, dan 19,8 ppm. Sebelas gugus metilen ditunjukkan oleh pergeseran kimia (δ_C) : 43,4; 40,7; 38,3; 34,7; 32,7; 32,6; 29,0; 26,8;25,0; 23,8 dan 21,9. Tiga atom karbon kuartener ditunjukkan oleh pergeseran kimia (δ_C) 142,4; 43,2 dan 37,4

ppm. Pada pergeseran kimia (δ_C) 142,4 dan 121,6 menunjukkan adanya ikatan rangkap yang diperkuat oleh pergeseran kimia proton (δ_H) 5,31 dan 3,69 ppm. Adanya satu atom C pada pergeseran kimia (δ_C) 71,8 ppm merupakan atom C yang mengikat gugus -OH (hal ini didukung oleh data $^1\text{H-NMR}$, yaitu pada pergeseran kimia $\delta_H = 3,69$ ppm yang merupakan proton yang terikat pada atom C dari alkohol sekunder).

Dengan asumsi bahwa senyawa JS1 hanya mengandung atom C, H dan O dengan jumlah atom C = 29 dan O = 1 (diperkirakan dari gugus -OH yang tampak $\delta_C = 71,7$ ppm), maka dapat dihitung jumlah atom hidrogen.

$$\text{Jumlah atom hidrogen} = 414 - (29 \times 12) - (1 \times 16) / 1 = 50$$

Dengan demikian rumus molekul senyawa tersebut adalah $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$. (Silverstein, Bassler dan Morrill, 1991).

Jumlah cincin dan (atau) ikatan rangkap dari senyawa JS1 dapat dihitung dengan rumus indeks kekurangan hidrogen sebagai berikut (Silverstein, Bassler dan Morrill, 1991).

$$F = X - 0,5Y + 0,5Z + 1$$

Di mana F = jumlah cincin dan (atau) ikatan rangkap

X = jumlah atom tetravalen dari karbon dan silika

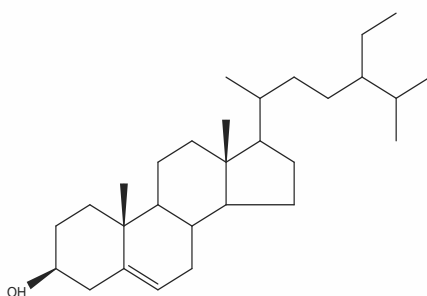
Y = jumlah atom monovalen dari hidrogen dan halogen

Z = jumlah atom trivalen dari nitrogen fospor

Maka,

$$F = 29 - (0,5 \times 50) + (0,5 \times 0) + 1 = 5$$

Dari perhitungan tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa JS1 mempunyai jumlah cincin atau ikatan rangkap 5, oleh karena senyawa JS1 telah memiliki satu ikatan rangkap berdasarkan data spektroskopi, maka jumlah cincinnya hanya empat. Dari data $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ terlihat jumlah atom karbon, hidrogen dan oksigen serta jumlah cincin mengarah dugaan bahwa senyawa tersebut adalah suatu senyawa steroid tetrasiklik dengan satu ikatan rangkap, satu gugus -OH dan enam gugus metil. Dengan perkiraan struktur sebagai berikut.



Gambar 28. Struktur molekul β -sitosterol

Untuk memperkirakan struktur molekul senyawa JS1 secara lebih tepat, maka data spektrum ^{13}C -NMR dan data GC-MS senyawa JS1 dibandingkan dengan senyawa tetrasiklik lain yaitu β – sitosterol, seperti terlihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Perbandingan data pergeseran kimia ^{13}C -NMR (δC) JS1 dan β -sitosterol (Nes,D.W.dkk.1992)

Atom C	Pergeseran Kimia Karbon (ppm)		Pergeseran Kimia Proton (ppm)	
	Literatur	β sitosterol	Literatur	β sitosterol
1	37,2 (CH ₂)	38,3 (CH ₂)	1,25	0,84
2	29,1(CH ₂)	29,0 (CH ₂)	1,44	1,27-1,35
3	<u>71,8</u> (CH)	<u>71,8</u> (CH)	3,25	3,69
4	42,3 (CH ₂)	43,4 (CH ₂)	2,11	2,2
5	<u>140,7</u> (C)	<u>142,4</u> (C)	--	--
6	<u>121,6</u> (CH)	<u>121,6</u> (CH)	5,37	5,31
7	31,6 (CH ₂)	32,7 (CH ₂)	1,92	1,98
8	31,9 (CH)	32,8 (CH)	1,63	1,94
9	50,1 (CH)	51,2 (CH)	1,61	0,95
10	36,5(C)	37,4 (C)	--	--
11	21,1 (CH ₂)	21,9 (CH ₂)	1,25	1,54

Lanjutan Tabel 4. Perbandingan data pergeseran kimia $^{13}\text{C-NMR}$ (δC) JS7 dan β -sitosterol

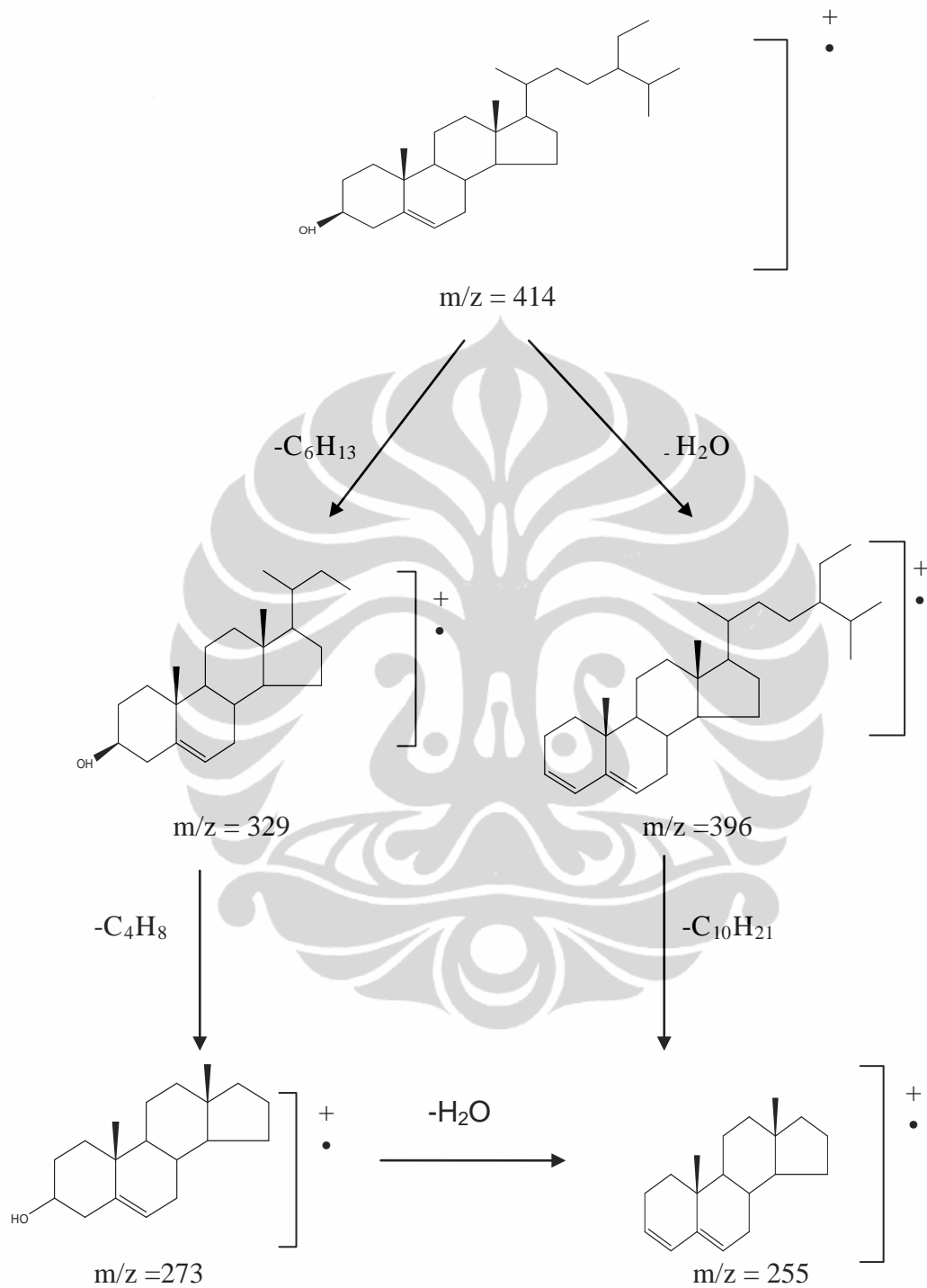
12	39,7 (CH ₂)	40,7 (CH ₂)	1,29	2,08
13	42,3(C)	43,2 (C)	--	--
14	56,7 (CH)	57,7 (CH)	1,25	1,04
15	24,3 (CH ₂)	25,0 (CH ₂)	1,29	1,62
16	28,2 (CH ₂)	32,6 (CH ₂)	1,29	1,75-1,77
17	56,0 (CH)	56,9 (CH)	1,01	1,14
18	11,8 (CH)	37,0 (CH)	1,83	1,37-1,40
19	29,1 (CH ₂)	26,8 (CH ₂)	1,29	1,16-1,26
20	23,0 (CH ₂)	23,8 (CH ₂)	1,25	1,22
21	18,8 (CH)	19,4 (CH)	1,46	0,91-0,93
22	45,8 (CH)	46,7(CH)	1,82	0,97
23	33,9(CH ₂)	34,7 (CH ₂)	1,25	1,40-1,44
24	19,0 (CH ₃)	12,2 (CH ₃)	1,26	0,72
25	26,0 (CH ₃)	12,2 (CH ₃)	1,06	0,72
26	11,9 (CH ₃)	12,3 (CH ₃)	1,01	0,86
27	19,4 (CH ₃)	20,2(CH ₃)	1,01	1,02
28	19,8 (CH ₃)	19,9 (CH ₃)	0,96	0,84
29	23,0 (CH ₃)	19,3 (CH ₃)	1,01	0,96

Dari tabel perbandingan data pergeseran kimia $^{13}\text{C-NMR}$ (δC) JS1 dan β -sitosterol terlihat kemiripan dari pergeseran kimia $^{13}\text{C-NMR}$ (δC) JS1 dan β -sitosterol, dimana pergeseran kimia pada atom C No 3 sebesar 71,8 ppm menunjukkan adanya atom C yang mengikat gugus -OH, pada atom C No 5 dan 6 sebesar 140,7 dan 121,6 pada pergeseran kimia β -sitosterol dan 142,4 dan 121,6 pada senyawa JS1 menunjukkan adanya pergeseran kimia untuk atom C yang berikatan rangkap, untuk pergeseran kimia atom C yang lain terlihat kemiripan yang signifikan yang memperkuat dugaan bahwa senyawa JS1 adalah senyawa β -sitosterol, dugaan ini juga diperkuat oleh data GC-MS yang memperlihatkan massa dan pola fragmentasi dari senyawa JS1 dibandingkan dengan senyawa β -sitosterol seperti terlihat pada lampiran 5.

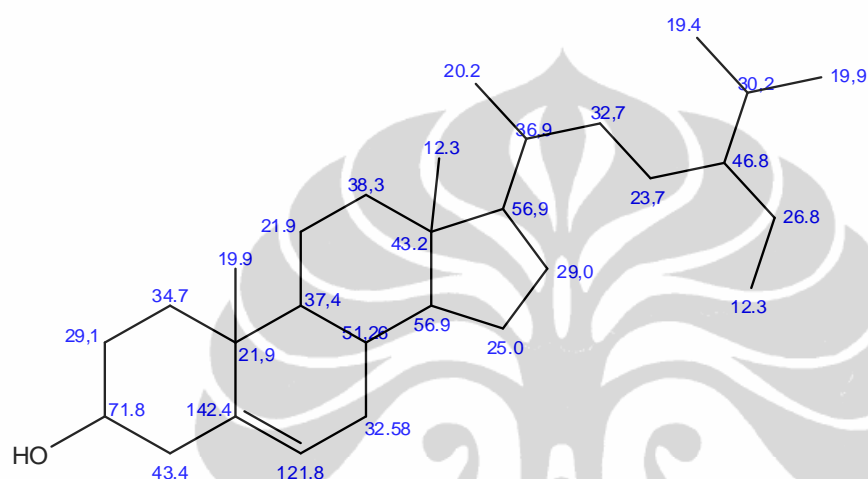
Tabel 5. Perbandingan Data Fragmentasi Spektrum Massa senyawa JS1 dengan β -Sitosterol (lampiran 5)

Fragmentasi (Massa)	Senyawa JS1	β - Sitosterol
1	414	414
2	396	396
3	381	381
4	354	354
5	329	329
6	303	303
7	213	213

Dari data ini juga terlihat bilangan massa 329 yang diperkirakan senyawa β -sitosterol kehilangan massa sebesar 85 yang diperkirakan senyawa β -sitosterol kehilangan gugus $-C_6H_{13}$, bilangan massa 255 diperkirakan merupakan fragmentasi lanjut dari senyawa β -sitosterol yang telah kehilangan H_2O . Bilangan massa 396 merupakan fragmen dimana β -sitosterol kehilangan massa 18 yang diperkirakan karena kehilangan H_2O , yang kemudian terfragmentasi lebih lanjut dengan melepaskan $C_{10}H_{21}$ yang ditunjukkan oleh fragmen dengan bilangan massa 255 seperti dapat dilihat pada Gambar 29.

Gambar 29. Pola fragmentasi β -sitosterol

Dari hasil pengukuran secara spektroskopi (IR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$) dan didukung oleh studi literatur (dengan membandingkan pergeseran kimia β -sitosterol dan data fragmentasi spektrum massa senyawa JS1 dan β -sitosterol) maka dapat disimpulkan bahwa senyawa JS1 adalah β -sitosterol dengan struktur molekul sebagai berikut:

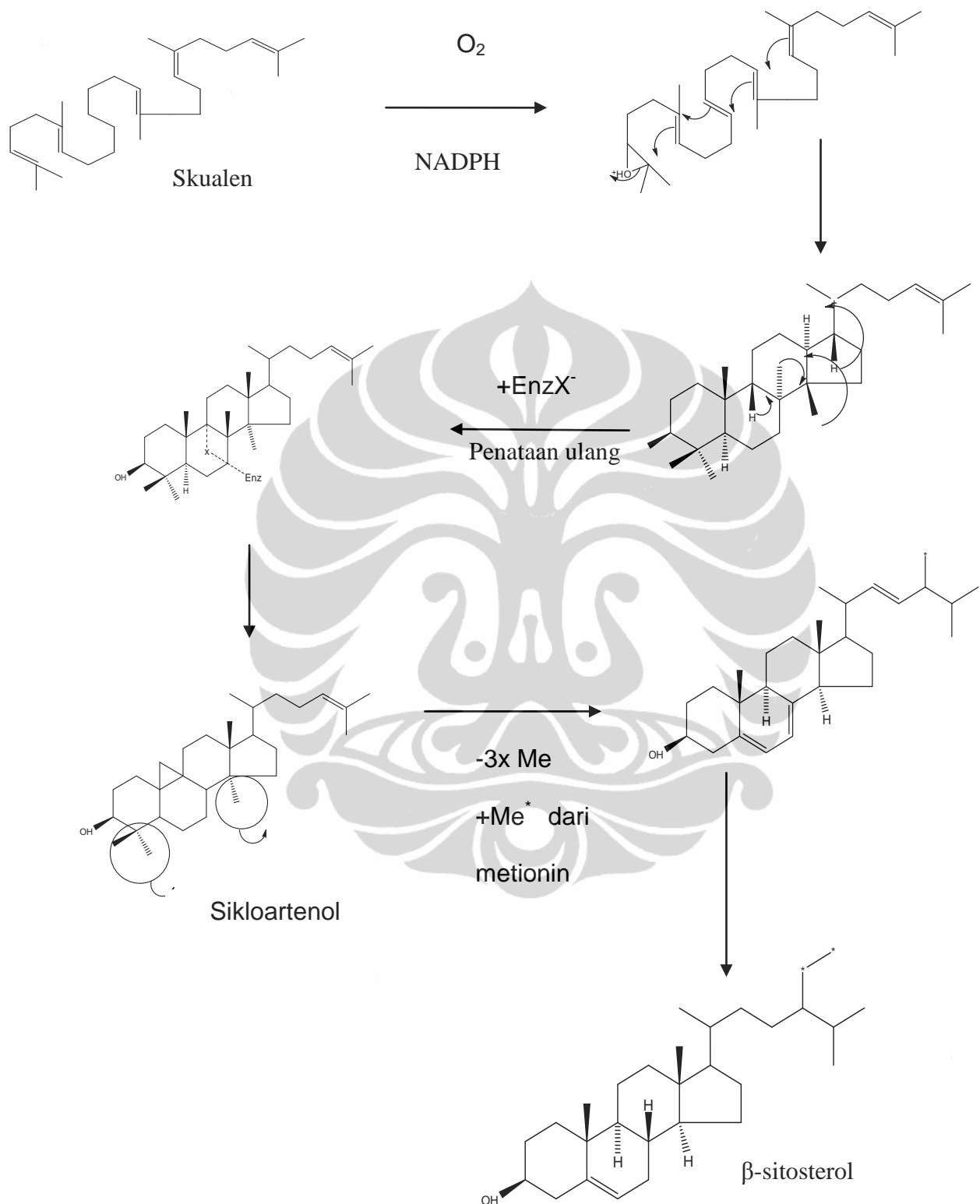


Gambar 30. Struktur molekul β -sitosterol

Biosintesis β -sitosterol

Senyawa kolesterol dapat dibentuk melalui siklisasi skualen (C_{30}), yang berasal dari kondensasi dua satuan farnesilpirofosfat yang bergabung dengan cara yang tidak lazim, yaitu kepala-kepala, skualen mengalami oksidasi menjadi skualen epoksida. Kemudian epoksida itu diprotonkan dan kemudian sederet geseran elektron menghasilkan penutupan empat cincin dan pembentukan sistem cincin steroid. Produk antara dari tahap penutupan cincin adalah suatu karbokation. Zat antara tersebut mengalami beberapa proses enzimatik yang berupa penataan ulang H maupun gugus metil yang akhirnya menghasilkan β -sitosterol, keseluruhan rentetan ini dikatalisis oleh satu enzim yaitu skualena oksidosiklase (J.Mann,1980, Herbert,R.B.1995, Fessenden and Fessenden, 1999). Seperti terlihat pada Gambar 31 dibawah ini.

Biosintesis β -sitosterol dapat dilihat pada gambar 31 dibawah ini:



Gambar 31. Biosintesis β -sitosterol

Pembahasan Isolat 2 (JS7)

Senyawa 2 (JS7), merupakan padatan berwarna kuning cerah, pemeriksaan massa menggunakan LC-MS menunjukkan berat molekul relatif pada m/z 404 dengan waktu retensi 4,3 menit dalam pelarut metanol.

Analisis dengan *spectroscopy* UV-Vis menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{maks}) 206,5 nm menunjukkan adanya ikatan rangkap terisolir dari gugus prenil dimana terjadi eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$; serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{maks}) 272,5 nm menunjukkan ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin aromatik dimana terjadi eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ dan 399 nm menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi yang berkonjugasi dengan gugus karbonil dimana terjadi eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ dan dari $n \rightarrow \pi^*$. Data spektrum IR diperoleh serapan pada bilangan gelombang (ν) 3427 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur yang menunjukkan gugus -OH, bilangan gelombang (ν) 1734 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk yang menunjukkan gugus C=O, 2920 cm^{-1} dan 2854 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur dari ikatan -C-H alifatis, 1602 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan -C=C- pada cincin aromatis dan 1134 cm^{-1} menunjukkan ikatan C-O-C.

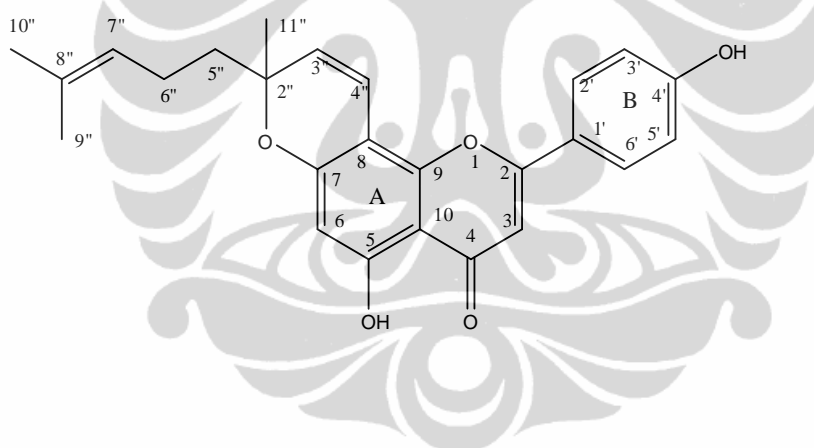
Pemeriksaan spektrum $^1\text{H-NMR}$ dalam pelarut CDCl_3 memperlihatkan signal singlet (1H) pada pergeseran kimia (δ_{H}) 12,72 ppm yang menunjukkan adanya gugus hidroksi yang membentuk ikatan hidrogen dengan oksigen pada gugus karbonil, Hal ini diperkuat oleh data IR pada bilangan gelombang (ν) 3427 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur yang menunjukkan gugus -OH dan bilangan gelombang (ν) 1734 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk yang menunjukkan gugus C=O. Pergeseran kimia (δ_{H}) 7,88 (1H,d, J 8,55); 7,79(1H,d, J 8,55); 7,69 (1H, d, J 8,6); 7,63 (1H, d, J 7,95); 7,03 (2H, d, J 5,5); 6,85 (1H, d, J 4,375); 6,73(1H); 5,74 (1H) menunjukkan delapan proton aromatis, bilangan gelombang 1602 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin aromatis. Pergeseran kimia (δ_{H}) 6,87 (1H); 5,79 (m, J 9,75); ,43(3H, s), 1,68 (3H, s) ppm merupakan proton diluar cincin. Sedangkan pemeriksaan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dan DEPT (Lampiran 16-17. Data DEPT JS7) dalam pelarut CDCl_3 memperlihatkan signal karbon pada pergeseran

kimia (δ_C) 168,4; 156,6; 147,6; 146,3; 132,3; 124,4 dan 123,9 menunjukkan tujuh atom C aromatis dan merupakan atom C quartener, 131,5; 126,5; 124,9; 115,4; 112,6; 107,9 ;29,5; 29,9 ppm merupakan pergeseran kimia (δ_C) dari gugus metilen dan metin serta tiga signal pergeseran kimia dari gugus metil yaitu 26,2; 25,8 dan 23,6 ppm

Dari data $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$, senyawa JS7 tersebut memiliki rumus molekul $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_5$. Selanjutnya dapat diketahui jumlah cincin dan ikatan rangkapnya, yaitu

$$F = 25 - (0.5 \times 24) + (0.5 \times 0) + 1 = 14$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diatas, dapat disimpulkan bahwa senyawa JS7 mempunyai jumlah cincin dan ikatan rangkap sebanyak 14. Hal ini sesuai dengan struktur JS7 yang merupakan kerangka dasar dari flavonoid yang terprenilasi.

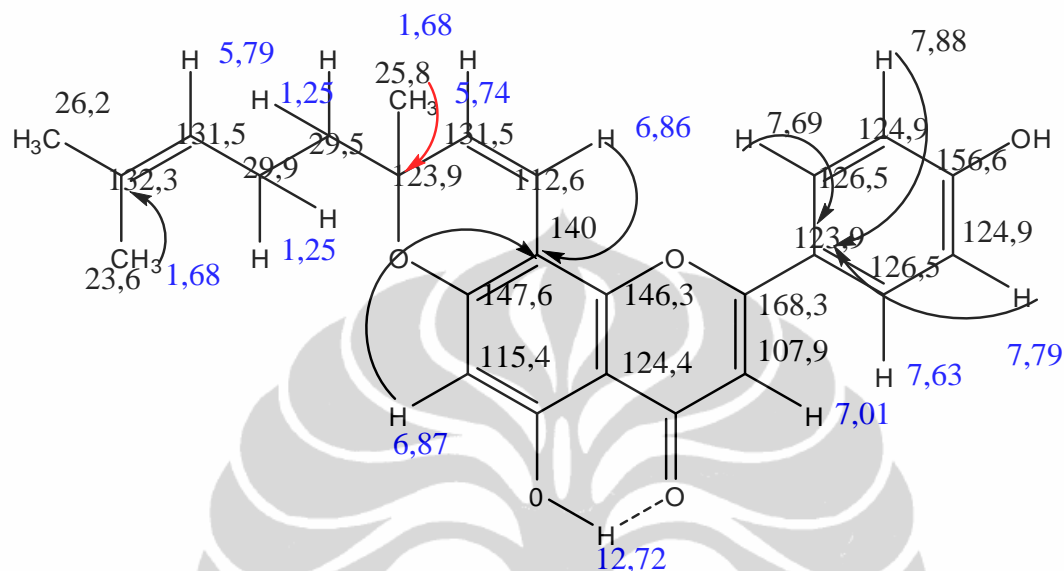


Gambar 32. kerangka dasar dari flavonoid yang terprenilasi

Tabel 6. Data pergeseran kimia H-NMR, C-NMR dan HMQC (Lampiran.18) serta HMBC (Lampiran 19-20) senyawa JS 7

NO	C-NMR / DEPT	H-NMR	HMBC
2	168,3 Cq		
3	107,9 CH	7,03 (1H, s)	124,4
5			
6	115,4 Cq	6,87 (1H, d, J = 8,5)	140
7	147,6 Cq		
8	140 Cq		
9	146,3 Cq		
10	124,4 Cq		
1'	123,9 Cq		
2'	126,5 CH	7,69 (1H, d, J = 8,5)	168,3; 123,9
3'	124,9 CH	7,88 (1H, d, J = 8,5)	123,9
4'	156,6 Cq		
5'	124,9 CH	7,79 (1H, d, J = 8,55)	123,9
6'	126,5 CH	7,63 1H, d, J = 7,95	168,3
2''	123,9 Cq	1''	
3''	131,5 CH	5,74 (1H, m, J = 9,8)	
4''	112,6 CH	6,68 (1H, d, J = 9,8)	140
5''	29,5 CH ₂	1,25 (2H, d, J = 2,4)	
6''	29,9 CH ₂	1,43 (2H, d, 2,45)	
7'	131,5 CH	5,79 (1H, m, J = 9,75)	
8'	132,3		
9''	23,6 CH ₃	1,68 (3H, d)	132,3
10''	26,2 CH ₃	1,43 (3H, s)	132,3
11''	25,8 CH ₃	1,68 (3H, s)	123,9
OH		12,8	

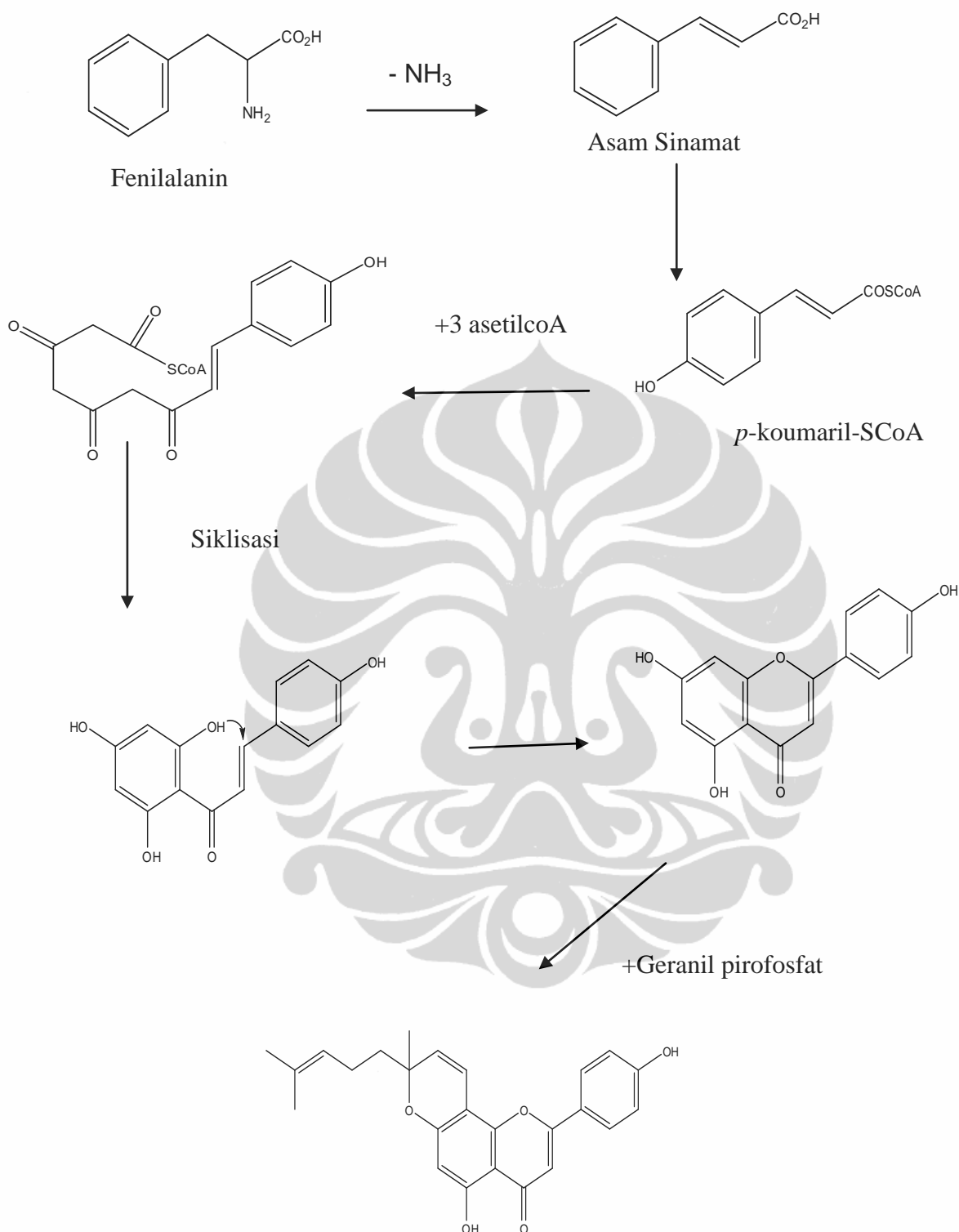
Dari data pergeseran kimia H-NMR , C-NMR dan HMQC serta HMBC senyawa JS 7 yang tercantum dalam tabel 6 diatas, dapat digambarkan struktur senyawa JS7 beserta HMQC dan HMBC seperti tercantum dibawah ini



Gambar 33. Struktur molekul flavonoid tergeranilasi dengan HMQC serta HMBC

Biosintesis Flavonoid

Flavonoid terdapat secara universal pada tanaman sebagai kelompok senyawa cincin oksigen yang terbesar. Terdapat dalam berbagai warna dalam berbagai jaringan. Kerangka dasarnya terdiri atas tiga cincin yang berasal dari asam asetat dan sikimat dengan yang disebut kerangka flavon, cincin A berasal dari tiga unit asetat yang tergabung antara kepala ke ekor yang kemudian bergabung dengan suatu fragmen *p*- kumaril (cincin B dan C). Gugus prenil yang terikat berasal dari dua isopren yang terikat dengan cara kepala ke ekor (Mann, J. 1980, Herbert, R.B, 1995). Rangkaian biosintesis selengkapnya dapat dilihat pada Gambar. 34. Berikut ini.



Gambar. 34. Biosintesis prenil flavonoid

4.2.3. Pembahasan uji bioaktivitas

4.2.3.1. Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Pada uji antioksidan menggunakan metode DPPH, aktivitas antioksidan diukur berdasarkan penurunan serapan larutan DPPH kontrol, akibat adanya ekstrak atau senyawa uji yang dibandingkan dengan larutan DPPH kontrol. Dalam uji antioksidan ini, digunakan beberapa senyawa yang telah dikenal sebagai antioksidan yaitu quersetin.

Dari hasil uji antioksidan didapatkan, bahwa fraksi etil asetat paling aktif dibandingkan dengan fraksi lain yaitu mempunyai nilai IC_{50} yaitu 94,36 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan fraksi lainnya yaitu fraksi *n*-heksana nilai IC_{50} 263,11 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi *n*-butanol IC_{50} 3252,94 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan senyawa kontrol yaitu quersetin IC_{50} 2,78 $\mu\text{g/mL}$. Dengan demikian dari hasil uji antioksidan yang telah dilakukan dengan pembanding senyawa yang telah dikenal luas sebagai antioksidan maka fraksi etil asetat memiliki IC_{50} paling kecil dibandingkan dengan fraksi lain dan dapat dikatakan paling aktif sebagai antioksidan dibandingkan dengan fraksi yang lain, begitu juga senyawa JS7 dapat dikatakan kurang aktif karena memiliki IC_{50} sebesar 137,00 $\mu\text{g/mL}$.

Nilai IC_{50} senyawa JS7 yang cukup besar kemungkinan disebabkan adanya ikatan hidrogen yang terdapat dalam senyawa JS7, sehingga atom hidrogen yang seharusnya sebagai donor hidrogen yang merupakan fungsi suatu senyawa antioksidan menjadi sulit untuk dilepaskan. Menurut Siswondono Soekarjo, 1995, ikatan hidrogen suatu senyawa mempunyai peran penting terhadap aktivitas biologinya, misalnya ikatan hidrogen intermolekul menghasilkan tenaga ikat antar molekul yang besar. Sehingga atom hidrogen sulit untuk dilepaskan dan kemungkinan ini terjadi pada senyawa JS7, dimana dalam strukturnya memiliki ikatan hidrogen intramolekul hal inilah yang kemungkinan menyebabkan nilai IC_{50} senyawa JS7 cukup besar.

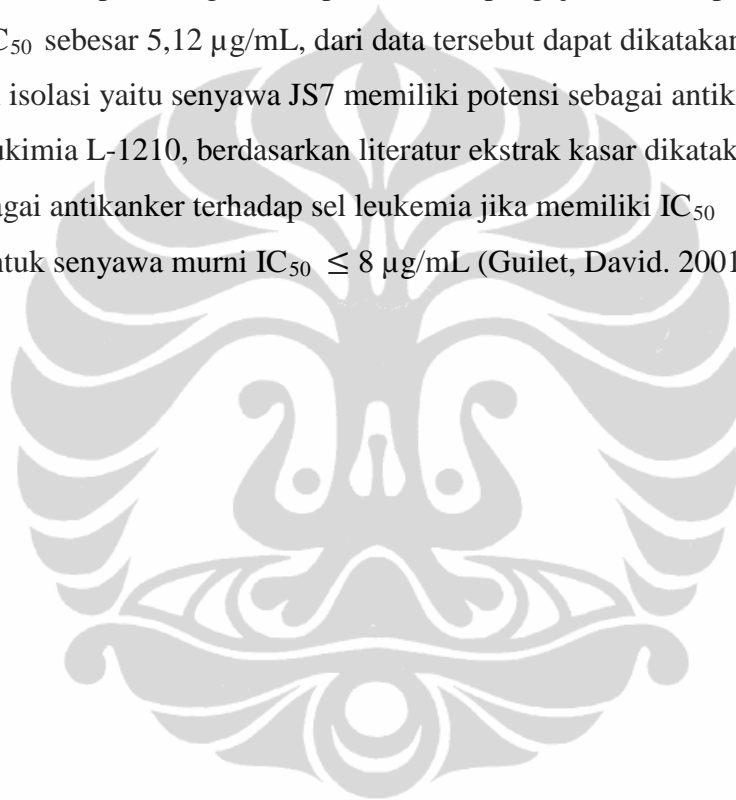
4.2.3.2. Uji aktivitas antikanker dengan sel leukemia L-1210

Pengujian aktivitas antikanker dengan dengan sel leukimia L-1210 adalah dengan menghitung daya hambat pertumbuhan sel leukimia L-1210 oleh senyawa kimia yang diuji. Metode pengujian dengan sel leukimia L1210 termasuk metode

yang bekerja atas dasar jenis sel tertentu. Metode pengujian aktivitas antikanker yang digunakan adalah metode *in vitro* untuk jenis tumor solid, yang ditujukan hanya sebagai suatu penapisan terhadap senyawa antikanker dalam tanaman.

Hasil pengujian dengan sel leukimia L-1210 dilihat dari aktivitas inhibisinya yang dinyatakan dengan konsentrasi senyawa dalam $\mu\text{g/mL}$ yang dapat menghambat perkembangbiakan sel sebanyak 50% setelah masa inkubasi 48 jam (Sumatra, M, 1998).

Setelah dilakukan perhitungan, didapatkan hasil pengujian terhadap senyawa JS7 dengan IC_{50} sebesar $5,12 \mu\text{g/mL}$, dari data tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa hasil isolasi yaitu senyawa JS7 memiliki potensi sebagai antikanker dengan sel leukimia L-1210, berdasarkan literatur ekstrak kasar dikatakan potensial sebagai antikanker terhadap sel leukemia jika memiliki $\text{IC}_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$ dan untuk senyawa murni $\text{IC}_{50} \leq 8 \mu\text{g/mL}$ (Guilet, David. 2001).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat diambil beberapa kesimpulan, yaitu:

1. Dari fraksi 2 etil asetat daun sukun setelah dikolom ulang kemudian rekristalisasi dan KLT preparatif berhasil diisolasi 2 senyawa yaitu JS1 merupakan senyawa β -sitosterol dan JS7 merupakan senyawa turunan prenil flavonoid.
2. Hasil uji bioaktivitas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH paling baik ($IC_{50} = 94,36 \mu\text{g/mL}$) jika dibandingkan dengan fraksi heksana ($IC_{50} = 263,11 \mu\text{g/mL}$) dan fraksi *n*-butanol ($IC_{50} = 2901 \mu\text{g/mL}$), senyawa JS7 ($IC_{50} = 137,00 \mu\text{g/mL}$). Serta aktivitas antikanker senyawa JS7 terhadap sel leukemia L-1210 menunjukkan aktivitas antikanker yang potensial dengan IC_{50} sebesar $5,1209 \mu\text{g/mL}$.

5.2. Saran

Agar dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa lain dari tumbuhan sukun (*Artocarpus altilis*) serta uji bioaktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*, Yogyakarta, 27-35
- Blois, M.S., 1958. *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*, Nature 181: 1199-1200
- Chan Sheng Ching, Horng-Huey Ko and Chun nan Lin, 2003. *New Prenilflavonoid from Artocarpus communis*. J.Nat.Prod, 66,426-430
- Chen, C.C.Y.L.Huang, J.C.Ou, C.F.Lin, and T.M.Pan, 1993. *Tree New Prenylflavone from Artocarpus altilis*, J.Nat.Prod.56:9,1594-1597
- Chun-Nan Lin and Wen-Liang Shieh, *Prenilflavonoids and Piranodihydrobenzoxantone from Artocarpus comunis*, Phytochemistry.vol 30,16691671.
- Chun-Nan Lin, Wen-Liang Shieh and Ting-Ting Jong, 1992. *A Piranodihydrobenzoxantone Epoxide from Artocarpus Communis*, Phytochemistry.vol 31.no 7,2563-2564.
- Dachriyanus, 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Andalas University Press, Padang
- Dey and Harborne, 1991. *Methods in plant biochemistry volume 6, Assay for bioactivity*, edited by Hostetmann, K. Academic Press. Hercout Brace Jovanovich, Publisher.
- Doll, R and Peto, R. 1981, *The causes of Cancer*, Oxford Medical Publication.
- Farnsworth. N.R. 1983 *The Napralet Data Base as an Information Source for Application to Traditional Medicine*. WHO, Geneva.
- Fessenden and Fessenden, 1999. *Kimia Organik jilid 2*. Diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka Ph.D. Penerbit Erlangga.
- Fujimoto, Yosuo, Zhang Xiang Xing, Kirisawa, Makoto, Uzawa, Jun and Farm Bull Sumatra Made, 1990. *New Flavones From Artocarpus Comunis Forst*. Chem 38(6) 1787-1789.

- Gritter, R. J., J. M. Bobbits, and A. E. Schwarting, 1987. *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi)*, Edisi ke-2, diterjemahkan oleh K.Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Guilet, David, Denis Seraphin, David Rondeau, Pascal Richomme, Jean Bruneton, 2001. *Cytotoxic coumarins from Calopyllum dispar*, *Phytochemistry* 58 571-575.
- Hano Yoshio, Ryohel Inami and Taro Nomura, 1994. *A Novel Flavone, Artonin V, from the Root Bark of Artocarpus altilis*. *J.Chem Research*, 348-349.
- Harbone, J.B., 1987. *Metode Fitokimia*, Ed II., Diterjemahkan Oleh Kosasih Patmawinata dan Iwang Sudiro, ITB, Bandung
- Herbert, R.B., 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Terjemahan Bambang Srigandono. Edisi kedua IKIP Semarang Press. Semarang.
- Hesse, M., H. Meier, and B. Zeeh., 1991. *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, 4.ü bearbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York
- Heyne (1987). *Tumbuhan berguna Indonesia*, Jilid III. Cetakan ke 1, Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Departemen Kehutanan. Gatot Subroto. Jakarta 1374-1380
- Habib, M. Rowshanul, Farjana Nikkon, Matiar Rahman, M Ekramul Haque dan M. Rizaul Karim, 2007. *Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from Methanolic extract of Root Bark of Calotropis gigantea (Linn)*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (22) 4174-4176.
- Hutapea, Johnny R. dkk. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*.
- Jamilah, 2008. *Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Kimia Serta Uji Aktivitas Biologi Kulit Batang Marga Calophyllum spp.* Disertasi, UI
- Khosihara, Y., Y. Fujimoto, and H. Inoue, 1988, *A New 5-Lipoxygenase selektiv inhibito r derived from Artocarpus communis strongly inhibits arachidonic acid-induced ear edema*, *Biochem. Pharmacol*, 37:11, 2161-2165

- Lotulung,Puspa.D.N, 2008.*Identifikasi of Cytotoxic Compound from Artocarpus communis Leaves Against P-388 Cell.*Pakistan Journal of Biological Sciences11(21);2517-2520.
- Mann,J.1980. *Secondary metabolism.*2nd Oxford University Press, New York.
- Makmur,Lukman,dkk, 1999. *Artonol B dan sikloartobilosanton dari tumbuhan Artocarpus teysmanii Miq.* Proceedings Institut Teknologi Bandung.
- Nes, D.W.,Norton, R.A. and Benson,M. 1992, *Phytochem*, 31 (3), 805-811.
- Packer, L.M., Hiramatsu, T. and Yoshikawa. 1999. *Antioxidant Food Supplement in Human Health*, Academic Press
- Patil, Ashok D,dkk.2002.*New Dimeric Dihydrocalcone and a new Prenilated Flavone from the bud covers of A,Potent Artocarpus altilis,Potent inhibitors of Cathepsin K.J.Nat.Prod,2002,65,624-627.*
- Robinson,T.1995.*Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.*Tejemahan Kosasih Padmawinata.Penerbit ITB, Bandung.
- Rendle,Alfred Barton,1974. *The Classification of Flowering Plants volume II Dicotiledons* ,Vikas publisingHouse PVT LTD.
- Sastrohamidjojo, H., 1992. *Spektroskopi*, Penerbit Liberty, Yokyakarta
- Simes, J.J.H., J.G. Tracey, L.J. Webb, and W.J. Dunston, 1995. *An Australian Phytochemical Survey*, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia
- Shimizu,K,R.Kondo,K.Sakai,S.Buabam,and Dilokkunanant,2000,*A Geranylated Chalcone with 5 α -reductase inhibitory properties from Artocarpus incisus*,Phytochem,54:8,737-739
- Syah Yana Maulana, Syamsul Arifin Achmad,Eri Bachtiar,Euis Holisatan Hakim,Lia Dewi JuliawatY,Latifah latip,2006. *Dua Flavonoid Tergeranilasi dari Daun Sukun (Arthocarpus altilis)* Jurnal Matematika dan Sains, Vol 11 no 3.
- Silverstein, R.M., G.C. Bassler, T.C., 1991. Morrill, *Spectrometric, Identification of Organic Componuds*, 5th Ed., John Willey and Sons, New York

- Sjamsul A., 2007. *Radikal Bebas*. Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo, Surabaya. 1-9.
- Sudjadi.1985.*Penentuan struktur senyawa organik*.Ghalia Indonesia,Jakarta.
- Sumatra,M. 1998.*Bioassay in vitro dengan sel leukimia L-1210,Sebuah Metode Skrining Zat Anti Tumor Dari Bahan Alam* Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia 1998 Jakarta 183-188
- Suwandri,2001.*Penentuan struktur molekul dan uji bioaktivitas senyawa kimia dari batang Calophyllum depressinervosum* Hand et Ws.Tesis UI.
- Verheij E.W.M. and R.E.Coronel,1992,*Plant Resource of South-East Asia, Edible Fruit and nuts*.Prosea Bogor Indonesia.
- Welvaart, Van de velve, Bosman, Wagener (1999). *Onkology*. Edisi V. Panitia kanker RSUP DR.Sardjito Yogyakarta. 218-231
- Weng,Jing-Ru,Sheng-ching chan,Yi-Huang lu,Hsien-Cheng lin,Hornng-Huey Ko,Chun- Nan Lin,2006.*Antiplaetet Prenylflavonoid From Artocarpus Communis*,Phytochemistry: 67,824-829
- Whitmore, T.C. Tantra, I.G.M.1989.*Tree Flora of Indonesia Check List For Sumatra*,Forest Research and Development Centre, Ministry of Forestry Bogor Indonesia.
- Zaini. N.C. (1993). *Upaya Mutakhir dan Tantangan Pengembangan Obat Dari Tumbuhan Indonesia*. Pidato Pengukuhan Guru Besar Dalam Ilmu Fitokimia Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

Lampiran 1. Hasil identifikasi tanaman sukun (*Artocarpus altilis*)

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

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 5 Juli 2010

Nomor : 927 /IPH.1.02/If.8/VII/2010
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). A DJamilah
 NPM : 0806421621
 Mhs. Univ. Indonesia
 Fakultas MIPA
 Kampus UI Depok
 16424


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 :

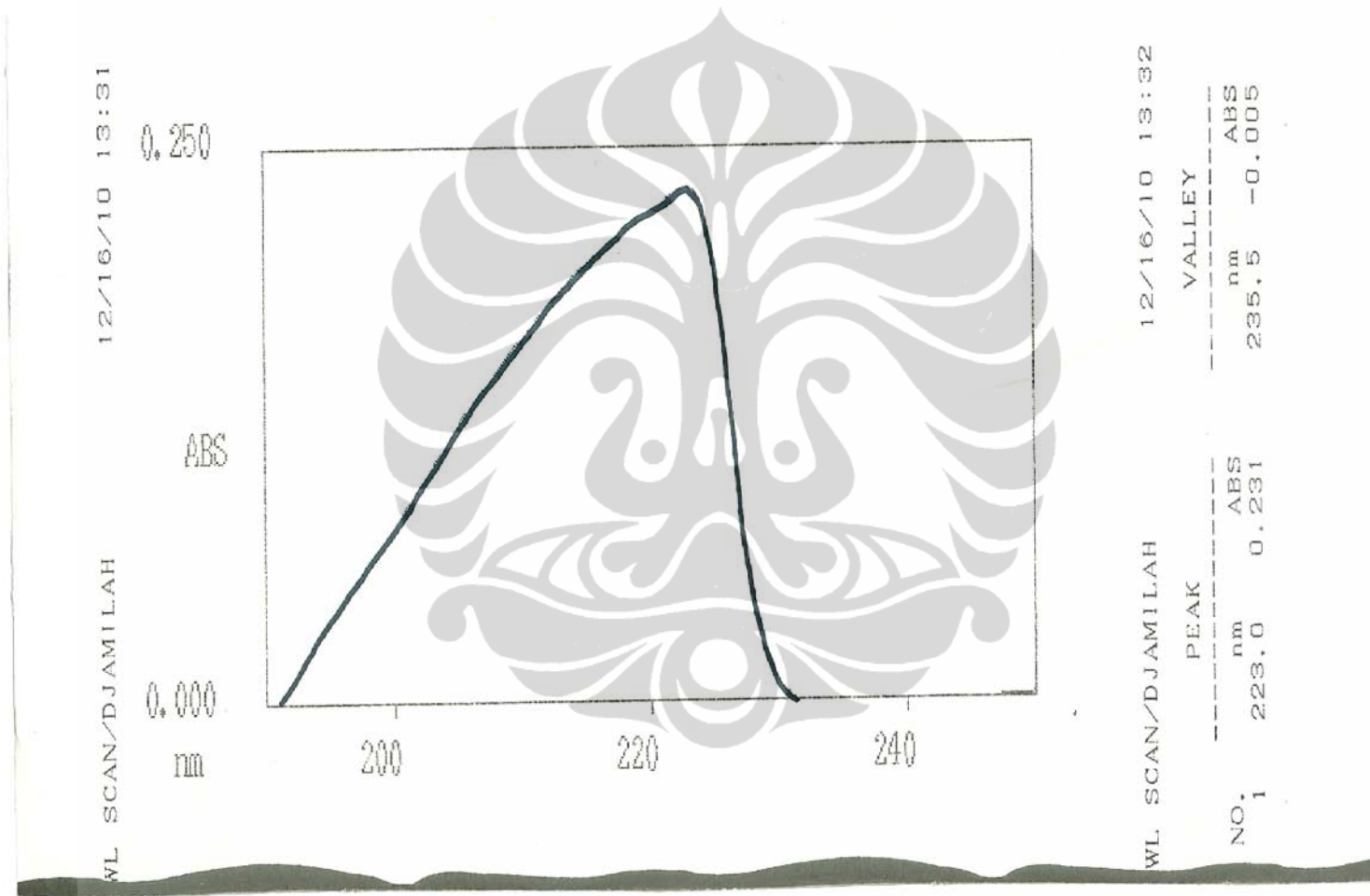
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Sukun	<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	Moraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

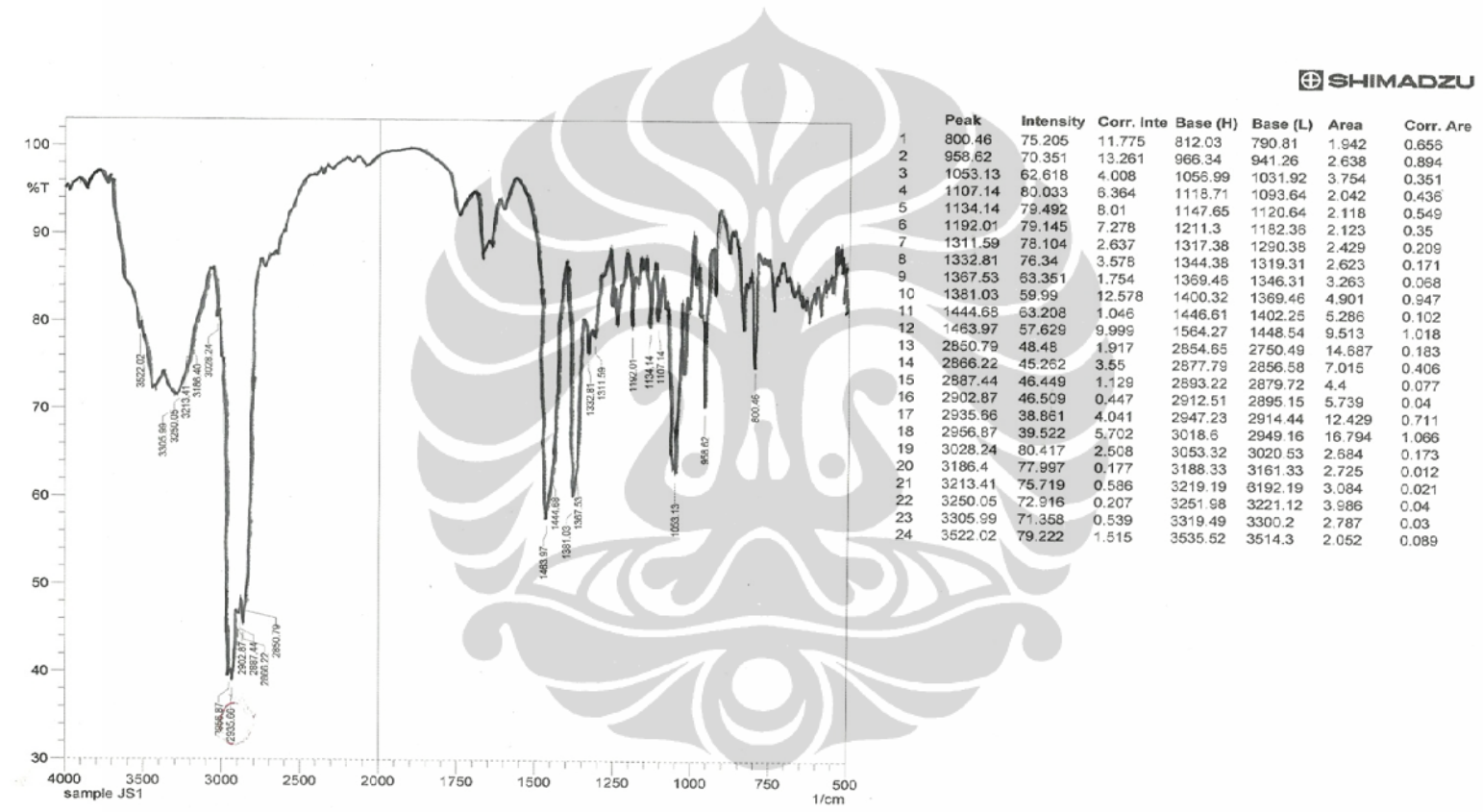
Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
 NIP. 195111041975011001

Lampiran 2.Data UV-VIS JS1



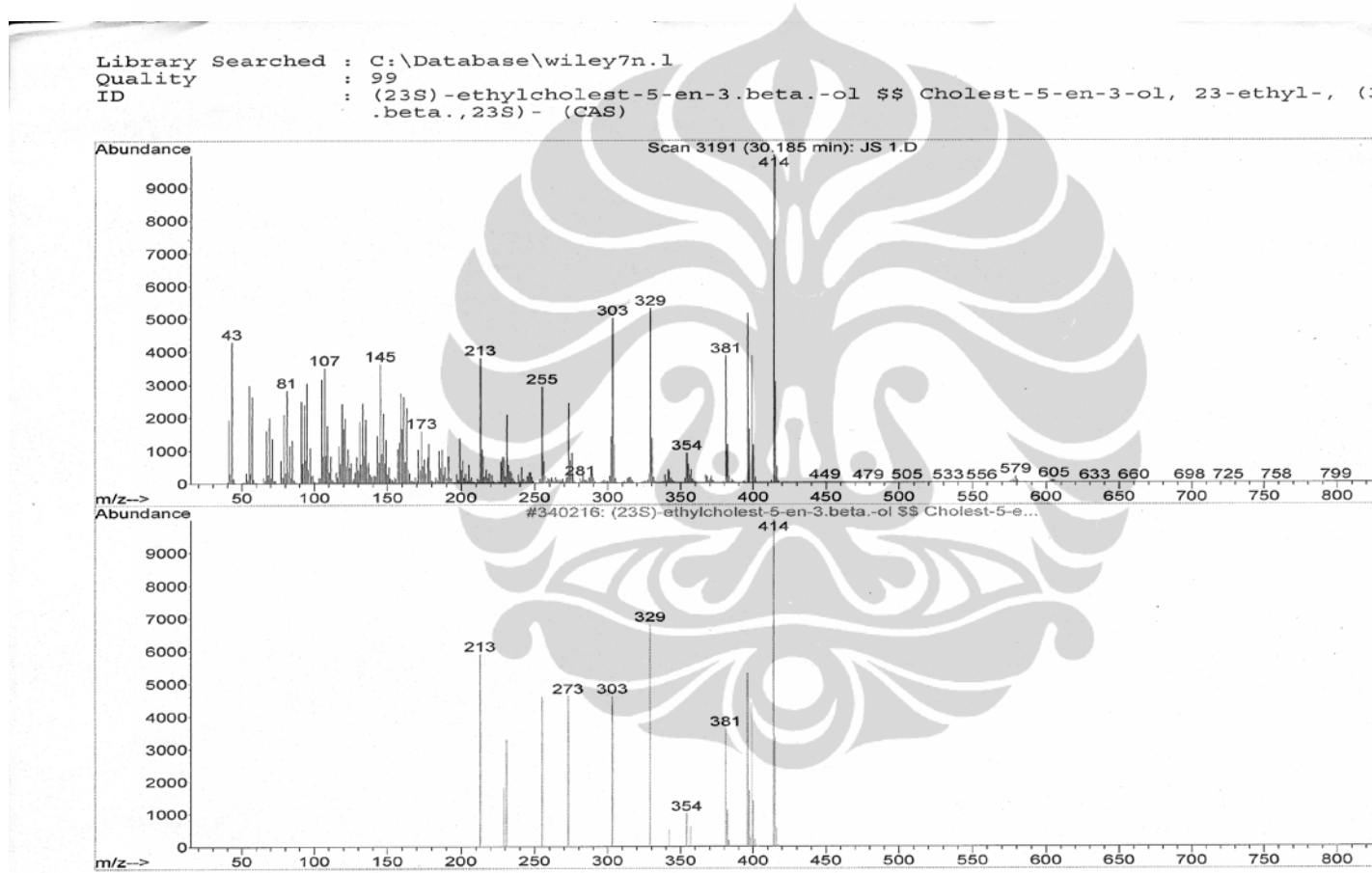
Lampiran 3. Data IR JS1



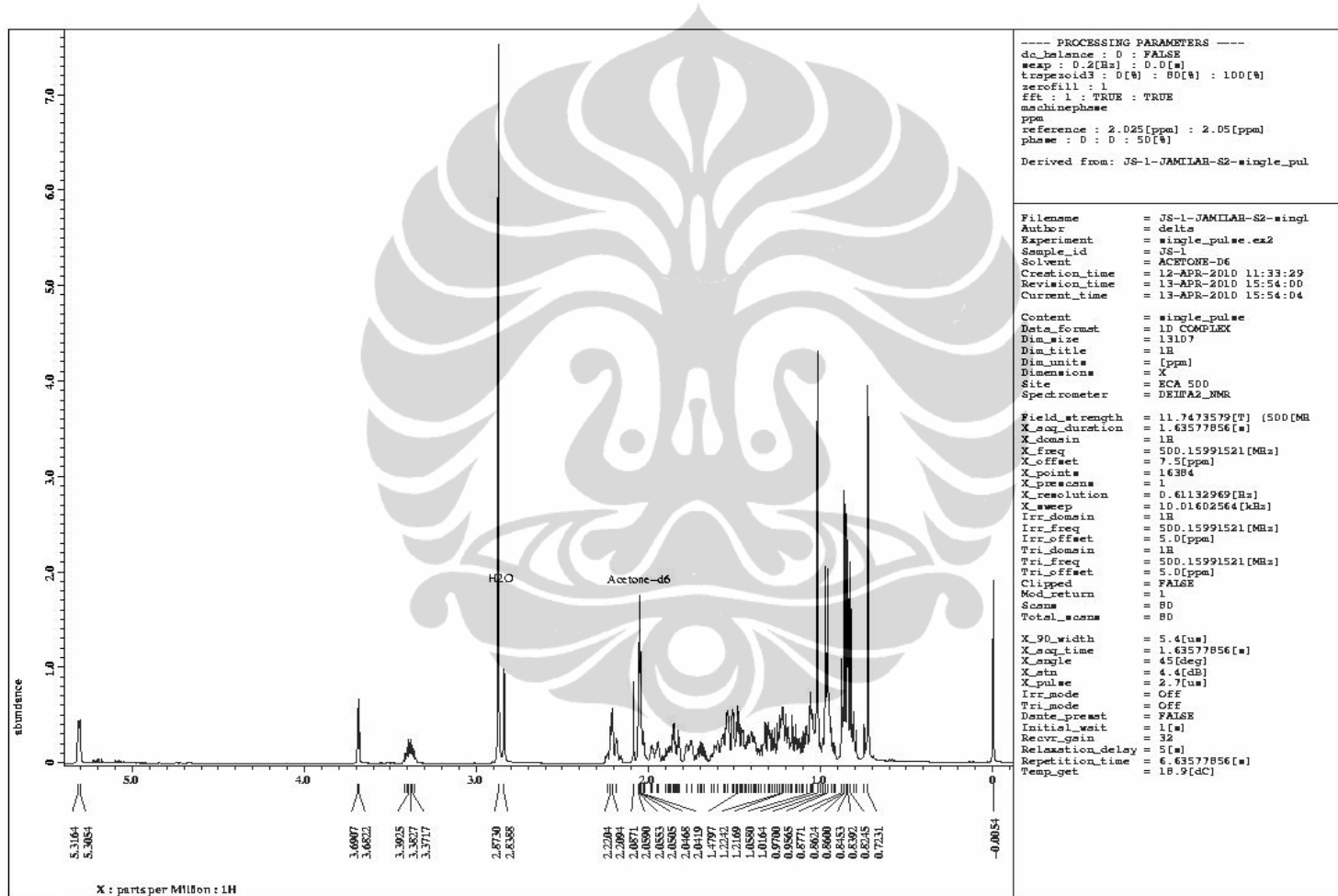
Comment;
sample JS1

Date/Time; 06/14/2010 02:46:28 PM
No. of Scans;
Resolution;
Apodization;
User; master

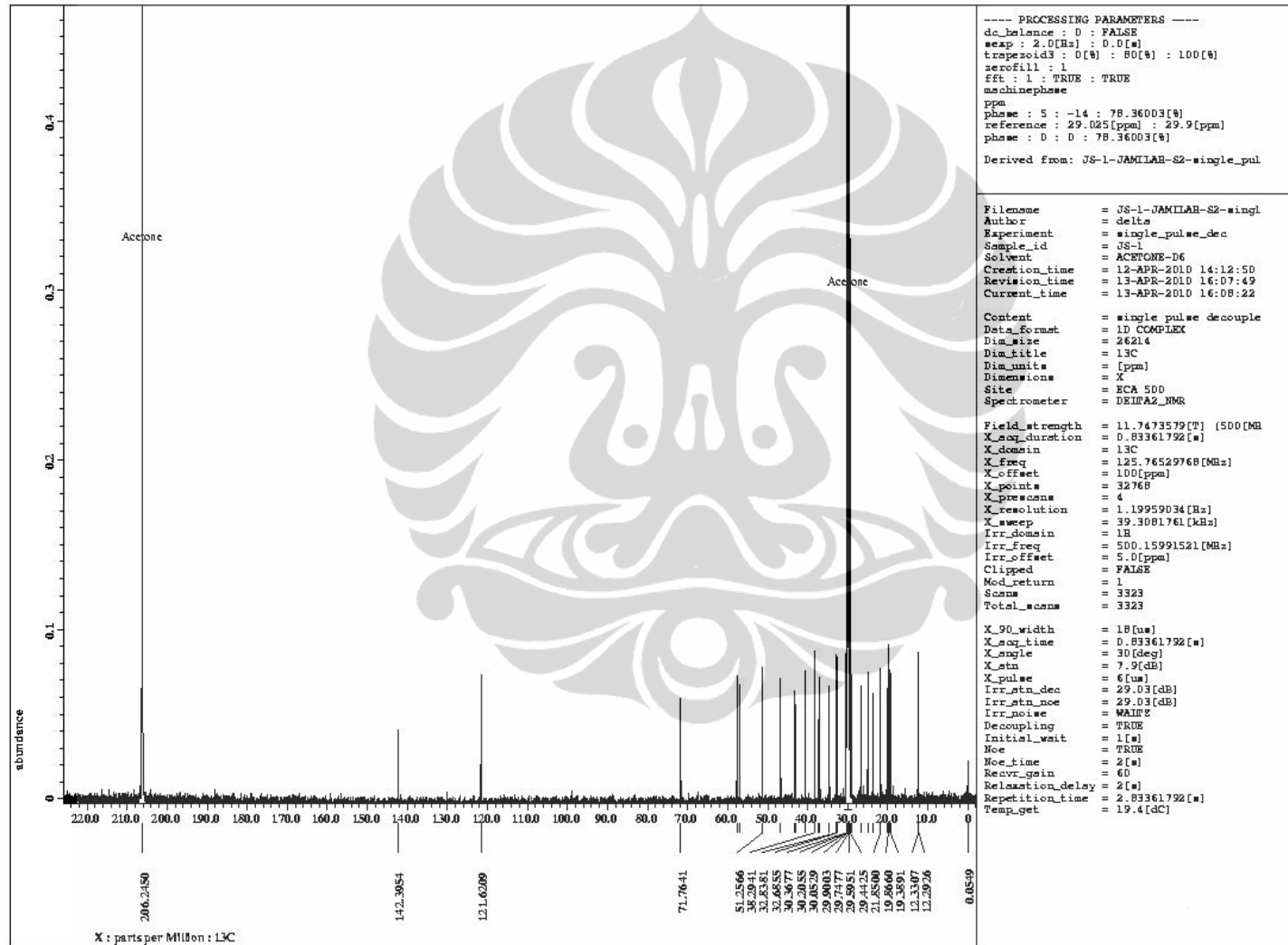
Lampiran 4. Data GC – MS JS1



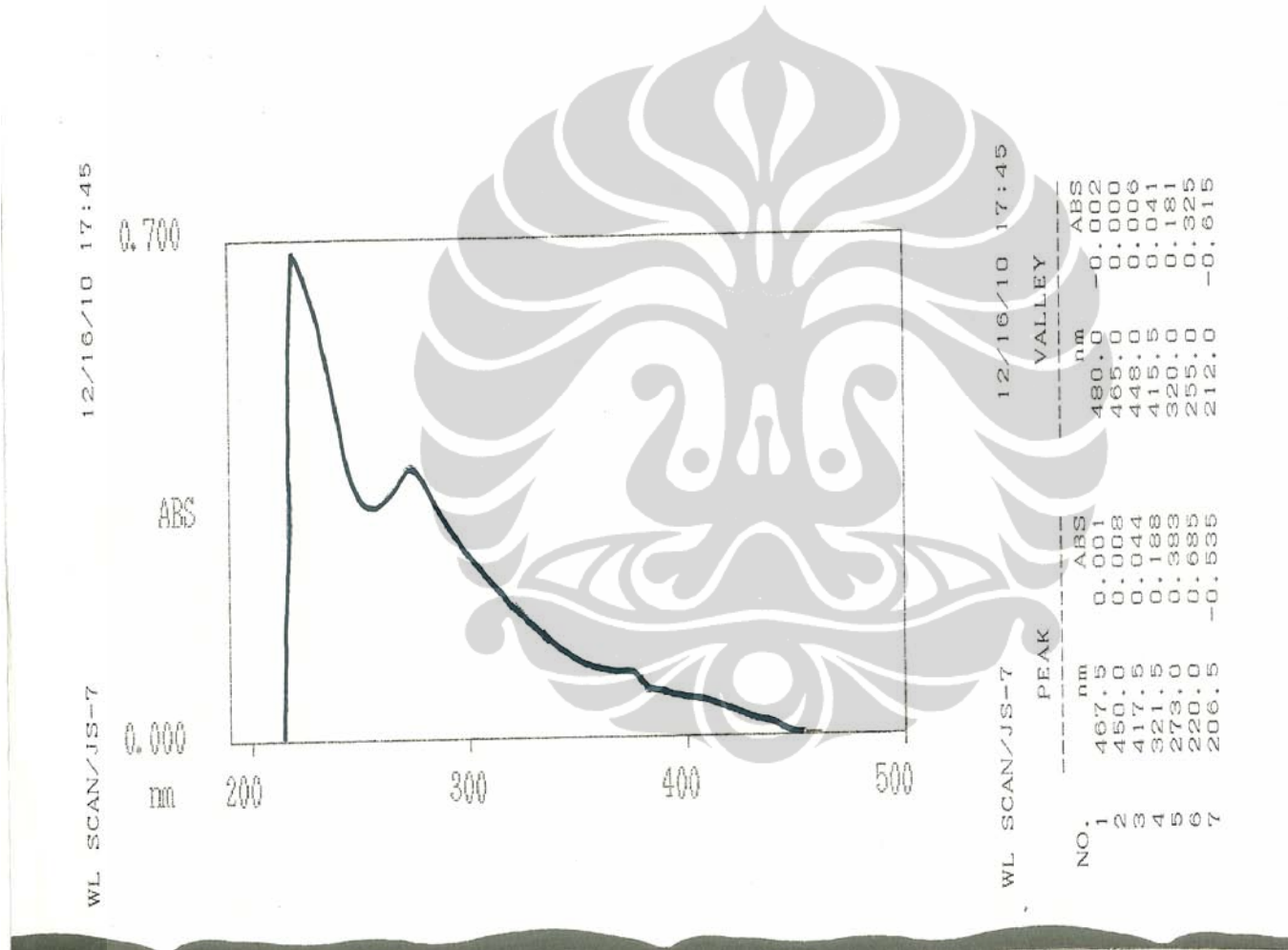
Lampiran 5. Data H- NMR JS1



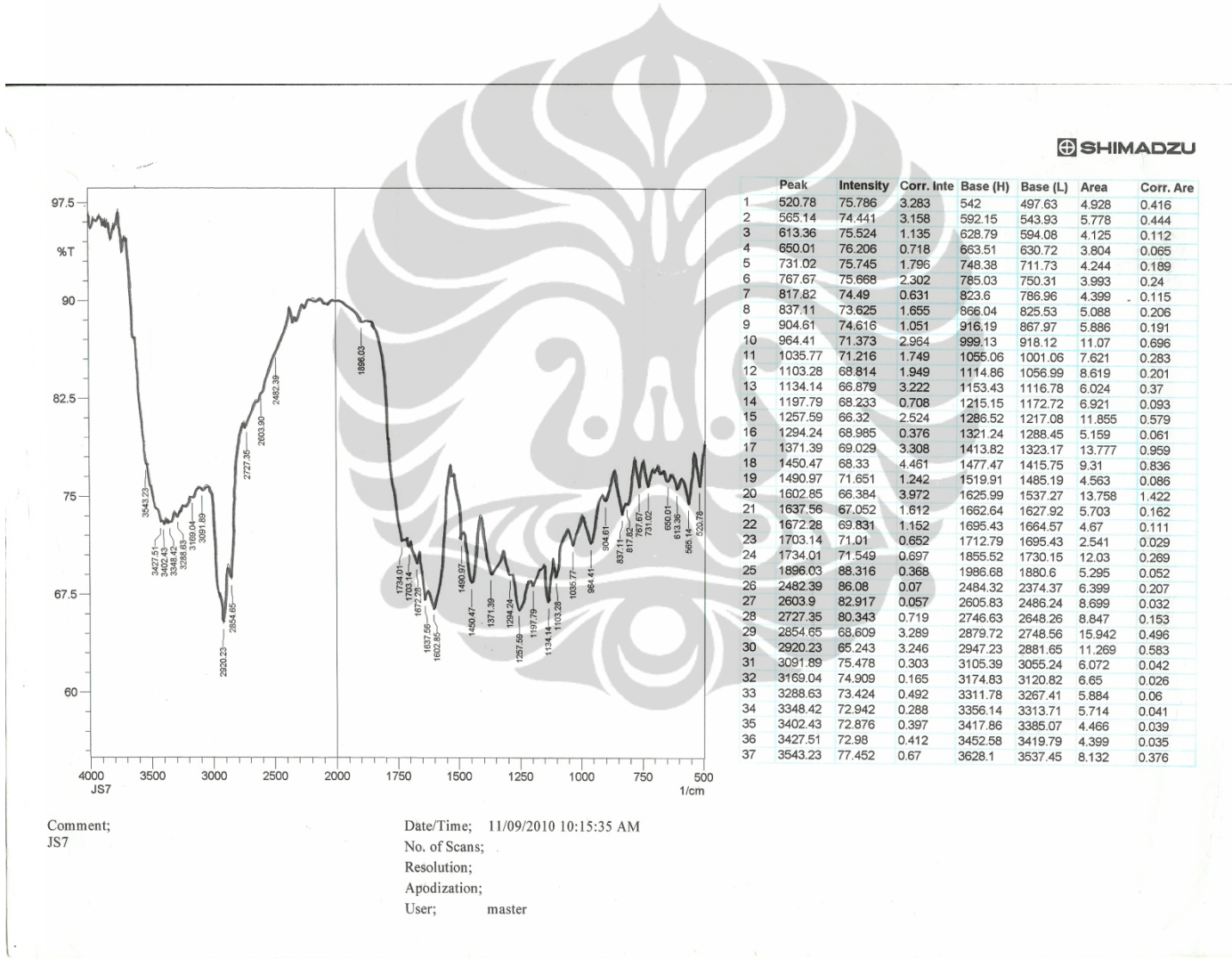
Lampiran 6. Data C- NMR JS1



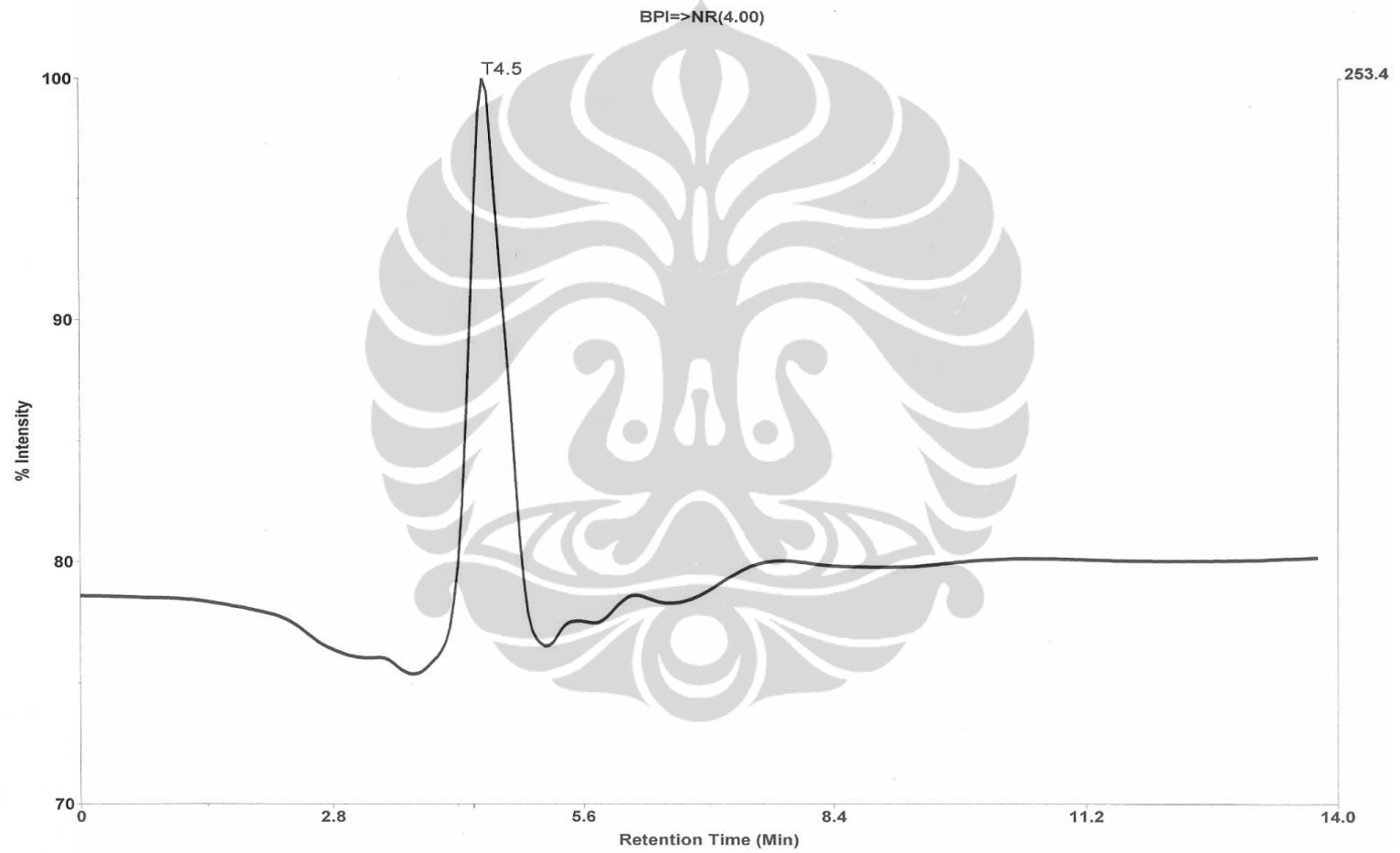
Lampiran 7.Data UV-VIS JS7



Lampiran 8. Data IR JS7

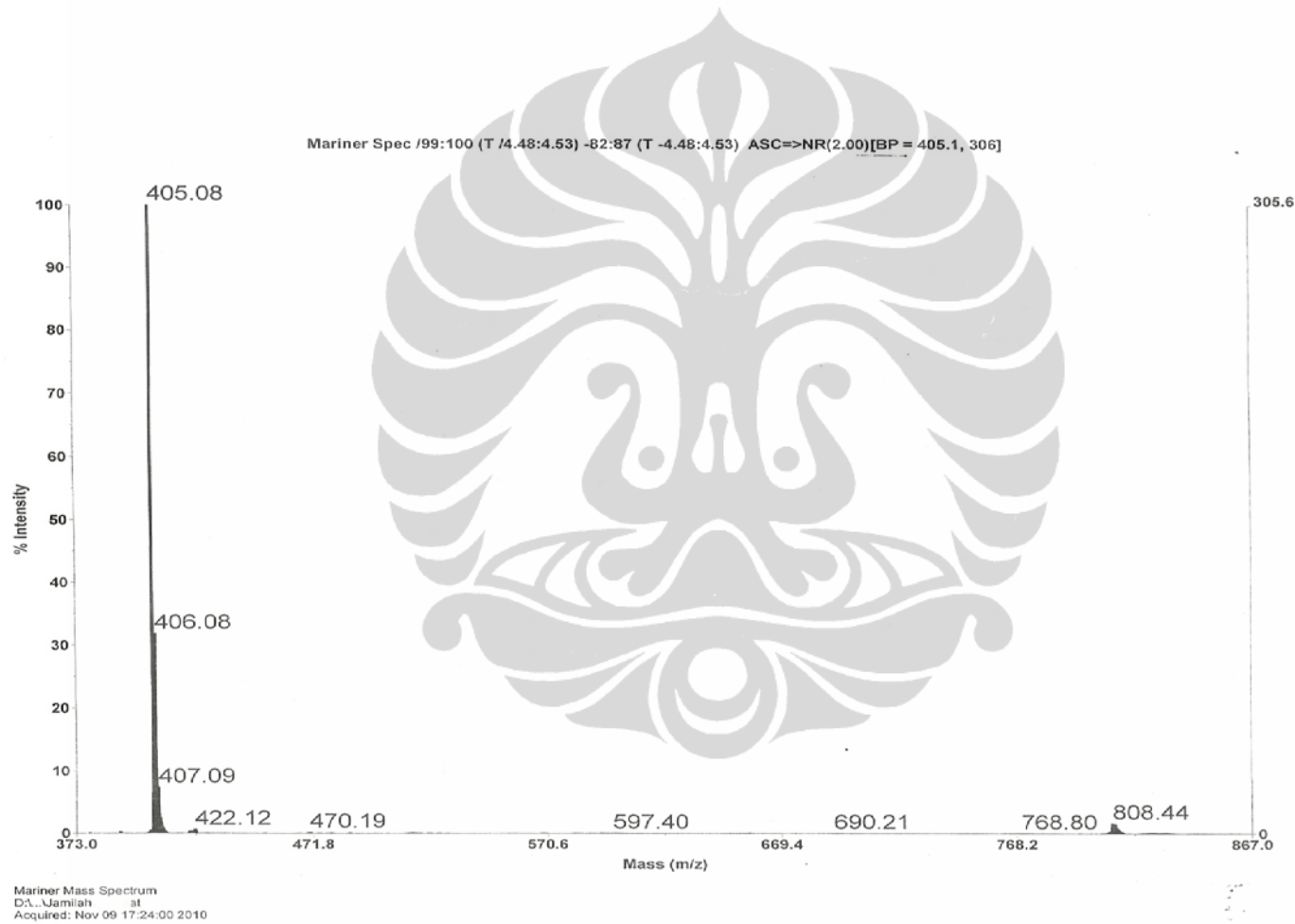


Lampiran 9. LC-MS JS7

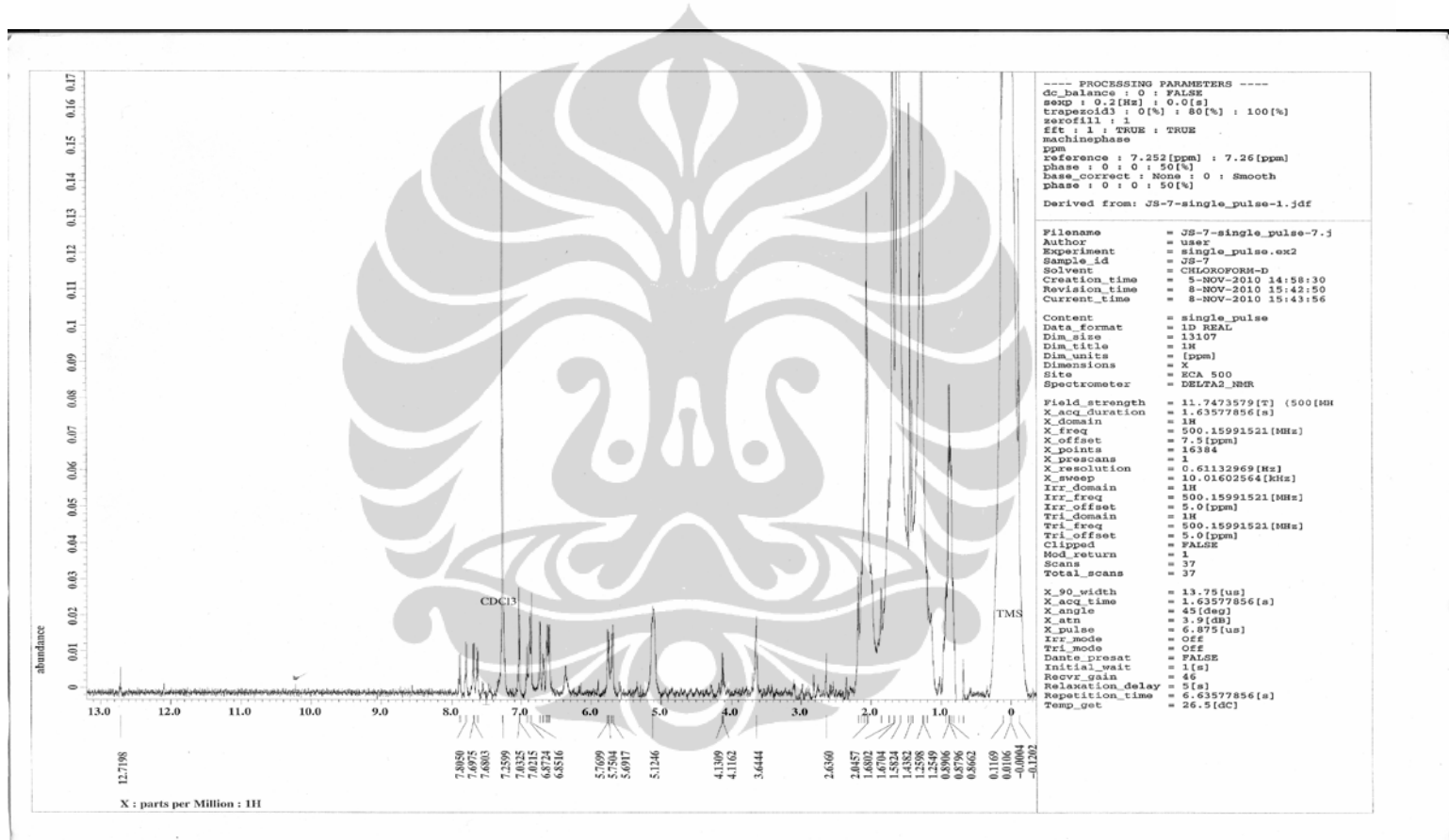


Mariner Mass Spectrum
D:_Uamilah JS7.dat
Acquired: Nov 09 17:24:00 2010

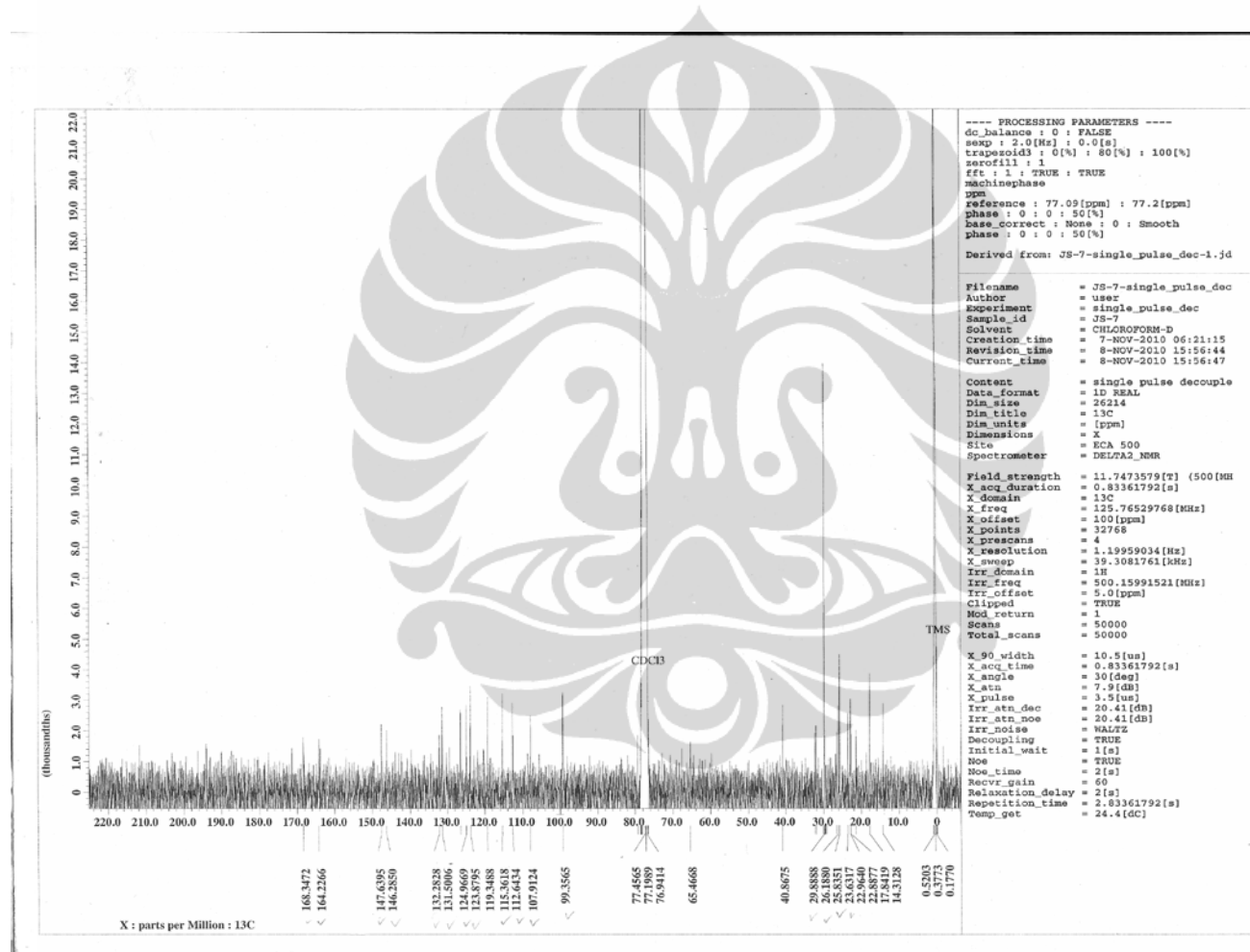
Lampiran 10. LC-MS JS7



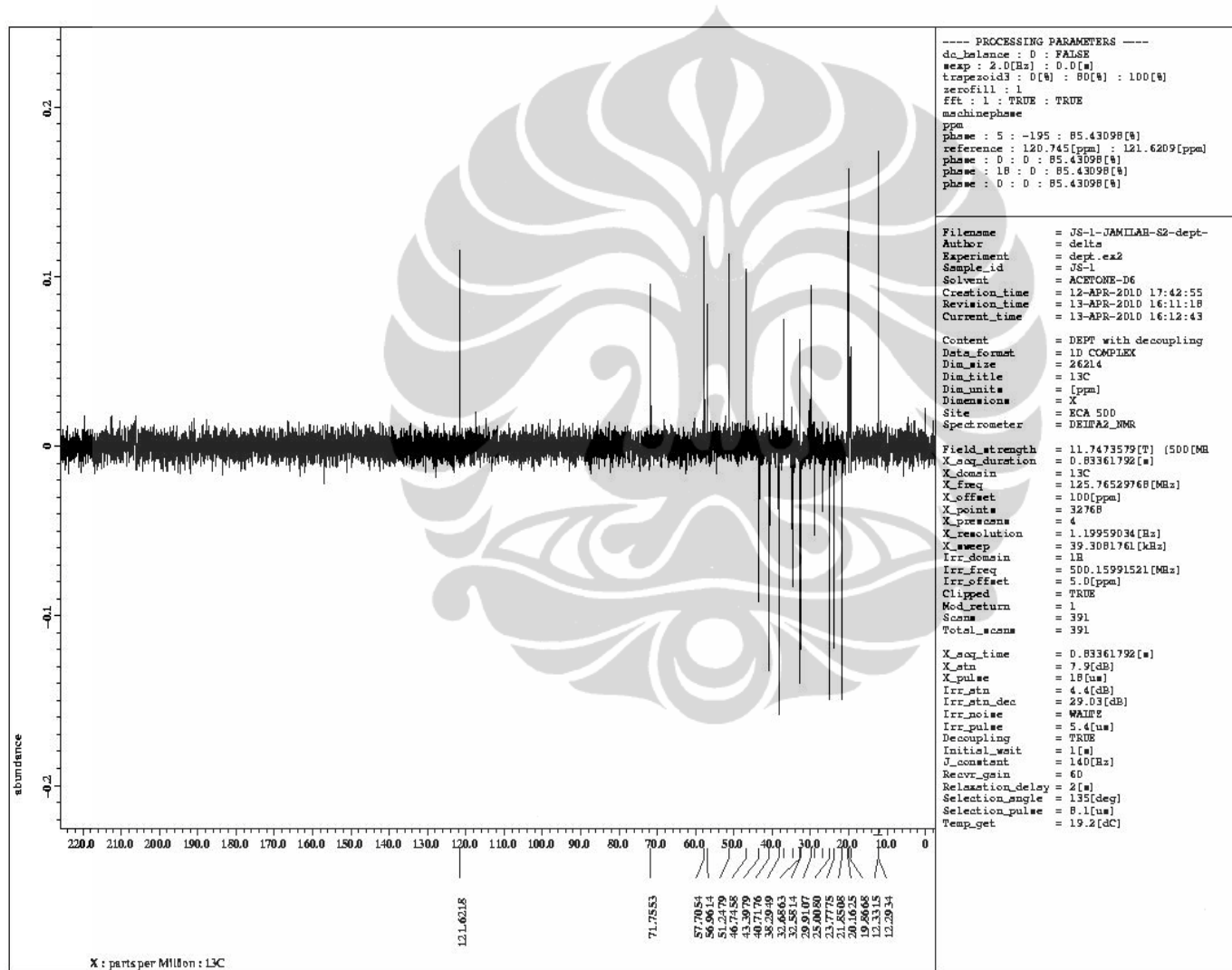
Lampiran 11.Data H-NMR JS7



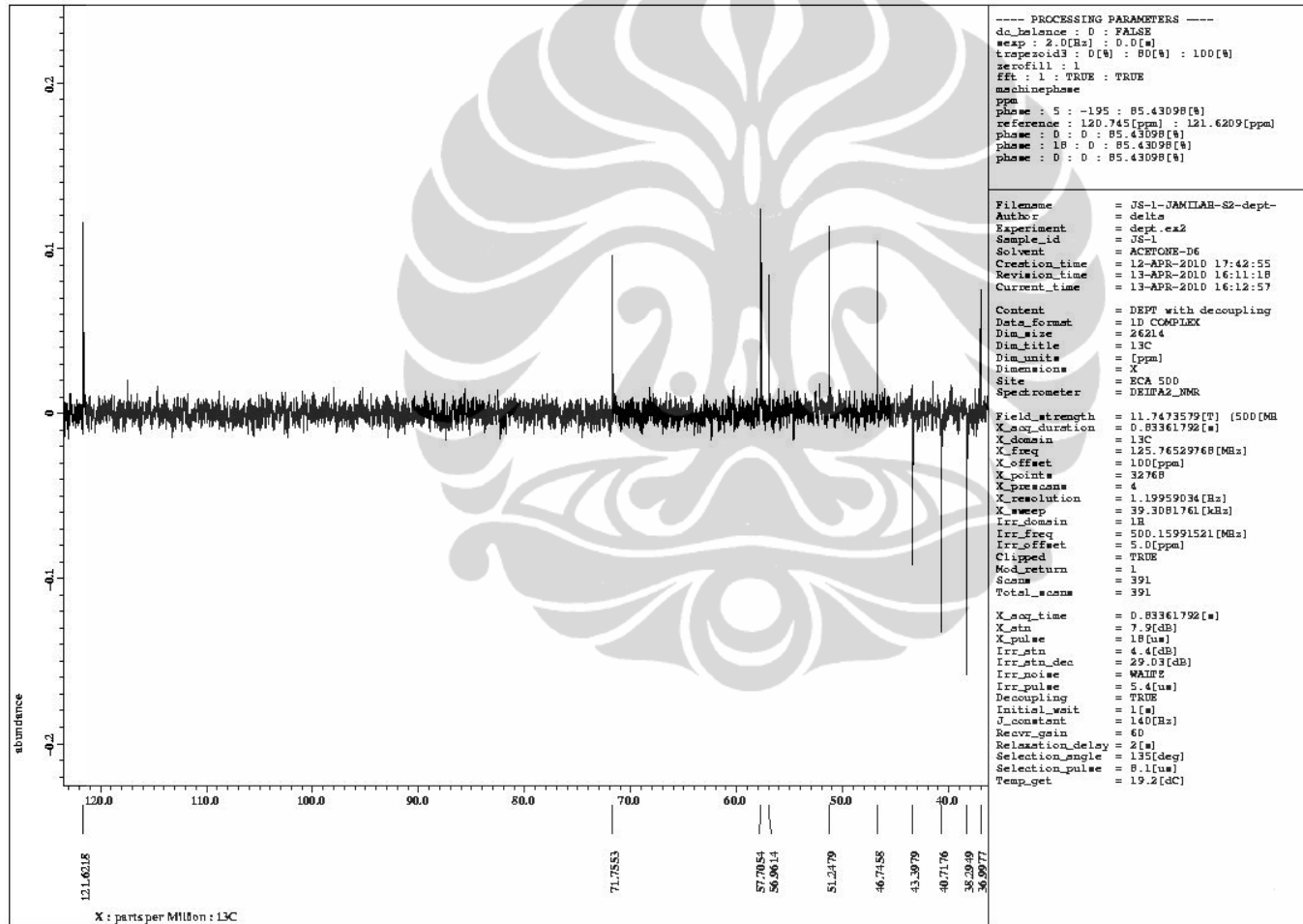
Lampiran 12.Data C-NMR JS7



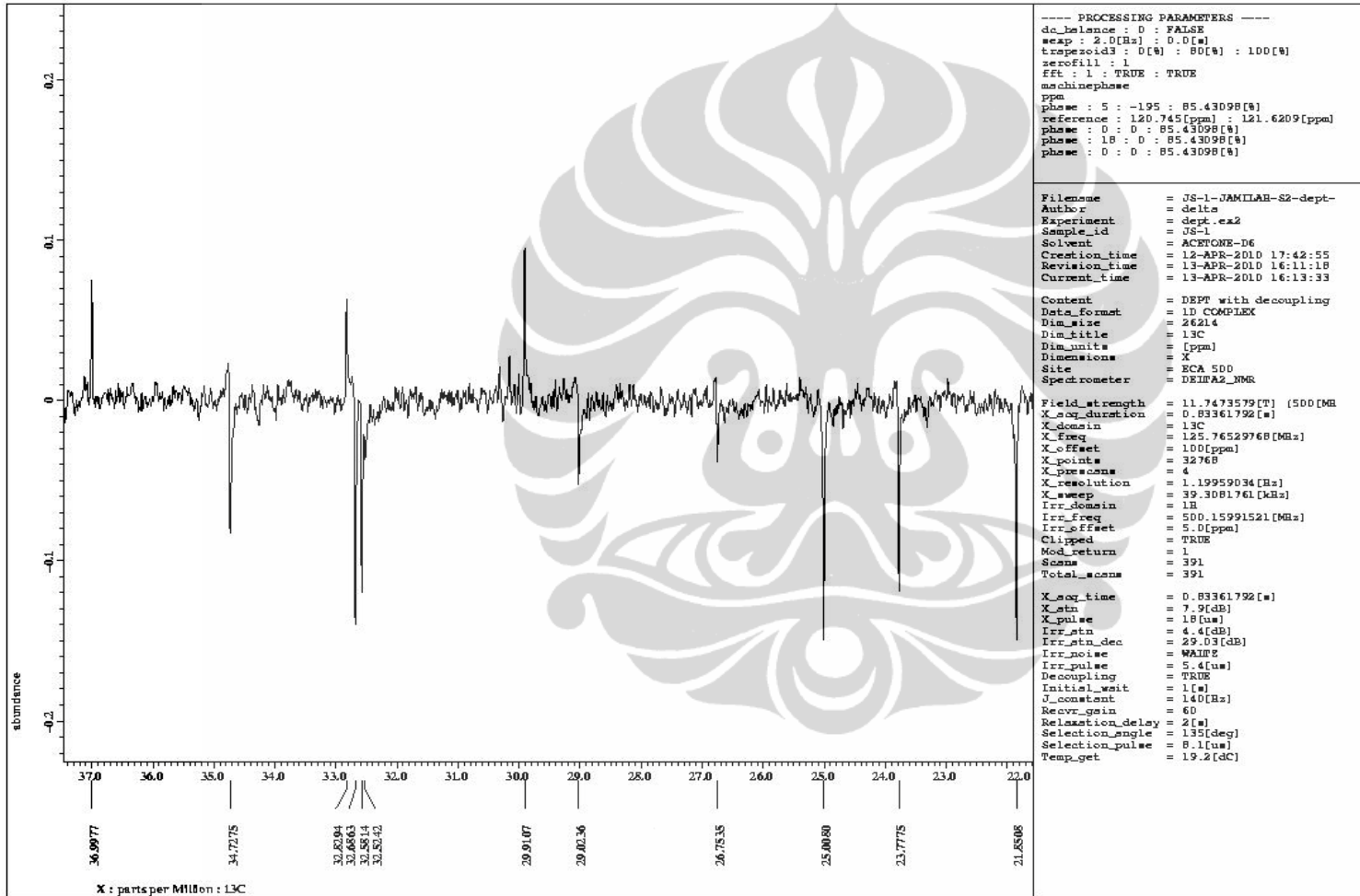
Lampiran 13. Data DEPT 1 JS1



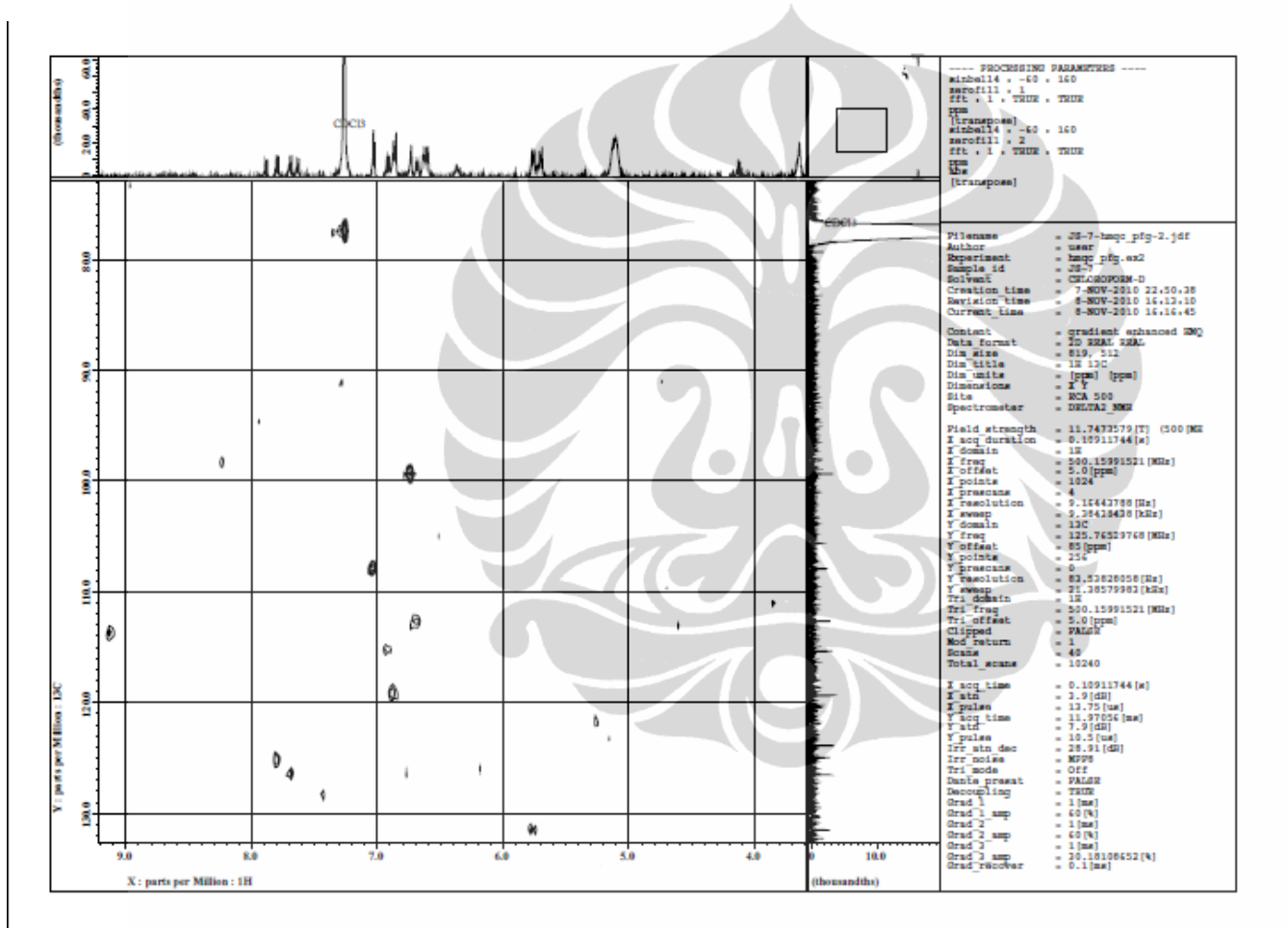
Lampiran 14. Data DEPT 2 JS1



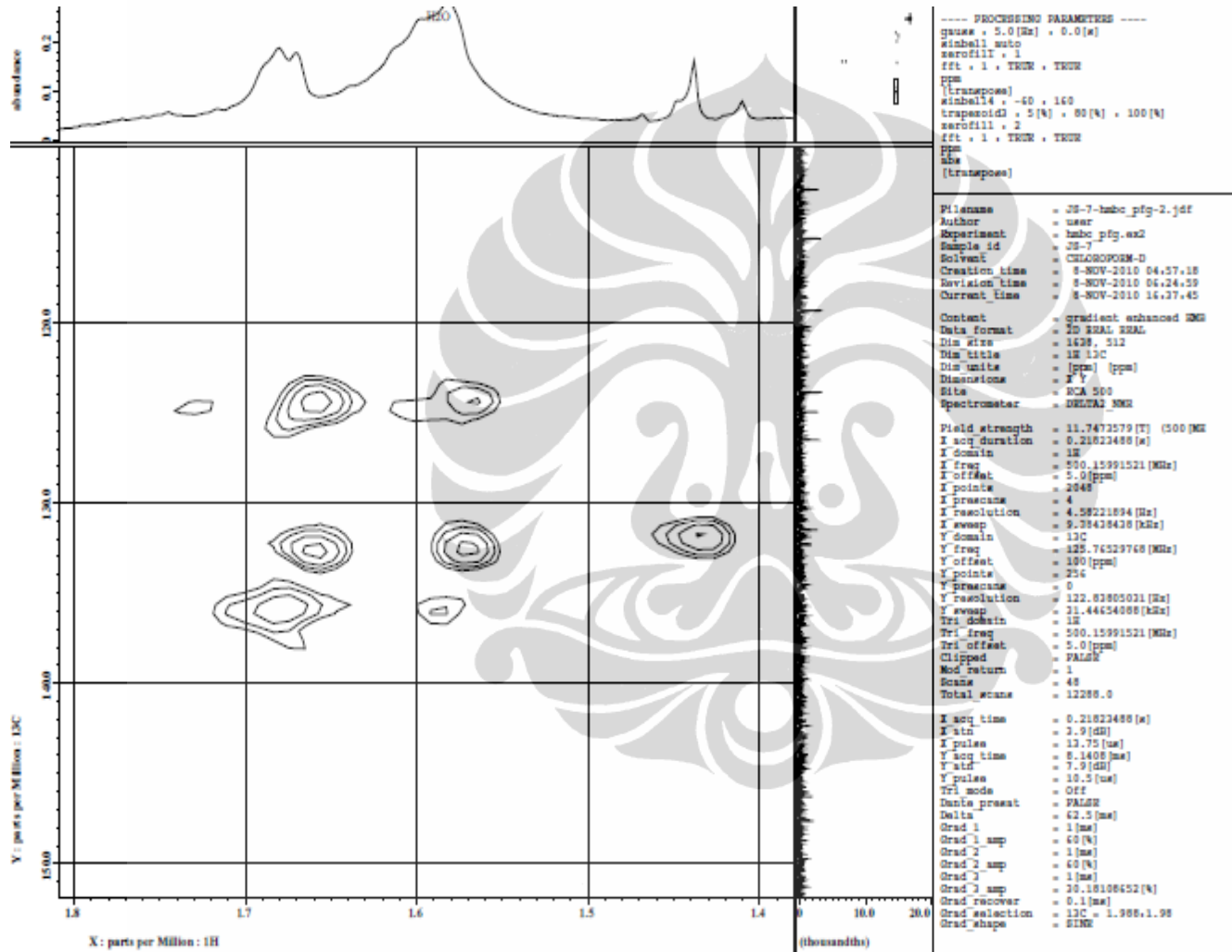
Lampiran 15. Data DEPT 3 JS1



Lampiran 18. Data HMQC JS7



Lampiran 19.Data HMBC JS7



Lampiran 20.Data HMBC JS7

