

Metabolit Sekunder dari Kulit Batang

Dysoxylum Alliaceum



Ois Nurcahyanti

Sanksi Pelanggaran Pasal 113
Undang-undang No. 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta

1. **Setiap Orang** yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
3. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
4. Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT BATANG

Dysoxylum Alliaceum

Ois Nurcahyanti



METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT BATANG

Dysoxylum Alliaceum

**Diterbitkan pertama kali oleh CV Amerta Media
Hak cipta dilindungi oleh undang-undang *All Rights Reserved*
Hak penerbitan pada Penerbit Amerta Media
Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa seizin tertulis dari Penerbit**

Anggota IKAPI

Cetakan Pertama: Mei 2021
17,5 cm x 25 cm
ISBN: 978-623-419-171-4

Penulis:

Ois Nurcahyanti

Editor:

Eko Pujiyono

Desain Cover:

Adji Azizurrachman

Tata Letak:

Ladifa Nanda

Diterbitkan Oleh:

CV. Amerta Media

NIB. 0220002381476

Jl. Raya Sidakangen, RT 001 RW 003, Kel, Kebanggan, Kec. Sumbang,
Purwokerto, Banyumas 53183, Jawa Tengah. Telp. 081-356-3333-24

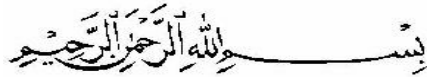
Email: mediaamerta@gmail.com

Website: amertamedia.co.id

Whatsapp : 081-356-3333-24

Isi di luar tanggung jawab penerbit Amerta Media

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Buku ini, yang berjudul "**Metabolit Sekunder dari Kulit Batang *Dysoxylum Alliaceum***".

Penulisan Buku ini merupakan salah satu wujud pengembangan karya ilmiah dalam hal kimia organik bahan alam. Dalam buku ini dijelaskan bagaimana mengisolasi **Metabolit Sekunder dari Kulit Batang *Dysoxylum Alliaceum*** dari mulai maserasi, partisi, pemisahan dengan menggunakan kolom, dan karakterisasi dengan menggunakan IR, NMR, MS. Penulis menyadari bahwa dalam Buku ini masih terdapat kekurangan yang memerlukan perbaikan dan penyempurnaan, namun penulis berharap kiranya Buku ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Jakarta, Mei 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
TENTANG BUKU	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
BAB 1 Pendahuluan	1
BAB 2 Metabolit sekunder dari genus <i>Dysoxylum</i> dan <i>D. Alliaceum</i>	5
BAB 3 Proses Isolasi Kulit Batang <i>D. Alliaceum</i>	25
BAB 4 Senyawa hasil isolasi dari Kulit Batang <i>D. Alliaceum</i> ...	31
BAB 5 Penutup	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
INDEKS	67
LAMPIRAN	69
PROFIL PENULIS.....	71

BAB 1

PENDAHULUAN

Dysoxylum merupakan salah satu genus dari Meliaceae yang terdiri atas ±80 spesies yang berada di Asia, Australia, dan sebelas spesies endemik di Cina (Mabberley, 2008). Riset mengenai berbagai spesies dari genus ini selalu berkembang dan menghasilkan senyawa-senyawa yang memiliki struktur dan aktivitas yang menarik, hingga sekarang ini banyak senyawa golongan terpenoid, kroman alkaloid, limonoid, seskuiterpen, flavonoid, steroid, protolimonoid dan senyawa sulfur telah memiliki aktivitas yang sangat menarik (Najmuldeen, 2011).

Ekstrak diklorometan kulit batang *D. gaudichaudianum* yang mengandung senyawa β -sitosterol menunjukkan sifat toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} 7,35 $\mu\text{g/mL}$ (Ragasa *et al.*, 2014). Ekstrak *D. caulostachyum* pada sel kanker payudara MCF-7 menghambat proliferasi sel dengan nilai IC_{50} 12 $\mu\text{g/mL}$ (Subarnas *et al.*, 2012). Ekstrak etil asetat kulit batang dari *D. cauliflorum* menunjukkan nilai IC_{50} 35,5 $\mu\text{g/mL}$ pada pengujian sel kanker payudara MCF-7. Apabila dibandingkan dengan obat antikanker yaitu genistein IC_{50} 17,8 $\mu\text{g/mL}$ dan apigenin IC_{50} 15,5 $\mu\text{g/mL}$, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *D. cauliflorum* menghambat sel kanker payudara MCF-7 dua kali lebih besar dari obat antikanker dan penggunaannya tidak menimbulkan resistensi (Ting & Zhi, 2012).

Aktivitas yang menarik dari genus *Dysoxylum* ini tidak terlepas dari kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman ini. Triterpenoid jenis tirukallan berhasil diisolasi

dari kulit batang *D. macranthum* dan memiliki nilai IC₅₀ dengan nilai 5,6 µg/mL terhadap sel KB (Mohamad *et al.*, 1999). Enam triterpen dan triterpen glikosida diisolasi dari ekstrak metanol daun *D. cumingianum* dan memiliki aktivitas signifikan terhadap sel kanker manusia KB-C2 (Kurimoto *et al.*, 2011). Senyawa rohitukin dan 5,7 dihidroksi-2-metil-8-[4-(3-hidroksi-1-metil) piperidin]-4H-1 benzopiran-4-on berhasil diisolasi dari *D. binectariferum* dan memiliki aktivitas antiinflamatori dan antiimunodulator (Yang *et al.*, 2006).

Hamdani dkk., (2009) mengisolasi senyawa steroid dan senyawa fenol berupa ρ -hidroksiasetofenon dari *D. gaudichaudianum*. Senyawa turunan fenolik 5-hidroksi-7-metoksi-2-metil-4H-kromen-4-on dan skualen berhasil diisolasi dari *D. macrocarpum* (Najmuldeen *et al.*, 2010). Wah *et al.*, (2013) berhasil mengisolasi steroid baru jenis grandol dari daun *D. grande*. Dua senyawa steroid, yaitu β -sitosterol dan stigmasterol berhasil diisolasi dari *D. gaudichaudianum* (Hamdani dkk., 2009). Senyawa 2,3,2'',3''-tetrahydroamentoflavon berhasil diisolasi dari *D. cauliflorum* dan diperoleh nilai IC₅₀ lebih dari 40 µg/mL pada pengujian sel kanker payudara MCF-7 (Ting & Zhi, 2012).

Senyawa biflavon robustaflavon 2',7''-dimetil eter dan bilobetin berhasil diisolasi dari *D. lenticellare* yang berbentuk serbuk kuning (He *et al.*, 1996). Triterpenoid kumingianol diisolasi dari tanaman *D. cumingianum* dapat menghambat P-gp pada sel kanker MCF-7 sehingga bisa dijadikan sebagai agen untuk kemoterapi (Wink *et al.*, 2012). Menurut Mohanakumara *et al.*, (2010) rohitukin pada *Dysoxylum* adalah prekursor flavopiridol, senyawa antikanker yang potensial. Flavopiridol pada *D. binectariferum* merupakan inhibitor dari MMP-2 dan MMP-9 pada sel kanker payudara MCF-7 (Tobin *et al.*, 2012). Kulit batang *D. binectariferum* menghasilkan rohitukin yang sangat efektif terhadap ovarium dan kanker payudara (Lakshmi *et al.*, 2007).

Kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya (National Cancer Institute, 2012). Pengobatan kanker payudara dengan cara kemoterapi merupakan pilihan potensial yang banyak dipilih oleh penderita kanker di Indonesia. Akan tetapi, pengobatan kanker menggunakan agen

kemoterapi cenderung menimbulkan resistensi sel kanker yang mengakibatkan sebagian besar kegagalan pengobatan kanker (Svetlana *et al.*, 1998). Menurut Jung & Lee, (2008) pemanfaatan senyawa alam dengan efektivitas tinggi melawan kanker dapat menjadi pilihan pengembangan terapi kombinasi dengan agen kemoterapi, dimana pemanfaatan senyawa alam dapat mencegah kanker melalui mekanisme DNA (Linus, 2007). Sintesis DNA pada sel kanker akan terhambat karena tidak terjadi perpanjangan rantai DNA, sehingga sintesis DNA akan terhenti (Munchberg *et al.*, 2007).

Banyaknya ragam metabolit sekunder dan aktivitas yang menarik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dari genus *Dysoxylum* ini memicu peneliti untuk menggali metabolit sekunder yang terdapat pada spesies *Dysoxylum* lainnya, salah satunya adalah *D. alliaceum*. Metabolit sekunder dan aktivitas dari *D. alliaceum* ini baru dilaporkan oleh Nishizawa *et al.*, (1982) senyawa (+)-8-hidroksi kalamenen diisolasi dari biji buah *D. alliaceum* yang memiliki aktivitas sitotoksik setelah diuji dengan larva ikan, hingga sekarang belum terdapat laporan mengenai metabolit sekunder lainnya dari *D. alliaceum*. Buku ini bermaksud untuk menyajikan hasil senyawa metabolit yang terkandung di dalam kulit batang *D. alliaceum* serta aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7.

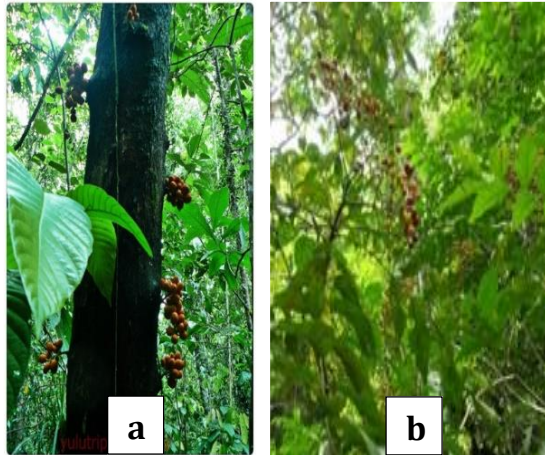
BAB 2

METABOLIT SEKUNDER DARI GENUS *Dysoxylum* DAN *D. Alliaceum*

Pada bab ini akan diawali dari pembahasan tentang klasifikasi dan deskripsi tumbuhan *D. Alliaceum* diikuti dengan pemanfaatannya dan bioaktivitas *Dysoxylum*. Setelah itu akan diulas juga terkait metabolit sekunder dari Genus *Dysoxylum* dan aktivitas yang dilaporkannya, kemudian pada akhir dari bab ini disajikan uraian tentang kanker payudara dan *Dysoxylum* serta ringkasan pokok pembahasan.

A. Klasifikasi dan Deskripsi Tumbuhan *D. alliaceum*

D. alliaceum termasuk family *Meliaceae* yang merupakan jenis tumbuhan kayu keras dan ditemukan di beberapa negara termasuk Indonesia.



Taksonomi

Kingdom : Plantae
 Phylum : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Order : Sapindales
 Family : *Meliaceae*
 Genus : *Dysoxylum*
 Species : *Dysoxylum alliaceum*

Gambar 2. 1

Morfologi *D. alliaceum* (a) Batang (b) Daun (Suryanto, 2012).

D. alliaceum adalah tumbuhan dengan pohon tinggi dapat mencapai 38 m, diameter batang dapat mencapai 80 cm dan kebanyakan tumbuh di dataran rendah hutan tropis. Daunnya berbentuk spiral diatur menyirip, batangnya berbentuk menyilang seperti kulit, bunganya berfungsi untuk membantu dalam perkembangbiakan. Berbagai daerah menyebut pohon ini dengan berbagai nama seperti: Bakir, Kayu Bawang, Paria, Miao, Malaaduas, Pasak lingga merah, Kasai tembaga, Beak beka bukit, Ki bawang dan Pela (Suryanto, 2012).

B. Pemanfaatan dan Bioaktivitas *Dysoxylum*

Dysoxylum merupakan salah satu genus dari *Meliaceae* yang terdiri atas ±80 spesies yang berada di Asia, Australia, dan sebelas

spesies endemik di Cina (Mabberley, 2008). Selama ini *Dysoxylum* dimanfaatkan kayunya menjadi papan atau perabot rumah tangga, buah dari *Dysoxylum* dimanfaatkan untuk pakan burung dan pakan ulat, ada juga yang menyeduh daunnya sebagai teh. Masyarakat banyak menggunakan tumbuhan *Dysoxylum* sebagai obat tradisional, seperti iritasi wajah pada anak, benjolan pada kulit, iritasi kulit, dan sebagai obat untuk penyakit menular seksual. Kayu rebusan *D. malabaricum* dapat menyembuhkan reumatik dan minyaknya digunakan untuk mengobati mata dan penyakit telinga. Beberapa spesies lainnya digunakan untuk menyembuhkan peradangan, gangguan kardio, dan juga tumor (Lakshmi *et al.*, 2009). Berikut bioaktivitas dari genus *Dysoxylum* yang telah dilaporkan pada tabel berikut.

Tabel 2. 1 Bioaktivitas *Dysoxylum* (Lakshmi *et al.*, 2009)

No	Spesies	Bioaktivitas
1	<i>D.acutangulum</i> (buah,kulit batang)	Antibakteri, antikanker
2	<i>D. acutangulum</i> (daun)	Leukemia
3	<i>D. binectariferum</i> (kulit batang)	Immunomodulator, Antikanker, antiinflamasi, Leishmaniasi
4	<i>D. cumingianum</i> (daun)	Antitumor, antikanker
5	<i>D. hainanense</i> (kulit batang)	Diabetes, antifeedant, Antibakteri, antikanker
6	<i>D. kuskusense</i> (kulit batang)	Antikanker
7	<i>D. laxiracemosum</i> (kulit batang)	Antikanker
8	<i>D. lenticellare</i> (buah, daun)	Diabetes, Obat bius, antibakteri
9	<i>D. macranthum</i> (kulit batang)	Antikanker, antiinflamasi
10	<i>D. malabaricum</i> (daun)	Antifeedant
11	<i>D. spectabile</i> (buah)	Antifeedant, antibakteri

Genus *Dysoxylum* merupakan suatu genus yang kaya akan terpenoid dan alkaloid yang memiliki aktivitas biologis menarik seperti antitumor, *antifeedant*, antiinflamantory, imunomodulator, agen pembunuh moluska dan antirematik (Lakshmi *et al.*, 2009).

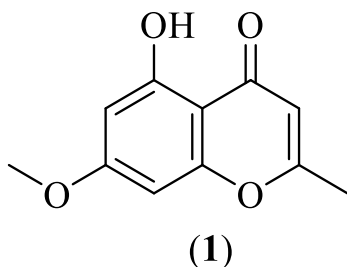
Belum banyak kajian literatur yang membahas pemanfaatan *Dysoxylum* ini sendiri terutama untuk jenis *D. alliaceum*.

C. Metabolit Sekunder dari Genus *Dysoxylum*

Genus *Dysoxylum* memiliki metabolit sekunder yang beragam, banyak senyawa golongan terpenoid, kroman alkaloid, limonoid, seskuiterpen, flavonoid, steroid, protolimonoid dan senyawa sulfur telah dilaporkan dari genus dan memiliki aktivitas yang sangat menarik (Najmuldeen, 2011). Berikut beberapa metabolit sekunder dan aktivitas yang telah dilaporkan dari genus *Dysoxylum*.

1. Fenolik

Golongan Senyawa fenolik 5-hidroksi-7-metoksi-2-metil-4H-kromen-4-on (eugenin) (1) berhasil diisolasi dari kulit batang *D. macrocarpum* yang berupa kristal berwarna putih (Najmuldeen *et al.*, 2010). Struktur kimia senyawa (1) ditunjukkan pada Gambar 2. 2.

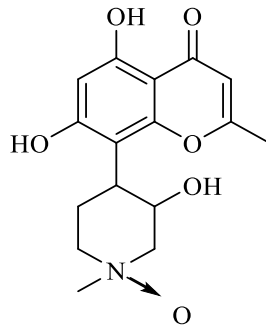


Gambar 2. 1

Struktur kimia 5-hidroksi-7-metoksi-2-metil-4H-kromen-4-on (Najmuldeen *et al.*, 2010).

2. Alkaloid

Senyawa alkaloid baru rohitukin N-oksida (2) ditemukan oleh Yang *et al.*, (2006) dari kulit batang *D. binectariferum* yang berbentuk padatan amorf. Struktur kimia senyawa (2) ditunjukkan pada Gambar 2. 3.

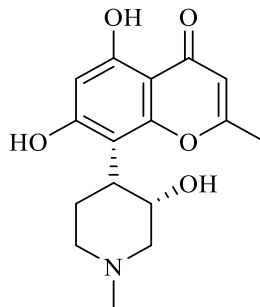


(2)

Gambar 2. 2

Struktur kimia rohitukin N-oksida (Yang *et al.*, 2006).

Kulit batang *D. binectariferum* menghasilkan rohitukin yang sangat efektif terhadap kanker ovarium dan menghambat CDKs proliferasi sel kanker payudara (Lakshmi *et al.*, 2007), (Mohanakumara *et al.*, 2010). Senyawa alkaloid yang diisolasi ialah rohitukin (3). Struktur kimia rohitukin (3) ditunjukkan pada Gambar 2. 4.



(3)

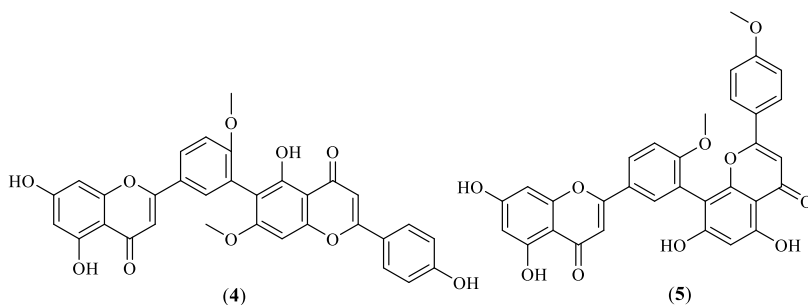
Gambar 2. 3

Struktur kimia rohitukin (Mohanakumara *et al.*, 2010).

Rohitukin pada *Dysoxylum* adalah prekursor flavopiridol, senyawa antikanker (Mohanakumara *et al.*, 2010). Flavopiridol pada *D. binectariferum* merupakan inhibitor dari MMP-2 dan MMP-9 pada sel kanker payudara MCF-7 (Tobin *et al.*, 2012).

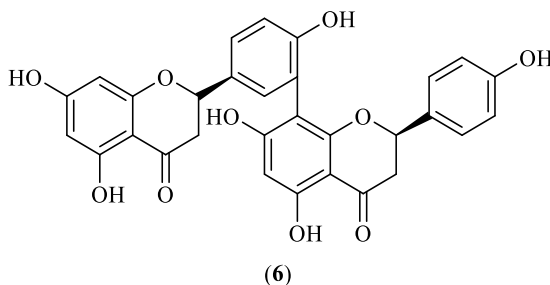
3. Flavonoid

Senyawa biflavan baru robustaflavon 4',7"-dimetil eter (4), isoginkgetin (5) diisolasi dari daun *D. lenticellare* (He *et al.*, 1996). Struktur kimia senyawa (4) dan (5) ditunjukkan pada Gambar 2. 5.



Gambar 2. 4
Struktur kimia robustaflavon 4',7"-dimetil eter dan isoginkgetin
(He *et al.*, 1996)

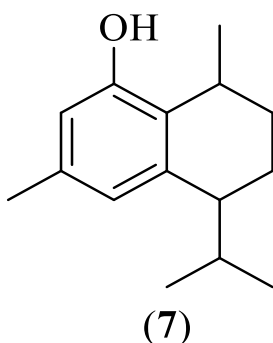
Senyawa 2,3,2'',3''-tetrahydroamentoflavan (6) berhasil diisolasi dari *D. cauliflorum* dan dilakukan pengujian dengan lima sel kanker termasuk sel kanker payudara MCF-7 metode MTT, kontrol positif yang digunakan adalah cisplatin dan diperoleh nilai IC₅₀ lebih dari 40 µg/mL yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid ini kurang aktif terhadap sel MCF-7 dibandingkan dengan β-sitosterol, etil galat, daukosterol, glukapiranosil yang telah diisolasi dari kulit batang *D. cauliflorum* (Ting and Zhi, 2012). Berikut struktur kimia senyawa 2,3,2'',3''-tetrahydroamentoflavan (6) ditunjukkan pada Gambar 2. 6.



Gambar 2. 5 Struktur kimia 2,3,2'',3''-tetrahydroamentoflavan
(Ting & Zhi, 2012).

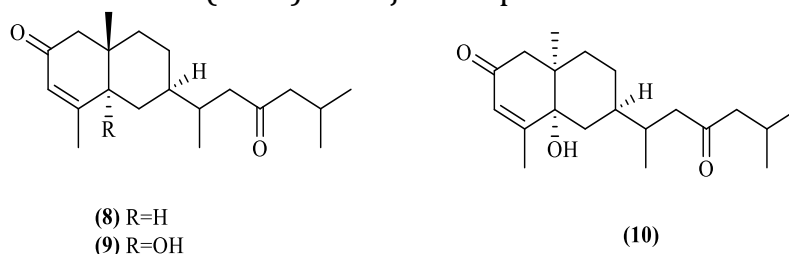
4. Terpenoid

D. alliaceum oleh Nishizawa *et al.*, (1982) melaporkan seskui-terpen fenol yaitu (+)-8-hidroksi kalamenen (7) dengan rumus molekul $C_{16}H_{24}O$ dari biji buah *D. alliaceum* yang memiliki aktivitas sitotoksik yang signifikan setelah diuji dengan *Oryzias latipes*. Berikut struktur (+)-8-hidroksi kalamenen (7) ditunjukkan pada Gambar 2. 7.



Gambar 2. 6 Struktur kimia (+)-8-hidroksi kalamenen (Nishizawa *et al.*, 1982).

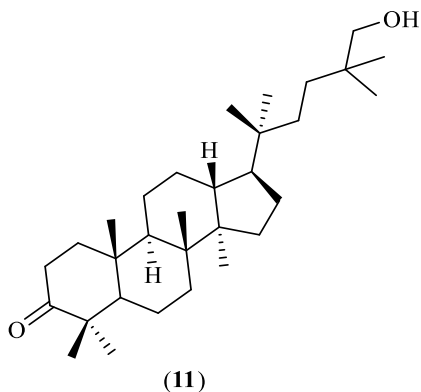
Fujioka *et al.*, (1998) mengisolasi kulit batang *D. kukusense* dan mendapatkan tiga senyawa diterpen, disokuson A-C (8-10) yang memiliki aktivitas antikanker K-562 dan NCI-H522. Berikut struktur kimia disokuson A-C (8-10) ditunjukkan pada Gambar 2. 8.



Gambar 2. 7
Struktur kimia disokuson A-C (Fujioka *et al.*, 1998).

Senyawa triterpen dari ekstrak *n*-heksan buah *D. cauliflorum* yang diisolasi oleh Huang *et al.*, (1999) menghasilkan senyawa damaran baru 23(24-25) epoksida-20R, 24-dihidroksil damaran-3-

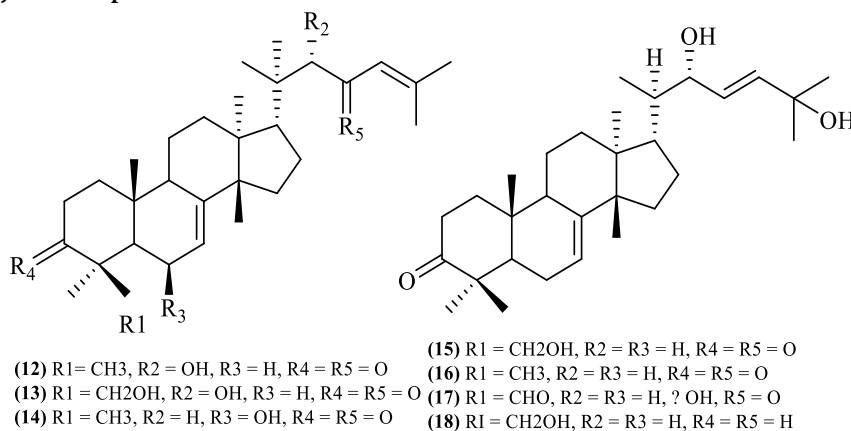
on (11). Berikut struktur kimia senyawa (11) ditunjukkan pada Gambar 2. 9.



Gambar 2. 8

Struktur kimia 23(24 -25)epoksida-20R,24-dihidroksil damaran-3-on (Huang *et al.*, 1999).

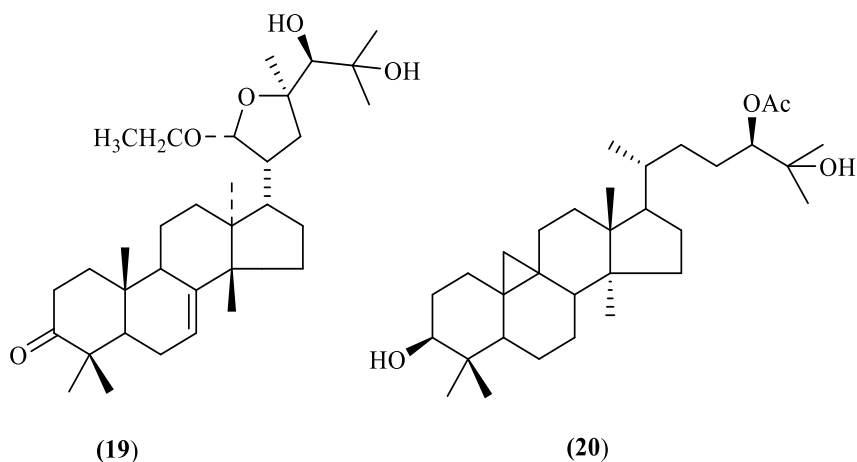
Triterpenoid jenis tirukallan, yaitu dimakrin dan turunannya (12-18) telah berhasil diisolasi dari kulit batang *D. macranthum*. Senyawa (13), (14), dan (18) menunjukkan aktivitas terhadap sel KB dengan IC₅₀ sebesar 5,6; 5,0; dan 8,3 µg/mL (Mohamad *et al.*, 1999). Berikut struktur kimia dimakrin dan turunannya (12-18) ditunjukkan pada Gambar 2. 10.



Gambar 2. 9

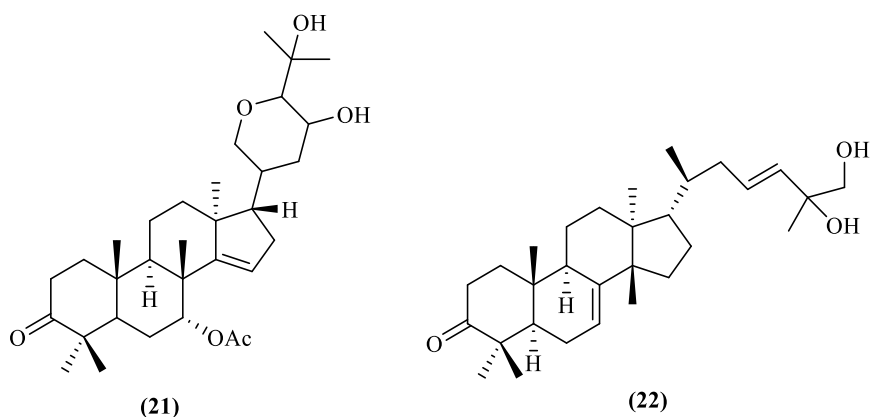
Struktur kimia dimakrin dan turunannya (Mohamad *et al.*, 1999).

Riset *Dysoxylum* dilanjutkan dengan (Hisham *et al.*, (2001) menemukan dua triterpen baru 21R,23R-epoksi-21-etoksi-24S,25-dihidroksiapotirukalan 7-en-3-on (**19**) dan 24R-asetoksi-3,25-dihidroksi sikloartan (**20**) dari daun *D. malabaricum* bersama dengan delapan senyawa yang telah dikenal. Berikut struktur kimia senyawa (**19**) dan (**20**) ditunjukkan pada Gambar 2. 11.



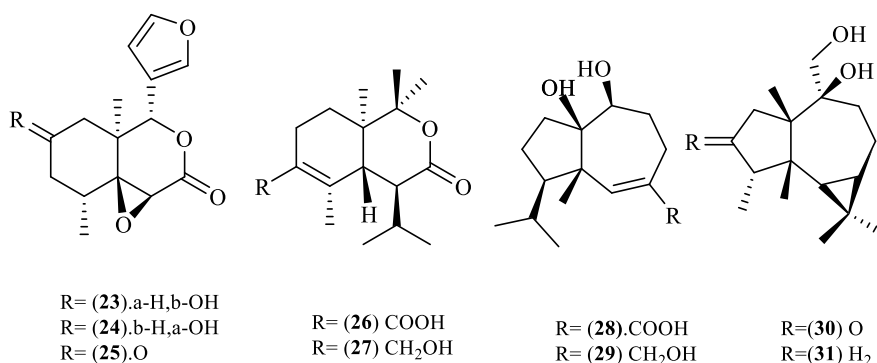
Gambar 2. 10 Struktur kimia 21R,23R-epoksi-21-etoksi-24S,25-dihidroksiapotirukalan-7-en-3-on dan 24R-asetoksi-3,25-dihidroksi sikloartan (Hisham *et al.*, 2001).

Dua triterpenoid baru, disohainanin A (**21**) dan B (**22**) telah berhasil diisolasi dari daun *D. hainanense* yang beraktivitas antibakteri (Liu *et al.*, 2001). Berikut struktur kimia disohainanin A (**21**) dan B (**22**) ditunjukkan pada Gambar 2. 12.



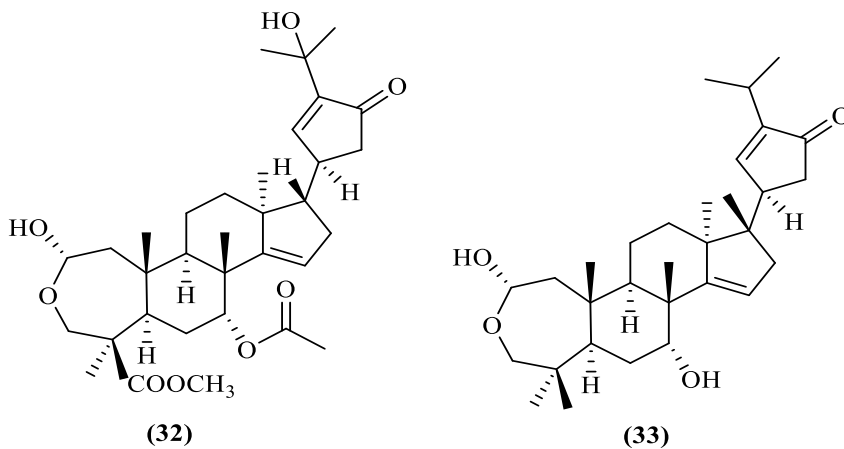
Gambar 2. 11
Struktur kimia disohainanin A dan disohainanin B dari daun *D. Hainanense* (Liu *et al.*, 2001).

Pada daun dan ranting *D. densiflorum* Xie *et al.*, (2008) menemukan tiga limonoid disodensiol A-C (23-25), dan tiga seskuiterpenoid, disodensiol D-I (26-31), bersama dengan 17 senyawa diisolasi dari ranting dan daun *D. densiflorum*. Berikut struktur kimia senyawa (23-31) yang ditunjukkan pada Gambar 2. 13.



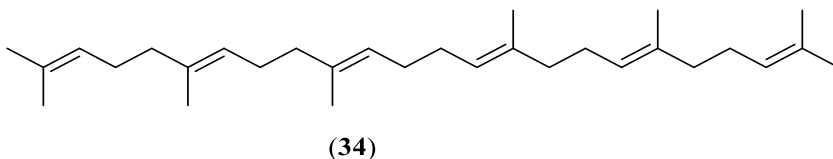
Gambar 2. 12
Struktur kimia disodensiol A-C, seskuiterpenoid, disodensiol D-I (Xie *et al.*, 2008).

Dua triterpen baru, akutaksilin A (**32**) dan akutaksilin B (**33**) yang terdiri dari rantai samping siklopentanon di C-17 dan sebuah oksepan-2-ol, diisolasi dari daun *D.acutangulum* dan menunjukkan sitotoksitas melawan sel leukemia preielositik pada darah manusia (Ismail *et al.*, 2009). Berikut struktur kimia akutaksilin A (**32**) dan akutaksilin B (**33**) ditunjukkan pada Gambar 2. 14.



Gambar 2. 13
Struktur kimia Akutaksilin A dan akutaksilin B
(Ismail *et al.*,2009).

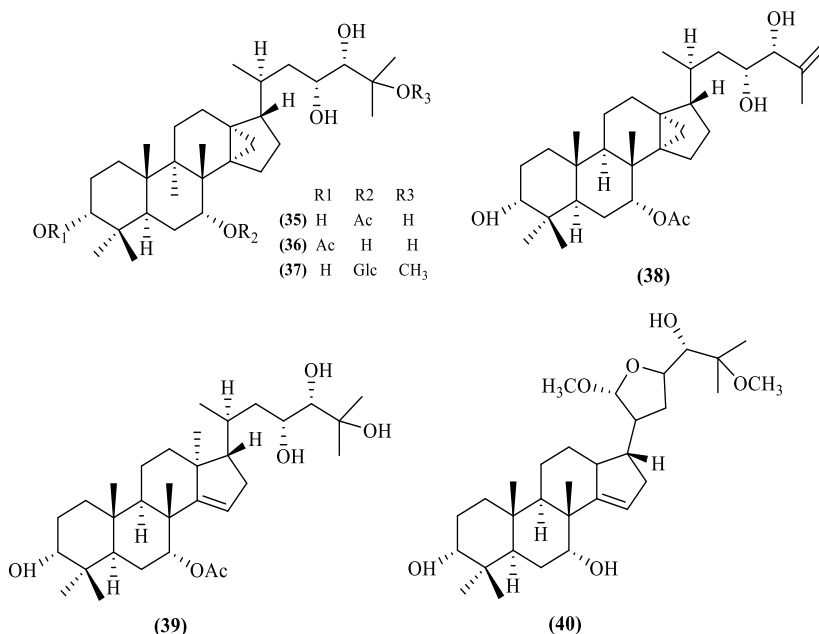
Terpenoid skualen (**34**) berhasil diisolasi dari daun *D. macrocarpum* berbentuk padatan kristal (Najmuldeen, 2011). Struktur kimia senyawa (**34**) ditunjukkan pada Gambar 2. 15.



Gambar 2. 14
Struktur kimia terpenoid skualen (Najmuldeen, 2011).

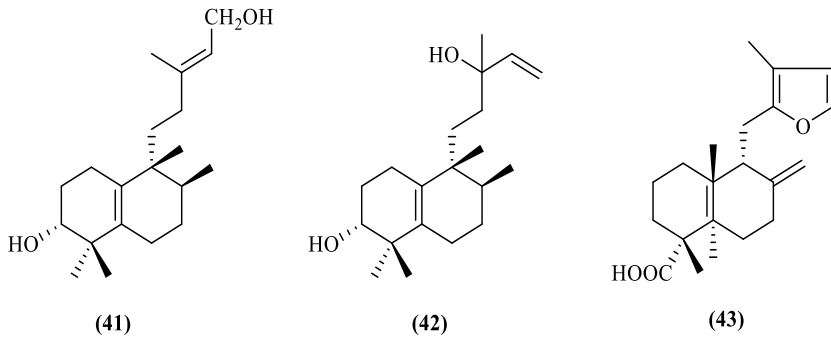
Triterpenoid berhasil diisolasi dari *D. cumingianum*, yaitu kumingianol dan turunannya (**35-40**). Senyawa (**36**), (**37**), dan (**39**) menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel KB-C2 (Kurimoto *et al.*, 2011). Triterpenoid ini dapat menghambat P-gp pada sel kanker

MCF-7 sehingga bisa dijadikan sebagai agen untuk kemoterapi (Wink *et al.*, 2012). Berikut struktur kimia senyawa kumingianol dan turunannya (**35-40**) ditunjukkan pada Gambar 2. 16.



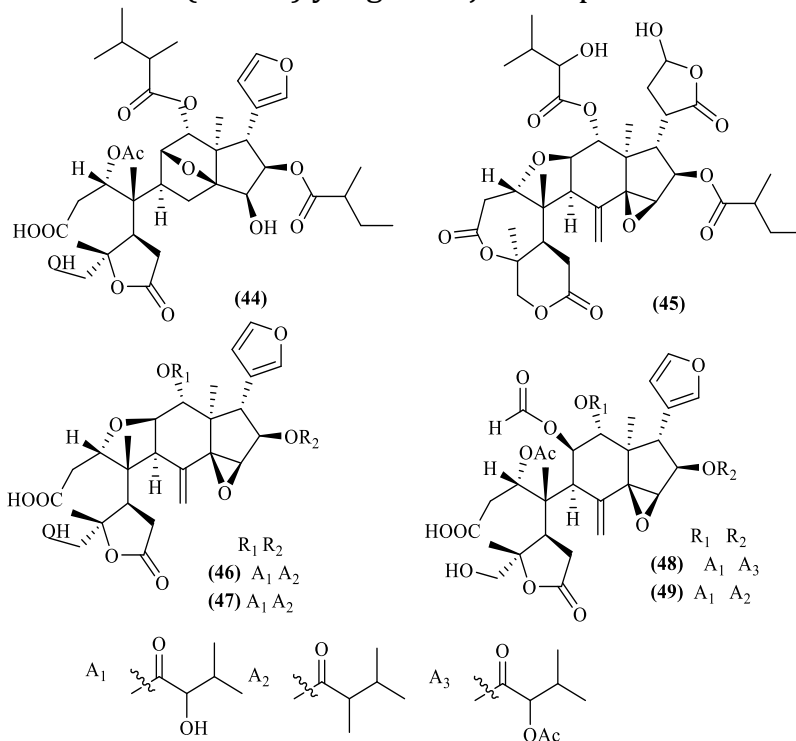
Gambar 2.15 Struktur kimia triterpenoid kumingianol dan turunannya (Kurimoto *et al.*, 2011).

Gu *et al.*, (2013) menemukan tiga diterpenoid baru yaitu 13-halimadin-3-15-diol (**41**), 14-halimadin-3,13-diol (**42**), asam 12-(3-metil-furan)-8(17)-en-19-oat (**43**), dan 16 senyawa yang telah dikenal dari hasil isolasi kulit batang *D. densiflorum*. Berikut struktur kimia senyawa (**41**), (**42**), dan (**43**) ditunjukkan pada Gambar 2.17.



Gambar 2. 16 Struktur kimia 13-halimadin-3-15-diol, 14-halimadin-3,13-diol dan asam 12-(3-metil-furan)-8(17)-en-19-oat (Gu *et al.*, 2013).

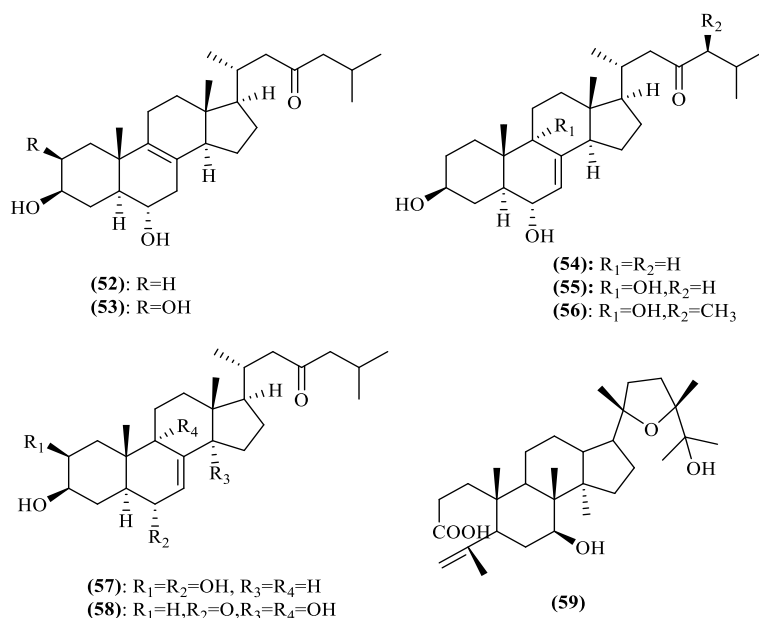
Xu *et al.*, (2013) menemukan enam senyawa limonoid baru yang diberi nama disoksilumasin A-F (**44-49**). Struktur kimia disoksilumasin A-F (**44-49**) yang ditunjukkan pada Gambar 2. 18.



Gambar 2. 17 Struktur kimia disoksilumasin A-F (Xu *et al.*, 2013).

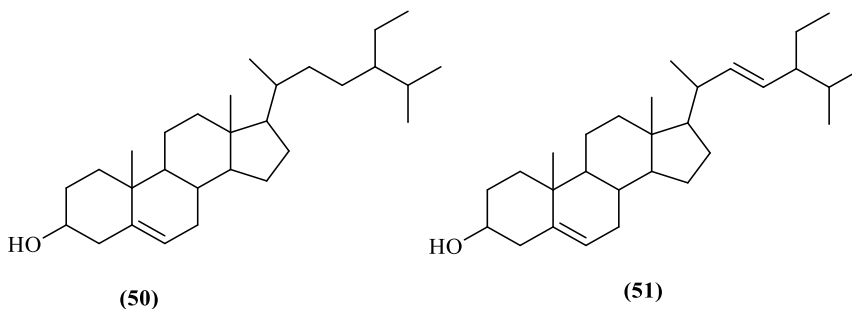
5. Steroid

Wah *et al.*, (2013) berhasil mengisolasi steroid baru turunan 23-okso-kolestan yaitu grandol dan turunannya A-G (**52-58**) yang diisolasi dari daun *D. grande* serta derivat baru berupa asam 20S,24R-epoksi-7b,25-dihidroksi-3,4-sekodamar-4(28)-en-3-olat (**59**) dan memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Struktur kimia senyawa hasil isolasi dari daun *D. grande* ditunjukkan pada Gambar 2. 19.



Gambar 2. 18 Struktur kimia grandol dan turunannya A-G, asam 20S,24R-epoksi-7b,25-dihidroksi-3,4-sekodamar-4-en-3-olat(Wah *et al.*,2013).

Dua senyawa steroid, yaitu β -sitosterol (**50**) dan stigmasterol (**51**) juga telah berhasil diisolasi dari *D. gaudichaudianum* (Hamdani dkk., 2009). Berikut struktur kimia β -sitosterol (**50**) dan stigmasterol (**51**) ditunjukkan pada Gambar 2. 20.



Gambar 2. 19 Struktur kimia β -Sitosterol dan Stigmasterol (Hamdani dkk., 2009).

D. Kanker Payudara Dan *Dysoxylum*

Kanker payudara merupakan kanker yang menyerang jaringan epitelial payudara, yaitu membran mukosa dan kelenjar sehingga kanker payudara tergolong pada karsinoma (Susan G., 2016). Penyebab kanker payudara sangat beragam, antara lain kerusakan pada DNA yang menyebabkan mutasi genetik. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh radiasi yang berlebihan. Selanjutnya karena kegagalan *immune surveillance* dalam pencegahan proses malignan pada fase awal, faktor pertumbuhan yang abnormal, dan malfungsi DNA *repairs* seperti BRCA1, BRCA2, dan P₅₃ (National Cancer Institute, 2012).

Peningkatan insidensi kanker payudara disebabkan oleh kegagalan terapi terhadap kanker itu sendiri. Kegagalan ini diakibatkan oleh adanya *multidrug resistance* (MDR) dan terjadi hingga 71% dibandingkan dengan faktor penyebab lainnya. *Multidrug resistance* atau resistensi obat ini diakibatkan oleh adanya *breast cancer resistance protein* (BCRP) yang salah satunya adalah P-glycoprotein (P-gp). Aktivasi P-gp dan peningkatan ekspresinya dapat menurunkan efikasi dari beberapa agen kemoterapi, seperti taksol dan doksorubisol (Svetlana *et al.*, 1998). Penekanan aktivitas P-gp dan ekspresinya mampu meningkatkan efektivitas agen kemoterapi (Zhou *et al.*, 2006). Triterpenoid **(35-40)** yang berasal dari tanaman *D. cumingianum* dapat menghambat P-gp pada sel kanker MCF-7 sehingga dapat dijadikan sebagai agen untuk kemoterapi (Wink *et al.*, 2012).

Karakteristik dasar dari kanker adalah kemampuannya untuk menginvasi jaringan sekitarnya (Petruzzelli, 2000). Riset dasar kanker pada umumnya ditujukan kepada mutasi sel kanker yang menyebabkan *gain-of-function* onkogen atau *loss-of-function* tumor supressor gen. Namun, matriks ekstraseluler tumor, sel stromal pada tumor juga berperan penting terhadap progresi dari tumor (Egeblad & Werb, 2002). Matriks ekstraseluler merupakan barrier utama yang harus dilewati sel kanker untuk menimbulkan suatu metastasis.

Sel kanker awalnya harus melewati membran basal epitel, kemudian sel kanker menginvasi ke stroma di sekitarnya. Setelah itu, sel kanker akan memasuki pembuluh darah atau limfatik dan ekstrasvasi ke organ jauh untuk membuat proliferasi tumor yang baru (Vasala, 2008). Proses metastasis ini didukung dengan munculnya dan sekresi beberapa enzim proteolisis yang akan mendegradasi beberapa komponen matriks ekstraseluler. Degradasi ini akan membentuk lubang kecil pada membran basal sekitar pembuluh darah sehingga terjadi ekstrasvasi dan invasi sel tumor. MMP, famili *zinc dependent endopeptidase*, merupakan protease utama yang berperan dalam migrasi sel tumor, penyebaran, invasi jaringan dan metastasis (Chen *et al.*, 2011).

Di samping itu, terjadinya malignansi juga berhubungan dengan angiogenesis yang memudahkan terjadinya pertumbuhan tumor, memudahkan penyebaran melalui hematogen. MMP mempunyai peranan terjadinya angiogenesis melalui pelepasan dan aktivasi proangiogenik potensial atau melakukan degradasi terhadap inhibitor angiogenesis. Aktivitas MMP juga berhubungan dengan mekanisme sel kanker terhindar dari respon sistem imun. Beberapa MMP termasuk MMP-9 mampu menekan proliferasi limfosit T dengan merusak sinyal IL-2R α (Vasala, 2008). MMP memfasilitasi proses invasi dan metastasis dengan mendegradasi komponen matriks ekstraseluler. Selain itu juga memperantarai aktivasi faktor pertumbuhan, menekan apoptosis sel tumor, dan merusak perkembangann gradien kemokin respon imun host serta pelepasan faktor angiogenesis. Flavopiridol pada *D. binectariferum* merupakan inhibitor dari MMP-2 dan MMP-9 pada sel kanker payudara MCF-7 (Tobin *et al.*, 2012).

Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang banyak digunakan untuk sebuah riset. Sel ini memiliki karakteristik antara lain resisten agen kemoterapi (Svetlana *et al.*, 1998). Ekstrak diklorometan dari kulit batang *D. gaudichaudianum* berupa senyawa β -sitosterol (**52**) menunjukkan sifat toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan sel kanker usus besar HT-29 dengan nilai IC_{50} 7,35 and 13,19 $\mu\text{g/mL}$ (Ragasa *et al.*, 2014). Ekstrak *D. caulostachyum* pada sel kanker payudara MCF-7 menghambat poliferasi sel dengan nilai IC_{50} 12 $\mu\text{g/ml}$ yang diuji dengan 40 ekstrak yang berpotensi sebagai antikanker lainnya, hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak *D. caulostachyum* paling toksik terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC_{50} paling kecil diantara semua ekstrak (Subarnas *et al.*, 2012).

Ekstrak etil asetat kulit batang dari *D. cauliflorum* menunjukkan nilai IC_{50} 35,5 $\mu\text{g/mL}$ lebih kecil diantara ekstrak n-heksan dan etanol pada pengujian sel kanker payudara MCF-7, apabila dibandingkan dengan obat antikanker yaitu genistein IC_{50} 17,8 $\mu\text{g/ml}$ dan apigenin IC_{50} 15,5 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *D. cauliflorum* menghambat sel kanker payudara MCF-7 dua kali lebih besar dari obat antikanker dan penggunaannya tidak menimbulkan resistensi (Ting & Zhi, 2012).

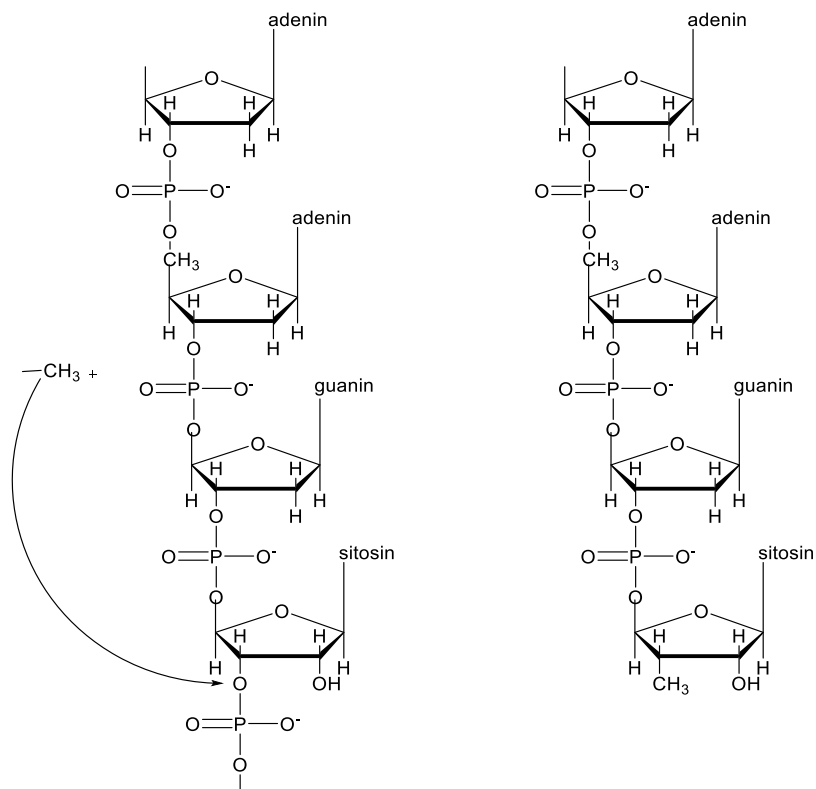
1. Aktivitas Biologis Penghambatan Sel Kanker

Linus, (2007) telah meneliti tentang pencegahan kanker melalui mekanisme DNA. Metilasi DNA dan penekanan produksi Histon Deacetylase (HDAC) akibat rangsangan sulforafan yang bekerja sama untuk mempertahankan fungsi sel normal, makin tinggi kadar sulforafan maka semakin efektif untuk melawan kanker. Hal ini telah dibuktikan melalui surve terhadap kanker payudara pada tikus-tikus percobaan serta mencegah perkembangan sel-sel yang baru tumbuh.

Apabila gugus metil dari suatu senyawa mensubstitusi gugus -OH pada C-3 dari DNA, maka sintesis DNA pada sel kanker akan terhambat karena tidak terjadi perpanjangan rantai DNA seperti pada Gambar 2.21. Akibatnya masuknya metil pada sitosin, maka perpanjangan DNA berikutnya akan terhambat karena fosfat tidak

dapat berikatan lagi pada atom C-3 sehingga sintesis DNA akan terhenti (Munchberg *et al.*, 2007).

Adanya pengaruh gugus fungsional seperti alkohol, asetal, fenol, dan gula serta sifat struktur pada senyawa bahan alam menyebabkan perbedaan toksisitas pada senyawa tersebut (Struck *et al.*, 2008).



Gambar 2. 20 Reaksi penghambatan rantai DNA yang mengandung adenin,guanin dan sitosin (Linus, 2007).

2. Ringkasan Pokok Pembahasan

Penemuan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid, kroman alkaloid, limonoid, seskuiterpen, flavonoid, steroid, protolimonoid dan senyawa sulfur telah dilaporkan dari genus *Dysoxylum* dengan berbagai spesies dan beberapa diantaranya memiliki aktivitas yang menarik terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan (Wink *et al.*, 2012) triterpenoid **(35-41)** yang diisolasi dari *D.cumingianum* menghambat P-gp pada sel kanker MCF-7 sehingga bisa dijadikan sebagai agen untuk kemoterapi. Flavopiridol pada *D.binectariferum* merupakan inhibitor dari MMP-2 dan MMP-9 pada sel kanker payudara MCF-7 (Tobin *et al.*, 2012). Ekstrak diklorometan kulit batang *D. gaudichaudianum*, ekstrak kulit batang *D. cauliflorum*, dan ekstrak *D. caulostachyum* menunjukkan sifat toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC₅₀ 7,35 µg/mL, IC₅₀ 35,5 µg/mL, nilai IC₅₀ 12 µg/ml (Subarnas *et al.*, 2012), (Ragasa *et al.*, 2014), (Ting *et al.*, 2011).

Kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya (National Cancer Institute, 2012). Pemanfaatan senyawa alam yang non-toksik dengan efektivitas tinggi melawan kanker dapat menjadi pilihan pengembangan terapi kombinasi dengan agen kemoterapi (Jung & Lee, 2008). Metabolit sekunder yang aktif terhadap kanker payudara akan menghambat sintesis DNA pada sel kanker sehingga tidak terjadi perpanjangan rantai DNA (Munchberg *et al.*, 2007). Banyaknya ragam metabolit sekunder dari genus *Dysoxylum* memungkinkan adanya metabolit sekunder yang sama, derivat atau metabolit sekunder baru pada jenis spesies *D. alliaceum* sesuai teori kekerabatan tumbuhan dan biogenesis tumbuhan. Penelitian mengenai *D. alliaceum* ini sendiri baru diteliti oleh Nishizawa *et al.*, (1982) yang berhasil mengisolasi (+)-8-hidroksi kalamenen dengan rumus molekul C₁₆H₂₄O dan memiliki sifat toksik pada pengujian larva ikan. Untuk memperkuat taksonomi keberadaan metabolit sekunder pada genus *Dysoxylum*, maka dilakukan isolasi terhadap spesies *D. alliaceum* mengingat belum banyaknya metabolit sekunder yang dilaporkan dari genus ini yang memungkinkan peneliti menemukan senyawa metabolit sekunder yang belum dilaporkan untuk melengkapi kajian fitokimia dari genus *Dysoxylum*.

BAB 3

PROSES ISOLASI KULIT BATANG *D. Alliaceum*.

Pada bab tiga ini penulis menguraikan berbagai pokok bahasan yang menggambarkan tahapan dalam menentukan struktur metabolit sekunder dari kulit batang *D. Alliaceum*, yang diawali dengan bahan apa dan alat apa yang digunakan untuk menentukan struktur metabolit sekunder tersebut. Setelah itu dijelaskan pula tahapan mulai dari isolasi dan penentuan struktur sampai pada uji sitotoksik MCF-7.

A. Menyiapkan Bahan dan Alat

1. Sampel yang digunakan dalam riset ini adalah bagian kulit batang *D. alliaceum* yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor, Jawa Barat.
2. Bahan kimia yang digunakan berupa beberapa pelarut yang umum digunakan dalam teknik isolasi berupa larutan *teknis* (didestilasi ulang) dan pro-analis seperti n-heksana, etil asetat, metanol, aseton, kloroform, air (aquades), silika gel G60 (70-230 mesh), ODS RP-18 F254, silika gel GF254 untuk pemisahan senyawa. H₂SO₄ 10% dalam etanol sebagai zat penampak noda, seperangkat alat uji sel MCF-7 (sel MCF-7, DMSO, MTT, dan PBS (Phosphate Buffer Saline)).

3. Alat yang digunakan berupa alat gelas yang umum digunakan dalam teknik isolasi, destilasi, rotary evaporator tipe R-144 Buchi yang dilengkapi dengan B-169 *sistem* vakum Buchi, lampu UV λ 254 nm dan 365 nm untuk pemantauan senyawa target, corong pisah dan kolom terbuka (gravitasi) untuk pemisahan dan pemurnian, untuk karakterisasi isolat murni digunakan metode spektroskopi UV tipe Hp 8452 A Shimadzu, IR tipe Shimadzu 8400, NMR tipe JOEL JNMECA 500 MHz (1H-NMR) dan 100 MHz (13C-NMR), dan MS tipe Water LCT Premier X-6. Seperangkat alat Uji sel kanker MCF-7 (Mikropate 96 well steril, Elisa reader, inkubator 37°C, CO2 5%, Kit WTS-8 untuk MTT assay).

B. Isolasi dan Penentuan Struktur

Proses ini terdiri dari tiga tahap, yaitu: ekstraksi kulit batang *D. alliaceum* pemisahan dan pemurnian isolat dari fraksi target serta karakterisasi isolat murni.

1. Ekstraksi Sampel

Sampel berupa kulit batang *D. alliaceum* (3,5 kg) dihaluskan kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang dihasilkan, diuapkan dengan menggunakan alat rotary evaporator dengan tekanan dari vakum pada suhu $\pm 40^\circ\text{C}$ sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak ini kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat n-heksana (65 g), etil asetat (16 g) dan metanol (34 g). Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7, diperoleh hasil uji sitotoksik untuk ketiga ekstrak berturut turut adalah 58,42 $\mu\text{g/mL}$, 495,90 $\mu\text{g/mL}$, dan 654, 94 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak n-heksana dan etil asetat yang menunjukkan aktivitas sitotoksik lebih kecil, dianalisis kandungan metabolit sekundernya dengan metode analisis kualitatif, menggunakan kromatografi lapis tipis yang dipandu dengan lampu ultraviolet 254 dan 365 nm serta pereaksi penampak noda 10% H₂SO₄ dalam etanol.

2. Pemisahan dan Pemurnian Isolat

Fraksi *n*-heksan dan etil asetat dimurnikan lebih lanjut. Fraksi *n*-heksan (30 g) dipisahkan dengan kromatografi vakum cair (KVC) fase diam silika gel G60, menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan metanol bergradien dengan kenaikan kepolaran 10% dihasilkan tujuh fraksi (A-G). Semua fraksi dianalisis dengan menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan: EtOAc (7-3). Fraksi yang dipilih untuk pemisahan lebih lanjut adalah fraksi yang memiliki massa yang cukup banyak dan pola pemisahan yang baik. Fraksi D (3,3 g) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) sistem pelarut isokratik *n*- heksan:EtOAc (8-2) menghasilkan lima fraksi (D1-D5). Masing-masing fraksi (D1-D5) dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan: EtOAc (6-4). Fraksi D4 (1 g) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) gradien 1% eluen *n*-heksan:EtOAc menghasilkan empat fraksi (D4A-D4D). Masing-masing fraksi (D4A-D4D) dilakukan analisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan: EtOAc (7-3) dan dibilas dengan menggunakan *n*-heksan sehingga diperoleh senyawa **1** pada fraksi (D4B) (76 mg).

Fraksi E (1,1 g) dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) gradien 2,5% eluen *n*- heksan:EtOAc menghasilkan enam fraksi (E1-E6). Masing-masing fraksi (E1-E6) dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan: MTC (3-7). Fraksi E4 (250 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) sistem isokratik eluen *n*- heksan:MTC (4-6) menghasilkan empat fraksi (E4A-E4D). Fraksi E4C (130 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) *n*- heksan:EtOAc gradien 2% menghasilkan 3 fraksi (E4C1- E4C3) masing masing fraksi dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan: MTC (5-5) dan dibilas dengan menggunakan *n*-heksan sehingga diperoleh senyawa **2** (66 mg).

Fraksi etil asetat (16 gram) dipisahkan dipisahkan dengan kromatografi vakum cair (KVC) fase diam silika gel G60, menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan metanol bergradien dengan kenaikan kepolaran 10% dihasilkan empat fraksi (A-D). Semua fraksi dianalisis dengan KLT menggunakan eluen *n*-

heksan:EtOAc (4-6). Fraksi ini dipilih untuk pemisahan lebih lanjut dengan harapan terdapat senyawa-senyawa yang bersifat antagonis sehingga aktivitas isolat lebih baik dari aktivitas ekstrak.

Fraksi B (410 g) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) gradien 2,5% eluen *n*-heksan:EtOAc dihasilkan enam fraksi (B1-B6). Fraksi B3 (123 mg) dipisahkan dengan sistem isokratik menggunakan eluen CHCl₃:MeOH (9-1) dihasilkan tiga fraksi (B3A-B3C). Masing masing fraksi dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan:EtOAc (5-5) sehingga diperoleh senyawa **3** pada fraksi (B3B) sebanyak 8 mg.

Fraksi C (1 g) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) gradien 2,5% eluen *n*-heksan:EtOAc dihasilkan lima fraksi (C1-C5). Fraksi C4 (400 mg) dipisahkan dengan kromatografi kolom fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh) sistem gradien 1% eluen *n*-heksan:aseton dihasilkan enam fraksi (C4A-C4F). Fraksi C4D (115 mg) dipisahkan sistem isokratik menggunakan eluen *n*-heksana:EtOAc (4-6) dihasilkan empat fraksi (C4D1- C4D4). Masing masing fraksi dianalisis menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksan:EtOAc (3-7) sehingga diperoleh senyawa **4** pada fraksi (C4D3) sebanyak 12 mg.

3. Karakterisasi Senyawa Murni

Senyawa **1-4** selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan metode spektroskopi yang meliputi, spektroskopi ultraviolet, inframerah, NMR dan massa.

C. Uji Sitotoksik Terhadap Sel MCF-7

1. Pembuatan Larutan Uji, Perbandingan, dan Blangko DMSO

Bahan uji ditimbang sebanyak 5 mg, kemudian dilarutkan dalam 100 µL DMSO (Dimetil Sulfoksida) dalam ependorf dan disimpan sebagai larutan stok kemudian digunakan dalam uji. Pembuatan larutan stok maupun seri kadar larutan untuk perlakuan dilakukan secara aseptis di dalam LAF (*Laminar Air Flow*) cabinet. Larutan stok dipipet 10 µL kemudian ditambahkan 990 µL media kultur sehingga konsentrasi akhir 1000 µg/mL, selanjutnya dibuat dalam variasi konsentrasi. Masing-masing variasi konsentrasi

dipipet 100 μ L ke dalam tiap sumuran dengan 3 kali pengulangan untuk setiap variasi konsentrasi.

2. Pengujian Sitotoksitas Terhadap Sel MCF-7

Pengujian sitotoksitas dilakukan dengan 1 pelat 96 sumuran. Ke dalam tiap sumur dimasukkan suspensi sel dalam medium RPMI 1640 sebanyak 50 μ L kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator sel pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, ke dalam sumur uji dimasukkan 50 μ L larutan uji yang telah dilakukan pengenceran (1, 10, 100, 1000, dan 10.000 ppm). Setelah itu ditambahkan 10 μ L kit WST-8 untuk MTT assay kedalam masing masing sumuran dan diinkubasi selama 3 jam. Masukkan pelat kultur 96 sumuran ke dalam ELISA *plate reader*. Baca serapannya dengan ELISA *plate reader* pada panjang gelombang 545 nm dengan referensi 630 nm (Freshney, R, 2005).

D. Perhitungan Persentase Kematian Sel MCF-7

Persentase kematian sel MCF-7 dari larutan uji I, uji II, dan perbandingan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%kematian = \frac{Ab - Au}{Ab} \times 100\%$$

Keterangan:

A b = Serapan Blangko DMSO

A u = Serapan Larutan Uji

Sedangkan persentase kematian sel dari larutan kontrol positif dan blangko DMSO didapat dengan membandingkan serapannya terhadap kontrol negatif (suspensi sel). Data persentase kematian sel diolah dengan menggunakan analisis probit untuk mendapatkan nilai IC₅₀.

BAB 4

SENYAWA HASIL ISOLASI DARI KULIT BATANG *D. Alliaceum*

Dari hasil isolasi ekstrak *n*-heksan dan ekstrak etil asetat kulit batang *D. alliaceum* diperoleh empat senyawa yaitu stigmast-5-en-3 β -ol (1), stigmasterol (2), 4-metoksi-8,10a-dimetilfuranheksahidroantrasen-1,5-diol (3), dan 6,7-dimetoksi-2H-kromen-2-on (4) masing-masing sebanyak 76, 66, 8, dan 12 mg. Struktur molekul ditetapkan berdasarkan analisa data spektroskopi, meliputi inframerah (IR), *Nuclear Magnetik Resonance* ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) dan 2D (COSY, HMQC, dan HMBC), MS (HR-TOF MS), serta dibandingkan dengan data spektra yang diperoleh dari literatur. Selanjutnya, juga dikemukakan hasil pengujian aktivitas sitotoksik dari senyawa-senyawa hasil isolasi, terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1. Sifat fisik dan fisikokimia senyawa 1-4

Senyawa 1 diperoleh berupa kristal jarum putih. Tl: 133,9°C-134,9 °C; IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3424; 2937; 2870; 1464; 1379; 1056. $^1\text{H-NMR}$ (aseton- d_6 , 500 MHz) δ_H 1,06 (1H, dd, 10,5; 5,5), 1,11 (1H, dd, 10,5; 5,5), 1,69 (1H, dt, 9,5; 6,0), 1,77 (1H, dt, 9,5; 6,0), 3,39 (1H, m, 3,8), 2,21 (2H, d, 6,5), 5,31 (1H, d, 4,9), 1,94 (2H, dt, 5,6; 8,5), 1,42 (1H, m), 0,95 (1H, m), 1,55 (2H, m), 1,19 (2H, d, 5,6), 1,13 (1H, m), 1,23 (2H, m), 1,95 (2H, m), 1,15 (1H, m), 0,97 (1H, m), 0,96 (3H, d,

6,7), 2,05 (2H, m), 1,27 (2H, m), 1,22 (1H, m), 1,6 (2H, m), 0,88 (3H, t, 7,1), 1,15 (1H, m), 0,86 (3H, d, 6,2), 0,84 (3H, d, 6,2), 0,74 (3H, s), 1,02 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (aseton- d_6 , 125 MHz) δ_c 37,4, 31,7, 70,9, 42,5, 141,5, 120,7, 31,8, 36,2, 20,9, 39,8, 42,3, 56,8, 25,9, 28,1, 56,1, 11,5, 18,4, 40,6, 19,3, 33,9, 24,1, 45,9, 31,9, 18,9, 18,5, 22,9, dan 11,4 ppm, HR-TOF-MS m/z 413,0811 $[\text{M-H}]^+$ (sesuai dengan RM $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$; 414,7140 g/mol).

Senyawa 2 diperoleh berupa kristal jarum putih. Tl 174, 4°C-175,0°C; IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3424; 2937; 2870; 1464; 1379; 1056. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ_H 1,05(1H,dd, 10,5; 5,5), 1,11(1H,dd, 10,5; 5,5), 1,69 (1H, dt, 9,5; 6,0), 1,83 (1H, dt, 9,5; 6,0), 3,53 (1H, m), 2,23 (2H, d, 6,5), 5,31 (1H, d, 4,9), 1,97 (2H, dt, 5,6; 8,5), 1,43 (1H, m), 0,95 (1H, m), 1,50 (2H, m), 1,17 (2H, d, 5,6), 1,13 (1H, m), 1,23 (2H, m), 1,97 (2H, m), 1,15 (1H, m), 0,78 (3H, m), 1,02 (3H, t, 1,89), 4,76 (1H, m), 5,14 (1H, m), 2,02 (2H, m), 1,58 (2H, m), 0,83 (1H, m), 1,15 (1H, m), 0,81 (3H, d, 6,2), 0,80 (3H, d, 6,7), 0,67 (3H, s), 1,02 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ_H 37,4, 32,1, 72,0, 42,4, 140,9, 120,7, 31,8, 50,3, 36,6, 21,3, 39,9, 42,5, 56,9, 24,5, 29,3, 56,2, 40,7, 21,3, 138,5, 129,5, 45,0, 25,6, 12,2, 29,3, 20,0, 19,5, 18,9, 12,2 ppm; RM $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ m/z 412,70 g/mol.

Senyawa 3 diperoleh berupa padatan putih. IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3410; 2924; 1603; 1090; 824. $^1\text{H-NMR}$ (aseton- d_6 , 500 MHz) δ_H 7,24 (1H, d, 8,4), 6,60 (1H, d, 8,4), 5,25 (1H), 6,02 (1H, d, 9,7), 6,83 (1H, d, 9,7), 3,45 (1H, m), 4,86 (1H, s), 4,86 (1H, s), 2,68 (1H, m), 2,57 (1H, m), 2,68 (1H, m), 2,57 (1H, m), 1,08 (3H, s), 4,43 (1H, d, 9,75), 5,02 (1H, d, 10,4), 1,11 (3H, s), 3,80 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (aseton- d_6 , 125 MHz) δ_c 160,9, 123,0, 105,4, 106,0, 160,9, 107,2, 129,1, 144,4, 78,2, 78,1, 90,9, 160,8, 26,8, 73,2, 248, 69,8, 26,3, dan 56,5 ppm; MS- ES- m/z 301,32 $[\text{M-H}]^+$ (sesuai dengan RM $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$; 302,37 g/mol).

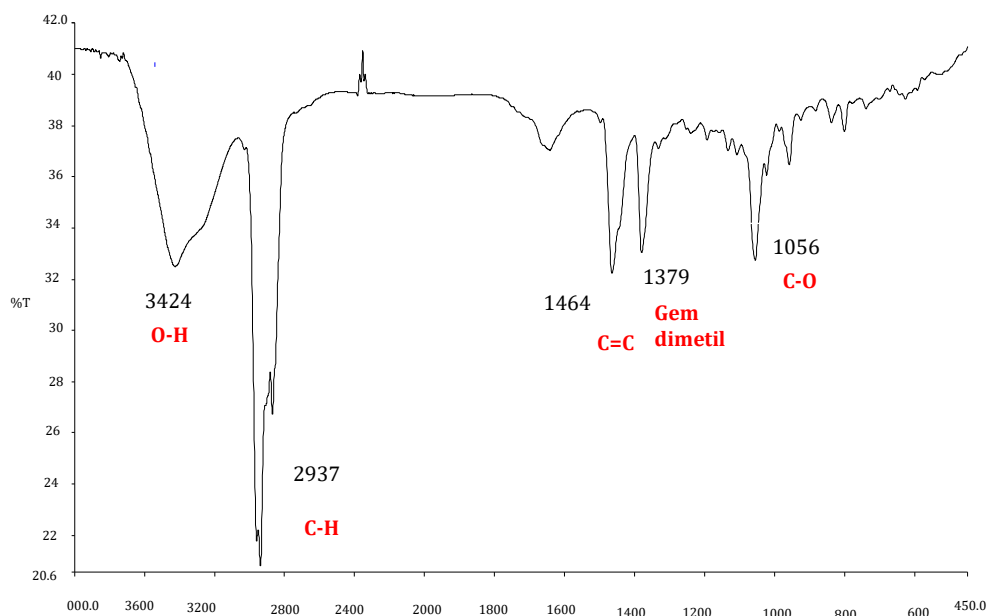
Senyawa 4 diperoleh berupa kristal jarum tidak berwarna. IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} ; 2924; 1603; 1090; 824. $^1\text{H-NMR}$ (aseton- d_6 , 600 MHz) δ_H 7,59 (1H;d;9,6), 6,26 (1H;d;9,6), 6,90 (1H,s), 6, 83(1H,s), 3,81 (3H, s), 3,89 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (aseton- d_6 , 150 MHz) δ_c 162,8, 103,3, 180,3, 143,5, 89,9, 165,3, 166,3, 107,5, 113,5, 56,4, 56,4 ppm; MS-ES- m/z 205,99 $[\text{M-H}]^+$ (sesuai dengan RM $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$; 206,20 g/mol).

2. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 1

Senyawa **1** yang diperoleh berupa padatan kristal putih, memiliki titik leleh 133,9°C- 134,9°C yang menunjukkan bahwa senyawa **1** merupakan senyawa murni. Titik leleh suatu senyawa padat memberikan petunjuk derajat kemurnian suatu senyawa, dimana jarak titik leleh yang tajam (<2°C), yakni antara mulai tampak titik titik cairan hingga tidak tampak lagi padatan sedikitpun memberikan petunjuk yang dapat dipercaya bahwa senyawa yang diukur tersebut adalah murni (Firdaus, 2011).

Rumus molekul senyawa **1** ditetapkan sebagai C₂₉H₅₀O (*m/z* 414,718 g/mol) berdasarkan data HR-ESI-TOFMS (Lampiran 7) *m/z* 413,0811 ($[M - H]^+$) bersama dengan data ¹H dan ¹³C- NMR (Tabel 4.1) dengan demikian senyawa **1** memiliki lima derajat ketidakjenuhan. Senyawa **1** mempunyai karakter tidak berpendar di bawah sinar UV pada λ254 dan λ360 nm yang menunjukkan bahwa senyawa **1** tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Spektrum inframerah senyawa **1** (Gambar 4.1) menunjukkan pita serapan yang berasal dari regangan -OH (3424 cm⁻¹), C-H alifatik (2937cm⁻¹), C=C (1464 cm⁻¹), gem dimetil (1379) dan C-O alkohol (1056 cm⁻¹).

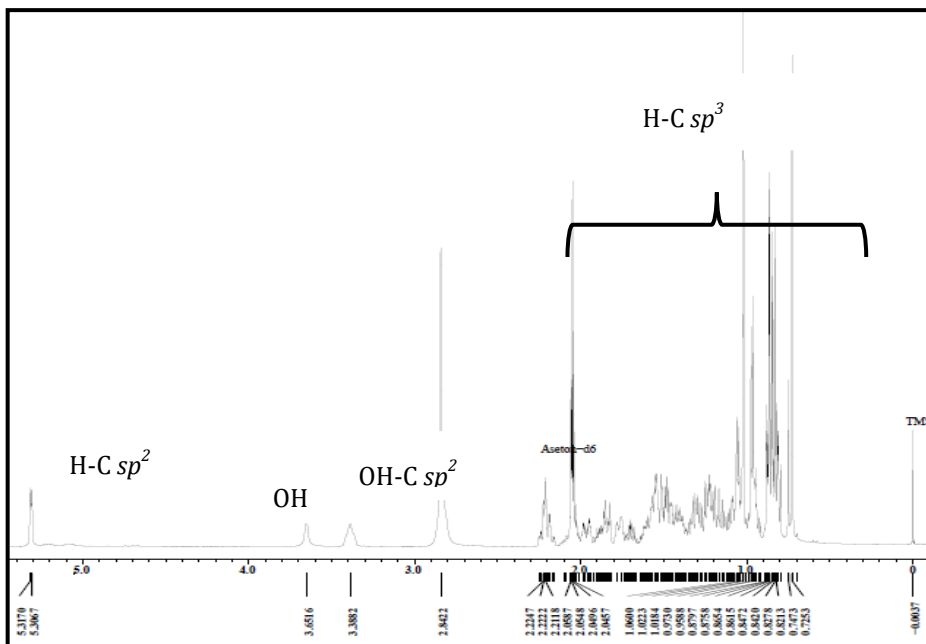


Gambar 4. 1 Spektrum *inframerah* senyawa **1** (dalam KBr).

Senyawa 1 diidentifikasi dengan spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ untuk mengetahui jumlah proton dalam isolat tersebut. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **1** dapat dilihat pada Gambar 4.2. Berdasarkan analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$, senyawa **1** memiliki lima puluh atom hidrogen dimana terdapat dua sinyal *singlet* dari metil tersier (δ_{H} 0,74 dan 1,02 ppm), tiga sinyal *doublet* dari metil sekunder (δ_{H} 0,86; 0,84; dan 0,96 ppm), satu sinyal *triplet* dari metil primer pada δ_{H} 0,88 ppm, satu proton -OH yang ditunjukkan dengan adanya sinyal berupa puncak lebar pada δ_{H} 3,65 ppm, satu sinyal proton *multiplet* yang terikat pada karbon yang mengikat oksigen pada δ_{H} 3,39 ppm, serta satu sinyal proton olefinik pada δ_{H} 5,31 ppm.

Proton H-C sp^3 pada pergeseran δ_{H} 0,72- δ_{H} 2,22 ppm menunjukkan proton yang terikat pada tetrasiklik, adanya satu sinyal proton *multiplet* yang terikat pada karbon yang mengikat oksigen pada δ_{H} 3,39 ppm dan didukung oleh data IR yang menunjukkan sinyal OH mempertegas bahwa senyawa **1** memiliki gugus OH yang terikat pada H-C sp^3 . Data sinyal proton metil dan

proton olifenik yang teramati merupakan ciri khas golongan steroid stigmastan.

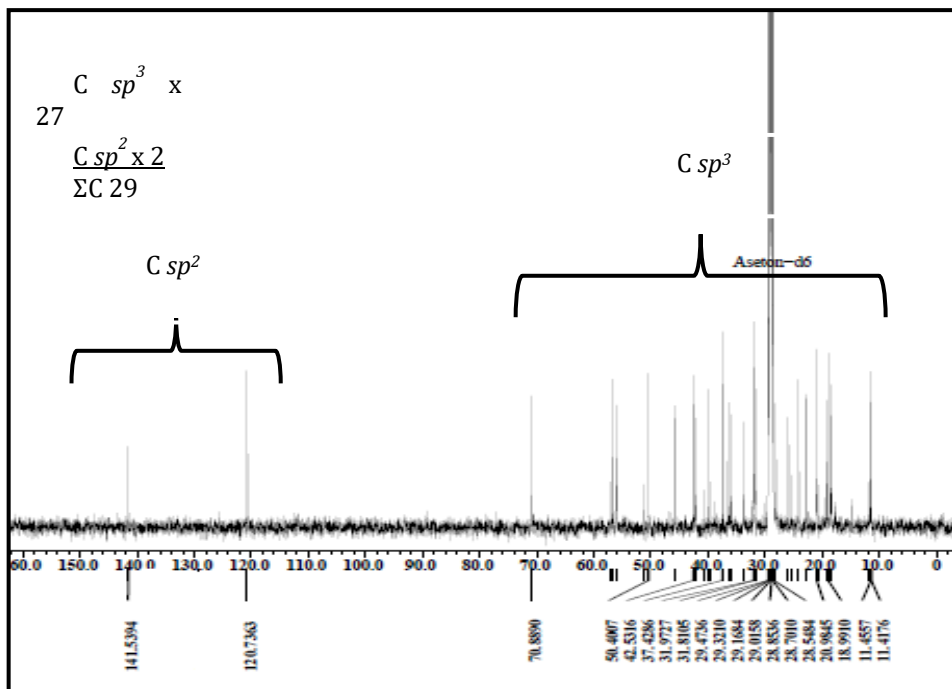


Gambar 4. 2 Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **1** (500 MHz, aseton- d_6).

Terlihat nilai tetapan penjodohan (J) pada senyawa **1** dimana nilai J dapat memberikan informasi tambahan mengenai jenis konfigurasi, dan proton-proton yang saling bertetangga. Proton-proton yang memiliki nilai J sama diduga proton-proton tersebut saling bertetangga.

Proton metil 26 berjodoh dengan proton metil 27 dengan multisiplitas *doblet* yang menunjukkan bahwa proton 26 dan proton 27 bertetangga dan terikat pada H-C sp^3 . Untuk meyakinkan dugaan proton senyawa **1** maka dilakukan pengukuran $^{13}\text{C-NMR}$. Analisis spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dalam aseton- d_6 (Gambar 4.3) menunjukkan adanya 29 atom karbon dan merupakan ciri umum golongan steroid, terdiri atas dua karbon sp^2 , satu karbon sp^3 teroksigenasi, dan 26 atom karbon sp^3 lainnya. Adanya sinyal khas yaitu karbon metil pada δ_c 11-20 ppm, satu karbon kuartener sp^2 pada δ_c 141,54 ppm, satu

karbon metin sp^2 δ_c 120,74 ppm menunjukkan bahwa senyawa **1** merupakan steroid stigmastan.

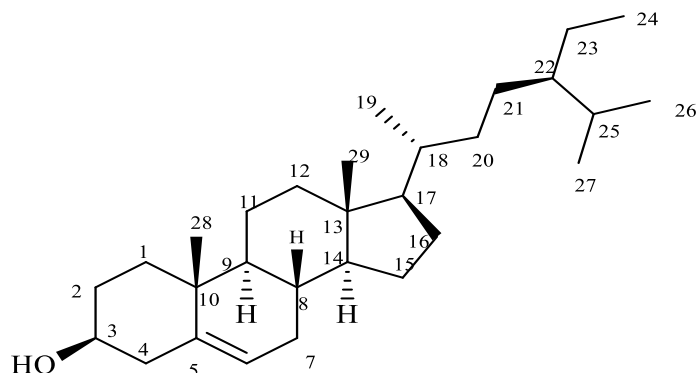


Gambar 4. 3 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa **1** (125 MHz, aseton- d_6).

Untuk menentukan stereokimia pada karbon-karbon asimetri, ditentukan berdasarkan tetapan penjodohan visinal tiga ikatan (3J) dan harga pergeseran kimia 1H dan ^{13}C -NMR. Proton-proton yang berposisi aksial-aksial ($\theta = 180^\circ$) memiliki harga 3J 8-14 Hz, proton-proton yang berposisi ekuatorial-ekuatorial dan aksialekuatorial ($\theta = 60^\circ$) memiliki harga 3J 1-7 Hz (Supratman, 2010). Proton C-3 memiliki harga 3J 2,6 Hz menunjukkan posisi proton 2 dan 3 berposisi aksial-ekuatorial, sehingga gugus hidroksi pada C-3 berposisi aksial (3α -) (Xi-xin *et al.*, 2010).

Dari data NMR, dan tetapan penjodohan senyawa **1**, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa **1** memiliki kerangka steroid stigmastan dengan melihat dari jumlah karbon senyawa **1** dan sinyal khas lainnya, memiliki OH yang terikat pada C-3 yang berposisi aksial (3α -), serta adanya ikatan C-H sp^2 yang

menunjukkan adanya ikatan rangkap antara C-5 dan C-6, maka struktur kimia senyawa **1** merupakan stigmast-5-en-3 β -ol. Berikut struktur kimia senyawa **1** ditunjukkan pada Gambar 4. 4.



Gambar 4. 4 Senyawa **1** stigmast-5-en-3 β -ol.

Untuk memperkuat dugaan struktur senyawa **1** dilakukan perbandingan dengan senyawa β -sitosterol yang telah dilaporkan dari ekstrak diklorometan *Rubus suavissimus* (Sai *et al.*, 2012). Berikut data NMR senyawa **1** dan data pembanding β -sitosterol ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Data NMR senyawa **1** dengan β -sitosterol (Sai *et al.*, 2012)

Posisi C	senyawa 1*		Stigmast-5(6)-en-3 β -ol**	
	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (Σ H, mult., J = Hz)	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (Σ H, mult., J = Hz)
1	37,4	1,06 (1H, dd, 10,5; 5,5) 1,11 (1H, dd, 10,5; 5,5)	37,5	
2	31,7	1,69 (1H, dt, 9,5; 6,0) 1,77 (1H, dt, 9,5; 6,0)	31,9	
3	70,9	3,39 (1H, m, 3,8)	72,0	3,39 (1H, m, 4,5, 4,2, 3,8)
4	42,5	2,21 (2H, d, 6,5)	42,5	

Posisi C	senyawa 1*		Stigmast-5(6)-en-3 β -ol**	
	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (Σ H, mult., J = Hz)	¹³ C- NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (Σ H, mult., J = Hz)
5	141,5	-	140,9	5,36 (1H, t, 6,4)
6	120,7	5,31 (1H, d, 4,9)	121,9	
7	31,8	1,94 (2H, dt, 5,6; 8,5)	32,1	
8	36,2	1,42 (1H, m)	34,2	
9	50,4	0,95 (1H, m)	50,3	
10	36,5	-	36,7	
11	20,9	1,55 (2H, m)	21,3	
12	39,8	1,19 (2H, d, 5,6)	39,9	
13	42,3	-	42,6	
14	56,8	1,13 (1H, m)	56,9	
15	25,9	1,23 (2H, m)	26,3	
16	28,1	1,95 (2H, m)	28,5	
17	56,1	1,15 (1H, m)	56,3	
18	11,5	0,97 (1H, m)	12,0	
19	18,4	0,96 (3H, d, 6,7)	19,0	0,93 (3H, d, 6,5)
20	40,6	2,05 (2H, m)	38,2	
21	19,3	1,27 (2H, m)	19,2	
22	33,9	1,22 (1H, m)	34,2	
23	24,1	1,6 (2H, m)	26,1	
24	45,9	0,88 (3H, t, 7,1)	46,1	0,84 (3H, t, 7,2)
25	31,9	1,15 (1H, m)	29,4	
26	18,9	0,86 (3H, d, 6,2)	20,1	0,83 (3H, d, 6,4)
27	18,5	0,84 (3H, d, 6,2)	19,6	0,81 (3H, d, 6,4)
28	22,9	0,74 (3H, s)	23,3	0,68 (3H, s)
29	11,4	1,02 (3H, s)	12,2	1,01 (3H, s)

*Pengukuran dilakukan dengan aseton-*d*₆ pada 500 MHz untuk ¹H dan 125 MHz untuk ¹³C.

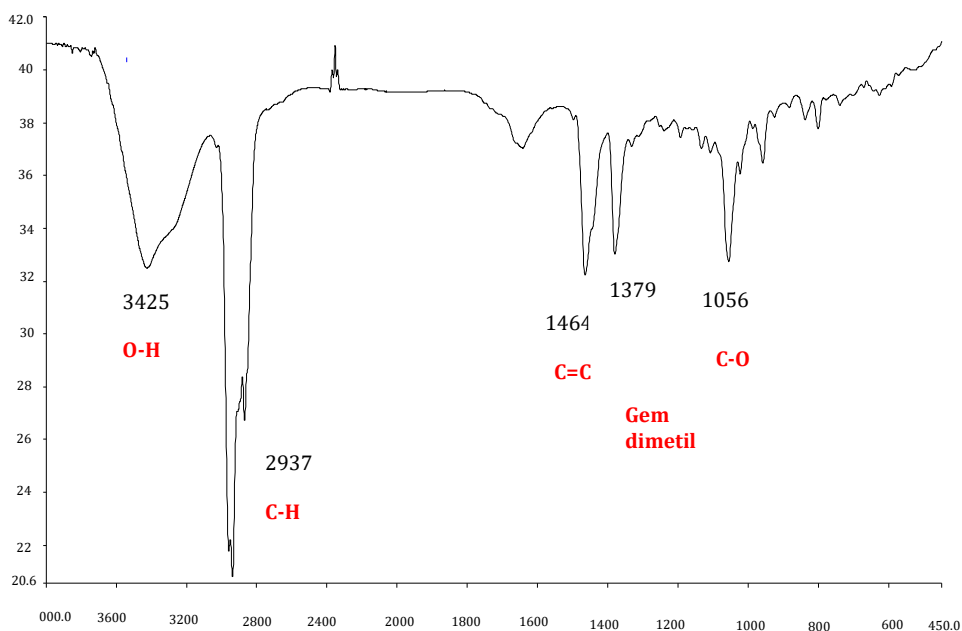
**Pengukuran dilakukan dengan CDCl₃ pada 600 MHz untuk ¹H dan 150 MHz untuk ¹³C ((Sai *et al.*, 2012)

Perbandingan senyawa **1** dengan β -sitosterol (Sai *et al.*, 2012) menunjukkan kesesuaian yang tinggi, dengan demikian Senyawa **1** diidentifikasi sebagai stigmast-5(6)-en-3 β -ol atau β -sitosterol.

3. Penentuan Struktur Kimia Senyawa 2

Senyawa **2** diperoleh berupa padatan kristal putih yang memiliki titik leleh 174,4°C- 175,0°C menunjukkan bahwa senyawa **2** merupakan senyawa murni. Rumus molekul senyawa **2** ditetapkan sebagai C₂₉H₄₈O (*m/z* 412,702 g/mol) yang didukung dengan data ¹H dan ¹³C- NMR (Tabel 4.2), dengan demikian senyawa **2** memiliki enam derajat ketidakjenuhan.

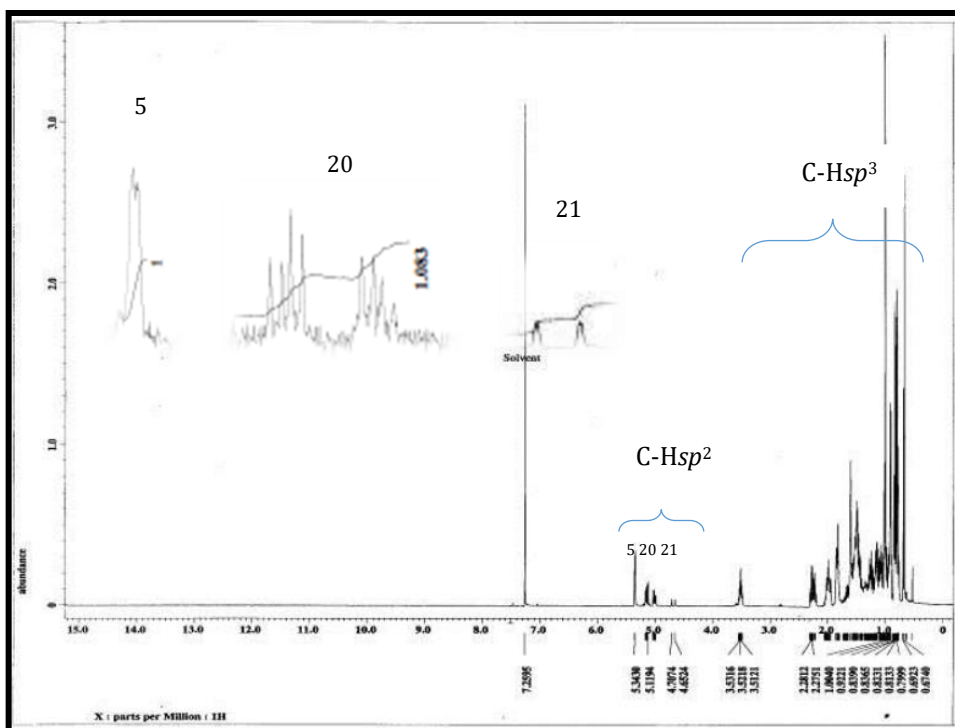
Senyawa **2** mempunyai karakter tidak berpendar di bawah sinar UV pada λ254 dan λ360 nm yang menunjukkan bahwa senyawa **2** tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Spektrum inframerah senyawa **2** (Gambar 4.5) menunjukkan pita serapan yang berasal dari regangan -OH (3425 cm⁻¹), C-H alifatik (2937 cm⁻¹), C=C (1464 cm⁻¹), gem dimetil (1379 cm⁻¹), dan C-O alkohol (1056 cm⁻¹).



Gambar 4. 5 Spektrum *inframerah* senyawa **2** (dalam KBr).

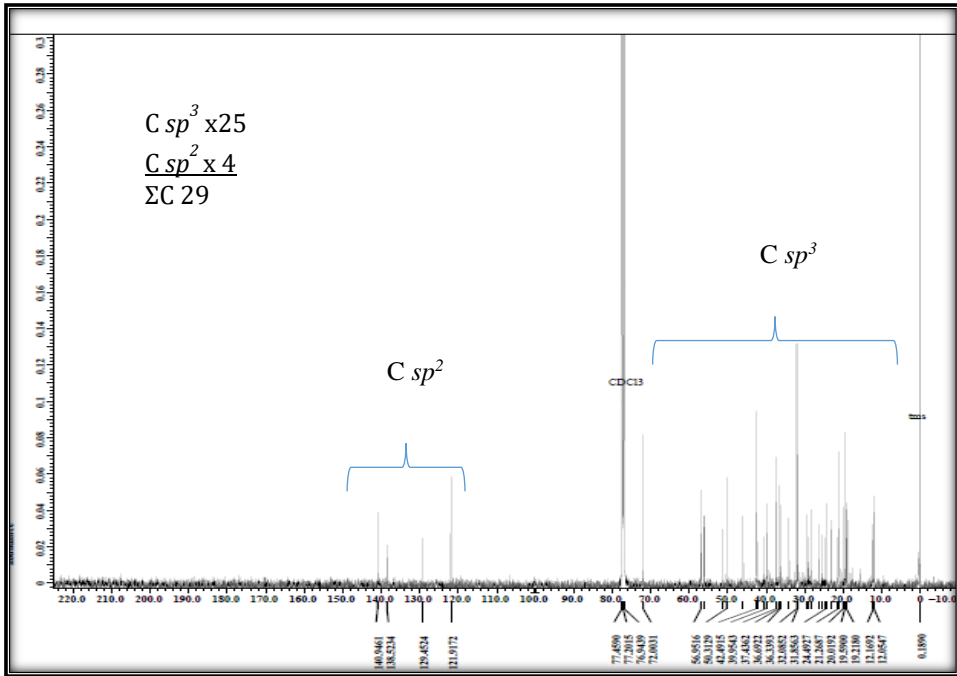
Berdasarkan analisis spektrum ¹H-NMR dalam CDCl₃ (Gambar 4.6) senyawa **2** memiliki 48 atom hidrogen dimana terdapat dua sinyal *singlet* dari metil tersier (δ_H 0,74 dan 1,02 ppm), tiga sinyal

doublet dari metil sekunder (δ_H 0,86; 0,84; dan 0,96 ppm), satu sinyal *triplet* dari metil primer pada δ_H 0,88 ppm, satu proton -OH yang ditunjukkan dengan adanya sinyal berupa puncak lebar pada δ_H 3,65 ppm, satu sinyal proton *multiplet* yang terikat pada karbon yang mengikat oksigen pada δ_H 3,53 ppm, serta tiga sinyal proton olefinik pada δ_H 5,35, 5,14, dan 4,76 ppm. Kehadiran proton metil dan proton olefinik yang diamati membuktikan bahwa senyawa **2** merupakan stigmasterol (Sai *et al.*, 2012).



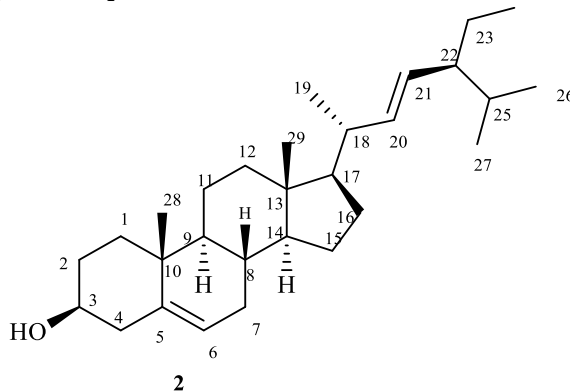
Gambar 4. 6 Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **2** (500 MHz, CDCl_3).

Analisis dengan menggunakan spektroskopi $^{13}\text{C-NMR}$ (Gambar 4.7) menunjukkan adanya 29 atom karbon yang terdiri atas dua karbon sp^2 , satu karbon sp^3 teroksigenasi, dan 26 atom karbon sp^3 lainnya. Jumlah karbon 29 serta adanya sinyal khas yaitu satu karbon kuartener sp^2 pada δ_C 141,54 ppm, satu karbon metin sp^2 δ_C 120,74 ppm dan satu karbon metin sp^3 teroksigenasi pada δ_C 70,89 ppm menunjukkan bahwa senyawa **2** merupakan stigmasterol.



Gambar 4. 7 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa **2** (125 MHz, CDCl_3).

Berdasarkan analisis NMR dapat diidentifikasi bahwa senyawa **2** merupakan senyawa stigmasterol. Struktur kimia senyawa ditunjukkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4. 8 Struktur kimia stigmasterol

Untuk memperkuat dugaan struktur senyawa **2** dilakukan perbandingan dengan senyawa stigmasterol yang telah dilaporkan dari ekstrak diklorometana *Rubus suavissimus* (Sai *et al.*, 2012). Data

NMR senyawa **2** dan data pembandingan stigmasterol ditunjukkan pada Tabel 4. 2.

Tabel 4. 2
Data NMR Senyawa **2** dan data pembandingan Stigmasterol
(Sai *et al.*, 2012)

Posisi C	senyawa 2*		Stigmasterol**	
	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (ΣH, mult., J = Hz)	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (ΣH, mult., J = Hz)
1	37,4	1,05(1H,dd, 10,5; 5,5) 1,11(1H,dd, 10,5; 5,5)	37,6	
2	32,1	1,69 (1H, dt, 9,5; 6,0) 1,83 (1H, dt, 9,5; 6,0)	32,1	
3	72,0	3,53 (1H, m)	72,1	3,51 (tdd,1H)
4	42,4	2,23 (2H, d, 6,5)	42,4	
5	140,9	-	141,1	
6	120,7	5,31 (1H, d, 4,9)	121,8	5,31 (t, 1H, 6,1 Hz)
7	31,8	1,97 (2H, dt, 5,6; 8,5)	31,8	
8	31,8	1,43 (1H, m)	31,8	
9	50,3	0,95 (1H, m)	50,2	
10	36,6	-	36,6	
11	21,3	1,50 (2H, m)	21,5	
12	39,9	1,17 (2H, d, 5,6)	39,9	
13	42,5	-	42,4	
14	56,9	1,13 (1H, m)	56,8	
15	24,5	1,23 (2H, m)	24,4	
16	29,3	1,97 (2H, m)	29,3	
17	56,2	1,15 (1H, m)	56,2	

Posisi C	senyawa 2*		Stigmasterol**	
	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (ΣH, mult., J = Hz)	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR(ppm) (ΣH, mult., J = Hz)
18	40,7	0,78 (3H, m)	40,6	
19	21,3	1,02 (3H, t, 1,89)	21,7	0,91 (d, 3H, J = 6,2 Hz)
20	138,5	4,76 (1H, m)	138,7	4,98 (m, 1H)
21	129,4	5,14 (1H, m)	129,6	5,14 (m, 1H)
22	46,0	2,02 (2H, m)	46,1	
23	25,6	1,58 (2H, m)	25,4	
24	12,2	0,83 (1H, m)	12,1	0,83 (t, 3H, J = 7,1 Hz)
25	29,3	1,15 (1H, m)	29,6	
26	20,0	0,81 (3H, d, 6,2)	20,2	0,82 (d, 3H, J = 6,6 Hz)
27	19,5	0,80 (3H, d, 6,7)	19,8	0,80 (d, 3H, J = 6,6 Hz)
28	18,9	0,67 (3H, s)	18,9	0,71 (s, 3H)
29	12,2	1,02 (3H, s)	12,2	1,03 (s, 3H)

*Pengukuran dilakukan dengan CDCl₃ pada 500 MHz untuk ¹H dan 125 MHz untuk ¹³C.

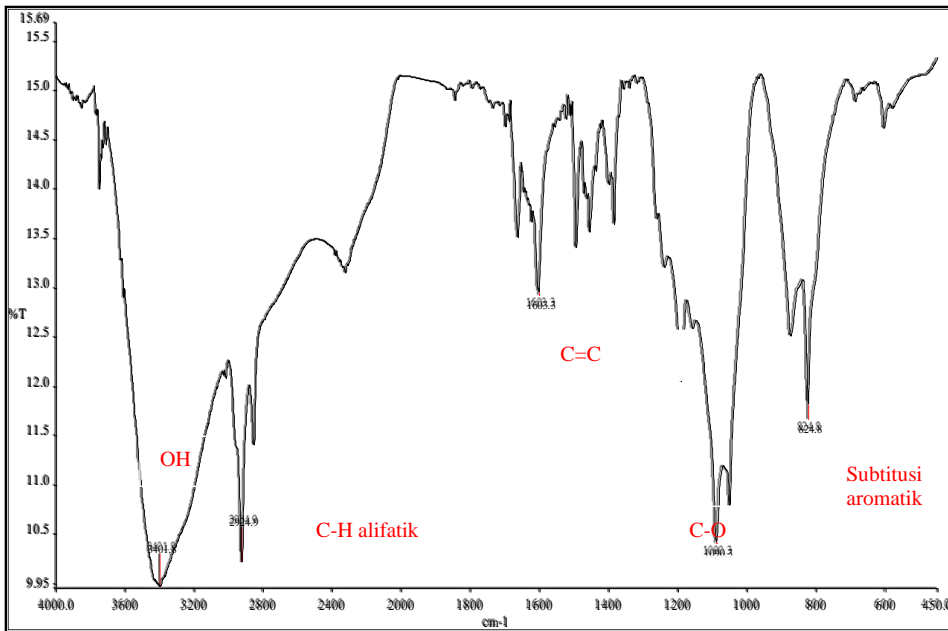
**Pengukuran dilakukan dengan CDCl₃ pada 600 MHz untuk ¹H dan 150 MHz untuk ¹³C ((Sai *et al.*, 2012)

Perbandingan senyawa **2** dengan stigmasterol (Sai *et al.*, 2012) menunjukkan kesesuaian yang tinggi, dengan demikian senyawa **2** dapat diidentifikasi sebagai stigmasterol.

4. Penentuan Struktur Senyawa 3

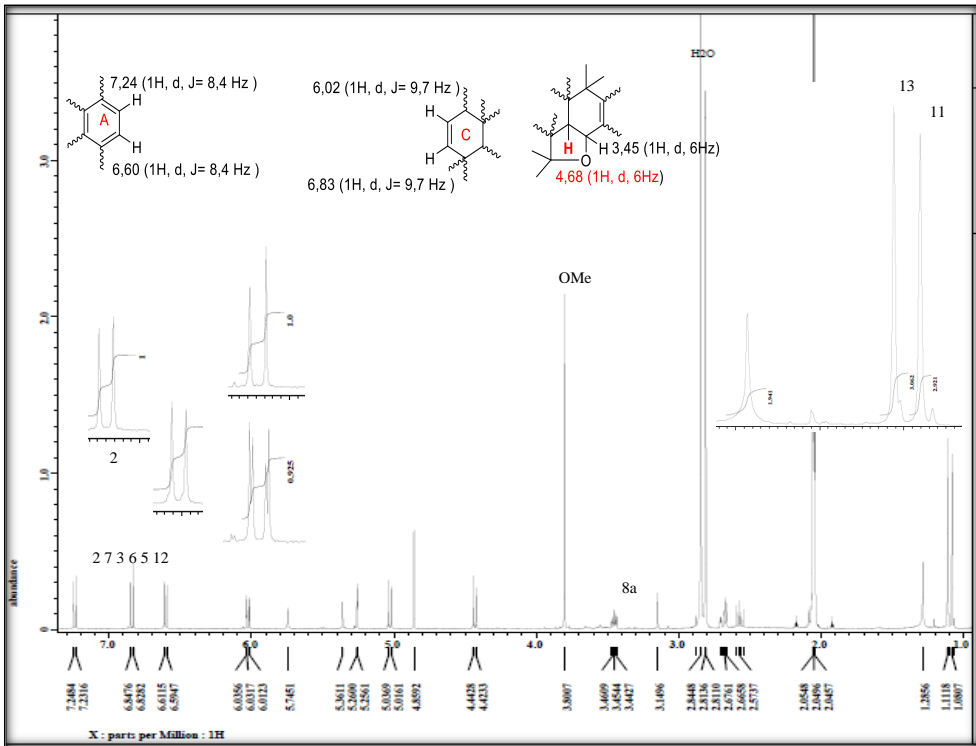
Senyawa **3** diperoleh berupa padatan berwarna putih. Rumus molekul senyawa **3** ditetapkan C₁₈H₂₂O₄ (Mr: 302,37 g/mol) berdasarkan data MS-ES- (Lampiran **8**) [*m/z* 301,60 ([M-H]⁺)] bersama data NMR (Tabel 4.6) dengan demikian senyawa **3** memiliki delapan derajat ketidakjenuhan.

Senyawa **3** hanya berpendar di bawah sinar UV pada λ_{254} nm yang menunjukkan bahwa senyawa **3** memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Spektrum *inframerah* (IR) senyawa **3** (Gambar 4.9) menunjukkan serapan pita yang berasal dari gugus hidroksil -OH (3410 cm^{-1}), C-H alifatik (2924 cm^{-1}), renggang C=C (1603 cm^{-1}), renggang C-O (1090 cm^{-1}), dan substitusi aromatik (824 cm^{-1}).



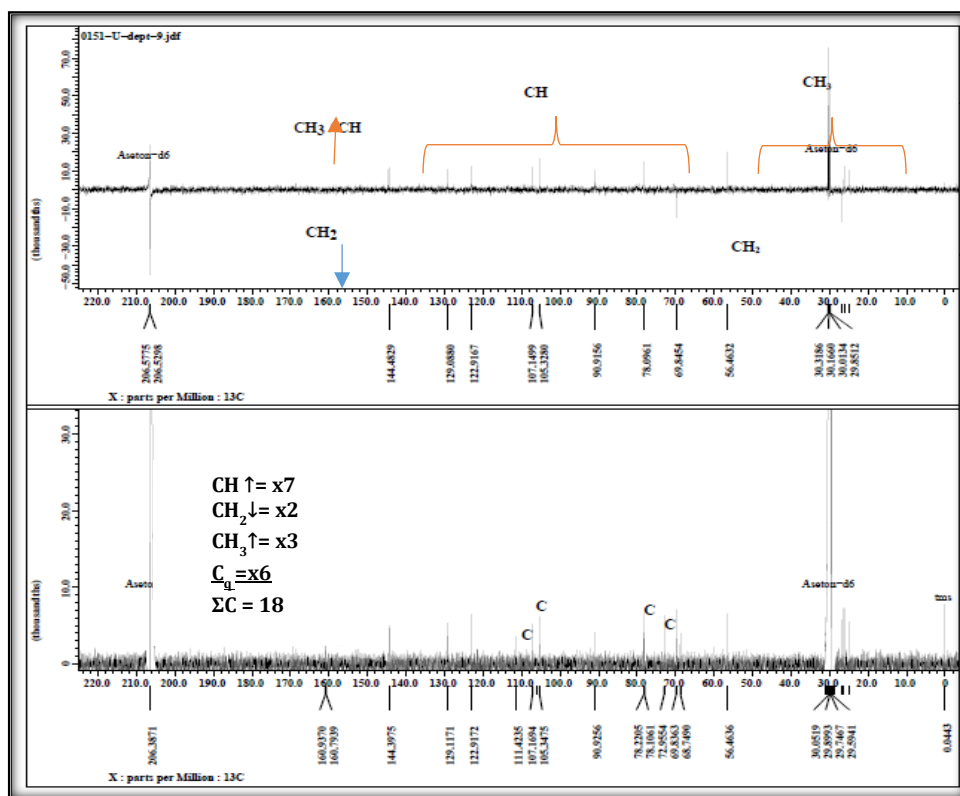
Gambar 4. 9 Spektrum *inframerah* senyawa **3** (dalam KBr).

Hasil pengukuran $^1\text{H-NMR}$ (Gambar 4. 10) menunjukkan adanya kerangka tetrasiklik pada senyawa **3**, dan perhitungan penjodohan pada setiap proton dimana proton pada posisi δ_H 6,02 (1H, d , $J= 9,7$ Hz) berjodoh dengan posisi *orto* dengan proton δ_H 6,83 (1H, d , $J= 9,7$ Hz) yang menunjukkan adanya 1 kerangka cincin A, proton δ_H 7,24 (1H, d , $J= 8,4$ Hz) berjodoh dengan posisi *orto* dengan proton δ_H 6,60 (1H, d , $J= 8,4$ Hz) menunjukkan kerangka cincin C serta proton δ_H 3,45 (1H, d , $J= 6$ Hz) berjodoh dengan δ_H 4,68 (1H, d , $J= 6$ Hz) yang masing masing berjodoh pada posisi *orto* menunjukkan cincin B dan D yang protonnya saling bertetangga dan saling terkait, sehingga dari penjodohan proton dapat diidentifikasi adanya kerangka tetrasiklik.



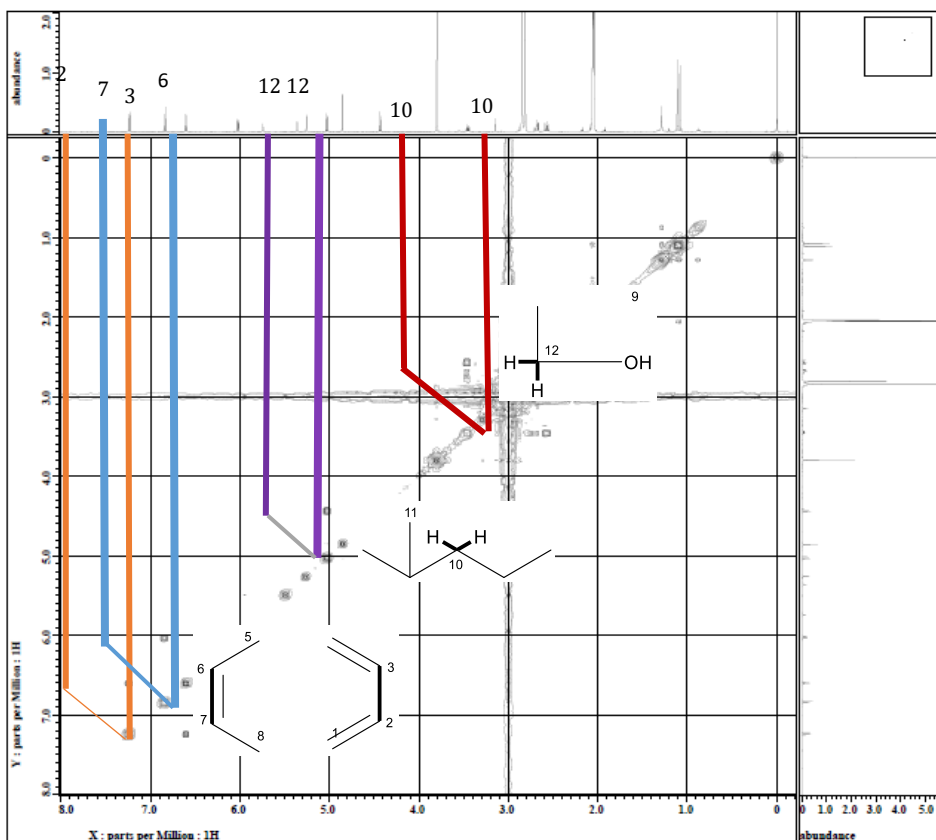
Gambar 4. 10 Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **3** (aseton d_6 , 500 MHz)

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ bersama dengan DEPT 135 (Gambar 4.11) menunjukkan 18 sinyal karbon, tujuh karbon metin pada δ_c 78,1; 90,9; 105,4; 107,2 123,0 ; 129,1, dan 144,4 ppm, dua karbon metilen δ_c 26,8 dan 69,8 ppm, dua karbon metil pada δ_c 24,8 dan 26,3 ppm, satu karbon metil teroksidasi pada δ_c 56,5 ppm, serta enam karbon kuarterner pada δ_c 72,3 78,2; 106,0; 111,4; 160,8 dan 160,9 ppm. Adanya delapan C sp^2 yang beresonansi pada δ 100-160 ppm mengindikasikan adanya empat ikatan rangkap yang berarti memiliki empat derajat ketidakjenuhan yang diidentifikasi berasal dari kerangka tertrasiklik (Ahmed *et al.*, 2014).



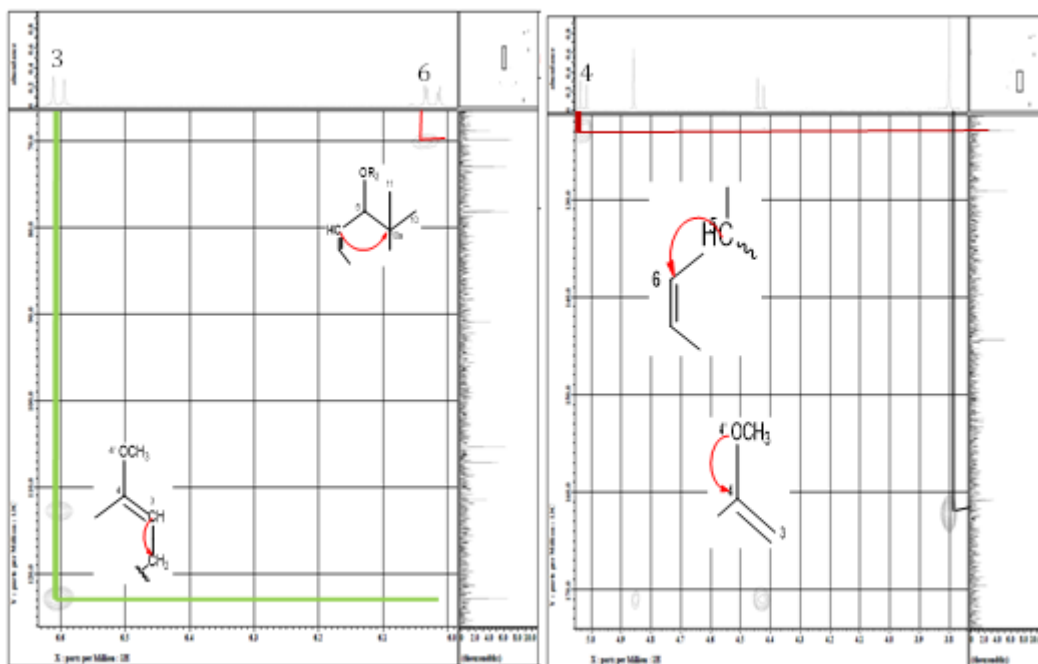
Gambar 4. 11 ¹³C-NMR dan DEPT senyawa **3** (aseton *d*₆, 125 MHz)

Analisa ¹H-¹H *COSY* pada senyawa **3** memberikan informasi tentang hubungan atau korelasi antara proton-proton yang saling bertetangga pada senyawa **3**. Spektrum ¹H-¹H *COSY* (Gambar 4.12) menunjukkan proton H-2 berkorelasi dengan proton H-3 menunjukkan cincin A, proton H-6 dengan H-7 siklik C, proton H-10 dengan H-10, dan proton H-12 dengan H-12.



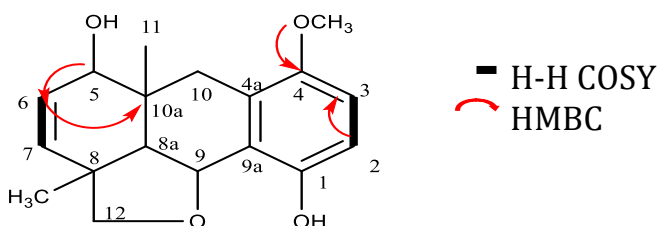
Gambar 4. 12 Spektrum korelasi ^1H - ^1H COSY H-7,H-6,H3,H-2,H10, dan H-12 senyawa **3**

Untuk menentukan posisi gugus fungsi senyawa **3**, dilakukan percobaan 2D-NMR. Keberadaan gugus fungsi dibuktikan melalui korelasi HMBC berikut ini, proton H-3 berkorelasi satu ikatan dengan C-3, H-6 berkorelasi dua ikatan dengan C-4, serta proton H-4' berkorelasi tiga ikatan dengan C-4, hal ini menunjukkan bahwa gugus OCH_3 terletak pada C-4 pada kerangka tertrasiklik yang ditunjukkan pada Gambar 4.13.



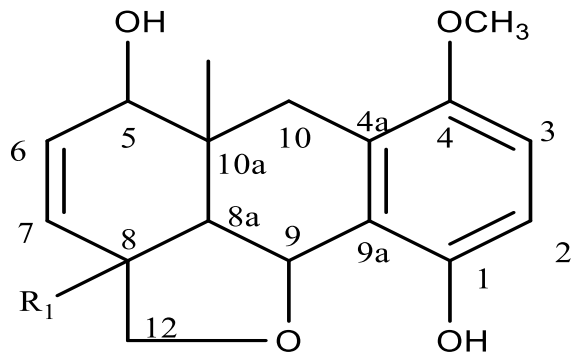
Gambar 4. 13 Korelasi HMBC H-4'-C-4, H-4-C-6, H-3-C-2, H-6-C-10a senyawa **3**

Analisis 2D-NMR senyawa **3** terlihat korelasi proton-proton tetangga pada senyawa **3** serta gugus fungsi senyawa **3**, berikut struktur 2D-NMR senyawa **3** terlihat pada Gambar 4. 14.



Gambar 4. 14 Korelasi HMBC dan ^1H - ^1H COSY senyawa **3**

Berdasarkan data 1D dan 2D-NMR (Tabel 4.3) dan dibandingkan dengan senyawa pembanding arnebacene yang dilaporkan oleh Ahmed *et al.*, (2014) maka senyawa **3** merupakan senyawa turunan fenolik yang memiliki struktur tetrasiklik yang ditunjukkan pada Gambar 4. 15.



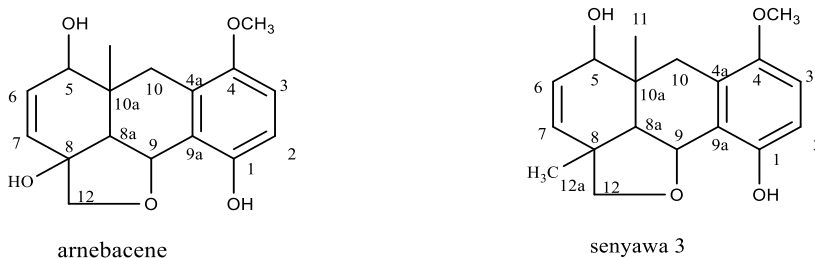
Gambar 4. 15 Struktur tetrasiklik senyawa **3**

Tabel 4. 3 Data NMR Senyawa 3 dan Pembanding Arnebacene

Posisi C	Senyawa 3 *		Arnebacene**	
	¹³ C-NMR δ _C (ppm)	¹ H-NMR δ _H (ppm) (Int; mult; J= Hz)	¹³ C-NMR δ _C (ppm)	¹ H-NMR δ _H (ppm) (Int; mult; J= Hz)
1.	160,9	-	159,9 (qC)	
2.	123,0	7,24 (1H, d, 8,4)	123,8 (CH)	6,80, d (8,8)
3.	105,4	6,60 (1H, d, 8,4)	105,4 (CH)	6,77, d (8,8)
4	106,0	-	106,3 (qC)	-
4a	160,9	-	159,7 (qC)	-
5	78,1	3,45 (1H, m)	78,3 (CH)	3,84, d (6,0)
6	129,1	6,02 (1H, d, 9,7)	128,7 (CH)	6,11, dd (10,0)
7	144,4	6,83 (1H, d, 9,7)	144,2 (CH)	6,01, d (10,0)
8	73,2		78,8 (qC)	
8a	102,2	5,25 (1H)	79,8 (CH)	2,59, d (6,0)
9	90,9	4,86 (1H, s)	93,9 (CH)	5,39, d (6,0)
9a	160,8		161,0 (qC)	
10	26,8	2,68 (1H, m) 2,57 (1H, m)	26, 9 (CH ₂)	2,67, 2 H, s
10a	78,2		78,9 (qC)	
11	24,8	1,08 (3H, s)	19,5 (CH ₃)	0,85, 3H, s
12	69,8	4,43 (1H, d, 9,75) 5,02 (1H, d, 10,4)	77,9 (CH ₂)	4,08, d (10,0), α 3,92, d (10,0), β
13	26,3	1,11 (3H, s)		OH (12,5, s)
OMe	56,5	3,80 (3H, s)	56,1 (CH ₃)	3,79, 3H, s

Perbandingan data ¹H-NMR dan ¹³CNMR antara senyawa 3 dan arnebacene (Ahmed *et al.*, 2014) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.3, semua pergeseran kimia sinyal relatif berdekatan kecuali C-13 pada senyawa 3 adalah metil sedangkan pada senyawa pembanding C-13 merupakan hidroksil, hal ini menyebabkan

pergeseran yang berbeda pada C-8, C-8a, C-9 dan C-12. Berikut struktur kimia senyawa **3** dan senyawa arnebacene tercantum pada Gambar 4. 16.



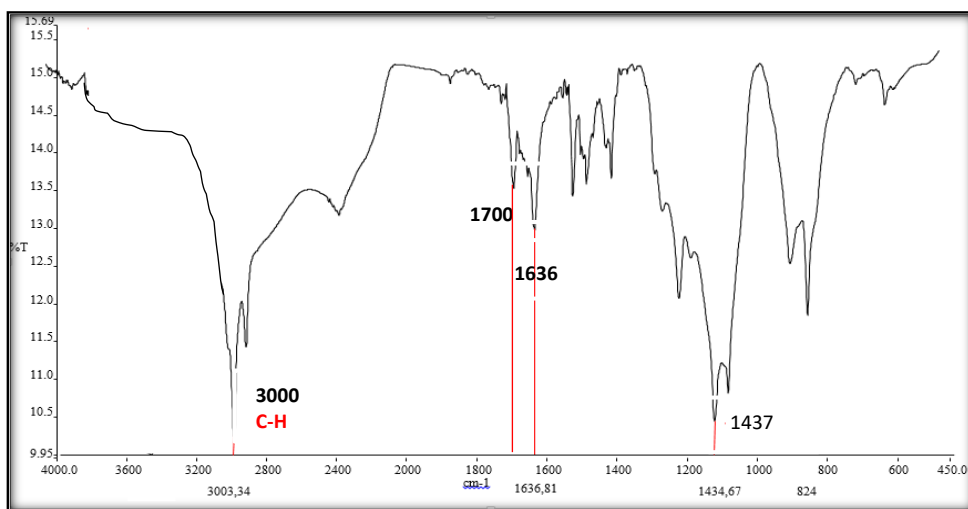
Gambar 4. 16 Struktur kimia senyawa pembanding arnebacene dan senyawa **3**

Berdasarkan data-data spektra yang diperoleh dan berdasarkan analisis biogenesis keberadaan senyawa fenol pada genus *Dysoxylum* maka senyawa **3** dapat diidentifikasi sebagai 4-metoksi-8,10a-dimetil-furanheksahidroantrasen-1,5-diol.

5. Penentuan Struktur Senyawa 4

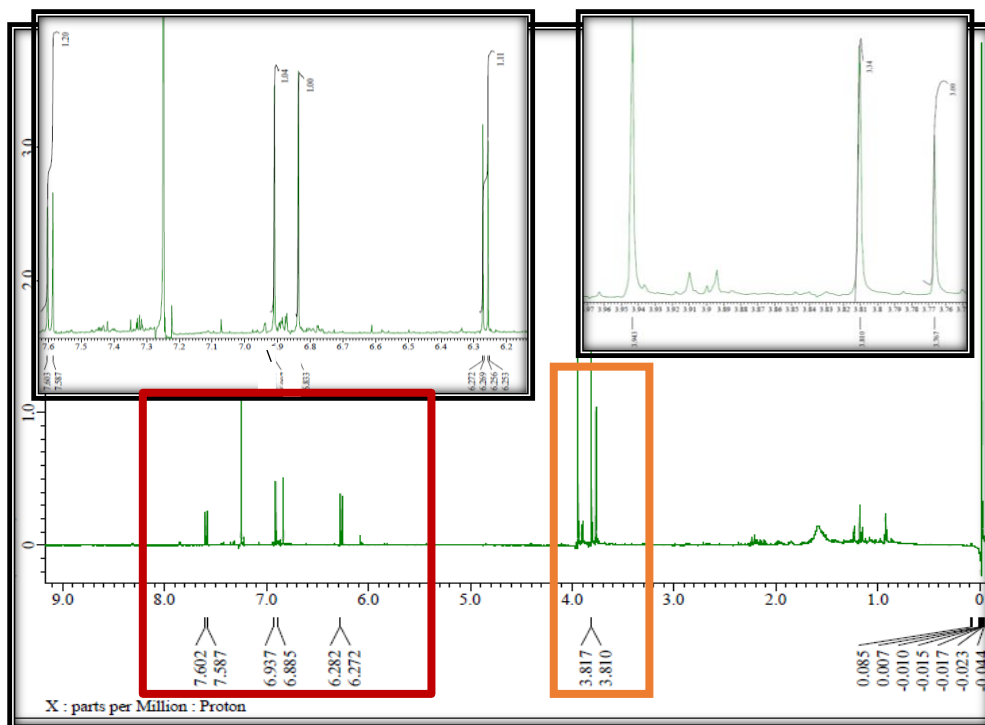
Senyawa **4** diperoleh berupa kristal tak berwarna. Rumus molekul senyawa **4** ditetapkan sebagai $C_{11}H_{10}O_4$ (Mr: 206,1970 g/mol) berdasarkan data ES-MS- (m/z 205,99 ($[M-H]^+$) bersama dengan data 1H dan ^{13}C -NMR (Tabel 4.4) dengan demikian senyawa **4** memiliki tujuh derajat ketidakjenuhan.

Senyawa **4** berpendar di UV 365 nm yang menunjukkan bahwa senyawa **4** memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Spektrum inframerah senyawa **4** (Gambar 4.17) menunjukkan serapan pita yang berasal dari C-H alifatik (2924 cm^{-1}), renggang C=C (1603 cm^{-1}), medium C=O, renggang C-O (1090 cm^{-1}), dan substitusi aromatik (824 cm^{-1}).



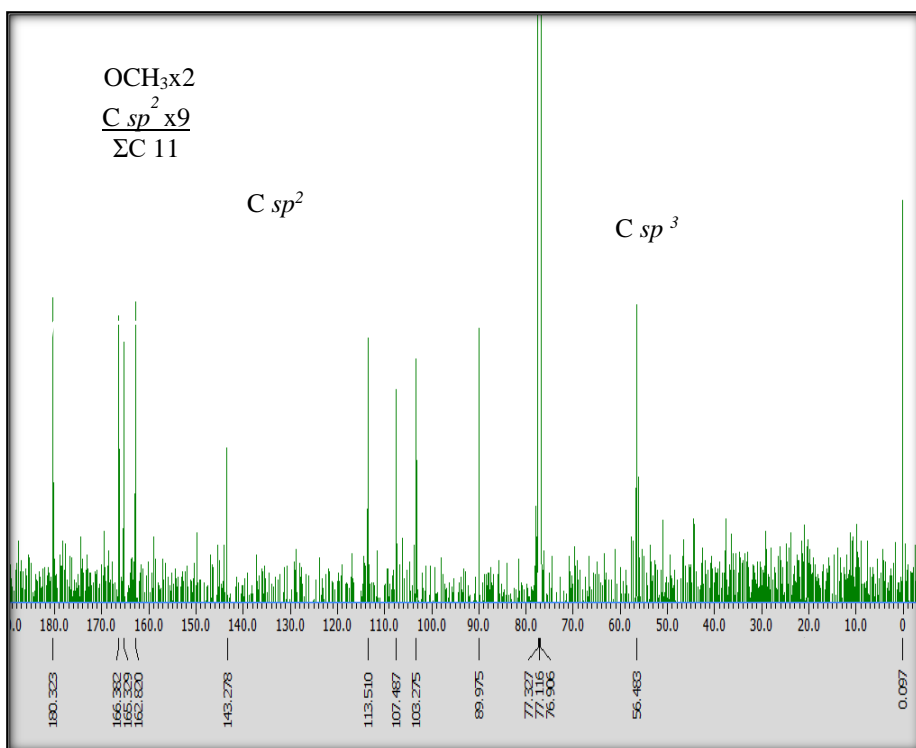
Gambar 4. 17 Spektrum inframerah senyawa 4 (dalam KBr)

Analisis data $^1\text{H-NMR}$ (Gambar 4.18) menunjukkan adanya sinyal proton *doublet* pada δH 7,59 (1H,d,9Hz) yang berjodoh dengan proton *doublet* 6,27 (1H,d,9Hz) pada posisi *orto*. Pada δH 6,93 ppm dan δH 6,88 mengindikasikan adanya proton yang berasal dari cincin aromatik. Proton pada δH 3,81 dan 3,82 ppm dengan multisplitas singlet mengindikasikan proton yang berasal dari CH_3 yang teroksigenasi. Berikut spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 4 tercantum pada Gambar 4. 18.



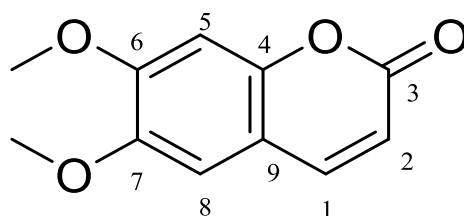
Gambar 4. 18 Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **4** (aseton d_6 , 600 MHz).

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan 11 sinyal karbon yang terdiri dari dua karbon sp^3 teroksidasi (OCH_3) pada δC 56,2 dan δC 56,4 ppm, sembilan karbon sp^2 δC 113,5, 107,5, 166,3, 165,3, 89,9, 143,5, 180,3, 103,3, dan 162,8 ppm. Sinyal δC 180,3 ppm menunjukkan adanya karbonil terkonjugasi. Adanya delapan karbon sp^2 δC 113,5, 107,5, 166,3, 165,3, 89,9, 143,5, 103,3, dan 162,8 ppm mengindikasikan adanya cincin aromatik dimana salah satu cincinnya terikat pada atom oksigen sehingga memberikan pergeseran kimia yang lebih besar. Berikut spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa **4** tercantum pada Gambar 4. 19.



Gambar 4. 19 Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa **4** (aseton d_6 , 150 MHz)

Sehingga struktur kimia senyawa **4** dapat diidentifikasi sebagai berikut. Struktur kimia senyawa **4** terlihat pada Gambar 4. 20.



Gambar 4. 20 Struktur kimia 6,7-dimetoksi-2H-kromen-2-on

Untuk memperkuat identifikasi struktur senyawa **4** maka dilakukan perbandingan dengan senyawa 6,7-dimethoxydihydrokumarin yang dilaporkan oleh Li *et al.*, (2014). Berikut data NMR senyawa **4** dan senyawa perbandingan 6,7-dimethoxydihydrokumarin tercantum pada Tabel 4. 4.

Tabel 4. 4 Data NMR senyawa **4** dan senyawa pembanding
(Li *et al.*, 2014)

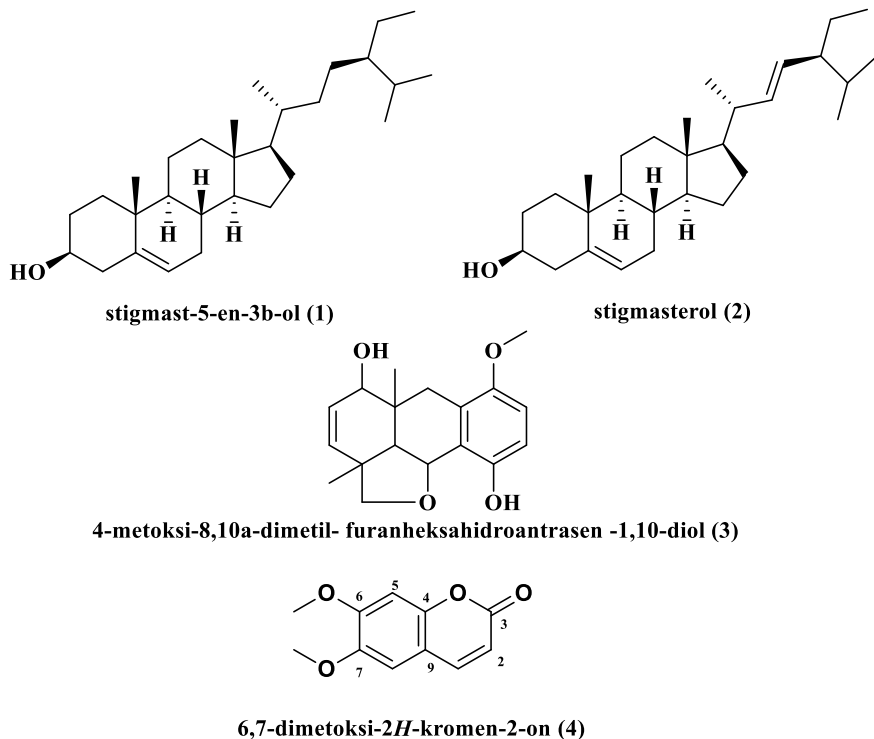
Posisi C	senyawa 4*		6,7- dimethoxydihydrokumarin **	
	¹ H-NMR δ _H (ppm) (Int; mult; J= Hz)	¹³ C-NMR δ _C (ppm)	¹ H-NMR δ _H (ppm) (Int; mult; J= Hz)	¹³ C-NMR δ _C (ppm)
1	7,59 (1H;d;9)	162,8	7,69 (1H;d;9,6)	162,8
2	6,27 (1H;d;9)	103,3	6,15 (1H;d;9,6)	103,3
3		180,3		180,32
4		143,5		143,5
5	6,93 (1H,s)	89,9	6.92 (1H,br s,)	90,5
6		165,3		165,3
7		166,3		166,3
8	6, 80(1H,s)	107,5	6.03 (1H,br s,)	107,5
9		113,5		113,6
OMe	3,81 (3H, s)	56,2	3,80 (3H, s)	56,5
OMe	3,82 (3H, s)	56,4	3,85(3H, s)	56,6

Senyawa **4** dengan senyawa pembanding memiliki kesesuaian yang tinggi. Maka dapat dilaporkan senyawa **4** adalah 6,7-dimethoxydihydrokumarin atau 6,7-dimetoksi-2H-kromen-2-on. Senyawa **4** baru dilaporkan dalam spesies *D. alliaceum*.

6. Profil kimia tumbuhan *D. alliaceum*

Dua senyawa steroid dan tiga senyawa fenolik telah diisolasi dari ekstrak n-heksan dan etilasetat kulit batang *D. alliaceum*. Senyawa-senyawa tersebut adalah stigmast-5-en-3β-ol (**1**), stigmasterol (**2**), 4-metoksi-8,10a-dimetil- furanheksahidroantrasen-1,5-diol (**3**), dan 6,7-dimetoksi-2H-kromen-2-on (**4**). Senyawa (**1**) dan (**2**) merupakan senyawa steroid yang sering dijumpai pada tanaman namun baru kali ini dilaporkan pada spesies *D. alliaceum*. Senyawa (**3-4**) merupakan senyawa turunan fenol yang baru

dilaporkan pada genus *Dysoxylum*. Hal ini memperkuat kemotaksonomi keberadaan senyawa fenolik dari spesies *D. alliaceum*. Berikut struktur kii senyawa 1-4 hasil isolasi dari kulit batang *D. alliaceum* ditunjukkan pada Gambar 4.21.



Gambar 4. 21 Struktur kimia senyawa hasil isolasi dari kulit batang *D.alliaceum*

7. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Senyawa 1-4

Ekstrak *n*-heksana, EtOAc dan MeOH serta senyawa (2 dan 4) diuji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7, sedangkan pengujian terhadap sel kanker payudara MCF-7 senyawa 1 dan 2 dirujuk dari literatur yang dilaporkan oleh Rob, C B *et al.*, (2015). Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT *assay* (Freshney, R, 2005). Menurut (Cho *et al.*, 1998) nilai $IC_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan sangat aktif, nilai IC_{50} 6-10 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan aktif, nilai IC_{50} 11-30 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan sedang dan nilai $IC_{50} > 30$

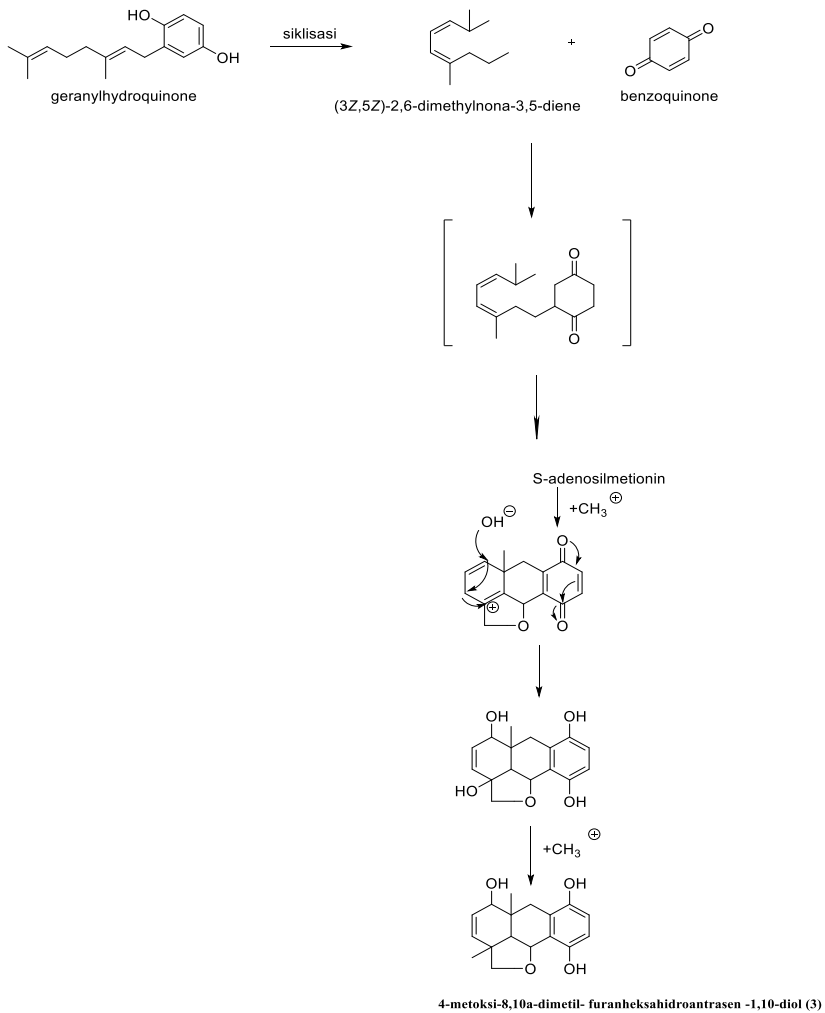
µg/mL dikategorikan lemah. Hasil uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 tercantum pada Tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Hasil Pengujian Sitotoksik Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7

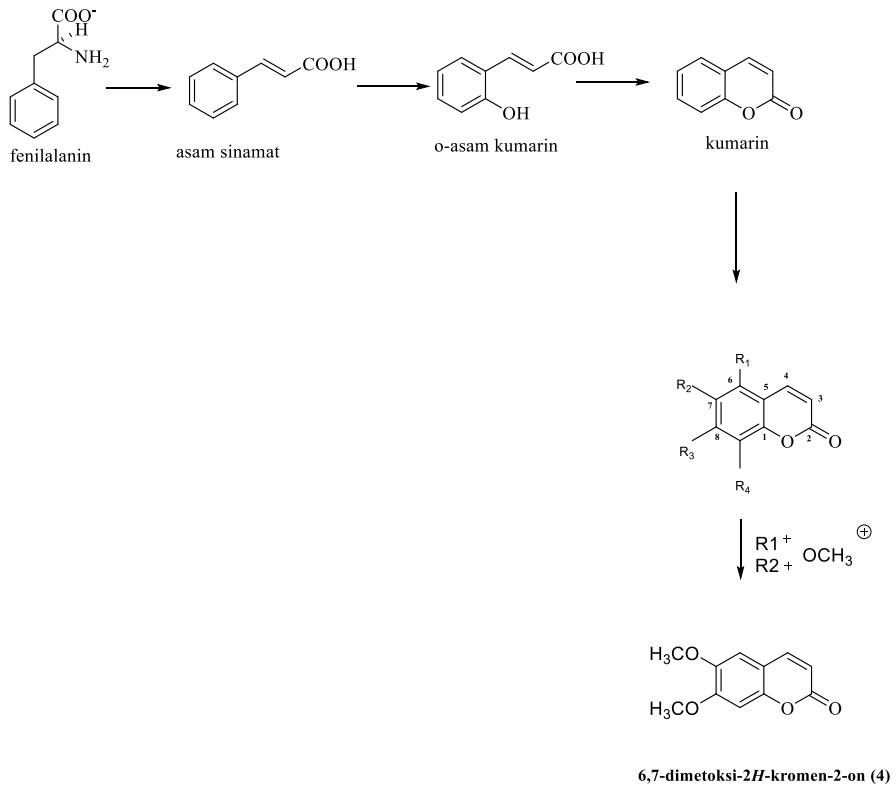
Sampel	IC ₅₀ µg/mL	Keterangan (Cho <i>et al.</i>, 1998)
Ekstrak n-heksan	58,42	Lemah
Ekstrak aetil asetat	495,50	Lemah
Ekstrak metanol	654,94	Lemah
*Senyawa 1	8.62	aktif
*Senyawa 2	8.62	Aktif
Senyawa 3	546.50	Lemah
Senyawa 4	353.63	Lemah
Zeocin	1,19	Sangat aktif

* dirujuk dari literatur (Rob, C B *et al.*, 2015)

4.5 Usulan Biogenesis Senyawa 3 dan 4



Gambar 4. 22 Usulan biogenesis senyawa 3

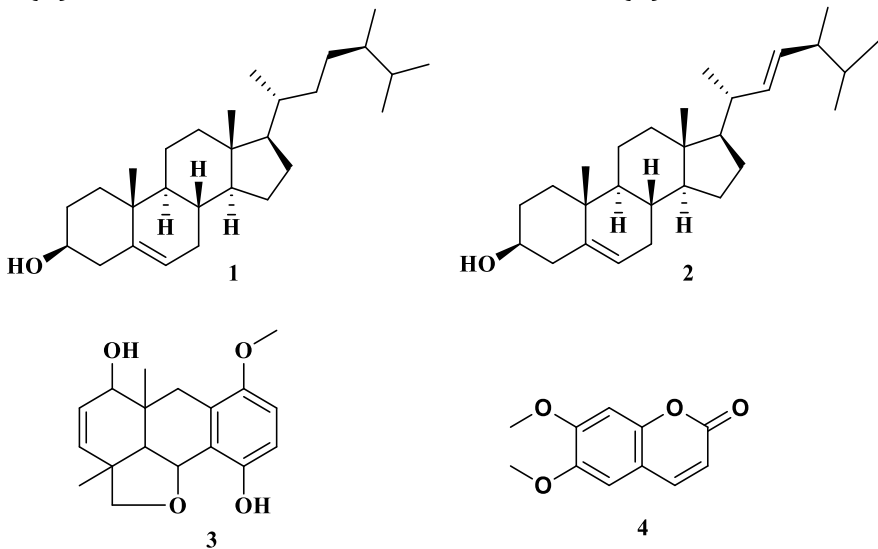


Gambar 4. 23 Usulan biogenesis senyawa 4

BAB 5

PENUTUP

1. Ekstrak *n*-heksan dan ekstrak etil asetat kulit batang *D. alliaceum* didapatkan dua senyawa golongan steroid yaitu stigmast-5-en-3 β -ol (**1**) dan stigmasterol (**2**) dan dua senyawa golongan fenolik yaitu 4-metoksi-8,10a-dimetil- furanheksahidroantrasen -1,5-diol (**3**) dan 6,7-dimetoksi-2H-kromen-2-on (**4**).



2. Uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan lebih bersifat toksik diantara ekstrak etil asetat dan metanol, senyawa (**1**) dan (**2**) dari ekstrak *n*-heksan menunjukkan aktifitas sitotoksik kuat, sedangkan senyawa (**3**) dan (**4**) menunjukkan aktivitas lemah dengan nilai $IC_{50} > 30$ ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A.F., Saad, H.A., El-karim, E.M.A., 2014. Two Polycyclic geranylhydroquinone-derived Metabolites from roots of *arnebia hispidissima* (lehm.) Dc. *molecules* 19, 5940–5951.
- Chen, P., Shih, Y., Huang, H., Cheng, H., 2011. Diosgenin, a Steroidal Saponin, Inhibits Migration and Invasion of Human Prostate Cancer PC-3 Cells by Reducing Matrix Metalloproteinases Expression. *PLoS One* 6, 1–10.
- Cho, R.J., Racine, M.F., Wodicka, L., Feierbach, B., Stearns, T., Legrain, P., Lockhart, D.J., Davis, R.W., 1998. Parallel analysis of genetic selections using whole genome oligonucleotide arrays. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA* 95, 3752–3757.
- Egeblad, M., Werb, Z., 2002. New Functions For The Matrix Metalloproteinases In Cancer Progression. *Nat. Rev.* 2.
- Firdaus, 2011. *Teknik Dalam Laboratorium Kimia Organik*, UNIVERSITAS HASANUDDIN.
- Freshney, R, I., 2005. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, Fifth Edit. ed.* Oxford Universit Press, Newyork.
- Fujioka, T., Yamamoto, M., Kashiwada, Y., Fujii, H., Mihashi, K., Ikeshiro, Y., Chen, I., Lee, K., 1998. Novel Cytotoxic Diterpenes From The Stem Of *D ysoxylum kuskusense*. *Tetrahedron Lett.* 8, 3479–3482.
- Gu, J., Qian, S.-Y., Cheng, G.-G., Li, Y., Liu, Y.-P., Luo, X.-D., 2013. Chemical components of *Dysoxylum densiflorum*. *Nat. Products Bioprosect.* 3, 66–69.
- Hamdani, B.E., Mahyudi, R., Hidayati, S., Hidayati, N., 2009. Beberapa Senyawa Hasil Isolasi dari Kulit Batang Tumbuhan Kedoya (*Dysoxylum gaudichaudianum*). *ILMU DASAR* 10, 236–244.
- He, K.A.N., Timmermann, B.N., Aladesanmit, A.J., Zeng, L., 1996. A biflavonoid from *Dysoxylum lenticellare gillespie*. *Tetrahedron*

- Lett.* 42, 1199–1201.
- Hisham, A., Ajitha Bai, M.D., JayaKumar, G., Nair, M.S., Fujimoto, Y., 2001. Triterpenoids from *Dysoxylum malabaricum*. *Phytochemistry* 56, 331–334.
- Huang, R., Harrison, L.J., Sim, K., 1999. *Dysoxylum cauliflorum*. *Tetrahedron Lett.* 40, 1607–1610.
- Ismail, I.S., Nagakura, Y., Hirasawa, Y., Hosoya, T., Lazim, M.I.M., Lajis, N.H., Morita, H., 2009. Acutaxylines A and B, two novel triterpenes from *Dysoxylum acutangulum*. *Tetrahedron Lett.* 50, 4830–4832.
- José, N., Domínguez, G. De, Domínguez, J.N., Rosenthal, P.J., 2006. Síntesis Y Actividad Antimalárica De Nuevas Isoflavonas. *Rev. Invest..* 60.
- Jung, H. jun, Lee, D.G., 2008. Synergistic Antibacterial Effect between silybin and N,N -dicyclohexylcarbodiimide in Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *J. Microbiol.* 46, 462–467.
- Kurimoto, S.I., Kashiwada, Y., Lee, K.H., Takaishi, Y., 2011. Triterpenes and a triterpene glucoside from *Dysoxylum cumingianum*. *Phytochemistry* 72, 2205–2211.
- Lakshmi, V., Pandey, K., Agarwal, S.K., 2009. Bioactivity of the compounds in genus *Dysoxylum*. *Acta Ecol. Sin.* 29, 30–44.
- Lakshmi, V., Pandey, K., Kapil, A., Singh, N., Samant, M., Dube, A., 2007. In vitro and in vivo leishmanicidal activity of *Dysoxylum binectariferum* and its fractions against *Leishmania donovani*. *Phytomedicine* 14, 36–42.
- Linus, P., 2007. *Second Protective Mechanism Discovered for Sulforaphane*. Institut Oregon Statet University.
- Liu, H., Heilmann, J., Rali, T., Sticher, O., 2001. New tirucallane-type triterpenes from *Dysoxylum variabile*. *J. Nat. Prod.* 64, 159–163.
- Li, X., Tong, S., Cheng, D., Li, Q., Yan, J., 2014. Coumarins from *Edgeworthia chrysantha*. *molecules* 19, 2042–2048.
- Mabberley, D.J., 2008. 14. *Dysoxylum* Blume, *Bijdr.* 172. 1825. *Fl.China* 11, 125–129.
- Mohamad, K., Martin, M.T., Litaudon, M., Gaspard, C., Sévenet, T., País, M., 1999. Tirucallane triterpenes from *Dysoxylum macranthum*. *Phytochemistry* 52, 1461–1468.

- Mohanakumara, P., Sreejayan, N., Priti, V., Ramesha, B.T., Ravikanth, G., Ganeshiah, K.N., Vasudeva, R., Mohan, J., Santhoshkumar, T.R., Mishra, P.D., Ram, V., Shaanker, R.U., 2010. *Dysoxylum binectariferum* Hook.f (Meliaceae), a rich source of rohitukine. *Fitoterapia* 81, 145–148.
- Munchberg, U., Anwar, A., Susanne, Mecklenburg, C.J., 2007. Polysulfides as Biologically Active Ingredients of Garlic.
- Najmuldeen, I.A., 2011. *Phytochemical Studies And The Bioactivities Of Three Meliaceae Species*. University Of Malaya Kuala Lumpur.
- Najmuldeen, I.A., Abdul Hadi, A.H., Awang, K., Mohamad, K., Ng, S.W., 2010. 5-Hydroxy-7-methoxy-2-methyl-4H-chromen-4-one from *Dysoxylum macrocarpum* (Meliaceae). *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* 66.
- National Cancer Institute, 2012. *What You Need To Know about reast Cancer*. pp. 11–29.
- Nishizawa, M., Inoue, A., Sastrapradja, S., Hayashi, Y., 1982. (+)-8-hydroxycalamennene: A Fish-Poison Principle of *Dysoxylum acutangulum* and *D. alliaceum* 2083–2085.
- Petruzzelli, G.J., 2000. The Biology of Tumor Invasion, Angiogenesis and Lymph Node Metastasis. *Kager* 60153, 178–185.
- Ragasa, C.Y., Ng, V.A.S., Reyes, M.M.D.L., Mandia, E.H., Oyong, G.G., Shen, C., 2014. Chemical constituents and cytotoxicity of the leaves of *Dysoxylum gaudichaudianum* (A. Juss.) Miq. *Der Pharma Chem.* 6, 182–187.
- Sai, V., Chaturvedula, P., Prakash, I., 2012. Isolation Of Stigmasterol And B -Sitosterol From The Dichloromethane Extract Of *Rubus Suavissimus* 1, 239–242.
- Struck, S., Schmidt, U., Gruening, B., Jaegar, I., Hossbach, J., Preinssner, R., 2008. Toxicity vs potency: elucidation of toxicity properties discriminating between toxins, drugs, and natural compounds. *Genome Inf.* 20, 231–242.
- Subarnas, A., Diantini, A., Rizky, A., Zuhrotun, A., Yamazaki, C., Nakazawa, M., Koyama, H., 2012. Antiproliferative activity of primates-consumed plants against MCF-7 human breast cancer cell lines. *J. Med. Res.* 1, 38–43
- Supratman, U., 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Widya

Padjadjaran, Bandung.

Suryanto, H., 2012. *Dysoxylum alliaceum blume* (pakan kupu-kupu). Balai Litbang Lingkungan. Hidup Makassar.

Susan G., K., 2016. Breast Cancer Overview What is breast cancer ? Am. cancer Soc.

Svetlana, E., John, R., Fruehauf, P., Kim, A.H., Stroup, R., Although, I., 1998. Levels Taxol of Multidrug Breast and Doxorubicin ' Resistance Cancer with in Vitro Expression to by Human Correlate Resistance 4, 389–398.

Ting, K.N., Othman, M., Telford, G., Clarke, G., Bradshaw, T.D., Khoo, T.J., Loh, H.S., Wiart, C., Pritchard, D., Fry, J.R., 2011. Antioxidant, Cytoprotective, Growth Inhibitory And Immunomodulatory Activities Of Extracts of *Dysoxylum cauliflorum hiern.*, a malaysian meliaceae. *J Med. Plant Res.* 5, 5867–5872.

Ting, T., & Zhi, N.A., 2012. Chemical Constituents from *Dysoxylum cauliflorum* l Meliaceae. *D. Nat. Prod. Res.* 24, 6–8.

Tobin, G., Kalupahana, R., Kulka, M., 2012. Plant Based Natural Products and Breast Cancer: Considering Multi-Faceted Disease Aspects, Past Successes, and Promising Future Interventions 30–40.

Vasala, K., 2008. *Matrix metalloproteinase MMP-2 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in bladder carcinoma.* OULU UNIVERSITY PRESS.

Wah, L.K., Abas, F., Cordell, G.A., Ito, H., Ismail, I.S., 2013. Steroids from *Dysoxylum grande (Meliaceae)* leaves. *Steroids* 78, 210–219.

Wink, M., Ashour, M.L., El-Readi, M.Z., 2012. Secondary Metabolites From Plants Inhibiting Abc Transporters And Reversing Resistance Of Cancer Cells And Microbes To Cytotoxic And Antimicrobial Agents. *Front. Microbiol.* 3, 1–15.

Xie, B.J., Yang, S.P., Yue, J.M., 2008. Terpenoids from *Dysoxylum densiflorum.* *Phytochemistry* 69, 2993–2997.

Xi-xin, H.E., Cui-xian, Z., Long-mei, Z., Xiao-ping, Y., 2010. Cytotoxic 9, 11-Secosterols from the Marine Soft Coral *Sinularia robusta.* *Chin. J. Nat. Med.* 8, 186–188.

- Xu, J., Ni, G., Yang, S., Yue, J., 2013. Dysoxylumasins A – F : Six New Limonoids from *Dysoxylum* 72–78.
- Yang, D., Cai, S., Zhao, Y., Liang, H., 2006. A Newalkaloid From *Dysoxylum binectariferum*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 6, 37–41.
- Zhou, J., Liu, M., Aneja, R., Chandra, R., Lage, H., Joshi, H.C., 2006. Reversal of P-glycoprotein – Mediated Multidrug Resistance in Cancer Cells by the c-Jun NH 2 -Terminal Kinase. *Res. Artic.* 445–453.

INDEKS

A

abnormal, 19
Aktivitas, 1, 20, 21, 56
alkaloid, 1, 7, 8, 9, 22
Analisis, 35, 40, 48, 52
asam, 16, 17, 18

D

D. alliaceum, 3, 5, 6, 8, 11, 23,
25, 26, 31, 55, 61, 64
daukosterol, 10
diisolasi, 1, 2, 3, 8, 9, 10, 11, 12,
13, 14, 15, 18, 23, 55
Dysoxylum, 1, 3, 4, 1, 2, 3, 5, 6,
7, 8, 9, 13, 19, 22, 23, 51, 56,
62, 63, 64, 65, 66, 85, 86, 87

E

Ekstrak, 1, 21, 23, 26, 56, 57,
61, 69

G

genus, 1, 3, 6, 7, 8, 22, 23, 51,
56, 63

K

kanker, 1, 2, 3, 5, 9, 10, 15, 19,
20, 21, 22, 23, 26, 31, 56, 61,
69

kanker payudara, 1, 2, 3, 5, 9,
10, 19, 20, 21, 22, 23, 26, 31,
56, 61, 69
Kanker payudara, 2, 19, 23
karsinoma, 19
kimia, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,
15, 16, 17, 18, 19, 25, 36, 37,
41, 50, 51, 53, 54, 55, 56
kromatografi, 26, 27, 28

M

metabolit sekunder, 1, 3, 5, 8,
22, 23, 25
multidrug resistance, 19

O

obat, 1, 7, 19, 21

P

pengujian, 1, 2, 10, 21, 23, 31,
56, 69
pertumbuhan, 19, 20

R

resistensi, 1, 3, 19, 21

S

sekunder, 3, 8, 23, 25, 34, 40

sel, 1, 2, 3, 9, 10, 12, 15, 19, 20,
21, 22, 23, 25, 26, 29, 31, 56,
61, 69

senyawa, 1, 2, 3, 8, 9, 10, 11,
13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22,
23, 25, 26, 27, 28, 31, 33, 34,
35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50,
51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59,
61, 69, 75, 79

senyawa,, 33

sitotoksisitas, 15, 29, 69

spesies, 1, 3, 6, 22, 23, 55

steroid, 1, 2, 8, 18, 22, 35, 36,
55, 61

struktur, 1, 10, 11, 12, 13, 14,
15, 16, 18, 22, 25, 37, 41, 48,
51, 54, 56

T

tirukallan, 1, 12

tumor, 7, 20, 69

U

uji, 25, 26, 28, 29, 57, 69

LAMPIRAN

Lampiran 1 Prosedur Uji Toksisitas Sel MCF-7

1. Prosedur Operasional Baku (POB) ini memberikan pedoman dalam pengujian sifat toksik suatu senyawa untuk mengetahui dosis LC_{50} senyawa tertentu terhadap suatu jenis sel.
2. POB ini berlaku untuk proses uji sitotoksisitas senyawa berupa fraksinasi, ekstrak, ataupun nano partikel terhadap suatu jenis sel normal maupun sel tumor dan atau kanker ganas.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang diperlukan:

1. Sel yang akan diujikan (Misal : Sel kanker payudara MCF7)
2. Ekstrak senyawa yang akan diujikan (Misal : Ekstrak kunyit)
3. Mikroplate 96 well steril
4. Elisa Reader
5. Inkubator 37°C, CO₂ 5%
6. Kit WST-8 Untuk MTT Assay

Tahapan Kegiatan dan Target

1. Lakukan panen sel dari flask yang sudah konvluen..
2. Hitung viabilitas sel hingga diperoleh jumlah sel yang hidup $5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$ sel/well.
3. Tanam kedalam mikroplate 96 well sebanyak 50 μ L untuk masing- masing well. Inkubasi dalam inkubator selama 24 jam.
4. Buat pengenceran konsentrasi untuk ekstrak yang akan diujikan.
5. Tambahkan masing-masing pengenceran ke dalam masing-masing well sebanyak 50 μ L. Inkubasi dalam inkubator selama 24 jam
6. Tambahkan 10 μ L kit WST-8 untuk MTT Assay kedalam masing-masing well. Inkubasi selama 3 jam.

7. Baca segera dengan menggunakan alat elisa reader.
8. Catat hasil, buat kurva kalibrasi dari absorban yang dihasilkan.

PROFIL PENULIS



Nama lengkap : Ois Nurcahyanti
Tanggal lahir : 21 Agustus 1991
Tempat lahir : Pelangkian, Kepahiang
Agama : Islam
Jenis kelamin : Perempuan
Status : Menikah
Kewarganegaraan : Indonesia
Tinggi badan : 160 cm
Berat badan : 65 kg

Kontak Pribadi dan Alamat

Alamat KTP:

Bumi Puspiptek Asri I/X.6 RT/RW 001/001 Pagedangan Tangerang
Banten

Nomor telepon:

+62 85381706668 (mobile)

Email:

oisnurcahyanti90@gmail.com

Pendidikan Formal

2010 – 2014 : S1 Pendidikan Kimia (Universitas Bengkulu) S.Pd

2014 – 2016 : S2 Ilmu Kimia (Universitas Padjadjaran) M.Si

Sertifikat Dan Penghargaan

2022 Pemakalah Penelitian

Rakernas AIPTLMI VII Yogyakarta, 11-13 Maret 2022.

2021 Presentator Oral terbaik

THE 14TH MULAWARMAN PHARMACEUTICAL CONFERENCE FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS MULAWARMAN-SAMARINDA, 10-12 Desember 2021.

2021 Pemakalah Penelitian

Seminar Nasional dan Diseminasi hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Binawan 2021 23 Desember 2021

2021 Speaker

Wastewater Management In Netherlands Vs Indonesia Vs Gen Z organized by Enviromental Engineering Binawan University, April 28th, 2021

2021 Panitia pelaksana

Renewable and Waste To Energy organized by Enviromental Engineering Binawan University June 25th, 2021

2021 Peserta

Aksi kolektif dan kolaboratif menuju sanitasi berkelanjutan dalam rangka peningkatan indeks pembangunan manusia sumatera, Institute teknologi sumatera, 26-27 Juli 2021.

2021 Panitia Pelaksana

Environmental Engineering Goes Around the World #1 Environmental Sanitation Why Does It matter?", Universitas Binawan, April 23rd, 2021

2020 Narasumber Webinar

"Kuliah sambil kerja, why not"
Teknik Lingkungan, Universitas Binawan Sabtu, 5 September 2020

- 2020 Moderator Webinar**
 “Mikroba dan Lingkungan”
 Teknik Lingkungan, Universitas Binawan
 Sabtu, 11agustus 2020
- 2020 Moderator webinar**
 “sehat fisik dan mental menghadapi pandemi Covid-19”
 Teknik Lingkungan, Universitas Binawan
 Sabtu, 25 agustus 2020
- 2020 Moderator webinar**
 "tips & trik melanjutkan kuliah di luar negeri secara gratis"
 Teknik lingkungan, universitas Binawan
 Sabtu, 25 Juli 2020
- 2020 Moderator**
 "Menjadi kreatif dan hemat energi selama #dirumahaja
 Teknik lingkungan, universitas Binawan
 Sabtu, 13 Juni 2020
- 2019 Panitia pelaksanaan**
 Environmental Young summit
 Universitas Binawan
 Mei 2019
- 2017 Best Talent**
 Welcoming alumni LPDP 2017 LPDP RI 6 februari 2017
- 2017 Peserta**
 Indonesian Changesmaker forum LPDP RI
 4 Februari 2017
- 2018 Sertifikat Pekerti**
 UNJ
- 2015 Peserta**
 The 4th Indonesian Student Conference On Science And
 Mathematics (ISCSM-2015)
 FMIPA UNPAD
- 2015 Pemakalah**
 “*Tarakseron Dan 18-Epi-Tarakserol,Dua Triterpenoid
 Pentasiklik Dari Kulit Batang Kapi Nango (Dysoxylum
 arborescens)*” Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XXII

2014 Peserta

The 3rd Internatonal Seminar On Chemistry 2014
“Innovations And Advances In Chemistry For The 21st
Century Challenges” FMIPA UNPAD

Jurnal dan Pustaka Ilmiah

Google Schoolar :

<https://scholar.google.com/citations?hl=en&user=b3heGBsAAAJ>

- 2021** Therapeutic Effect of Red Spinach (*Amaranthus tricolor L.*) Extract on Pancreatic MDA Levels Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed to MLD-STZ, Journal of Biomedicine and Translational Research
- 2021** Hubungan Kadar Hemoglobin Dengan Kadar Kreatinin Pada Pasien Hemodialis Di Rumah Sakit Umum Zahirah Jagakarsa
Jurnal kesehatan tambusai
- 2018** Secondary Metabolites from Steambarks of *Dysoxylum alliaceum*, Research Journal of Chemistry and Environment, Vol 22, August 2018, ISSN 0972-0626
- 2014** Senyawa Steroid Dari Kulit Batang *Dysoxylum Alliaceum* Dan Aktivitasnya Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7, *Chimica et Natura Acta Vol.3 No. 2*, ISBN 2355-0864
- 2015** Tarakseron dan 18-EPI-Tarakserol, dua triterpenoid pentasiklik dari kulit batang kapi nago (*Dysoxylum arborescens*) Symposium Nasional Kimia Bahan Alam XIII(SimnasKBA2015)
- 2014** Uji aktivitas antimalaria ekstrak daun baru Laut (*Thespesia populnea (L.) Soland Ex Correa*) PADA *Mus musculus* terinfeksi *Plasmodium berghei* DAN karakterisasi hasil isolasinya, *Repository UNIB*

Pekerjaan

2017-2019

PT Bima Maju Sejahtera

Project Manager

2018-sekarang

Dosen Tetap

Program studi Teknologi Laboratorium Medis

Universitas Binawan

Pengalaman Pekerjaan

2019

Hibah Penelitian Dosen Pemula

Pengembangan e-modul interaktif berbasis schoology

Pada materi fisika dasar di Universitas Binawan

Jabatan

Anggota tim

2020

Hibah Penelitian Dosen Pemula

Isolasi Senyawa Steroid Dari Kulit Batang *Dysoxylum*

Alliaceum (Meliaceae) Serta Aktivasnya Terhadap Sel

Murine Leukemia P-388

Jabatan

Ketua tim

2020

Hibah Penelitian Dosen Pemula

Pengaruh terapi ekstrak daun bayam merah

(*amaranthus tricolor* l.) Terhadap kadar mda dan

gambaran histologi pankreas tikus terpapar mld-stz

Jabatan

Anggota Tim