



ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF DARI KULIT CABANG TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

Tati Suhartati *
Universitas Lampung

Vicka Andini
Universitas Lampung

Yandri A.S
Universitas Lampung

ABSTRACT: The purpose of this study was to isolate and identify bioactive flavonoid compounds contained in the polar fraction of the branch skin of pudau plants (*Artocarpus kemando* Miq.) obtain from Karang Anyar, Klaten, Penengahan, South Lampung. The isolation of compounds was extracted using maceration method with methanol solvent, then followed by purification using vacuum liquid chromatography and column chromatography. The molecular structure of flavonoids are determined including physic parameters, and spectroscopy by using UV-Vis and IR. Pure compounds from isolation are yellow crystals that it has a melting point of 255-258°C. Based on the results of spectroscopic analysis and comparing with standard compounds, it was shown that the isolated compound is artonin E. The purification step obtained this compound as much as 106.8 mg succesfully. This compound showed strong anticancer activity with IC₅₀ (1.56 µg / mL) in the cytotoxicity test using P-388 leukemia cells, also showed antibacterial activity with a moderate category against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*.

KEYWORDS: *Artocarpus kemando* Miq., Artonin E, P-388 leukemia cell, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*.

* Corresponding Author: Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145 Indonesia; Email: tati.suhartati@fmipa.unila.ac.id

PENDAHULUAN

Artocarpus kemando banyak ditemukan di hutan Malaysia dan Indonesia (di Sumatera dan Kalimantan). Isolasi senyawa kimia dari *A. kemando* sudah dimulai sejak tahun 2001, dan telah diisolasi norartokarpetin, artokarpin, sikloartokarpin, siklomulberokromen, caplasin, sikloartobilosanton, dan artoindonesiani D (Suhartati et al., 2001), bahan tumbuhan diambil dari Kebun Raya, Bogor. Pada tahun 2011, senyawa aurantiamida benzoat, sikloartobilosanton, dihidroartoindonesianin C, dan 6,7-dimetoksikumarin (Hashim et al., 2011) diisolasi dari *A. kemando* yang tumbuh di Serawak, Malaysia, sedangkan Ee et al. (2011) pada tahun dan asal tumbuhan yang sama mengisolasi artomandin, artoindonesianin C, artonol B, artochamin A, dan β -sitosterol. Dari berbagai senyawa yang telah diisolasi ini banyak yang merupakan senyawa flavonoid yang terprenilasi dan pada uji sitotoksisitas terhadap sel kanker menunjukkan aktivitas yang baik, sehingga *A. kemando* dikategorikan sebagai salah satu sumber senyawa antikanker (Seo et al., 2003). Banyaknya variasi senyawa flavonoid dengan aktivitas yang menarik yang berasal dari spesies tumbuhan yang sama, tetapi berlainan tempat tumbuh, memungkinkan menghasilkan senyawa dan aktivitas yang berbeda.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi senyawa flavonoid dari kulit cabang tumbuhan Puda (Artocarpus kemando Miq.) dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan, Provinsi Lampung, mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi, menguji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan aktivitas antikanker terhadap sel leukemia P-388.

METODE PELAKSANAAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit cabang tumbuhan puda (*Artocarpus kemando* Miq.) yang diperoleh dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan pada tanggal 28 Mei 2016. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi berkualitas teknis yang telah didestilasi sedangkan untuk analisis spektrofotometer berkualitas pro-analisis (p.a). Bahan kimia yang digunakan meliputi metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C₆H₁₄), etil asetat (EtOAc), aseton (C₂H₆O), serium sulfat (Ce(SO₄)₂) 1,5% dalam asam sulfat (H₂SO₄) 15%, akuades, diklorometana (CH₂Cl₂), benzena (C₆H₆), silika gel Merck G 60, silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk KCV dan KK, plat KLT silika gel Merck kiesegal 60 F254 0,25 mml AlCl₃, HCl pekat, NaOAc, NaOH, dan H₃BO₃; Bahan-bahan uji aktivitas antibakteri meliputi akuades, media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *chloramphenicol*, dan *amoxycillin*.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum (*rotary evaporator*), peralatan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vacum (KCV), Kromatografi Kolom (KK), lampu UV, pengukur titik leleh MP-10 Stuart, pipet kapiler, neraca analitik, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), jarum ose, cawan petri, inkubator, Bunsen, mikropipet, kertas Whatman, spektrofotometer FT-IR *Prestige 21 Shimadzu*, spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis) *Cary-100 UV-Vis Agilent Technologies*, plate *Corning disposable*, sentrifuga (*centrifuge*), dan *microplate reader* (Tohso MPR-A4i).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi : Sebanyak 2,62 kg kulit cabang tumbuhan *A. kemando* Miq. yang sudah dikeringkan dan dihaluskan dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama

24 jam dengan 3 kali pengulangan. Hasil maserasi metanol kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 50°C dengan laju putaran 120 rpm. Hasil pemekatan diperoleh ekstrak kasar sebanyak 111,54 gram, yang selanjutnya difraksinasi menggunakan teknik Kromatografi Cair Vakum (KCV) menggunakan adsorben Silika gel dan eluen *n*-heksana-etilasetat yang ditingkatkan kepolarannya. Hasil fraksinasi diperoleh lima fraksi utama A-E, fraksi A diperoleh sebanyak 0,016 gram, fraksi B sebanyak 10,92 gram, C sebanyak 16,04 gram, fraksi D sebanyak 8,4 gram, dan fraksi E sebanyak 5,03 gram. Fraksi C sebanyak 16,044 gram dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan teknik KCV, menghasilkan 16 fraksi, dari fraksi 12 dihasilkan kristal berwarna kuning (kristal 2A) sebanyak 172,2 mg. Kemudian kristal 2A dimurnikan lebih lanjut menggunakan metode KK, dengan adsorben silika gel, dan eluen aseton/*n*-heksana 3:7. Endapan yang terbentuk di-KK lebih lanjut menggunakan eluen etil asetat/*n*-heksana 4:6, diperoleh kristal kuning 2AVk sebanyak 34,2 mg. Filtrat dari Kristal 2A, selanjutnya dimurnikan dengan cara KK menggunakan eluen etil asetat/*n*-heksana 3:7, diperoleh kristal kuning (2Fa) 72,6 gram. Kristal 2AVk dan 2Fa memiliki R_f yang sama pada kromatogram KLT menggunakan tiga sistem eluen, mempunyai titik leleh 255-258°C, penggabungan kedua kristal diperoleh berat 106,8 mg (senyawa 1).

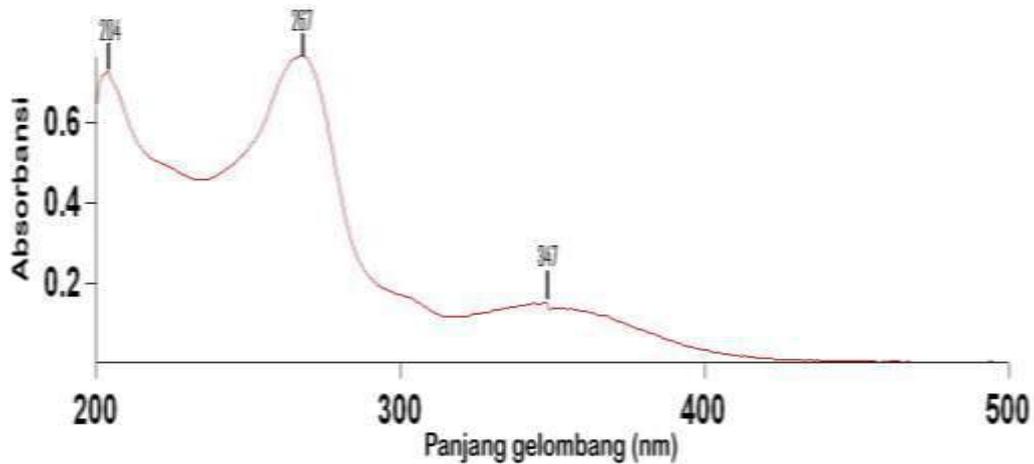
Analisis : Senyawa (1) dianalisis menggunakan spektroskopi UV-Vis dan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), dan di-KLT bersama senyawa standard artonin E menggunakan tiga sistem eluen.

Uji aktivitas : Senyawa (1) selanjutnya diuji bioaktivitasnya terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* menggunakan metode difusi kertas cakram menurut Bauer *et al* (1966), dan uji antikanker menggunakan sel leukemia P-388 menggunakan metode Alley *et al.*, 1988.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Spektrofotometri ultraviolet-tampak

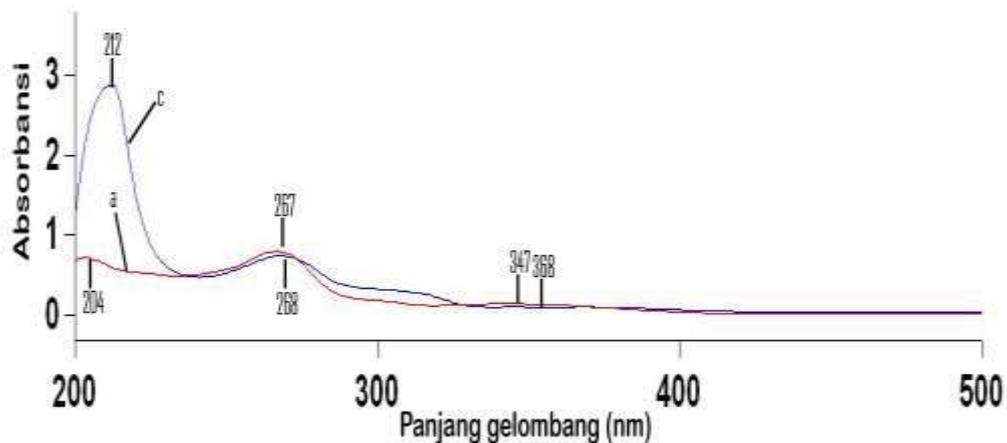
Senyawa (1) memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} 204 nm, 267 nm, dan 347 nm dalam pelarut metanol (Gambar 1). Data spektrum UV menunjukkan karakteristik untuk senyawa flavon. Serapan maksimum di daerah ultraviolet pada λ_{maks} 347 nm merupakan spektrum khas flavon pada pita I yang menunjukkan karakteristik cincin B dan C struktur flavonoid. Serapan maksimum pada λ_{maks} 267 nm merupakan spektrum khas flavon pada pita II yang menunjukkan karakteristik cincin A.



Gambar 1. Spektrum UV senyawa (1) dalam MeOH.

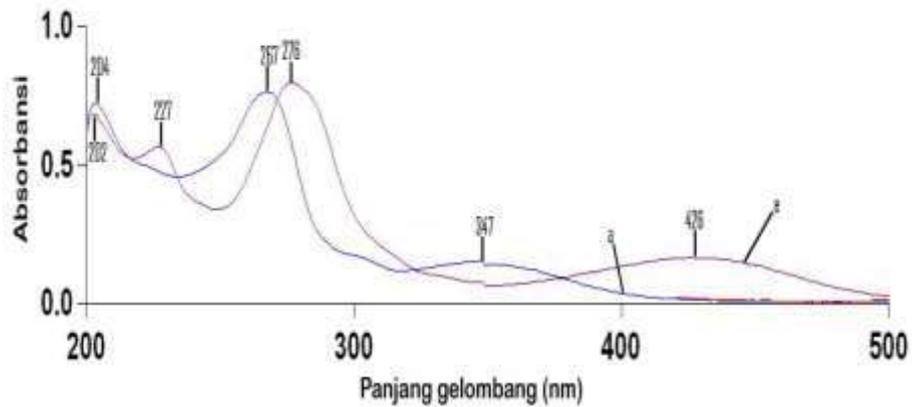
Pada penambahan pereaksi geser NaOH, terjadi pergeseran pada pita I dari λ_{maks} 347 nm menjadi 368 nm atau terjadi penambahan sebesar 21 nm. Pergeseran batokromik pita I terhadap spektrum metanol pada penambahan pereaksi geser NaOH menunjukkan adanya gugus hidroksil pada posisi C₄ (Gambar 2).

386



Gambar 2. Spektrum UV senyawa (1) dalam (a) MeOH, (b) MeOH + NaOH.

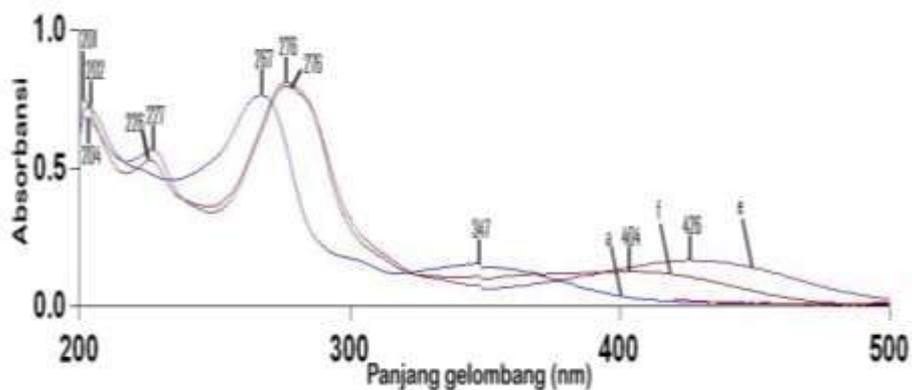
Pada penambahan pereaksi geser NaOAc dan H₃BO₃ tidak menunjukkan pergeseran, senyawa tidak terdapat gugus hidroksil bebas atau gugus hidroksil pada posisi C₇. Pada penambahan pereaksi geser AlCl₃ memberikan pergeseran batokromik terhadap pita I sekitar 79 nm (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan pada senyawa hasil isolasi terdapat gugus hidroksil pada posisi C₅ yang berdekatan dengan gugus karbonil.



Gambar 3. Spektrum UV senyawa (1) dalam (a) MeOH, (e) MeOH + AlCl₃.

Adanya gugus *o*-dihidroksil pada cincin B ditunjukkan oleh adanya pergeseran panjang gelombang yang menurun pada penambahan HCl (AlCl₃/ HCl) dengan intensitas yang rendah. Pada penambahan HCl (AlCl₃/ HCl), menunjukkan adanya perubahan puncak serapan pada pita I dengan pergeseran panjang gelombang yang menurun sebesar 22 nm dibandingkan dengan pergeseran panjang gelombang setelah penambahan AlCl₃ (Gambar 4). Hal ini mengindikasikan pada senyawa hasil isolasi terdapat gugus *o*-dihidroksi pada cincin B. Pada pita II terdapat pergeseran sebesar 10 nm yang mengindikasikan bahwa terdapat gugus hidroksil pada C₅ (Markham,1988). Bentuk spektrum senyawa (1) mirip dengan artonin E, sehingga senyawa (1) di-KLT dengan menggunakan tiga sistem eluen, dan diperoleh R_f yang sama. Perbandingan data spektrum UV-Vis senyawa artonin E standar dan senyawa (1) dari kulit cabang tumbuhan puda ditunjukkan pada Tabel 1.

387



Gambar 4. Spektrum UV senyawa (1) dalam (a) MeOH, (e) MeOH + AlCl₃, (f) MeOH + AlCl₃ + HCl.

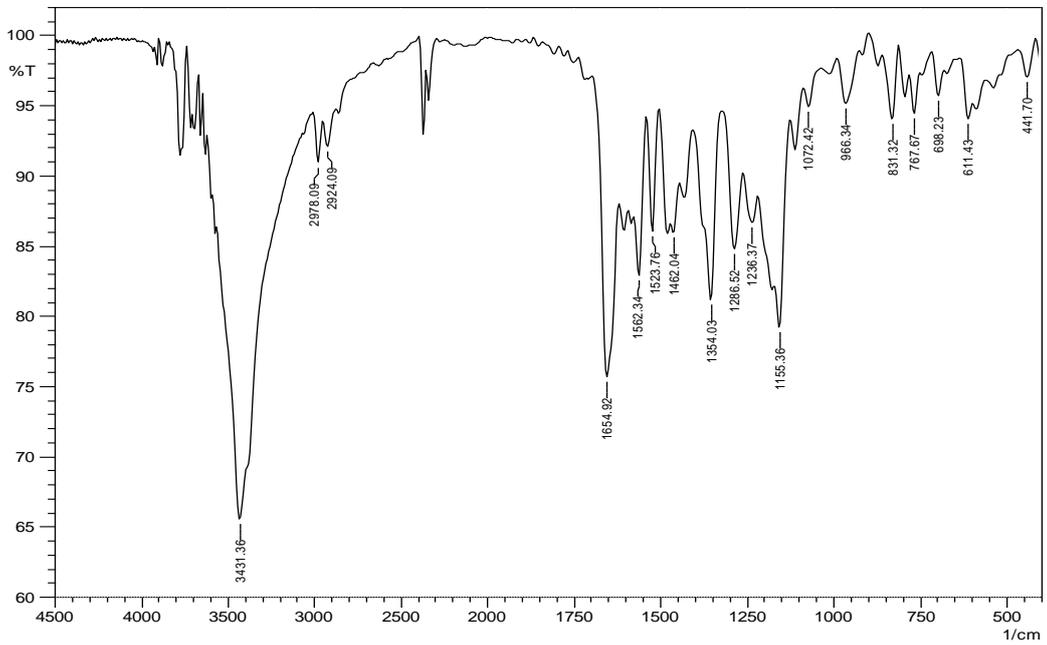
Tabel 1. Perbandingan data spektrum UV-Vis senyawa artonin E standar (Hernawan, 2008), (Hasanah, 2016) dan senyawa (1) kulit cabang tumbuhan pudaau.

UV, λ_{maks} nm (log ϵ)		
Artonin E (Hernawan, 2008)	Artonin E (Hasanah, 2016)	Senyawa (1)
MeOH 203 (3,61) 268 (3,62) 347 (2,96)	MeOH 204 (4,71) 267 (4,73) 347 (4,02)	MeOH 204 (4,71) 267 (4,73) 347 (4,02)
MeOH+ NaOH	MeOH+ NaOH 212 268	MeOH+ NaOH 212 268 368
MeOH+ NaOAc 203 268 347	MeOH+ NaOAc 203 267 347	MeOH+ NaOAc 204 266 346
MeOH+ NaOAc+ H ₃ BO ₃	MeOH+ NaOAc+ H ₃ BO ₃ 203 266 347	MeOH+ NaOAc+ H ₃ BO ₃ 203 266 348
MeOH+ AlCl ₃ 203 226 276 425	MeOH+ AlCl ₃ 204 226 276 414	MeOH+ AlCl ₃ 202 227 276 426
MeOH+ AlCl ₃ + HCl 203 226 276 347	MeOH+ AlCl ₃ + HCl 203 226 268 347	MeOH+ AlCl ₃ + HCl 201 226 276 404

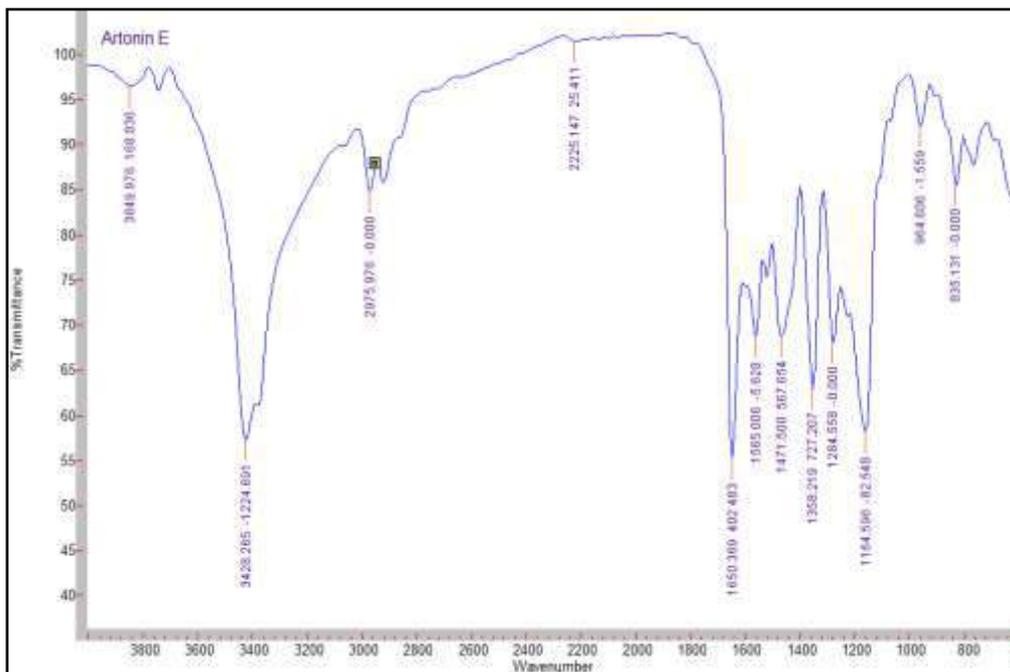
Analisis Spektroskopi Inframerah

Dalam spektrum inframerah senyawa (1) terdapat pita melebar pada daerah bilangan gelombang 3431 cm^{-1} yang berasal dari vibrasi ulur dari gugus hidroksil. Puncak serapan pada daerah 2978 cm^{-1} dan 2924 cm^{-1} merupakan petunjuk adanya gugus C-H alifatik. Serapan pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O) yang berkonjugasi dengan C=C. Serapan dalam daerah

1562 - 1462 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin aromatik (Markham, 1988). Spektrum IR senyawa (1) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum IR senyawa (1)



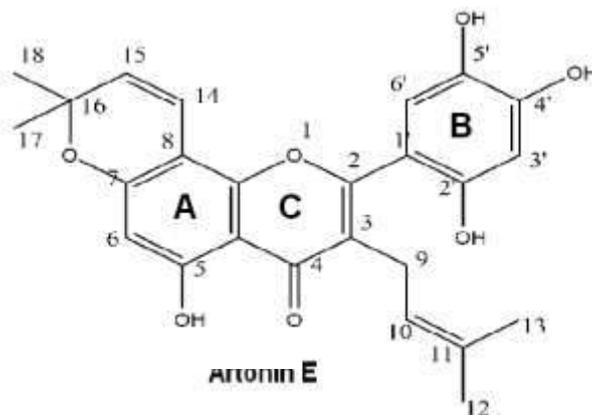
Gambar 6. Spektrum IR senyawa artonin E (Hasanah, 2016).

Spektrum IR senyawa (1) menunjukkan adanya kemiripan dengan spektrum senyawa artonin E standar. Perbandingan spektrum IR senyawa (1) dengan spektrum artonin E standar dapat dilihat pada Gambar 6. Dari perbandingan serapan pada bilangan gelombang spektrum IR senyawa (1) dan bentuk spektrum, menunjukkan bahwa senyawa (1) memiliki gugus fungsi yang sama dengan artonin E. Perbandingan spektrum yang dihasilkan antara senyawa artonin E standar dengan senyawa (1) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan data IR senyawa artonin E standar (A) (Hasanah, 2016), B (Hernawan, 2008), dan senyawa (1) (C).

IR (KBr) ν (cm^{-1})		
A	B	C
3428	3433	3431
2975	2982	2978
2225	2913	2924
1650	1661	1655
1565	1561	1562
1471	1481	1462
1358	1356	1354
1284	1291	1287
1164	1179	1155
964	969	966
835	837	831

Berdasarkan perbandingan kromatogram KLT, spektrum IR, dan spektrum UV-Vis dari senyawa (1) dengan senyawa standar, sehingga senyawa (1) merupakan senyawa artonin E dengan struktur yang dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur senyawa artonin E (Hano et al., 1990)

Uji Bioaktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *E. coli*

Senyawa (1) diuji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis* senyawa (1) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis* dari senyawa (1)

Ukuran zona hambat				
Konsentrasi (+)	kontrol	0,05 g/disk	0,10 mg/disk	0,15 mg/disk
Konsentrasi (1)	senyawa (1)	0,3 mg/disk	0,4 mg/disk	0,5 mg/disk
Kontrol (+)		23 mm	26 mm	25 mm
Kontrol (-)		-	-	-
Senyawa (1)		8 mm	12 mm	8 mm

Uji aktivitas antibakteri senyawa (1) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang terhadap *B. subtilis* pada konsentrasi 0,3 mg/disk; 0,4 mg/disk; 0,5 mg/disk ditunjukkan dengan ukuran zona hambat. Zona hambat senyawa pada konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk sebesar 8 mm, sedangkan pada konsentrasi 0,4 mg/disk sebesar 12 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* senyawa (1) dapat dilihat pada Tabel 4.

391

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dari senyawa (1)

Ukuran zona hambat				
Konsentrasi (+)	kontrol	0,05 mg/disk	0,10 mg/disk	0,15 g/disk
Konsentrasi (1)	senyawa (1)	0,3 mg/disk	0,4 mg/disk	0,7 mg/disk
Kontrol (+)		22 mm	23 mm	27 mm
Kontrol (-)		-	-	-
Senyawa (1)		8 mm	8 mm	9 mm

Uji aktivitas antibakteri senyawa (1) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang terhadap *E. coli* pada konsentrasi 0,3 mg/disk; 0,4 mg/disk, dan 0,5 mg/disk. Zona hambat senyawa pada konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,4 mg/disk sebesar 8 mm, sedangkan pada konsentrasi 0,5 mg/disk sebesar 9 mm. Dari kedua uji aktivitas antibakteri ini menunjukkan bahwa senyawa (1) memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang baik terhadap *B. subtilis* maupun *E. coli*.

Senyawa antibakteri merupakan senyawa yang memiliki kemampuan mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Sudrajat dkk., 2012). Flavonoid menyebabkan kerusakan membran sel bakteri, sehingga sintesis makromolekul bakteri terhambat. Flavonoid menjadi salah satu senyawa yang menjanjikan untuk pengembangan obat lebih lanjut karena potensinya sebagai antimikroba yang signifikan (Dzoyem *et al.*, 2013). Aktivitas biologis dari flavonoid terprenilasi dihubungkan dengan keberadaan gugus prenil. Gugus prenil dari senyawa (1) dapat meningkatkan lipofilisitas dan permeabilitas membran dari senyawa (Sasaki *et al.*, 2012).

Uji Aktivitas Antikanker

Hasil analisis data diperoleh nilai IC_{50} dari senyawa (1) terhadap sel kanker leukemia P-388. Hasilnya menunjukkan bahwa senyawa (1) memiliki efek sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} sebesar 1,56 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1,56 $\mu\text{g/mL}$ senyawa (1) mampu menghambat pertumbuhan sel kanker leukemia P-388 sebanyak 50%.

Senyawa murni yang dikategorikan sebagai senyawa aktif antikanker secara *in vitro* jika senyawa tersebut memiliki nilai $IC_{50} < 2 \mu\text{g/mL}$ (sangat aktif), $IC_{50} 2-4 \mu\text{g/mL}$ (aktif), dan $IC_{50} > 4 \mu\text{g/mL}$ (tidak aktif) (Alley *et al.*, 1988). Sehingga uji aktivitas antikanker senyawa (1) dapat dikategorikan memiliki aktivitas antikanker sangat aktif terhadap sel leukemia P-388.

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut: telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa murni flavonoid yang dikenal dengan nama artonin E dari fraksi polar kulit cabang tumbuhan pudau (*Artocarpus kemandu* Miq.) sebanyak 106,8 mg dan memiliki sifat fisik berupa kristal berwarna kuning dengan titik leleh 255-258°C, menunjukkan aktivitas antikanker yang sangat aktif terhadap sel leukemia P388 dengan nilai IC_{50} 1,56 $\mu\text{g/mL}$. Senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* dengan kategori sedang pada konsentrasi 0,3 mg/disk.

REFERENSI

Alley, M.C., D.A. Scudiero, A. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker, and M.R. Boyd. 1988. Feasibility of drug screening with panels of man tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Research*. **48**: 589-601.

- Bauer, A.W., W.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. **45**(4): 493-496.
- Dzoyem, J.P., H. Hamamoto, B. Ngameni, B.T. Ngadjui, dan K. Sekimizu. 2013. Antimicrobial action mechanism of flavonoids from *Dorstenia* species. *Drug Discoveries & Therapeutics*. **7**(2): 66-72.
- Ee, G.C.L., S. H. Teo, M. Rahmani, C.K. Lim, Y. M. Lim, and R. Go. 2011. Artomandin, a new xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Natural Products Research*. **25**(10): 995-1003.
- Hano, Y., Y. Yamagami, M. Kobayashi, R. Isohata, T. Nomura. 1990. Artonin E and F, two new prenylflavones from the bark of *Artocarpus communis* Forst. *Heterocycles*. **31**(5): 877-882.
- Hasanah, S.I. 2016. Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi serta Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur Senyawa artonin E dari Fraksi Polar Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 52-54.
- Hashim, N. M., M. Rahmani, S. S. Shamaun, G. C. L. Ee, M. A. Sukari, A. M. Ali, and R. Go. 2011. Dipeptide and xanthenes from *Artocarpus kemando* Miq. *Journal of Medicinal Plant Research*. **5**(17): 4224-4230.
- Hernawan. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari kulit batang tumbuhan kenangan *Artocarpus rigida* Bl. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 48-53.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 39-53.
- Sasaki, H., Y. Kashiwada, H. Shibata, and Y. Takaishi. 2012. Prenylated flavonoids from *Desmodium caudatum* and evaluation of their anti-MRSA activity. *Phytochemistry*. **82**: 136-142.
- Seo, E.K., D. Lee, Y.G.Shin, H.B. Chai, H.A. Navarro, L.B. Kardono, I. Rahman, G. A. Cordell, N. R. Farnsworth, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, M. C. Wani, and M.E. Wall. 2003. Bioactive prenylated flavonoids from the stem bark of *Artocarpus kemando*. *Archives Pharmacal Research*. **26**(2): 124-127.

- Sudrajat, Sadani, dan Sudiasusti. 2012. Analisis fitokimia senyawa metabolit sekunder ekstrak kasar etanol daun meranti merah (*Shorea leprosula* Miq.) dan sifat antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. **1**(4): 307-315.
- Suhartati, T. 2001. Senyawa Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia. (Disertasi). ITB. Bandung. 41-43.