

SYARAT KHUSUS TAMBAHAN : HIBAH PENELITIAN

PENELITIAN HIBAH BERSAING (PENELITIAN PRODUK TERAPAN)

Judul : Potensi Daun *Macaranga hosei* King ex Hook F. sebagai Obat Kanker Serviks
Ketua Peneliti : Dr. Eva Marliana, S.Si., M.Si.
Pelaksanaan : 2 Tahun (2016-2017)

Dokumen :

1. Surat pernyataan Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Mulawarman.
2. Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing (Tahun I)
3. Kontrak Penelitian Produk Terapan (Tahun II)
4. Laporan Penelitian (Tahun I)
5. Laporan Penelitian (Tahun II)
6. Sertifikat **Penyaji** Seminar Hasil Riset Terapan yang dilaksanakan Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kemenristekdikti. (Diselenggarakan di Makassar pada tanggal 29-30 November 2017).
7. Sertifikat **Poster Terbaik** dalam Seminar Hasil Riset Terapan yang dilaksanakan Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kemenristekdikti. (Diselenggarakan di Makassar pada tanggal 29-30 November 2017).



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS,
DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

Alamat : Jl. Krayan No. 1 Gedung A8, Kampus Gunung Kelua, Samarinda 75123

Laman : <http://lp2m.unmul.ac.id> Surel: lp2m@unmul.ac.id

**Surat Pernyataan
No. 471/UN17.L1/TU/2025**

Yang bertanda tangan di bawah, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Mulawarman :

Nama : Prof. Widi Sunaryo, S.P., M.Si., Ph.D
NIP : 197304021999031002
NIDN/ NIDK/ NUPTK : 0002047306
Satuan Ikatan Kerja : Dosen Tetap
Pangkat/ Gol Ruang TMT : Guru Besar/ IVa/ Oktober 2023
Jabatan, TMT : Ketua LP2M Unmul/ 2022

Memberikan pernyataan kepada :

Nama : Dr. Eva Marliana, S.Si., M.Si
NIP : 197503022000122001
NIDN/ NIDK/ NUPTK : 0002037501
Satuan Ikatan Kerja : Dosen Tetap
Tempat Tanggal Lahir : Padang, 02 Maret 1975
Pangkat/ Gol. Ruang, TMT : Pembina Utama Muda/ IVc/ 01 Juni 2024
TMT : Lektor Kepala, 01 April 2010
Pendidikan Tertinggi : S3
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jurusan/ Program Studi : Kimia/ S1 Kimia

Bahwa yang bersangkutan di atas adalah benar melaksanakan penelitian pada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Mulawarman, bertindak sebagai Ketua Peneliti/ Anggota Peneliti dan dibiayai oleh :

1. Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Dirjen Penguatan Riset dan Pengembangan Kemenristek, Teknologi dan Pendidikan Tinggi , sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor : 133/SP2H/LT/DRPM/III/2016, tanggal 10 Maret 2016. Skema Penelitian : Hibah Penelitian Hibah Bersaing Baru Tahun Anggaran 2016 dengan judul : “Potensi Daun Macaranga Hosei King ex Hook.F. Sebagai Obat Kanker Serviks”. Besar dana Penelitian : Rp. 50.000.000,- (Lima Puluh Juta Rupiah). Laporan Penelitian terdokumentasi dengan baik di LP2M Universitas Mulawarman.

2. Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Dirjen Penguatan Riset dan Pengembangan Kemenristek, Teknologi dan Pendidikan Tinggi , sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor : 361/UN17.41/KL/2017, tanggal 10 April 2017. Skema Penelitian : Produk Terapan Tahun Anggaran 2017 dengan judul : “Potensi Daun Macaranga Hosei King ex Hook.F. Sebagai Obat Kanker Serviks”. Besar dana Penelitian : Rp. 70.000.000,- (Tujuh Puluh Juta Rupiah). Laporan Penelitian terdokumentasi dengan baik di LP2M Universitas Mulawarman.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dan diberikan untuk memenuhi syarat pengusulan jabatan Fungsional Guru Besar yang bersangkutan.

Samarinda, 15 Mei 2025
Ketua LP2M Unmul,


Prof. Widi Sunaryo, S.P., M.Si., Ph.D
NIP. 197304021999031002



**SURAT PENUGASAN PELAKSANAAN KEGIATAN
PENELITIAN HIBAH BERSAING BARU
TAHUN ANGGARAN 2016**

Nomor : 163 /UN17.16/LT/2016
Tanggal 16 Maret 2016

Dalam rangka pelaksanaan kegiatan penelitian tahun 2016, saya menugaskan

Nama : Eva Marlana, SE., M.Si
NIP : 19750302 200012 2 001
Jabatan : Dosen Fak. MIPA / Ketua Tim Peneliti
Alamat : Jl. Barong Tongkok Kampus Unmul Gn. Kelua Samarinda

Untuk melaksanakan kegiatan Penelitian "Potensi Daun Macaranga Hoesi King Ex Hook.F. Sebagai Obat Kanker Serviks".

A. Dasar Penugasan :

- (1) Undang-Undang Republik Indonesia No. 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional;
- (2) Undang-Undang Republik Indonesia No. 17 Tahun 2003, tentang Keuangan Negara;
- (3) Undang-Undang Republik Indonesia No. 01 Tahun 2004, tentang Perbendaharaan Negara;
- (4) Undang-Undang Republik Indonesia No. 15 Tahun 2004, tentang Pemeriksaan dan Tanggung Jawab Keuangan Negara;
- (5) Undang-Undang Republik Indonesia No. 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi;
- (6) Peraturan Presiden No. 47 Tahun 2009, tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara;
- (7) Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia No. 1 tahun 2012 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan;
- (8) Keputusan Direktur Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat No. 0100NE5.1/PE/2016 tentang Penerima Hibah Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat di Perguruan Tinggi Tahun 2016 Batch I;
- (9) Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Penelitian Pengabdian kepada Masyarakat Nomor : DIPA-023.04.1.873453/2016, tanggal 14 Nopember 2015 DIPA Revisi 01 tanggal 03 Maret 2016.;
- (10) Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Hibah Penelitian Bagi Dosen Perguruan Tinggi Batch I Universitas Mulawarman Tahun Anggaran 2016 No. 140SP2HPL/DiLitabmas/II/2016.

B. Lingkup Kegiatan dan jangka waktu

- (1) Melakukan Kegiatan Penelitian Potensi Daun Macaranga Hosel King Ex Hook F. Sebagai Obat Kanker Serviks
- (2) Peneliti menyerahkan Laporan Kemajuan sebanyak 3 (tiga) eksemplar dan SPJ Keuangan 70% sebanyak 4 (empat) eksemplar kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Mulawarman selambat-lambatnya tanggal 31 Juli 2016 serta mengunggahnya ke Simlitabmas.
- (3) Draft Laporan Akhir harus disampaikan kepada Lembaga Penelitian Universitas Mulawarman selambat-lambatnya tanggal 20 Oktober 2016 sebanyak 3 (tiga) eksemplar
- (4) Tim Peneliti harus melakukan seminar hasil penelitian yang dikoordinasi oleh Lembaga Penelitian Universitas Mulawarman pada tanggal 28 - 29 Oktober 2016 dan menyerahkan softcopy bahan presentasi berupa power point sebelum pelaksanaan seminar
- (5) Peneliti harus menyerahkan kepada Lembaga Penelitian berupa:
 - a. Laporan Akhir Penelitian yang sudah disempurnakan sebanyak 5 (lima) eksemplar
 - b. Poster ukuran 70 x 70 cm sebanyak 2 (dua) buah
 - c. Template profil penelitian sebanyak 2 (dua) eksemplar
 - d. Artikel bahasa Indonesia dan bahasa Inggris masing-masing 2 (dua) eksemplar
 - e. CD sebanyak 2 (dua) buah yang memuat point a – d.selambat-lambatnya tanggal 7 Nopember 2016 dan mengunggahnya ke Simlitabmas.
- (6) Bukti pertanggungjawaban keuangan 30% sebanyak 4 (empat) eksemplar harus diserahkan kepada Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Mulawarman Universitas Mulawarman selambat-lambatnya tanggal 10 Nopember 2016.
- (7) Laporan hasil harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
 1. Bentuk/ukuran kertas A4
 2. Warna Cover Orange
 3. Di Bawah bagian kulit di tulis :

Diblayal oleh:

Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Program Penelitian
Nomor: 133/SP2H/ILT/DRPM/III/2016, tanggal 10 Maret 2016

C. Anggaran Penelitian

- (1) Pembiayaan Kegiatan Penelitian Potensi Daun Macaranga Hosel King Ex Hook F. Sebagai Obat Kanker Serviks dibebankan kepada DIPA Direktorat Penelitian Pengabdian kepada Masyarakat Nomor : DIPA-023.04.1.673453/2016, tanggal 14 Nopember 2014 DIPA Revisi 01 tanggal 03 Maret 2016 dengan alokasi biaya sebesar Rp. 50.000.000,- (Lima Puluh Juta Rupiah)
- (2) Pengelolaan dana penelitian dilakukan secara swakelola oleh peneliti dan seluruh penggunaan dana penelitian dipertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku kepada Lembaga Penelitian Universitas Mulawarman

D. Syarat Pencairan Anggaran dana Penelitian

- (1) Panjar diberikan sebesar 70% dari pagu anggaran yang telah ditetapkan setelah Revisi Proposal kegiatan penelitian maupun Rencana Anggaran Biaya (RAB) disesuaikan dengan anggaran yang telah disetujui oleh DRPM yang diajukan oleh peneliti telah mendapat persetujuan dari Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Mulawarman.
- (2) Sisanya diberikan sesuai dengan ketentuan yang telah ditetapkan oleh Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Mulawarman dengan catatan peneliti telah menyerahkan laporan akhir beserta kelengkapan lainnya dan seluruh penemuan panjardana yang diterima sebelumnya telah dipertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

E. Pengawasan

- (1) Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat berkewajiban untuk mengawasi maupun mengevaluasi pelaksanaan kegiatan penelitian serta mengupayakan hasil penelitian yang dilakukan oleh tim peneliti untuk memperoleh paten dan/atau publikasi ilmiah dalam jurnal nasional/internasional dan/atau teknologi tepat guna atau rekayasa sosial dan/atau buku ajar, laporan akhir, pemantauan terhadap pelaksanaan penelitian untuk setiap judul-judul penelitian sebagaimana yang dijanjikan oleh peneliti dalam usulan penelitiannya.
- (2) Perolehan-perolehan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dimanfaatkan sebesar-besarnya untuk pelaksanaan tridharma perguruan tinggi.

F. Sanksi

- (1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk pelaksanaan kegiatan penelitian belum juga menyelesaikan semua kewajiban dan tugasnya kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat maka peneliti akan dikenakan sanksi denda sebesar 1%₀₀ (satu persim) setiap hari keterlambatan sampai dengan setinggi-tingginya 5 % (lima persen) terhitung dari tanggal jatuh tempo dan wajib disetor ke kas negara atau ke kas daerah sesuai dengan sumber perolehan dana kegiatan penelitian.
- (2) Kelalaian atas pelaksanaan kewajiban sebagaimana dimaksud pada ayat (1) menyebabkan gugurnya hak untuk mengajukan usulan program Penelitian pada tahun berikutnya.

G. Barang Inventaris

Pembelian peralatan (inventaris) sehubungan dengan kegiatan penelitian wajib diserahkan ke Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat sebagai barang Inventaris Universitas Mulawarman yang pengelolaan administrasinya berada dibawah Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Mulawarman.

H. Lampiran Rencana Anggaran dan Belanja (Terlampir)

PIHAK PERTAMA



Prok. Y. Suallo, M Pd
NIP. 19711206 200212 1 002

PIHAK KEDUA



Eva Marlaha, SE, M SI
NIP. 19750302 200012 2 001

SALINAN FOTO COPY SESUAI ASLINYA

SAMARINDA 24 JUN 2024

WAKIL DEKAN BIDANG

AKADEMIK, KEMAHasiswaan DAN ALUMNI



Dr. Dadan Hamdani, S.Si., M.Si
NIP. 19730223 200012 1 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN
TINGGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA
MASYARAKAT

Alamat : R. Krayan No. 1 Gedung A 20 Kampus On. Kelon Samarinda 75119
Telp. Fax. (0541) 241033, 748432, e-mail : ipm@mulawarman.ac.id website : <http://www.ipmulawarman.ac.id>

KONTRAK PENELITIAN
Penelitian Produk Terapan
Tahun Anggaran 2017
Nomor: 961/UN17.41/KL/2017

Pada hari ini Senin tanggal Sepuluh bulan April tahun Dua Ribu Tujuh Belas, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. **SUSILO**
 - = Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Mulawarman dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Universitas Mulawarman, yang berkedudukan di Jalan Krayan no. 1 Kampus On. Kelon Samarinda, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. **EVA MARLIANA**
 - = Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2017 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Penelitian Produk Terapan Tahun Anggaran 2017 dengan ketentuan dan syarat syarat sebagai berikut:

Pasal 1
Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA**, untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian Produk Terapan Tahun Anggaran 2017 dengan judul "Potensi daun manceranga hoesi *Ring ex Hook. F* sebagai Obat Kanker Serviks"

Pasal 2
Dana Penelitian

- [1] Besarnya dana untuk melaksanakan penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar Tujuh puluh juta rupiah sudah termasuk pajak.
- [2] Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor 1-F DIPA 042.00.1.401516/2017, tanggal 06 Desember 2016

Pasal 3
Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

- (1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
- a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total dana penelitian yaitu $70\% \times \text{Rp. } 70.000.000 = \text{Rp. } 49.000.000$ (*Empat Puluh Sembilan Juta Rupiah*), yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** membuat dan melengkapi rancangan pelaksanaan penelitian yang memuat judul penelitian, pendekatan dan metode penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, anggaran yang akan digunakan, dan tujuan penelitian berupa luaran yang akan dicapai.
 - b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar 30% dari total dana penelitian yaitu $30\% \times \text{Rp. } 70.000.000 = \text{Rp. } 21.000.000$ (*Dua Puluh Satu Juta Rupiah*), dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah ke SIMJITABMAS yaitu Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian dan Catatan Harian.
 - c. Biaya tambahan dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** bersamaan dengan pembayaran Tahap Kedua dengan melampirkan Daftar luaran penelitian yang sudah divalidasi oleh **PIHAK PERTAMA**.
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan dihalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

Nama	: EVA MARLIANA
Nomor Rekening	: 0171169029
Nama Bank	: BNI

- (3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4
Jangka Waktu

Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sampai selesai 100%, adalah terhitung sejak Tanggal 10 April 2017 dan berakhir pada Tanggal 31 Oktober 2017

Pasal 5
Target Luaran

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian berupa Senyawa Flavonoid yang aktif sebagai antikanker selvika terhadap sel HeLa.
- (2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian berupa 1. Jurnal ilmiah internasional 2. Pemakalah dalam temu ilmiah internasional.
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 6
Hak dan Kewajiban Para Pihak

- (1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
- a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** luaran penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7;

- b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 6.

(2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:

- PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1);
- PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** laporan Penelitian Produk Terapan dengan judul Potensi daun mancaranga bebei langka Hook. f sebagai Obat Kanker Serviks dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
- PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;
- PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** laporan penggunaan dana sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7.

Pasal 7

Laporan Pelaksanaan Penelitian

- PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa laporan kemajuan dan laporan akhir mengenai luaran penelitian dan rekapitulasi penggunaan anggaran (melampirkan bukti setor pajak yang telah dibayarkan) sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA** yang tersusun secara sistematis sesuai pedoman yang ditentukan oleh **PIHAK PERTAMA**.
- PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Kemajuan dan Catatan harian penelitian yang telah dilaksanakan ke SIMLITABMAS paling lambat **30 Agustus 2017**.
- PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* Laporan Kemajuan dan Rekapitulasi Penggunaan Anggaran 70% kepada **PIHAK PERTAMA**, paling lambat **8 September 2017**.
- PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Akhir, capaian hasil, *Poster*, artikel ilmiah dan profil pada SIMLITABMAS paling lambat **31 Oktober 2017** (bagi penelitian tahun terakhir).
- Laporan hasil Penelitian sebagaimana tersebut pada ayat (4) harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
 - Bentuk/ukuran kertas A4;
 - Di bawah bagian cover ditulis:

Dibinai oleh

Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Pengustan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor: 361/UN17.41/KL/2017

Pasal 8
Monitoring dan Evaluasi

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan *Monitoring dan Evaluasi* internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2017 ini sebelum pelaksanaan *Monitoring dan Evaluasi* eksternal oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 9
Penilaian Luaran

1. Penilaian luaran penelitian dilakukan oleh Komite Penilai/*Reviewer* Luaran sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
2. Apabila dalam penilaian luaran terdapat luaran tambahan yang tidak tercapai maka dana tambahan yang sudah diterima oleh peneliti harus disetorkan kembali ke kas negara.

Pasal 10
Perubahan Susunan Tim Pelaksana dan Substansi Pelaksanaan

Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi pelaksanaan Penelitian ini dapat dibenarkan apa bila telah mendapat persetujuan tertulis dari Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 11
Penggantian Ketua Pelaksana

- (1) Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib mengusulkan pengganti ketua pelaksana yang merupakan salah satu anggota tim kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas dan tidak ada pengganti ketua sebagaimana dimaksud pada ayat (1), maka **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan dana penelitian kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya disetor ke Kas Negara.
- (3) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (2) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 12
Sanksi

- (1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Penelitian ini telah berakhir, namun **PIHAK KEDUA** belum menyelesaikan tugasnya, terlambat mengirim laporan Kemajuan, dan/atau terlambat mengirim laporan akhir, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi administratif berupa penghentian pembayaran dan tidak dapat mengajukan proposal penelitian dalam kurun waktu dua tahun berturut turut.
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat mencapai target luaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 5, maka kekurangan capaian target luaran tersebut akan dicatat sebagai hutang **PIHAK KEDUA** kepada **PIHAK PERTAMA** yang apabila tidak dapat dilunasi oleh **PIHAK KEDUA**, akan berdampak pada kesempatan **PIHAK KEDUA** untuk mendapatkan pendanaan penelitian atau hibah lainnya yang dikelola oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 13
Pembatalan Perjanjian

- (1) Apabila dikemudian hari terhadap judul Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran, tidak tidak baik, dan/atau perbuatan yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah dari atau dilakukan oleh **PIHAK KEDUA**, maka perjanjian Penelitian ini dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana penelitian yang telah diterima kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya akan disetor ke Kas Negara.
- (2) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dilampirkan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 14
Pajak-Pajak

Hal-hal dan/atau segala sesuatu yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa PPN dan/atau PPh menjadi tanggungjawab **PIHAK KEDUA** dan harus dibayarkan oleh **PIHAK KEDUA** ke kantor pelayanan pajak setempat sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 15
Peralatan dan/atau Hasil Penelitian

Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas. Melawarkan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang undangan.

Pasal 16
Penyelesaian Sengketa

Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat. dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses hukum.

Pasal 17
Lain-lain

- (1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibayar dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.
- (2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

Perjanjian ini dibuat dan ditandatangani oleh PARA PIHAK pada hari dan tanggal tersebut di atas, dibuat dalam rangkap 2 (dua) dan bermeterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, yang masing masing mempunyai kekuatan hukum yang sama.



PIHAK KEDUA



EVA MARLIANA
NIDN: 0002037501



**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN HIBAH BERSAING**



**POTENSI DAUN *MACARANGA HOSEI* KING EX HOOK.F.
SEBAGAI OBAT KANKER SERVIKS**

Tahun ke-1 dari rencana 2 tahun

**EVA MARLIANA, S.Si., M.Si. (0002037501)
Dr. WINNI ASTUTI, M.Si (0003037506)
Dra. KHEMASILI KOSALA, Apt., Sp.FRS. (1107065501)**

**Dibiayai oleh :
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Program Penelitian
Nomor : 133/SP2H/LT/DRPM/III/2016, Tanggal 10 Maret 2016**

**UNIVERSITAS MULAWARMAN
NOVEMBER 2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Potensi Daun Macaranga hosei King ex Hook.F. sebagai Obat Kanker Serviks

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : EVA MARLIANA S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Mulawarman
NIDN : 0002037501
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Kimia
Nomor HP : 08125313454
Alamat surel (e-mail) : evamarlian4@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : WINNI ASTUTI S.Si, M.Si
NIDN : 0003037506
Perguruan Tinggi : Universitas Mulawarman

Anggota (2)

Nama Lengkap : Dra KHEMASILI KOSALA
NIDN : 1107065501
Perguruan Tinggi : Universitas Mulawarman
Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 50.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 102.400.000,00



Mengetahui,
Dekan FMIPA Unmul

(Dr. Eng. IDRIS MANDANG, M.Si.)
NIP/NIK 197110081998021001

Samarinda, 9 - 11 - 2016
Ketua,

(EVA MARLIANA S.Si, M.Si)
NIP/NIK 197503022000122001



Menyetujui,
Ketua LPPM Unmul

(Prof. Dr. SUSILO, M.Pd.)
NIP/NIK 19711205 200212 1 002

RINGKASAN

Saat ini penyakit kanker menjadi masalah kesehatan utama baik di dunia maupun di Indonesia. Diantara penyakit kanker tersebut kanker leher rahim (serviks) merupakan kanker yang paling banyak diderita. Indonesia merupakan prevalensi penyakit kanker serviks tertinggi di dunia.

Salah satu teknik pengobatan kanker adalah kemoterapi. Senyawa metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial. Sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan sehingga perlu mendapat perhatian peneliti untuk menemukan obat antikanker yang efektif dan selektif sebagai alternatif untuk menanggulangi penyakit tersebut serta aktif antioksidan untuk meningkatkan stamina dan sistem imun tubuh.

Macaranga merupakan genus besar tumbuhan tropis yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae yang menghasilkan senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid yang terpadu dengan jenis terpenoid yakni jenis prenil (C_5), geranil (C_{10}), farnesil (C_{15}), dan geranil geranil (C_{20}). Senyawa-senyawa flavonoid dan stilbenoid dari tumbuhan *Macaranga* memperlihatkan berbagai bioaktivitas seperti antitumor, antikanker, antivirus, antimikroba, dan antioksidan. Mengingat adanya 125 spesies *Macaranga* yang tumbuh di Indonesia, dimana baru delapan spesies yang telah dilaporkan kajian fitokimianya, maka kajian fitokimia lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa dari tumbuhan *Macaranga hosei* King ex Hook .F. yang tumbuh di Kalimantan Timur perlu dilakukan, termasuk aktivitas biologis dari ekstrak dan fraksi aktif untuk pengembangan obat herbal sebagai antikanker serviks.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan khasiat sebagai antikanker serviks dan kekuatan aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak metanol, fraksi aktif dan isolat daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F., serta mengetahui struktur senyawa isolat. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat ditemukan ekstrak dan fraksi yang aktif antioksidan dan antikanker serviks yang dapat dikembangkan sebagai obat herbal serta sifat antioksidan dan antikanker yang kuat dari senyawa turunan flavonoid tumbuhan ini dapat dijadikan sebagai senyawa induk (**lead compound**) untuk pengembangan senyawa obat antikanker baru.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstraksi, fraksinasi dan pemurnian menggunakan berbagai teknik kromatografi seperti kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom flash, dan kromatografi radial (KR). Penentuan struktur molekul ditetapkan berdasarkan cara-cara spektroskopi, yang meliputi spektroskopi ultraviolet (UV), resonansi magnetik inti (NMR) 1D (1H NMR dan ^{13}C NMR) dan 2D (HMQC dan HMBC) serta spektroskopi massa (MS). Selanjutnya, ekstrak metanol, fraksi aktif dan senyawa-senyawa hasil isolasi ditentukan sifat antioksidan terhadap pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan metode peredaman radikal bebas dan aktivitas antikanker terhadap sel kanker leher rahim (HeLa) dengan metode *microculture tetrazolium technique* (MTT).

Dari penelitian ini telah berhasil diketahui aktivitas antioksidan dan antikanker daun *M. hosei* dengan IC_{50} ($\mu g/ml$) ekstrak metanol (174,19; 36,18) dan fraksi etilasetat (185,38 ; 7,01). Dua senyawa flavonoid terisoprenilasi berhasil diisolasi yaitu 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol dan 6-isoprenileriodiktiol. Berdasarkan nilai IC_{50} , fraksi etilasetat daun *M. hosei* berpotensi sebagai antikanker serviks, sehingga perlu dilakukan isolasi senyawa aktifnya dari fraksi lainnya dan uji aktivitas antioksidan serta antikanker terhadap sel Hela senyawa hasil isolasi.

Kata Kunci : *Macaranga hosei* King ex Hook .F., flavonoid, antioksidan dan antikanker serviks

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. yang senantiasa memberikan petunjuk, bimbingan dan kemudahan-Nya sehingga laporan penelitian tahun pertama penelitian hibah bersaing yang berjudul “Potensi daun *Macaranga hosei* King Ex Hook F. sebagai obat kanker Serviks” dapat diselesaikan. Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Rektor Universitas Mulawarman.
2. Dekan FMIPA Universitas Mulawarman.
3. Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia yang telah memberikan dana Penelitian Hibah Bersaing.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan laporan kemajuan ini masih belum sempurna, untuk itu segala saran sangat diharapkan demi kesempurnaan penyusunan laporan kemajuan ini.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Kanker.....	3
2.2 Fitokimia dan Bioaktivitas <i>Macaranga</i>	4
2.3 Fitokimia <i>Macaranga hosei</i> King ex Hook. F dan Road Map Penelitian.....	6
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	7
3.1 Tujuan Penelitian.....	7
3.2 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	8
4.1 Bagan Penelitian Secara Keseluruhan.....	8
4.2 Lokasi Penelitian	9
4.2 Metode Penelitian	9
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	14
5.1 Hasil Penelitian.....	14
5.1.1 Ekstraksi dan Pemurnian Senyawa Flavonoid.....	14
5.1.2 Penentuan Struktur Senyawa hasil Isolasi.....	14
5.1.4 Aktivitas Antioksidan.....	20
5.1.5 Aktivitas Antikanker terhadap Sel Hela.....	20
5.2 Luaran yang Dicapai.....	21
BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYANYA.....	23
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....	24
7.1 Kesimpulan.....	24
7.2 Saran.....	24
DAFTAR PUSTAKA.....	25
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	27

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Aktivitas antikanker senyawa flavonoid <i>Macaranga</i>	4
Tabel 2. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid <i>Macaranga</i>	5
Tabel 3. Data spektrum NMR senyawa 4'-O-metil-8-prenileriodiktiol dalam CDCl ₃	16
Tabel 4. Data spektrum NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol dalam CDCl ₃ ..	19
Tabel 5. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi etilasetat <i>M. hosei</i>	20
Tabel 6. Uji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa ekstrak metanol dan fraksi etilasetat <i>M. hosei</i>	21

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Senyawa flavanoid tumbuhan <i>Macaranga</i> aktif sebagai antikanker.....	4
Gambar 2. Senyawa flavanoid tumbuhan <i>Macaranga</i> aktif sebagai antioksidan.....	5
Gambar 3. Senyawa flavanon terprenilasi tumbuhan <i>M. hosei</i> King ex Hook .F.....	6
Gambar 4. Diagram Alur Penelitian secara Keseluruhan (2 Tahun)	8
Gambar 5. Korelasi HMBC senyawa 4'- <i>O</i> -metil-8-isoprenileriodiktiol...	17
Gambar 6. Korelasi HMBC senyawa 6-isoprenileriodiktiol.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1. Luaran Penelitian	27
Lampiran 1.1. Sertifikat International Conference The Indonesian Chemical Society.....	27
Lampiran 1.2. Surat keterangan review ICICS.....	28
Lampiran 1.3. Artikel dalam review ICICS.....	29
Lampiran 1.4. Sertifikat International Conference of Herbal Medicine.....	30
Lampiran 1.5. Draft artikel.....	31
Lampiran 2. Data Penelitian.....	32
Lampiran 2.1. Spektra ESI-MS senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).....	33
Lampiran 2.2. Spektra ¹ H-NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).....	34
Lampiran 2.3. Spektra ¹³ C-NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).....	35
Lampiran 2.4. Spektra 2D-NMR HMQC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).....	36
Lampiran 2.5. Spektra 2D-NMR HMBC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).....	37
Lampiran 2.6. Perbandingan data spektrum NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol.....	38
Lampiran 2.7. Spektra ¹ H-NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol (H2).....	39
Lampiran 2.8. Spektra ¹³ C-NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol (H2).....	40
Lampiran 2.9. Spektra 2D-NMR HMQC senyawa 6-isoprenileriodiktiol (H2).....	41
Lampiran 2.10. Spektra 2D-NMR HMBC senyawa 6-prenileriodiktiol (H2).....	42
Lampiran 2.11. Perbandingan data spektrum NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol.....	43

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini penyakit kanker menjadi masalah kesehatan utama baik di dunia maupun di Indonesia. Menurut data WHO tahun 2013, insiden kanker meningkat dari 12,7 juta kasus tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus tahun 2012. Sedangkan jumlah kematian meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Kanker menjadi penyebab kematian nomor 2 di dunia sebesar 13% setelah penyakit kardiovaskular. Diperkirakan pada 2030 insiden kanker dapat mencapai 26 juta orang dan 17 juta diantaranya meninggal akibat kanker. Indonesia merupakan prevalensi penyakit kanker serviks tertinggi di dunia. Berdasarkan estimasi Globocan, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, insiden kanker leher rahim 17 per 100.000 perempuan (Kemkes RI, 2014).

Kanker serviks ditandai dengan tumbuhnya sel-sel tidak normal pada leher rahim. Diperkirakan 90 persen kanker leher rahim disebabkan *human papilloma virus* (HPV). HPV menyerang kulit dan membran mukosa pada manusia dan hewan. Selain itu di dalam tubuh kita juga terbentuk radikal bebas secara terus – menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti polusi lingkungan, ultraviolet (UV), asap rokok dan lain – lain memicu munculnya penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

Kanker merupakan penyakit akibat pembelahan sel jaringan tubuh yang tidak terkendali. Pertumbuhan sel yang tidak terkendali ini akan menyerang jaringan biologis di dekatnya serta mampu bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik hingga dapat menyebabkan kematian. Salah satu teknik pengobatan kanker ialah kemoterapi. Senyawa metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial. Sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan (Farida, *et al.*, 2010).

Macaranga merupakan genus besar tumbuhan tropis yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae. Sekitar 300 spesies *Macaranga*, 125 spesies diantaranya tumbuh di Indonesia. Di Indonesia tumbuhan ini dikenal dengan nama daerah mahang merupakan tumbuhan pelopor, dan banyak dijumpai pada lahan terbuka atau hutan

yang sudah rusak (Slik, *et.al.*, 2000). Tumbuhan *Macaranga* telah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, diantaranya sebagai bahan bangunan untuk tiang atau atap serta pengobatan tradisional. Beberapa penggunaan obat tradisional dari tumbuhan ini yang penting, antara lain digunakan sebagai obat diare, luka, dan batuk (Heyne, 1987). Kajian fitokimia tumbuhan *Macaranga* masih relatif terbatas. Dari penelusuran literatur diketahui bahwa *Macaranga* menghasilkan senyawa fenolik yakni golongan flavonoid dan stilbenoid. Keunikan senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid tumbuhan ini yakni terikatnya jenis terpenoid pada inti aromatik antara lain jenis prenil (C₅), geranil (C₁₀), farnesil (C₁₅), dan geranil geranil (C₂₀) (Tanjung, *et.al.*, 2012; Sutthivaiyakit, *et.al.*, 2002; Syah, *et.al.*, 2009). Senyawa-senyawa turunan flavonoid sangat efektif sebagai zat antikanker dan kemopreventif kanker (Lin dan Weng, 2006). Senyawa-senyawa flavonoid dan stilbenoid dari tumbuhan ini memperlihatkan bioaktivitas sebagai antioksidan, inhibitor enzim COX (*cyclooxygenase*), antikanker, antitumor, dan sifat pengatur pertumbuhan tanaman (Tanjung, *et.al.*, 2012; Kingston, 2011; Sutthivaiyakit, *et.al.*, 2002; Jang, *et.al.*, 2002). Berdasarkan skrining fitokimia daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. mengandung senyawa flavonoid dari isolasi ekstrak etilasetat tumbuhan tersebut serta analisis data spektrum UV-Vis, NMR dan ESI-MS menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa flavonoid golongan flavanon yang tersubstitusi prenil (Marliana, *et. al.*, 2015).

Tumbuhan *Macaranga* yang telah dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker, namun baru terhadap sel *murine leukemia* P-388 yaitu *M. recurvata* (Tanjung, *et.al.*, 2012), *M. lowii* (Agustina, *et.al.*, 2012) *M. rhizinoides* (Tanjung, *et.al.*, 2010) dan *M. gigantea* (Tanjung, *et.al.*, 2009). Dari kajian literatur bioaktif senyawa flavonoid *Macaranga*, belum ada penelitian antikanker yang spesifik pada sel kanker leher rahim, maka senyawa-senyawa flavonoid dari *Macaranga hosei* King ex Hook .F. sangat berpotensi sebagai obat antikanker leher rahim atau serviks.

Berdasarkan latar belakang di atas diharapkan dapat ditemukan ekstrak dan fraksi yang aktif antioksidan dan antikanker serviks yang dapat dikembangkan sebagai obat herbal serta sifat antioksidan dan antikanker serviks yang kuat dari senyawa turunan flavonoid daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. ini dapat dijadikan sebagai senyawa induk (***lead compound***) untuk pengembangan obat antikanker serviks baru.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker merupakan penyakit akibat pembelahan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal atau tidak terkendali. Pertumbuhan sel yang tidak normal ini akan menyerang jaringan biologis di dekatnya serta mampu bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik hingga dapat menyebabkan kematian (Farida, *et. al.*, 2010). Pengobatan kanker umumnya menggabungkan pembedahan dan radiasi dengan kemoterapi. Tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial, sehingga sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan. Fungsi kerja obat-obatan ini ialah sebagai pelindung dan penekan terjadinya karsinogenesis.

Salah satu metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antikanker ialah metode *microculture tetrazolium technique* (MTT) secara *in vitro*. Sel kanker yang digunakan ialah sel HeLa yang merupakan sel kanker rahim. Dalam metode MTT, penambahan senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker rahim HeLa dapat mempengaruhi proses reduksi garam tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang berada pada mitokondria sel kanker hidup.

Reaksi reduksi tersebut akan menghasilkan kristal formazan berwarna biru gelap yang tidak dapat larut dalam air. Penambahan reagen dimetil sulfoksida akan melarutkan kristal formazan biru gelap yang kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm menggunakan alat yang disebut *Biotech Powerwave XS plate reader*. Intensitas warna biru gelap yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang hidup (Fahmi, *et. al.*, 2014).

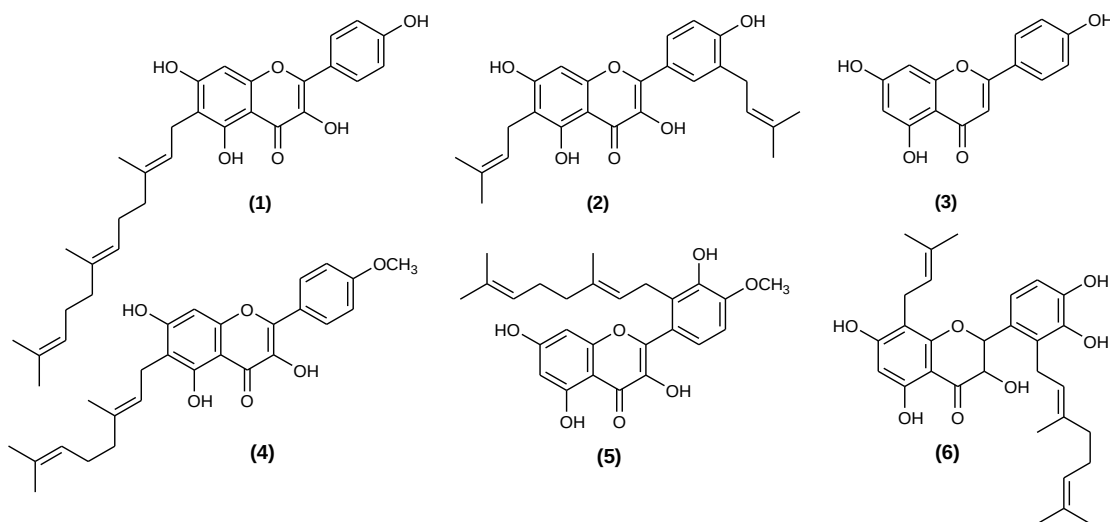
Dalam metode MTT, nilai IC_{50} dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan senyawa uji terhadap berbagai konsentrasi. Sifat sitotoksik suatu senyawa dikategorikan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 2$ ppm (10 μ M), sedang 2-4 ppm (10-20 μ M), lemah > 4 ppm (IC_{50} 20-40 μ M), dan tidak aktif jika $IC_{50} > 40$ μ M (Ito, *et.al.*, 2003).

2.2 Fitokimia dan Bioaktivitas *Macaranga*

Sifat antikanker senyawa turunan flavonoid dari tumbuhan *Macaranga* yang telah dipublikasikan adalah macagigantin (1), glyasperin (2), apigenin (3) dari *Macaranga gigantea* (Tanjung, *et.al.*, 2009) dan macarhizinoidins A (4) dan macarhizinoidins B (5) dari *Macaranga rhizinoides* (Tanjung, *et.al.*, 2010) dan macarecurvatin B (6) dari *Macaranga recurvata* (Tanjung, *et.al.*, 2012). Aktivitas antikanker senyawa-senyawa tersebut terhadap sel kanker leukemia Murine P-388 dapat dilihat pada Tabel-1.

Tabel-1. Aktivitas antikanker senyawa flavonoid *Macaranga*

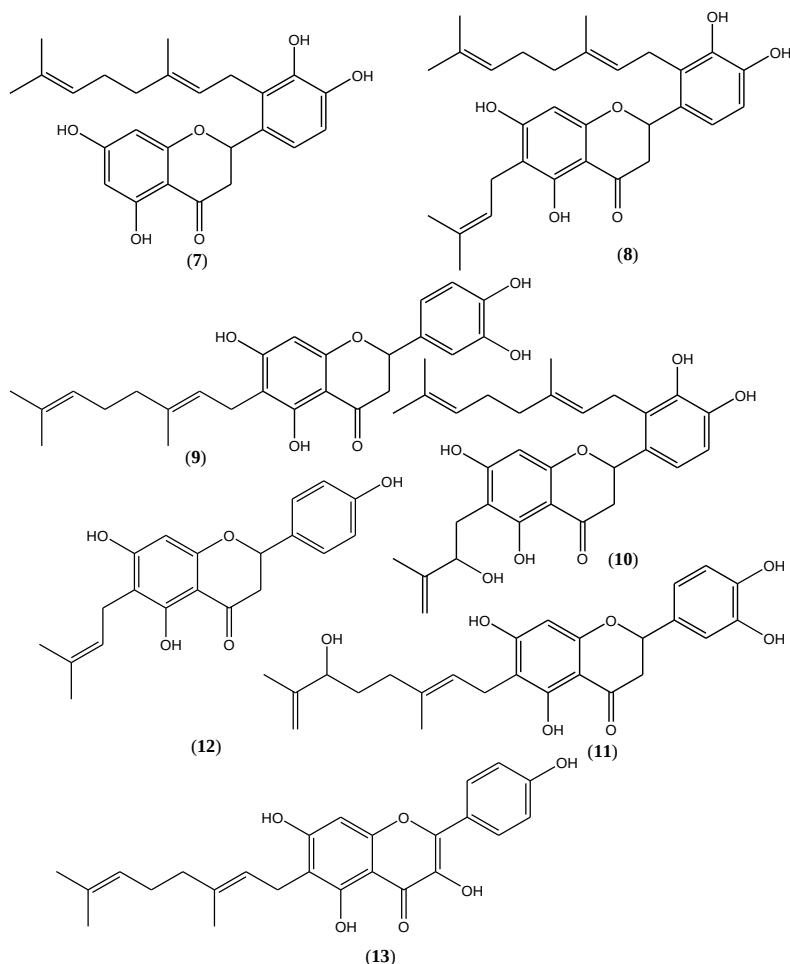
Senyawa	IC ₅₀ (μM)
macagigantin (1)	113.6
glyasperin (2)	6.0
apigenin (3)	5.1
macarhizinoidins A (4)	11.4
macarhizinoidins B (5)	13.9
Macarecurvatin (6)	0.83



Gambar-1. Senyawa flavanoid tumbuhan *Macaranga* aktif sebagai antikanker

Sifat antioksidan senyawa-senyawa turunan flavonoid tumbuhan *Macaranga*, enam senyawa turunan flavanon yakni senyawa nimpaeol B (7), nimpaeol C (8), dan nimpaeol A (9), tanariflavanon C (10), tanariflavanon D (11), soforaflavanon B (12) dan satu turunan flavonol (senyawa makarangin) (13) telah diujikan terhadap radikal bebas DPPH. Hasil pengujian sifat antioksidan tersebut tercantum pada Tabel-2 dengan menggunakan BHT [(2,6-di-tert-butil)-4-metilfenol] sebagai kontrol positif.

Hasil uji antioksidan senyawa tanariflavanon C (**10**) dan makarangin (**13**) memperlihatkan sifat antioksidan sebanding dengan BHT. Nimpaeol A (**9**), nimpaeol B (**7**), dan nimpaeol C (**8**) memperlihatkan sifat antioksidan dua kali lebih kuat dibandingkan dengan BHT. (Phommart *et.al.*, 2005; Sutthivaiyakit *et.al.*, 2002).



Gambar-2. Senyawa flavanoid tumbuhan *Macaranga* aktif sebagai antioksidan

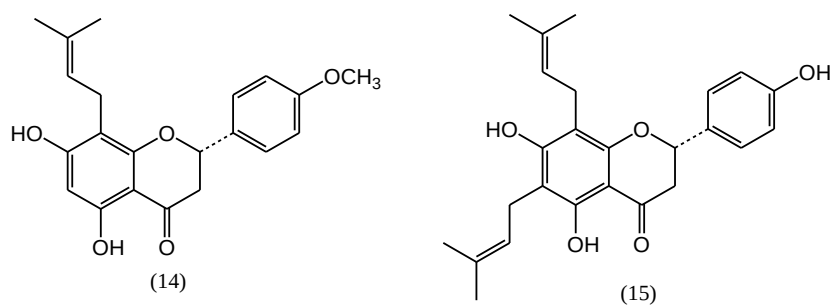
Tabel-2. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid *Macaranga*

Senyawa	Jenis	IC ₅₀ (µg/mL)
Nimpaeol B (7)	Flavanon	13
Nimpaeol C (8)	Flavanon	15
Nimpaeol A (9)	Flavanon	14
Tanariflavanon C (10)	Flavanon	33
Tanariflavanon D (11)	Flavanon	20
Soforaflavanon B (12)	Flavanon	Tidak aktif
Makarangin (13)	Flavonol	32
BHT (kontrol positif)	-	30

Senyawa golongan flavonoid tumbuhan *Macaranga* mempunyai pola *meta* dioksigenasi di C-5 dan C-7 di cincin A, monooksigenasi di C-4' atau *orto* dioksigenasi di C-3' dan C-4' di cincin B seperti lazimnya senyawa flavonoid yang ditemukan pada tumbuhan. Demikian juga halnya dengan senyawa golongan stilbenoid memperlihatkan pola yang sama dengan flavonoid mengingat secara biosintesis pembentukan senyawa flavonoid dan stilbenoid berasal dari jalur sikhimat (Dewick, 2002). Keragaman struktur senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid diperluas dengan adanya gugus terpenil yang terikat pada inti aromatik yakni substituen prenil (C₅), geranil (C₁₀), farnesil (C₁₅), dan geranil geranil (C₂₀). Dengan adanya gugus terpenil tersebut pada kerangka flavonoid dan stilbenoid memberi peluang ditemukannya senyawa baru dan kerangka baru dari tumbuhan *Macaranga*.

2.3 Fitokimia *Macaranga hosei* King ex Hook .F. dan Road Map Penelitian

Tanaman *Macaranga hosei* King ex Hook .F. banyak ditemukan di Kalimantan (Slik, *et.al.* 2000). Dari studi literatur dilaporkan fitokimia *Macaranga hosei* King ex Hook .F. terkandung senyawa flavonoid terprenilasi 4'-*O*-methyl-8-isoprenylnaringenin (14) dan Lonchocarpol A (15) (Marliana, *et.al.*, 2015).



Gambar-3. Senyawa flavanon terprenilasi tumbuhan *M. hosei* King ex Hook .F.

Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan adalah determinasi tanaman di herbarium wanariset Samboja Kaltim. Skrining fitokimia dengan metode kromatografi lapis tipis positif mengandung flavonoid dan skrining antioksidan berdasarkan kromatografi lapis tipis dengan pereaksi DPPH diketahui senyawa flavonoid memiliki sifat antioksidan. Berdasarkan studi literatur dan uji pendahuluan maka akan dilakukan isolasi senyawa flavonoid yang potensial sebagai antioksidan dan antikanker serviks yang juga diujikan pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat.

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah membuktikan khasiat sebagai antikanker serviks dan kekuatan aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak metanol, fraksi aktif dan senyawa-senyawa isolat dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. serta dilakukan elusidasi struktur senyawa-senyawa hasil isolasi.

Tujuan Penelitian Tahun Pertama

- a. Menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol dan fraksi aktif daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. dengan metode peredaman radikal DPPH.
- b. Menentukan aktivitas antikanker serviks dari ekstrak metanol dan fraksi aktif daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. dengan metode MTT terhadap sel kanker serviks (HeLa).
- c. Isolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi aktif daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F.

3.2 Manfaat Penelitian

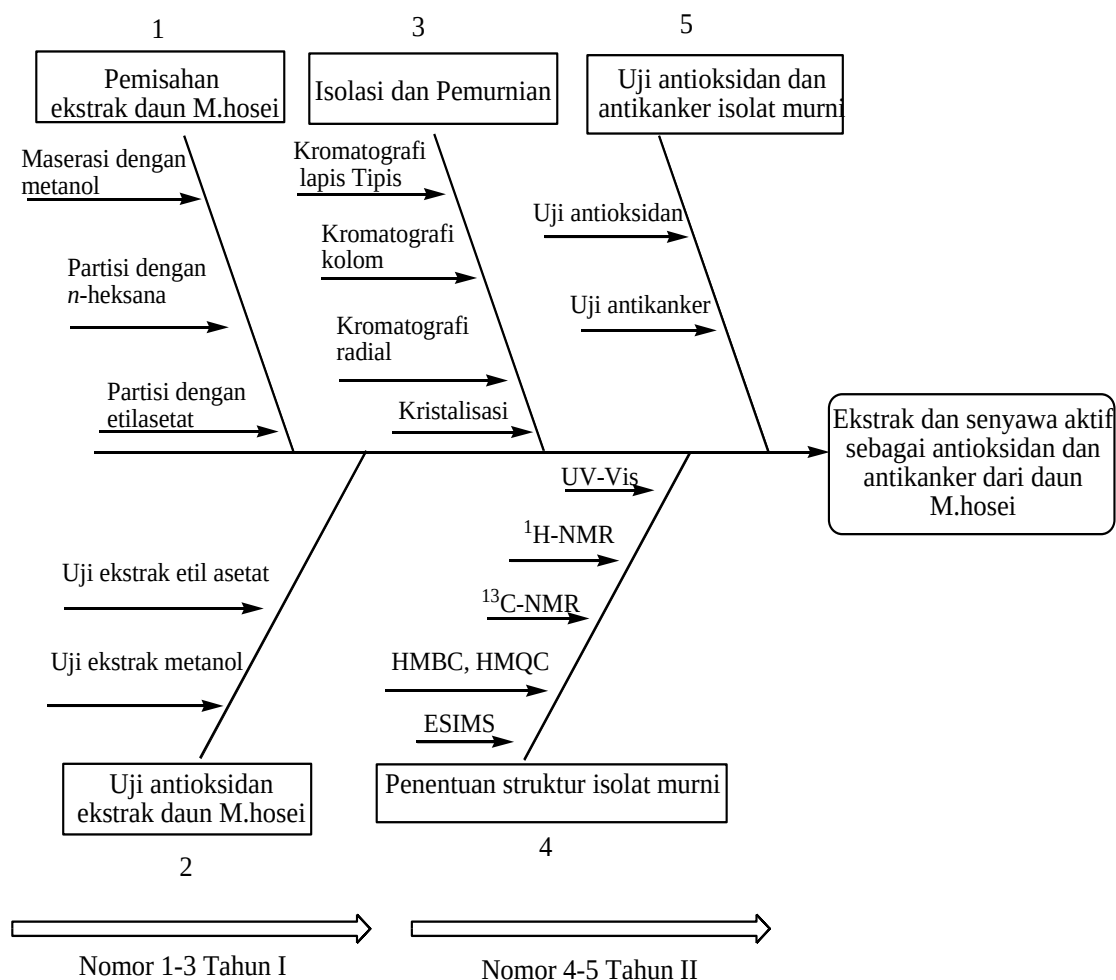
Dari 125 spesies *Macaranga* yang tumbuh di Indonesia baru 8 spesies dilaporkan data fitokimianya. Untuk uji antikanker baru terbatas pada sel kanker leukemia Murine P-388 (Tanjung, *et.al.*, 2009, 2010, 2012 dan Agustina, *et.al.*, 2012), belum ada uji aktivitas pada sel kanker leher rahim (HeLa). Sebagai bagian untuk menemukan antioksidan dan antikanker dari tumbuh-tumbuhan, penelitian ini mengkaji potensi antioksidan dan antikanker tumbuhan *Macaranga hosei* King ex Hook .F. yang tumbuh di Kaltim dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Dari penelitian ini diharapkan ekstrak, fraksi dan senyawa flavonoid dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. yang aktif antioksidan dan antikanker serviks dapat dikembangkan sebagai obat herbal dapat dijadikan sebagai senyawa induk (*lead compound*) untuk pengembangan obat antikanker serviks baru.

BAB 4

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Tujuan penelitian dapat dicapai menggunakan metode yang umum digunakan dalam penelitian kimia bahan alam yaitu dimulai dengan pemilihan dan identifikasi spesies tumbuhan untuk keabsahan sampel yang digunakan, isolasi dan pemurnian, penentuan struktur kimia, uji bioaktivitas serta analisis data yang diperoleh.

3.1 Bagan Penelitian Secara Keseluruhan



Gambar -4 : Diagram Alur Penelitian secara Keseluruhan (2 Tahun)

3.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman, Samarinda. Analisis spektroskopi NMR dilakukan di laboratorium Pusat Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis spektroskopi massa di Laboratorium instrumen ITB. Dan uji aktivitas antikanker dilakukan di laboratorium Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor.

3.3 Metode Penelitian

TAHUN I

1. Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian berupa daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. diperoleh dari hutan Bukit Soeharto, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Identifikasi sampel tumbuhan dilakukan di Herbarium Wanariset, Samboja Kaltim.

2. Ekstraksi

Serbuk daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. sebanyak 2 kg diekstraksi dengan cara maserasi selama 24 jam dilakukan dua kali menggunakan pelarut metanol. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental metanol.

3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kromatografi lapis tipis bertujuan untuk mengetahui kompleksitas senyawa dalam ekstrak yang akan diisolasi dan menetapkan jenis eluen untuk tahap fraksinasi.

4. Fraksinasi dan Pemurnian

Ekstrak pekat metanol dipartisi dengan *n*-heksana dan etil asetat. Ekstrak etilasetat tersebut dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dilakukan dengan cara meningkatkan kepolaran secara gradien menggunakan eluen campuran *n*-heksana:etilasetat = 9:1; 8:2; 7:3; 3:7 dan etilasetat. Fraksi hasil KCV selanjutnya dilakukan pemisahan dan pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom tekan dan kromatografi radial. Untuk penampak noda pada masing-masing hasil kromatografi menggunakan lampu UV dan pereaksi $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Senyawa Murni sebagai target diuji kemurniannya menggunakan analisis KLT dengan berbagai eluen.

5. Verifikasi Kemurnian Isolat

Kemurnian isolat ditentukan berdasarkan hasil analisis KLT dengan fasa diam silika gel. Isolat dikatakan murni apabila tetap memberikan satu noda pada tiga sistim eluen yang berbeda.

6. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi etilasetat

Penentuan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol dan fraksi dilakukan menggunakan pereaksi DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) menggunakan metode spektrometer UV pada λ 517 nm (Kadoma *et al*, 2011). Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara melarutkan senyawa uji dengan metanol dalam berbagai konsentrasi sebanyak 200 μ L, kemudian, ditambahkan 200 μ L larutan buffer asetat 0,1 M (pH 5,5) dan ditambahkan 100 μ L larutan radikal DPPH $5 \cdot 10^{-4}$ M. Penentuan diukur setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (37°C). Nilai IC₅₀ dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan larutan radikal DPPH dari senyawa uji. Untuk menentukan sifat antioksidan senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan senyawa kontrol positif yakni asam askorbat.

7. Penentuan aktivitas antikanker ekstrak metanol dan fraksi etilasetat dengan sel kanker HeLa

Penyiapan kultur

Kultur sel kanker rahim HeLa dibiakkan dalam *eagle's minimum essential medium* yang mengandung $1,5 \text{ gL}^{-1}$ natrium bikarbonat dan ditambah dengan 1% L-glutamin, 1% formulasi antibiotik dan antimikotik, 1% asam amino non-esensial, 1% natrium piruvat dan 10% serum janin sapi yang digunakan sebagai medium. Selanjutnya sel tersebut diinkubasi dengan inkubator 5% karbon dioksida pada temperatur 37°C.

Penentuan aktivitas antikanker

Pengujian aktivitas antikanker ekstrak metanol dan fraksi etilasetat terhadap sel kanker rahim HeLa menggunakan metode MTT. Sel HeLa ditempatkan dalam 12 sumuran dan dalam setiap sumuran mengandung 25.000 sel. Setelah 24 jam, sel dicuci dengan larutan *phosphate-buffered saline* (PBS) dan diinkubasi dengan berbagai konsentrasi bahan uji selama 24 jam. Selanjutnya sel tersebut dicuci dengan larutan PBS sebanyak dua kali. Kemudian sebanyak 1 mL larutan garam tetrazolium MTT [3-

(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] dengan konsentrasi 500 mg.mL⁻¹ ditambahkan ke dalam sel dan diinkubasi selama 4 jam.

Selama inkubasi tersebut terjadi reaksi reduksi garam tetrazolium MTT oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang berada pada mitokondria sel hidup. Reaksi tersebut akan menghasilkan kristal formazan berwarna biru yang tidak dapat larut dalam air. Jumlah kristal formazan biru gelap yang dihasilkan proporsional dengan jumlah sel hidup. Kristal formazan biru gelap tersebut selanjutnya dilarutkan dengan 200 ml dimetil sulfoksida untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm dengan menggunakan *biotech powerwave XSplate reader* (Fahmi, *et al.*, 2014).

TAHUN II

1. Pembuatan Spektrum UV, IR, NMR dan MS

Penentuan struktur molekul senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan spektrometer ultraviolet (UV), *nuclear magnetic resonance* (NMR), dan spektrometer massa (MS). Pengukuran panjang gelombang maksimum $\lambda_{\max}$, menghitung koefisiensi eksitensi molar $\epsilon_{\max}$ dan penentuan efek batokromik dengan NaOH atau pereaksi geser lainnya pada senyawa hasil isolasi ditentukan menggunakan spektrometer ultraviolet (UV) dalam pelarut metanol. Pengukuran spektrum NMR dilakukan dengan melarutkan senyawa hasil isolasi dengan aseton-*d*6 atau CDCl₃. Pengukuran spektrum NMR dilakukan dengan cara *auto shimming*, terlebih dahulu ditentukan *high frequency* pada 400 MHz untuk pengukuran ¹H-NMR dengan memprogram pergeseran kimia proton 0-14 ppm sedangkan *low frequency* pada 125 MHz dengan memprogram pergeseran kimia karbon 0-220 ppm untuk pengukuran ¹³C-NMR pada pengukuran 1D NMR. Pengukuran 2D NMR dilakukan setelah terlebih dahulu dibuat spektrum 1D NMR dibuat (¹H dan ¹³C NMR). Pengukuran 2D NMR meliputi eksperimen HMQC, dan HMBC. Penentuan massa molekul dengan HRESI-MS.

2. Analisis Data Spektrum dan Penentuan Struktur

Penentuan struktur terhadap isolat murni dan dilakukan berdasarkan metodologi yang sesuai untuk penentuan struktur senyawa alam. Data spektroskopi yang diinterpretasi adalah data NMR 1D (¹H-NMR dan ¹³C-NMR), konformasi struktur dipertegas

berdasarkan analisis data NMR 2D (HMQC dan HMBC) dan massa molekul dengan analisis data HRESI-MS.

3. Penentuan aktivitas antioksidan senyawa isolat

Penentuan aktivitas antioksidan terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan pereaksi DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) menggunakan metode spektrometer UV pada λ 517 nm (Kadoma *et al*, 2011). Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara melarutkan senyawa uji dengan metanol dalam berbagai konsentrasi sebanyak 200 μ L, kemudian, ditambahkan 200 μ L larutan buffer asetat 0,1 M (pH 5,5) dan ditambahkan 100 μ L larutan radikal DPPH $5 \cdot 10^{-4}$ M. Penentuan diukur setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (37°C). Nilai IC₅₀ dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan larutan radikal DPPH dari senyawa uji. Untuk menentukan sifat antioksidan senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan senyawa kontrol positif yakni asam askorbat.

4. Penentuan aktivitas antikanker senyawa isolat dengan sel kanker HeLa

Penyiapan kultur

Kultur sel kanker rahim HeLa dibiakkan dalam *eagle's minimum essential medium* yang mengandung 1,5 gL⁻¹ natrium bikarbonat dan ditambah dengan 1% L-glutamin, 1% formulasi antibiotik dan antimikotik, 1% asam amino non-esensial, 1% natrium piruvat dan 10% serum janin sapi yang digunakan sebagai medium. Selanjutnya sel tersebut diinkubasi dengan inkubator 5% karbon dioksida pada temperatur 37°C.

Penentuan aktivitas antikanker

Pengujian aktivitas antikanker senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker rahim HeLa menggunakan metode MTT. Sel HeLa ditempatkan dalam 12 sumuran dan dalam setiap sumuran mengandung 25.000 sel. Setelah 24 jam, sel dicuci dengan larutan *phosphate-buffered saline* (PBS) dan diinkubasi dengan berbagai konsentrasi senyawa hasil isolasi selama 24 jam. Selanjutnya sel tersebut dicuci dengan larutan PBS sebanyak dua kali. Kemudian sebanyak 1 mL larutan garam tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] dengan konsentrasi 500 mg.mL⁻¹ ditambahkan ke dalam sel dan diinkubasi selama 4 jam.

Selama inkubasi tersebut terjadi reaksi reduksi garam tetrazolium MTT oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang berada pada mitokondria sel hidup. Reaksi

tersebut akan menghasilkan kristal formazan berwarna biru yang tidak dapat larut dalam air. Jumlah kristal formazan biru gelap yang dihasilkan proporsional dengan jumlah sel hidup. Kristal formazan biru gelap tersebut selanjutnya dilarutkan dengan 200 ml dimetil sulfoksida untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm dengan menggunakan *biotech powerwave XSplate reader* (Fahmi, *et al.*, 2014).

BAB 5

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Ekstraksi dan pemurnian senyawa flavonoid

Ekstraksi senyawa flavonoid dari serbuk kering daun *M. hosei* (1 kg) dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol pada suhu ruang selama dua kali. Penguapan pelarut menggunakan penguap tekanan rendah menghasilkan ekstrak kental metanol sebanyak 150 gram. Ekstrak metanol dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat menghasilkan ekstrak etilasetat sebanyak 70 gram. Pemisahan ekstrak etilasetat dengan kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat dengan peningkatan kepolaran secara gradien (9:1, 4:1, 7:3, 1:1, dan 3:7) menghasilkan tiga fraksi A-C. Fraksi A (23,5 gram) dilakukan kolom kromatografi vakum dengan eluen *n*-heksana : etil asetat dengan peningkatan kepolaran (9:1, 4:1, 7:3, 1:1, dan 3:7) menghasilkan dua subfraksi utama A1 dan A2. Pemisahan subfraksi A1 dengan kolom kromatografi tekan dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1, 4:1, 7:3), menghasilkan tiga subfraksi utama A11, A12 dan A13. Pemurnian subfraksi A13 menggunakan kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana : kloroform (1:1 – 3:7), menghasilkan senyawa (**H1**) sebanyak 12 mg dan (**H2**) sebanyak 0,6 mg.

Kedua senyawa hasil isolasi selanjutnya ditentukan struktur molekul menggunakan spektroskopi UV dan 1D dan 2D NMR. Pada ekstrak methanol dan fraksi etilasetat dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dan aktivitas antikanker terhadap sel kanker rahim HeLa menggunakan metode MTT

5.1.2. Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol (**H1**)

Senyawa (**H1**) berwujud padatan putih memperlihatkan massa ion kuasi molekul positif m/z $[M+H]^+$ 371,1486 (perhitungan $[M+H]^+$ 371,1495) yang sesuai dengan rumus molekul $C_{21}H_{23}O_6$ (lampiran 2.1). Spektrum UV dalam metanol memperlihatkan serapan maksimal pada λ_{maks} nm (log ϵ) : 226 (4,25), 253 (4,30), 303 (4,63) (MeOH+NaOH) : 259 (4,12), 287 (4,46), 332 (4,60), (MeOH+AlCl₃) : 265 (4,51), 304

(4,6), (MeOH+AlCl₃+HCl) : 208 (3,53), 251 (4,46), 275 (4,61) dan 311 (4,64). Profil spektrum ini memperlihatkan karakter senyawa flavanon (Mabry, Markham, 2006).

Spektrum ¹H-NMR senyawa (**H1**) (Lampiran 2.2) dalam CDCl₃, δ_H (ppm) : 5,36 (1H, *dd*, J = 12,0, 3,2 Hz, H-2), 3,03 (1H, *dd*, J = 17,1, 12,0 Hz, H-3_{ax}), 2,70 (1H, *dd*, J = 17,1, 3,2 Hz, H-3_{eq}), 5,98 (1H, *s*, H-6), 6,87 (1H, *d*, J = 2,4 Hz, H-2'), 6,89 (1H, *d*, J = 8,4 Hz, H-5'), 6,82 (1H, *dd*, J = 8,4, 2,4 Hz, H-6'), 3,04 (2H, *d*, J = 7,0 Hz, H-1''), 5,05 (1H, *t*, J = 8,6 Hz, H-2''), 1,55 (3H, *s*, H-4''), 1,52 (3H, *s*, H-5''), 12,05 (1H, *s*, 5-OH), 3,73 (1H, *s*, 4-OCH₃). Spektrum ¹³C-NMR (Lampiran 2.3) δ_C (ppm) : 78,5 (C-2), 42,5 (C-3), 197,1 (C-4), 102,3 (C-4a), 161,6 (C-5), 95,8 (C-6), 164,8 (C-7), 107,4 (C-8), 160,0 (C-8a), 132,0 (C-1'), 114,4 (C-2'), 146,9 (C-3'), 148,2 (C-4'), 112,3 (C-5'), 117,8 (C-6'), 21,8 (C-1''), 123,2 (C-2''), 130,8 (C-3''), 18,1 (C-4''), 26,0 (C-5''), 56,1 (4-OCH₃).

Analisis spektrum ¹H-NMR senyawa (**H1**) memperlihatkan karakter senyawa flavanon yakni tiga buah sinyal proton *doublet-doublet* pada δ_H 5,36 (*J* = 12,0 ; 3,2 Hz, H-2), 3,03 (*J* = 12,0; 17,1 Hz, H-3_{ax}), dan 2,70 (*J* = 17,1; 3,2 Hz, H-3_{eq}). Spektrum ¹H-NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol memperlihatkan tiga buah sinyal proton aromatik dari sistem ABX yakni sinyal *doublet* pada δ_H 6,89 (*J* = 8,4, Hz, H-5'), sinyal *doublet* pada δ_H 6,87 (*J* = 2,4, Hz, H-2') dan sinyal *doublet doublet* pada δ_H 6,82 (*J* = 8,4, 2,4 Hz, H-6'). Senyawa flavanon hasil isolasi memperlihatkan satu substituen isoprenil (sinyal *triplet* vinil δ_H 5,05; sinyal *doublet* metilen δ_H 3,04 dan dua sinyal *singlet* metil δ_H 1,55, 1,52) dan satu sinyal *singlet* metoksi (δ_H 3,73). Adanya satu sinyal proton *singlet* pada δ_H 5,98 menunjukkan bahwa gugus isoprenil terikat pada C-6 atau C-8.

Analisis spektrum ¹³C-NMR senyawa (**H1**) memperlihatkan 21 sinyal karbon yang terpisah secara sempurna. Senyawa terdiri enam atom karbon metin, dua atom karbon metilen, tiga atom karbon metil, dan sepuluh atom karbon kuartener. Sinyal karbon karbonil (δ_C 197,1), satu sinyal karbon metin oksikarbon (δ_C 78,5) dan lima sinyal karbon oksiaril (164,8; 161,6; 160,0; 148,2; 146,9) mengindikasikan bahwa senyawa flavanon yang memiliki struktur dasar eriodiktiol.

Penempatan gugus isoprenil dan gugus metoksi ditetapkan berdasarkan data spektrum HMQC (Lampiran 2.4) dan HMBC (Lampiran 2.5). Korelasi jarak jauh antara sinyal proton 5-OH pada δ_H 12,05 dengan dua sinyal atom karbon kuartener

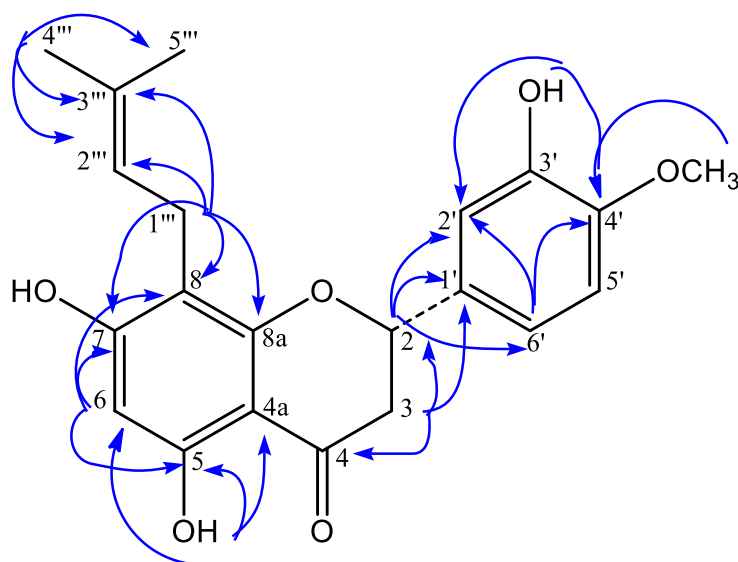
(δ_C 161,6, C-5; 102,3, C-4a) dan satu sinyal karbon metin aromatik (δ_C 95,8, C-6) menunjukkan gugus isoprenil terikat pada C-8. Korelasi sinyal proton metoksi pada δ_H 3,73 dengan sinyal karbon oksiaril (δ_C 148,2) menunjukkan bahwa gugus metoksi terikat pada C-4'. Berdasarkan analisis spektrum NMR maka senyawa flavanon hasil isolasi adalah 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin. Senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin memperlihatkan parameter NMR yang sesuai dengan 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol dari *Macaranga conifera* (Versiani, *et al.*, 2011).

Berdasarkan analisis spektrum 1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMQC, dan HMBC, maka masing-masing posisi proton dan karbon senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel-3. Data spektrum NMR senyawa 4'-O-metil-8-prenileriodiktiol dalam $CDCl_3$.

No. C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	HMBC
2	5,36(dd, 12,0, 3,2)	78,5	C-4, C-1', C-2', C-6'
3	3,03(dd, 17,1, 12,0) _{ax} 2,70(dd, 17,1, 3,2) _{eq}	42,5	C-2, C-4 C-1'
4	-	197,1	-
4a	-	102,3	-
5	-	161,6	-
6	5,98(s)	95,8	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	164,8	-
8	-	107,4	-
8a	-	160,0	-
1'	-	132,0	-
2'	6,87(d, 2,4)	114,4	C-2, C-4', C6'
3'	-	146,9	-
4'	-	148,2	-
5'	6,89(d,8,4)	112,3	C-1', C-3'
6'	6,82(dd,8,4, 2,4)	117,8	C-2', C-4'
1''	3,04 (d, 7,0)	21,8	C-7, C-8, C-8a, C-2'', C-3''
2''	5,05(t, 8,6)	123,2	C-3'', C-4'', C-5''
3''	-	130,8	-
4''	1,55(s)	18,1	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1,52(s)	26,0	C-2'', C-3'', C-4''
5-OH	12,05(s)	-	C-4a, C-5, C-6
7-OH	10,70(s)	-	C-7, C-8
3'-OH	9,01(s)	-	C-2', C-4'
4'OCH ₃	3,73(s)	56,1	C-4'

Korelasi HMBC yang mendukung senyawa 4'-O-metil-8-prenileriodiktiol hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Korelasi HMBC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol.

Senyawa 6-isoprenileriodiktiol (H2)

Senyawa (**H2**) berwujud minyak berwarna kuning dengan spektrum UV dalam metanol memberikan serapan maksimal pada λ_{maks} nm (log ϵ) : 258,50 (4,33), 294,50 (4,65), (MeOH+NaOH) : 296,50 (4,58), 339 (4,62), (MeOH+AlCl₃) : 299,50 (4,73), (MeOH+AlCl₃+HCl) : 317 (4,80), 393 (4,04). Profil serapan spektrum ini merupakan karakter senyawa flavanon hasil isolasi di atas.

Spektrum ¹H-NMR senyawa (**H2**) (Lampiran 2.7) dalam CDCl₃, δ_H (ppm) : 5,27 (1H, *dd*, *J* = 12,8, 3,2 Hz, H-2), 3,02 (1H, *dd*, *J* = 17,2, 12,8 Hz, H-3_{ax}), 2,79 (1H, *dd*, *J* = 17,2, 3,2 Hz, H-3_{eq}), 6,38 (1H, *s*, H-8), 6,98 (1H, *d*, *J* = 1,6 Hz, H-2'), 6,89 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-5'), 6,87 (1H, *dd*, *J* = 8,0, 1,6 Hz, H-6'), 3,30 (2H, *d*, *J* = 7,2 Hz, H-1'''), 5,19 (1H, *bt*, *J* = 7,0 Hz, H-2''), 1,81 (3H, *s*, H-4''), 1,71 (3H, *s*, H-5''), 12,32 (1H, *s*, 5-OH), Spektrum ¹³C-NMR (Lampiran 2.8) δ_C (ppm) : 78,5 (C-2), 43,6 (C-3), 196,8 (C-4), 103,1 (C-4a), 159,6 (C-5), 107,6 (C-6), 162,6 (C-7), 95,8 (C-8), 161,6 (C-8a), 129,3 (C-1'), 113,7 (C-2'), 147,7 (C-3'), 144,0 (C-4'), 115,7 (C-5'), 119,2 (C-6'), 21,5 (C-1''), 122,0 (C-2''), 135,0 (C-3''), 18,2 (C-4''), 26,2 (C-5'').

Analisis spektrum ^1H -NMR senyawa (**H2**) memperlihatkan sinyal proton yang sama dengan 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol. Memperlihatkan sinyal tiga buah proton *doublet-doublet* yakni pada δ_{H} 5,27 ($J = 12,8; 3,2$ Hz, H-2), 3,02 ($J = 12,8; 17,2$ Hz, H-3_{ax}), dan 2,79 ($J = 17,2; 3,2$ Hz, H-3_{eq}) dan tiga buah sinyal proton aromatik dari sistem ABX pada δ_{H} 6,98 ($J = 1,6$, Hz, H-2'), δ_{H} 6,89 ($J = 8,0$, Hz, H-5') dan sinyal *doublet doublet* pada δ_{H} 6,87 ($J = 8,0; 1,6$ Hz, H-6'). Senyawa flavanon hasil isolasi memperlihatkan satu substituen isoprenil (sinyal *triplet* vinil δ_{H} 5,19; sinyal *doublet* metilen δ_{H} 3,30 dan dua sinyal *singlet* metil δ_{H} 1,81; 1,71) serta satu sinyal proton *singlet* aromatik di cincin A pada δ_{H} 6,38 menunjukkan bahwa gugus isoprenil terikat pada C-6 atau C-8.

Analisis spektrum ^{13}C -NMR senyawa (**H2**) memperlihatkan 20 sinyal karbon yang terpisah sempurna, terdiri dari enam atom karbon metin, dua atom karbon metilen, dua atom karbon metil dan sepuluh atom karbon kuartener. Senyawa ini juga memiliki struktur eriodiktiol dengan satu substituen isoprenil.

Penempatan substituen isoprenil ditetapkan dengan spektrum HMQC (Lampiran 2.9) dan HMBC (Lampiran 2.10). Korelasi jarak jauh antara sinyal proton 5-OH pada δ_{H} 12,32 dengan tiga sinyal atom karbon kuartener (δ_{C} 159,6, C-5; 107,6, C-6 103,1, C-4a) menunjukkan gugus isoprenil terikat pada C-6.

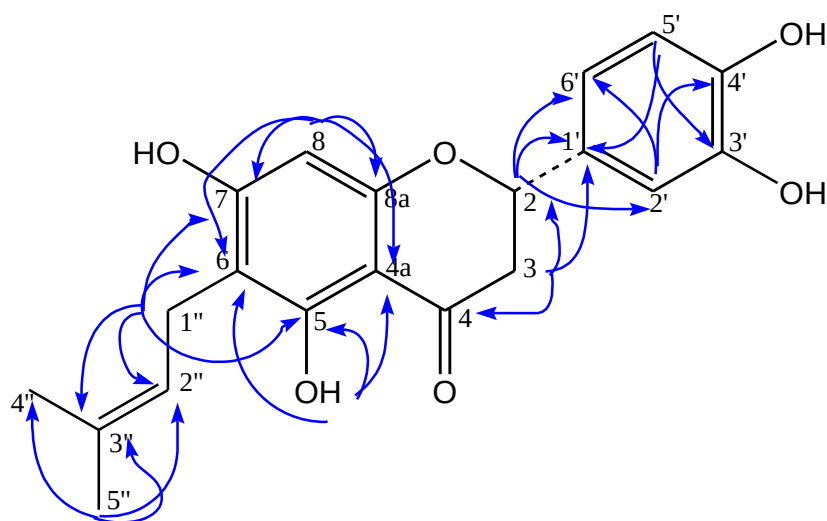
Berdasarkan data UV dan NMR-1D dan 2D, senyawa flavanon hasil isolasi diidentifikasi sebagai 6-isoprenileriodiktiol. Spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa isolasi sesuai dengan 6-isoprenileriodiktiol yang memiliki rumus molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$ massa ion positif m/z $[\text{M}]^+$ 356,126 (Azinova, Vinogradova, 2013).

Berdasarkan analisis spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMQC, dan HMBC, maka masing-masing posisi proton dan karbon senyawa 6-isoprenileriodiktiol hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data spektrum NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol dalam CDCl_3 .

No. C	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC
2	5,27(dd, 12,8, 3,2)	78,5	C-2'
3	3,02(dd,17,2, 12,8) _{ax} 2,79(dd, 17,2, 3,2) _{eq}	43,6	C-2, C-4
4	-	196,8	-
4a	-	103,1	-
5	-	159,6	-
6	-	107,6	-
7	-	162,6	-
8	6,38 (s)	95,8	C-7
8a	-	161,6	-
1'	-	129,3	-
2'	6,98 (d, 1,6)	113,7	C-2, C-4', C-6'
3'	-	147,7	-
4'	-	144,0	-
5'	6,89(d, 8,0)	115,7	C-1', C-3'
6'	6,87(dd, 8,0, 1,6)	119,2	C-2, C-4'
1''	3,30(d,7,2)	21,5	C-5, C-6, C-7, C-2'', C-3''
2''	5,19(bt)	122,0	C-4'', C-5''
3''	-	135,0	-
4''	1,81(s)	18,2	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1,71(s)	26,2	C-2'', C-3'', C-4''
5-OH	12,32(s)	-	C-4a, C-5, C-6

Korelasi HMBC senyawa 6-isoprenileriodiktiol senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Korelasi HMBC senyawa 6-isoprenileriodiktiol.

5.2. Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi etilasetat dengan metoda peredaman radikal DPPH memberikan hasil sebagaimana tertera pada tabel 5.

Tabel 5. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi etilasetat *M. hosei*.

C (µg/mL)	Sampel			
	Ekstrak MeOH		Fraksi EtOH	
	Absorbansi	% inhibisi	Absorbansi	% inhibisi
500	0,123	59,54	0,182	53,33
250	0,149	50,99	0,192	50,77
125	0,154	49,34	0,198	49,23
62,5	0,181	40,46	0,209	46,41
31,25	0,199	34,54	0,211	45,90
15,62	0,216	28,95	-	-
7,81	0,230	24,34	-	-
Control	0,304	0,00	0,390	0,00
IC₅₀ (µg/mL)	174,19		185,38	

Berdasarkan tabel 5 aktivitas antioksidan ekstrak metanol (IC₅₀ 174,19 µg/mL) dan fraksi etil asetat (IC₅₀ 185,38 µg/mL) termasuk kategori aktif karena memiliki nilai IC₅₀ antara 100-200 µg/mL (Muharni, *et al.*, 2013).

Ekstrak metanol dan fraksi etilasetat dari tumbuhan *M. hosei* aktif sebagai antioksidan, hal ini tidak terlepas dari senyawa-senyawa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan tersebut. Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi yaitu 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol dan 6-isoprenileriodiktiol. Senyawa turunan flavonoid dan senyawa polifenol lainnya aktif sebagai antioksidan karena sangat reaktif sebagai donor hidrogen atau elektron. Hubungan struktur dan aktivitas antoksidan dari senyawa flavonoid sangat dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksi yang terikat (Seyoum, *et. al.*, 2006).

5.3. Aktivitas Antikanker terhadap Sel Hela

Analisis aktivitas antikanker terhadap sel HeLa ekstrak metanol dan fraksi etilasetat dengan metoda MTT memberikan hasil sebagaimana tertera pada tabel 6.

Tabel 6. Uji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa ekstrak metanol dan fraksi etilasetat *M. hosei*.

C (µg/mL)	Sampel			
	Ekstrak		Fraksi	
	Abs	% inh	Abs	% inh
100	0,048	89,21	0,045	89.89
10	0,299	32,81	0,181	59.33
1	0,368	17,30	0,331	25.62
0,1	0,384	13,71	0,359	19.33
0,01	0,389	12,58	0,322	27.64
kontrol	0,445	0,00	0,445	0,00
IC ₅₀ (µg/mL)	36,18		7,01	

Berdasarkan tabel 5.4 aktivitas antikanker terhadap sel HeLa ekstrak metanol (IC₅₀ 36,18 µg/mL) termasuk kategori moderat dan fraksi etil asetat (IC₅₀ 7,01 µg/mL) termasuk kategori aktif karena memiliki nilai IC₅₀ antara ≤ 30 µg/mL menurut *National Cancer Institute* (Benzivin, *et al.*, 2003)

Ekstrak metanol dan fraksi etilasetat dari tumbuhan *M. hosei* juga aktif sebagai antikanker serviks, hal ini tidak terlepas dari senyawa-senyawa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan tersebut. Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi yaitu 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol dan 6-isoprenileriodiktiol. Senyawa-senyawa flavonoid terisoprenilasi aktif sebagai antikanker (Tanjung, *et al.*, 2012).

5.2. Luaran yang Dicapai

1. Dua senyawa flavonoid terisoprenilasi telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *M. hosei* yakni 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (**H1**) dan 6-isoprenileriodiktiol (**H2**).
2. Publikasi ilmiah :
 - Marliana, E., Astuti, W., Kosala, K., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2016. Flavanone Derivatives from *Macaranga hosei*, **submit under review ICICS**.
 - Marliana, E., Astuti, W., Kosala, K., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2016. The Anticancer Activities of *Macaranga hosei* Leaves Against HeLa Cell. **Draft jurnal**.

3. Seminar ilmiah

- Marlina, E., Astuti, W., Kosala, K., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2016. Flavanone Derivatives from *Macaranga hosei*, International Conference The Indonesian Chemical Society, 30-31 Agustus 2016, Samarinda, Indonesia.
- Marlina, E., Astuti, W., Kosala, K., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2016. The Anticancer Activities of *Macaranga hosei* Leaves Against HeLa Cell. International Conference of Herbal Medicine , 6-7 Oktober 2016, Lembaga Penelitian Universitas Yarsi, Jakarta Indonesia.

BAB 6

RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana tahapan berikutnya :

1. Isolasi senyawa aktif dari daun *M. hosei* dari fraksi lainnya.
2. Elusidasi struktur senyawa isolat dari daun *M. hosei* dengan spektroskopi ultraviolet dan 1D dan 2D-NMR.
3. Menentukan aktivitas antioksidan senyawa hasil isolasi dengan metode DPPH.
4. Menentukan aktivitas antikanker serviks terhadap sel HeLa dengan metoda MTT.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi etilasetat daun *M. hosei* yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ yaitu 174,19 dan 185,38 µg/mL.
2. Aktivitas antikanker serviks terhadap sel Hela ekstrak metanol dan fraksi etilasetat daun *M. hosei* yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ yaitu 36,18 dan 7,01 µg/mL.
4. Dua senyawa flavonoid terisoprenilasi berhasil diisolasi dari daun *M. hosei* yakni 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol (**H1**) dan 6-isoprenileriodiktiol (**H2**).

7.2 Saran

1. Untuk mengetahui senyawa aktif antioksidan dan antikanker serviks yang terkandung dalam daun *M. hosei*, maka perlu dilakukan isolasi dan penentuan struktur senyawa aktif dari fraksi lainnya.
2. Penentuan aktivitas antioksidan dan antikanker serviks terhadap sel HeLa senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi, untuk mengetahui senyawa yang potensial dikembangkan sebagai antikanker serviks.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., Juliawaty, L.D., Hakim, E.H., Syah, Y.M. 2012. Flavonoid from *Macaranga Lowii*, *ITB J. Sci.*, 44 A (1) : 13-18.
- Azimova, S.S., & Vinogradova, V.I. 2013. Physicochemical and Pharmacological Properties of Flavonoids, Springer Science Bussiness Media, New York. hal. 158.
- Benzivin, C., Devehat Tomasi, S., Boustie, J., 2003, Cytotoxic Activities of some Lischen Extracts on Murine and Human Cancer Cell Lines, *Phytomedicine*, 10 : 499-503
- Dewick, and Paul, M., (2002), *Medical Natural Product, A Biosynthetic Approach*, 2nd Ed., John Wiley and Sons, New York
- Fahmi, M. Z., Ou, K., Chen, J., Ho, M., Tzing, S., and Chang, J., 2014. Development of Bovine Serum Albumin-Modified Hybrid Nanoclusters for Magnetofluorescence Imaging and Drug Delivery, *Royal Soc. Chem. Adv.*, 4, 32762.
- Farida, Y., Martati, T., Musir, A., and Edward, B., 2010, Cytotoxic Activity and Antioxidants from *Typhonium divaricatum* Leaf Extract (L) Decne, *Indonesian J. Pharm. Sci.*, 8 (2), 69-140.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Balai Kehutanan Indonesia, Departemen Kehutan, Jakarta.
- Ito, C., Itoigawa, M., Takakura, T., Ruangrunsi, N., Enjo, F., Tokuda, H., Nishino, H., and Furukawa, H., 2003, Chemical Constituents of *Garcinia fusca*: Structure Elucidation of Eight New Xanthones and Their Cancer hemopreventive Activity, *J. Nat. Prod.*, 66 (2), 200-205.
- Jang, D.S., Cuendet, M., Hawthorne, M.E., Kardono, L.B.S., Kawanishi, K., Fong, H.H.S., Mehta, R.G., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D. 2002. Prenylated Flavonoids of The Leaves of *Macaranga conifera* with Inhibitory Activity against Cyclooxygenase-2, *J. Phytochem.* 61: 867-873.
- Kadoma, Y., and Seiichiro, F., 2011, Radical-Scavenging Activity of Dietary Phytophenols in Combination with co-Antioxidants Using the Induction Period Method, *J. Molecules*, 16, 10457-10470
- Kingston, D.G.I. 2011. Modern Natural Products Drug Discovery and Its Relevance to Biodiversity Conservation, *J. Nat. Prod.*, 74: 496-511.
- Lin, J.K. and Weng, M.S., 2006, Flavonoids as Nutraceuticals, In Grotewold, E., At The Science of Flavonoids, The Ohio State University Columbus, Ohio, USA.
- Mabry, T.J., & K.R. Markham. 1970. Flavonoids: The Systematic Identification of Flavonoid . Sringer-Verlag : New York. pp.35-61.
- Marliana, E., Tanjung, M., Tjahjandarie, T.S., (2015), Isoprenilated flavanone derivatives from *Macaranga hosei* King ex Hook .F. King ex Hook.F., *J.Der Pharmacia Lettre*, 7(3), 153-156.
- Muharni, Elfita, & Amanda, 2013. Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon Dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia xanthochymus*). *Prosiding Semirata FMIPA*. Universitas Lampung, Lampung. Hal.:265-268.
- Phommart, S., Sutthivaiyakit, P., Chimnoi, N., Ruchirawat, S., and Sutthivaiyakit, S., (2005), Constituents of the Leaves of *Macaranga tanarius*, *J. Nat. Prod.*, 68, 927-930.

- Slik, J.W.F., Priyono, Welzen, v.P.C., (2000), *Key to the Macaranga Thou. And Mallotus Lour. Species (Euphorbiaceae) of East Kalimantan, Indonesia, Garden's Bulletin Singapore*, 52, 11-87.
- Sutthivaiyakit, S., Unganont, S., Sutthivaiyakit, P., and Suksamrarn, A., (2002), *Diterpenylated and Prenylated Flavonoids from Macaranga denticulata*, *J. Tetrahedron*, 58, 3619-3622.
- Syah, Y.M., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Hanafi, M., Ghisalberti, E.L., (2009), *Isoprenylated Flavanones and Dihydrochalcones from Macaranga trichocarpa*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 4, 63-67.
- Syah, Y.M., Ghisalberti, E.L., (2010), *Phenolic Derivatives with an Irregular Sesquiterpenyl Side Chain from Macaranga pruinosa*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 5, 219-222.
- Tanjung, M., Hakim, E.H., Mujahidin, D., Hanafi, M., Syah, Y.M., (2009), *Macagigantin, a Farnesylated Flavonol from Macaranga gigantea*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 11, 929-932.
- Tanjung, M., Mujahidin, D., Hakim, E.H., Darmawan, Syah, Y.M. 2010. Geranylated flavonols from *Macaranga rhizinoides*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 5(8):1209-1211.
- Tanjung, M., Hakim, E.H., Elfahmi, Latip, J., M., Syah, Y.M. 2012. Dihydroflavonol and Flavonol Derivatives from *Macaranga recurvata*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 7(10):1309-1310.
- Versiani, M.A., Diyabalanage, T., Ratnayake, R., Henrich, C.J., Bates, S.E., McMahon, J.B., & Gustafson K.R., 2011. Flavonoids from Eight Tropical Plant Species That Inhibit the Multidrug ABCG₂. *Journal Natural Product*, 74:262-266.
- Winarsi H, Dr. M.S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Lampiran 1. Luaran Penelitian

Lampiran 1.1. Sertifikat International Conference The Indonesian Chemical Society



Lampiran 1.2. Surat Keterangan Review artikel dari panitia ICICS



SURAT KETERANGAN

Bersama ini, Panitia Seminar *The 5th International Conference of the Indonesian Chemical Society* (ICICS-2016) memberitahukan bahwa naskah anda :

Judul : *Flavanone Derivatives from Macaranga hosei*
Penulis : 1. Eva Marlina
2. Winni Astuti
3. Khemasili Kosala
4. Tjitjik Srie Tjahjandarie
5. Mulyadi Tanjung
E-mail : eva_samarinda@yahoo.com

Telah diseminarkan pada tanggal 30-31 Agustus 2016 di Swiss-BelHotel Samarinda dan naskah artikel ilmiah telah dikumpulkan pada tanggal 30 Agustus 2016. Naskah artikel tersebut sedang melalui proses *review* untuk diajukan ke salah satu Jurnal yang bekerjasama dengan Seminar ICICS-2016.

Untuk menghindari adanya duplikasi naskah/tulisan dan pelanggaran etika keilmiah, kami berharap agar artikel tersebut tidak dikirimkan dan dipublikasikan ke penerbit jurnal lain.

Demikian surat pemberitahuan ini kami sampaikan, atas partisipasinya kami ucapkan terima kasih.

Hormat Kami,
Ketua Panitia ICICS-2016,



Dr. Rudi Kartika, M.Si

Lampiran 1.3. Artikel dalam review ICICS

Flavanone Derivatives from *Macaranga hosei*

Eva Marlina^{1)*}, Winni Astuti¹⁾, Khemasili Kosala²⁾, TjitjikSrie Tjahjandarie³⁾,
Mulyadi Tanjung³⁾

¹⁾ Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Mulawarman University, Samarinda, Indonesia.

²⁾ Pharmacology Research Group, Faculty of Medicine, Mulawarman University, Samarinda, Indonesia.

³⁾ Natural Products Chemistry Research Group, Organic Chemistry Division, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya, Indonesia.

*email : eva_samarinda@yahoo.com

ABSTRACT

Two isoprenylated flavanones, 4'-O-methyl-8-isoprenyleriodictyol (1) and 6-isoprenyleriodictyol (2) have been isolated from the leaves of Macaranga hosei. The structures of both compounds have been elucidated based on their spectroscopic data, including UV, 1D and 2D NMR, and HREIS-MS spectra.

Keywords: *Macaranga hosei*, flavanone, isoprenylated.

INTRODUCTION

Macaranga is one genus of the family Euphorbiaceae comprising of $\pm$ 300 species. These plants are distributed throughout Indonesia with the local name "Mahang." The distribution of *Macaranga* plants is relatively wide, other than Indonesia, also can be found in Africa, Madagascar, Asia, the east coast of Australia and the Pacific islands [1].

Lampiran 1.4. Sertifikat International Conference of Herbal Medicine



Lampiran 1.5. Draft artikel

The Anticancer activities of *Macaranga hosei* leaves Against HeLa Cell

Eva Marliana^{1)*}, Winni Astuti¹⁾, Khemasili Kosala²⁾

¹⁾ Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Mulawarman University, Samarinda, Indonesia.

²⁾ Pharmacology Research Group, Faculty of Medicine, Mulawarman University, Samarinda, Indonesia.

*Email : eva_samarinda@yahoo.com

Abstract

The genus *Macaranga* is one of family Euphorbiaceae which produce phenolic compounds including flavonoid and stilbenoid which are integrated with terpenoid types. Some species of *Macaranga* have been reported to show the anticancer properties. This researched is aimed to asses the anticancer properties of *Macaranga hosei* against HeLa cell. The *Macaranga hosei* leaves was macerated with methanol and partitioned with *n*-hexane and ethylacetate. Methanol and ethylacetate extracts were tested for their anticancer properties using MTT cytotoxic assay on Hela cells in vitro. The IC₅₀ methanol extract is 36.18 µg/ml and ethylacetat extract is 7.01 µg/ml.

Keywords: *Macaranga hosei*, extraction, anticancer, Hela cell, IC₅₀

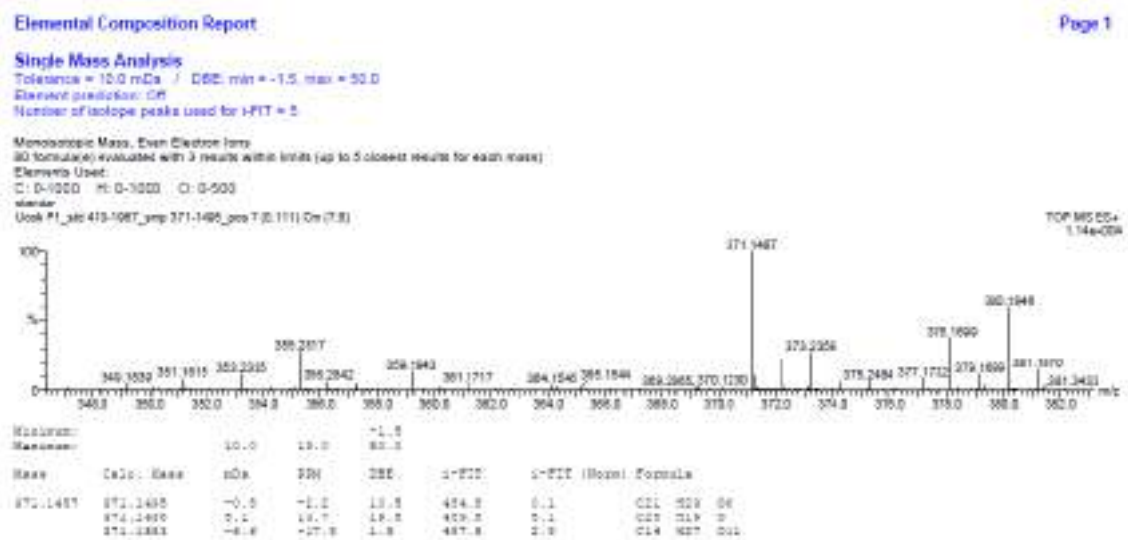
Introduction

Cancer is the major health problems today's world. Cervix / cervical cancer is the most common and Indonesia was the highest prevalence of cervical cancer in the world. One technique of cancer treatment is chemotherapy. Secondary metabolites from plants are one source of potential chemotherapy drugs and till now the search is still underway to find effective and selective anticancer drug as an alternative to overcome the disease [1].

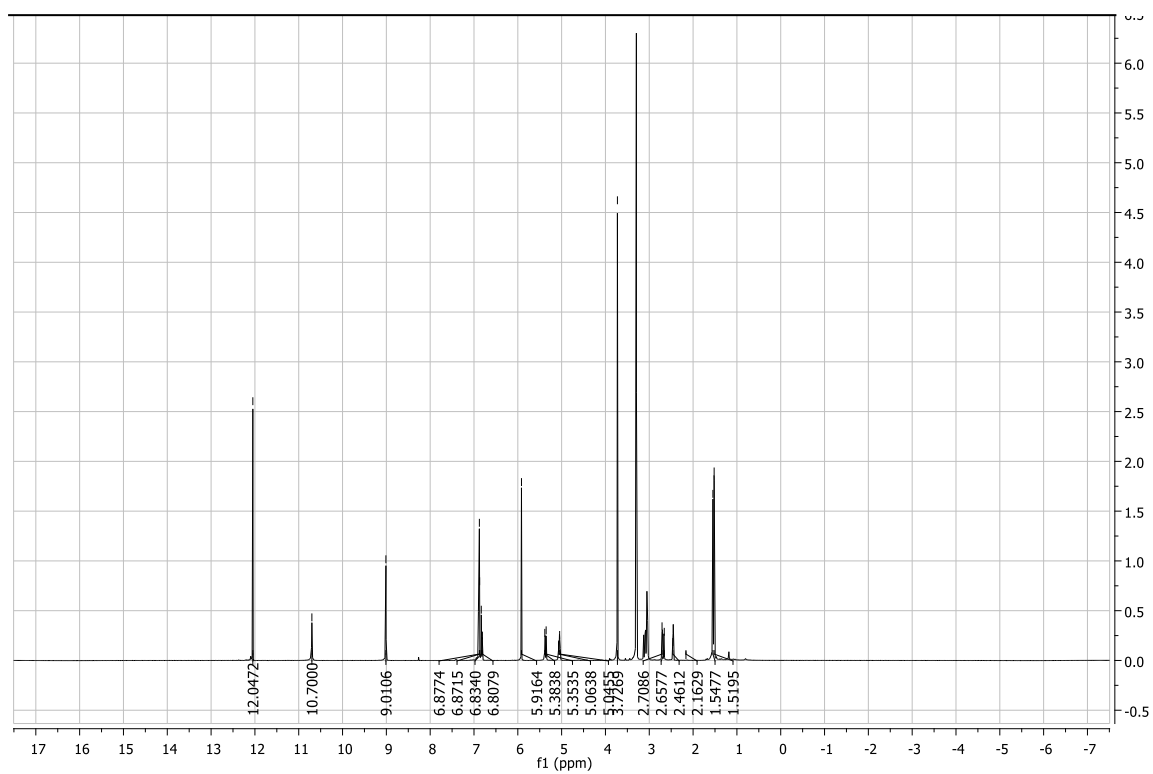
Macaranga is a genus of tropical plant that belongs to the family of *Euphorbiaceae* which produces the flavonoid and stilbenoid compounds integrated with the kind of terpenoids: prenyl, geranyl, and farnesyl which derived flavonoid compounds are very effective as an anti-cancer and a chemopreventive cancer [2,3,4]. *Macaranga* plants that have been reported to have anticancer activity, but only against murine leukemia cells P-388 are *M. recurvata*, *M. lowii*, *M. rhizinoides* and *M. gigantea* [5,6,7,8]. This is necessary to encourage the study the biological activity of extracts and active fractions from *Macaranga hosei* leaves for the development of herbal medicine as an anticancer of cervix.

Lampiran 2. Data Penelitian

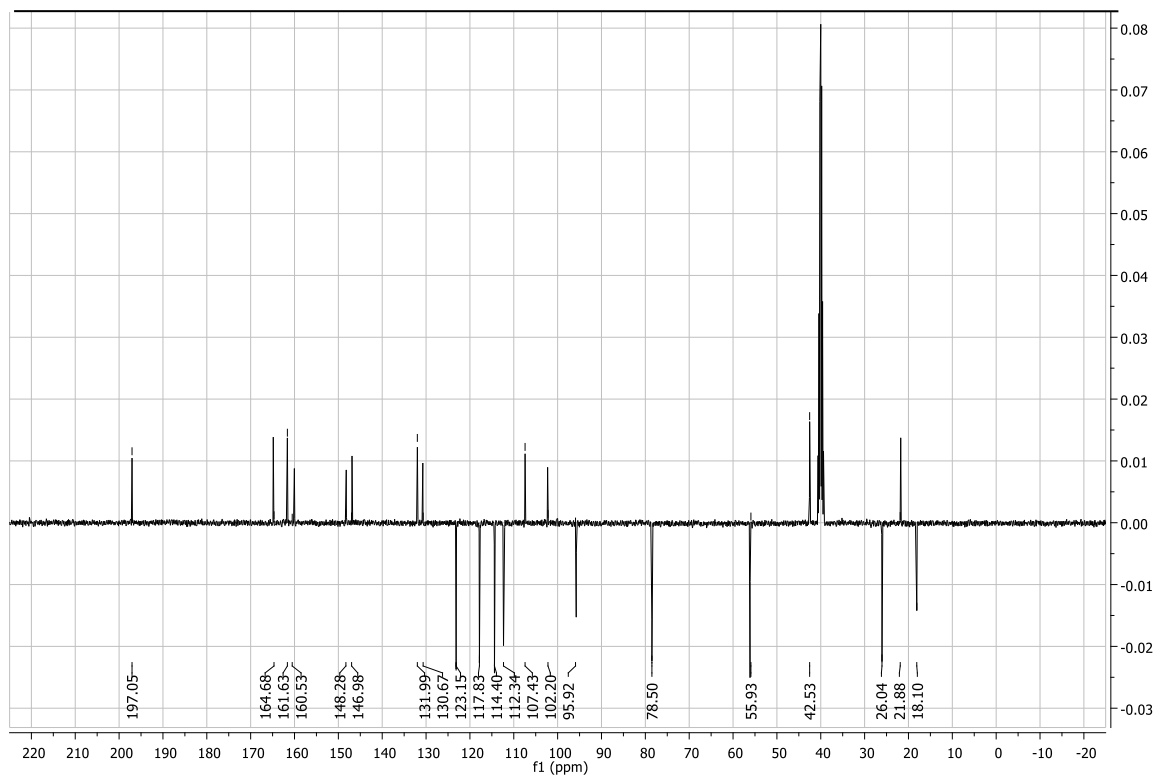
Lampiran 2.1. Spektra ESI-MS senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (**H1**).



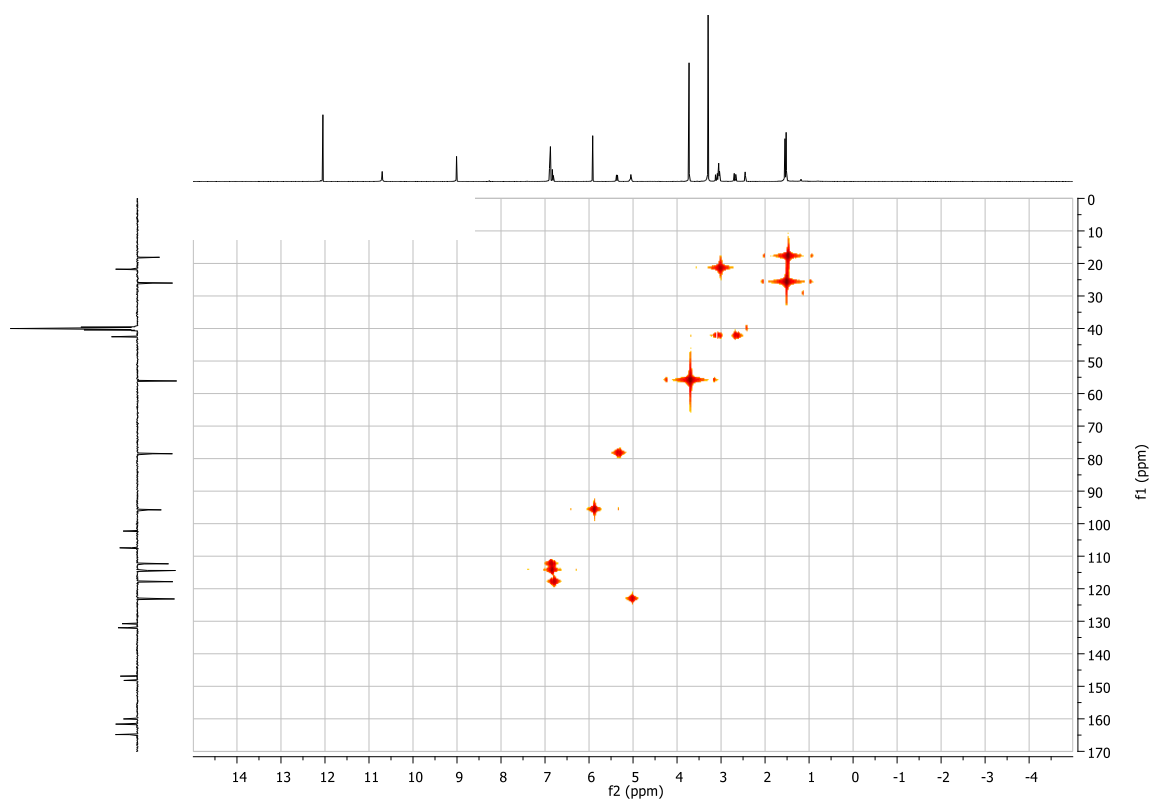
Lampiran 2.2. Spektra ^1H -NMR senyawa 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol (**H1**).



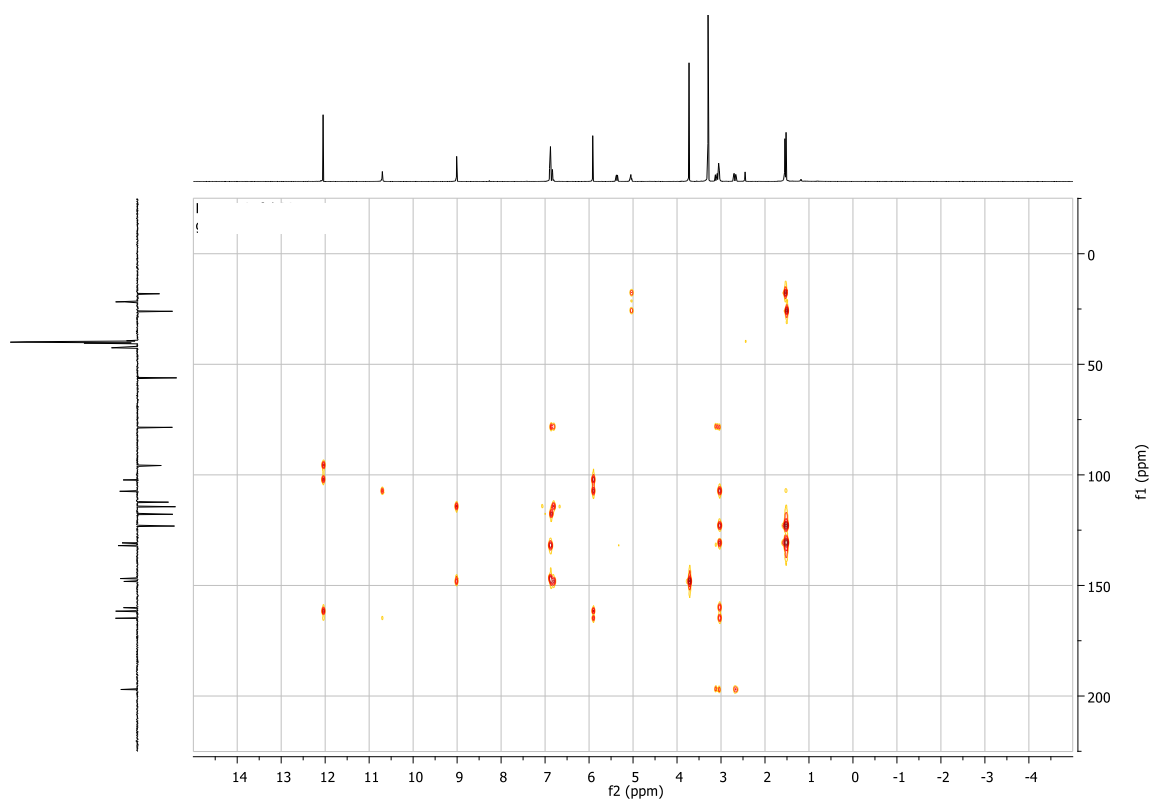
Lampiran 2.3. Spektra ^{13}C -NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).



Lampiran 2.4. Spektra 2D-NMR HMQC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1).



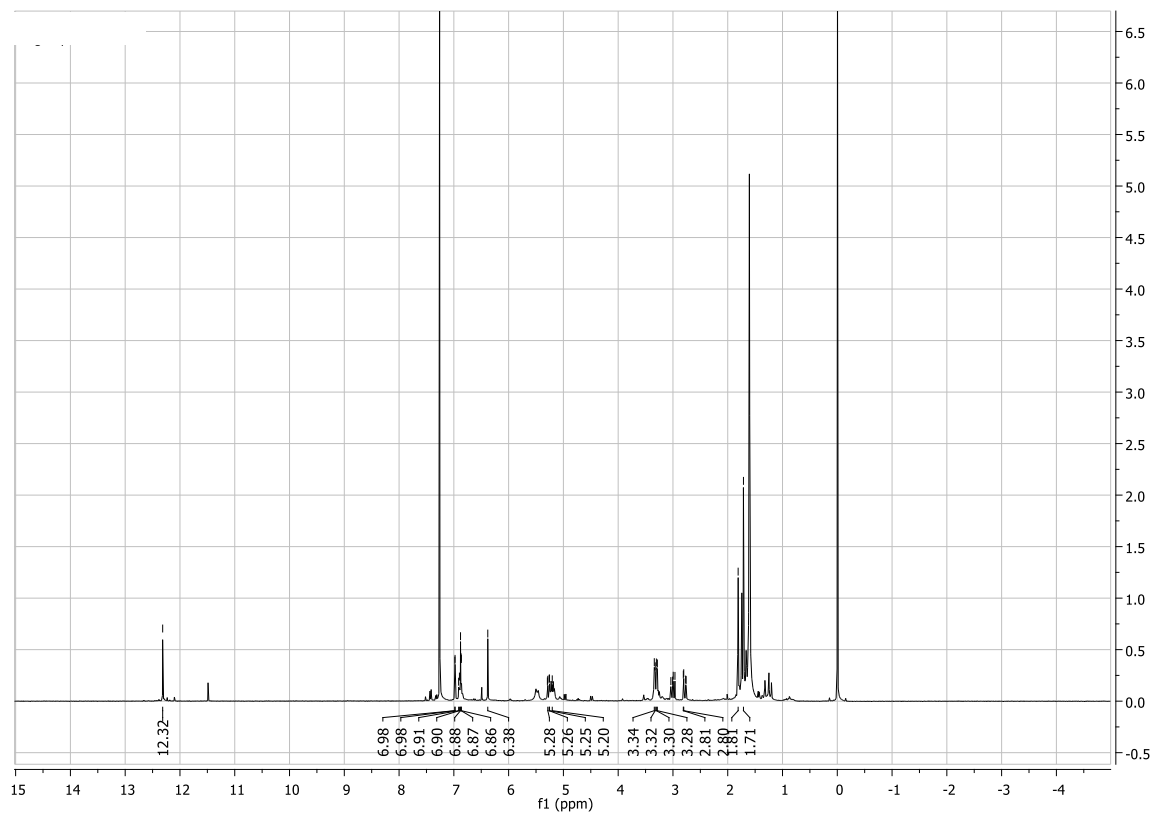
Lampiran 2.5. Spektra 2D-NMR HMBC senyawa 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1)..



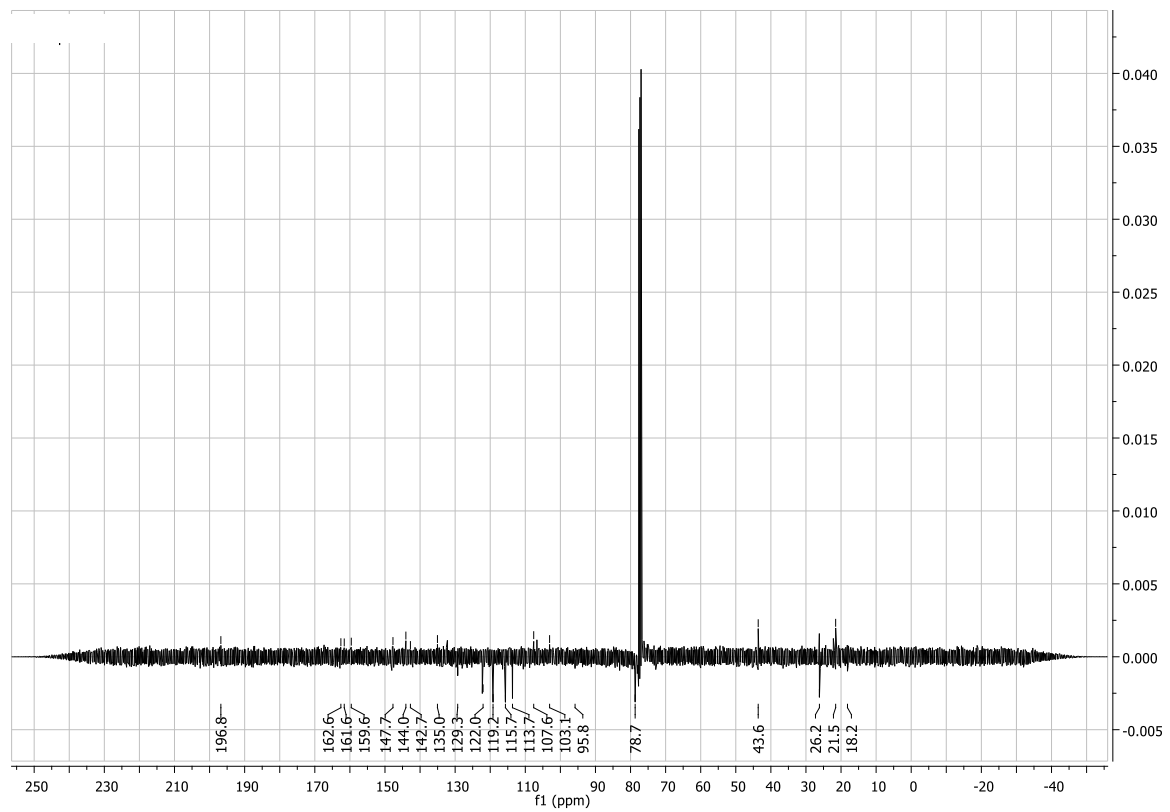
Lampiran 2.6. Perbandingan data spektrum NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol.

No, C	4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (Hasil isolasi)		4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (Versiani, <i>et.al.</i> , 2011)	
	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C
2	5,36(dd, 12,0, 3,2)	78,5	5,30(dd, 12,5, 3,0)	80,3
3	3,03(dd, 17,1, 12,0) _{ax} 2,70(dd, 17,1, 3,2) _{eq}	42,5	3,03(dd, 17,0, 12,5) _{ax} 2,73(dd, 17,0, 2,5) _{eq}	44,2
4	-	197,1	-	198,1
4a	-	102,3	-	103,5
5	-	161,6	-	166,2
6	5,98(s)	95,8	5,93(s)	96,8
7	-	164,8	-	163,3
8	-	107,4	-	109,2
8a	-	160,0	-	161,6
1'	-	132,0	-	133,6
2'	6,87(d, 2,4)	114,4	6,98(d, 1,3)	114,7
3'	-	146,9	-	147,9
4'	-	148,2	-	149,4
5'	6,89(d,8,4)	112,3	6,95(d,8,5)	112,7
6'	6,82(dd,8,4, 2,4)	117,8	6,93(dd,8,5, 1,3)	119,0
1''	3,04 (d, 7,0)	21,8	3,17 (d, 7,6)	22,6
2''	5,05(t, 8,6)	123,2	5,05(t, 8,6)	124,1
3''	-	130,8	-	131,8
4''	1,55(s)	18,1	1,63(s)	18,0
5''	1,52(s)	26,0	1,59(s)	26,1
5-OH	12,05(s)	-	-	-
4'OCH ₃	3,73(s)	56,1	3,87(s)	56,6

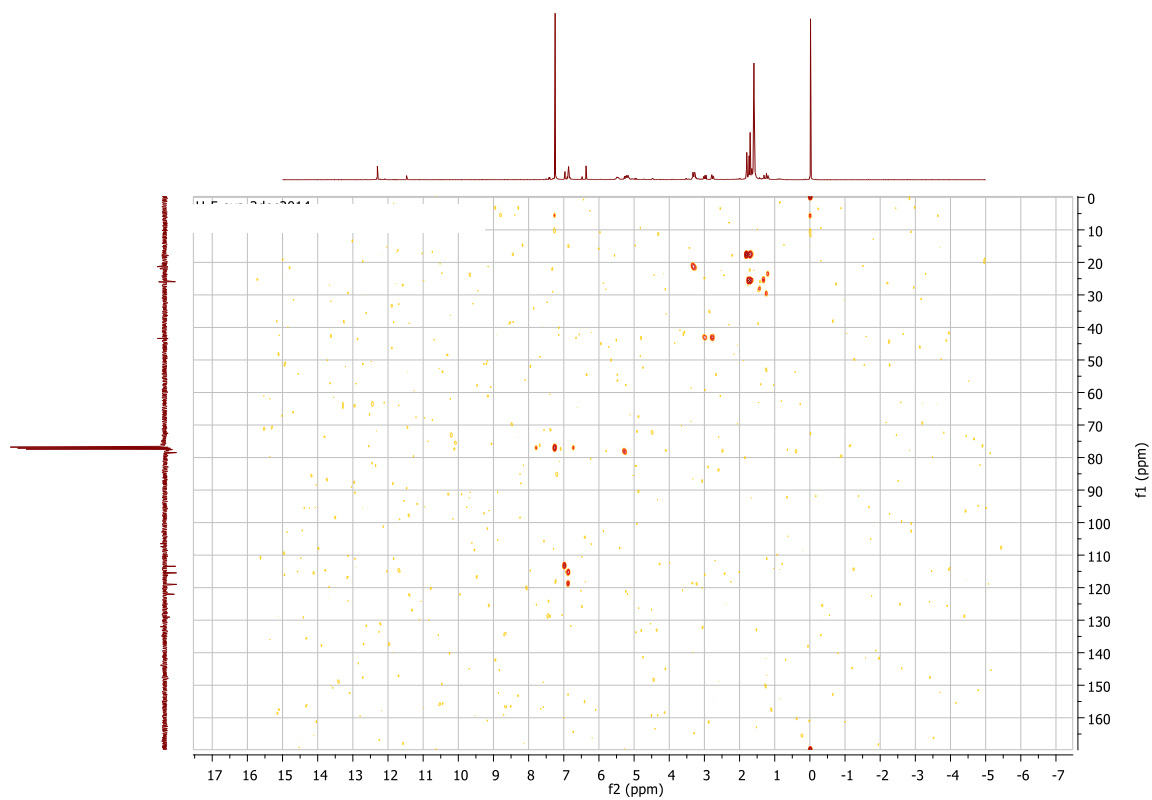
Lampiran 2.7. Spektra ^1H -NMR senyawa 6-isoprenileriodioliol (H2).



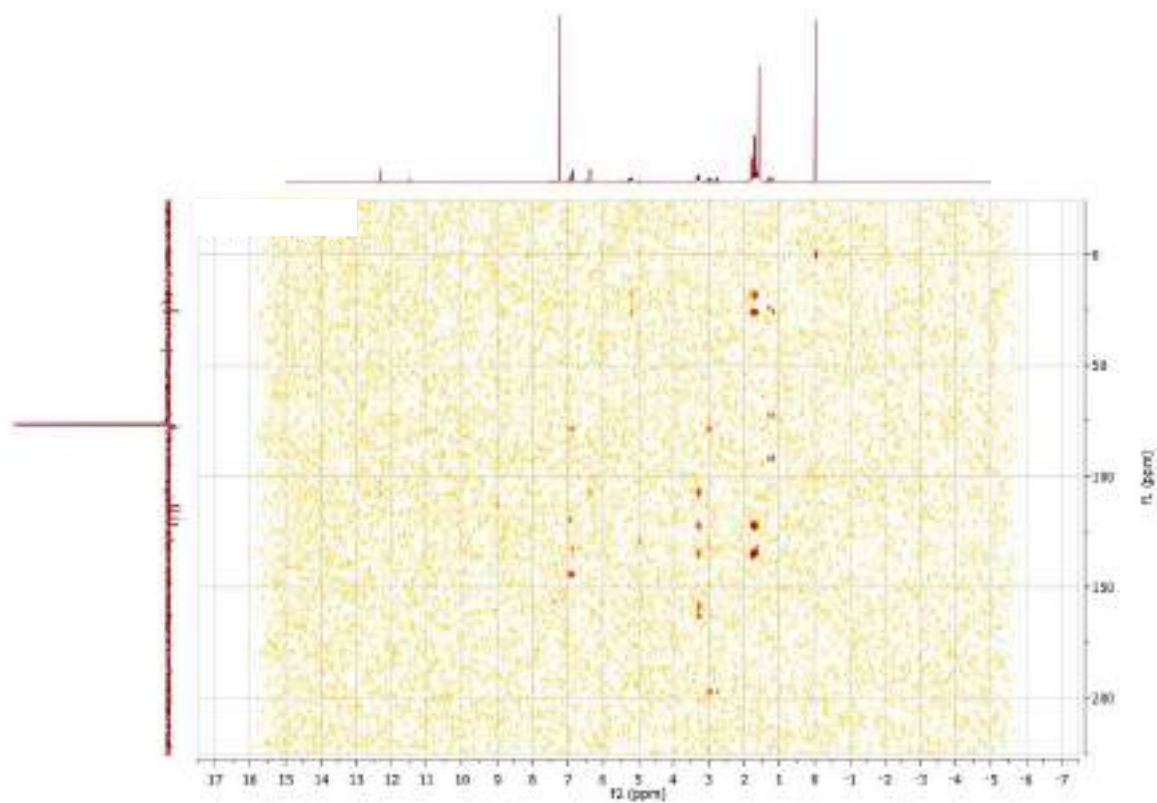
Lampiran 2.8. Spektra ^{13}C -NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol (H2)..



Lampiran 2.9. Spektra 2D-NMR HMQC senyawa 6-isoprenileriodiktiol (**H2**)..



Lampiran 2.10. Spektra 2D-NMR HMBC senyawa 6-prenileriodiktiol (**H2**)..



Lampiran 2.11. Perbandingan data spektrum NMR senyawa 6-isoprenileriodiktiol.

No. C	6-isoprenileriodiktiol (Hasil isolasi)		6-isoprenileriodiktiol (Azinova dan Vinogradova, 2013)	
	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C
2	5,27(dd, 12,8, 3,2)	78,5	5,30(dd)	79,9
3	3,02(dd, 17,2, 12,8) _{ax} 2,79(dd, 17,2, 3,2) _{eq}	43,6	3,01 (dd) 2,78 (dd)	43,7
4	-	196,8	-	197,1
4a	-	103,1	-	103,4
5	-	159,6	-	162,3
6	-	107,6	-	109,1
7	-	162,6	-	165,2
8	6,38 (s)	95,8	6,01 (s)	95,4
8a	-	161,6	-	162,0
1'	-	129,3	-	131,1
2'	6,98(d, 1,6))	113,7	6,98(d)	114,7
3'	-	147,7	-	146,4
4'	-	144,0	-	146,1
5'	6,89(d, 6,0)	115,7	6,89 (d)	116,0
6'	6,87(dd, 6,0, 1,6)	119,2	6,86 (dd)	119,1
1''	3,30(d, 7,2)	21,5	3,31(br d)	21,7
2''	5,19(bt)	122,0	5,20 (br t)	123,7
3''	-	135,0	-	131,7
4''	1,81(s)	18,2	1,73(s)	17,8
5''	1,71(s)	26,2	1,73(s)	25,9
5-OH	12,32(s)	-	11,98(s)	-

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN PRODUK TERAPAN**



**POTENSI DAUN *Macaranga hosei* King ex. Hook F.
SEBAGAI OBAT KANKER SERVIKS**

Tahun ke-2 dari rencana 2 tahun

**DR. EVA MARLIANA, S.Si., M.Si. (0002037501)
Dra. KHEMASILI KOSALA, Apt., Sp.FRS. (1107065501)**

**Dibiayai oleh :
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor : 361/UN17.41/KL/2017**

**UNIVERSITAS MULAWARMAN
OKTOBER 2017**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul	: Potensi Daun Macaranga boseri King ex Hook.F. sebagai Obat Kanker Serviks
Peneliti/Pelaksana	
Nama Lengkap	: Dr EVA MARLIANA, S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi	: Universitas Mulawarman
NIDN	: 0002037501
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: Kimia
Nomor HP	: 08125313454
Alamat surel (e-mail)	: evamarlian4@gmail.com
Anggota (I)	
Nama Lengkap	: Dra KHEMASILI KOSALA
NIDN	: 1107065501
Perguruan Tinggi	: Universitas Mulawarman
Institusi Mitra (jika ada)	
Nama Institusi Mitra	: -
Alamat	: -
Penanggung Jawab	: -
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan	: Rp 70,000,000
Biaya Keseluruhan	: Rp 120,000,000



Mengetahui,
Dekan FMIPA UNMUL

(Dr. Eng. IDRIS MANDANG, M.Si.)
NIP/NIK 197110081998021001

Kota Samarinda, 27 - 10 - 2017

Ketua,

(Dr EVA MARLIANA, S.Si, M.Si)
NIP/NIK 197503022000122001



Menyetujui,
Ketua LP2M UNMUL

(Prof. Dr. SUSILO, M.Pd)
NIP/NIK 197112052002121002

RINGKASAN

Saat ini penyakit kanker menjadi masalah kesehatan utama baik di dunia maupun di Indonesia. Diantara penyakit kanker tersebut kanker leher rahim (serviks) merupakan kanker yang paling banyak diderita. Indonesia merupakan prevalensi penyakit kanker serviks tertinggi di dunia.

Salah satu teknik pengobatan kanker adalah kemoterapi. Senyawa metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial. Sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan sehingga perlu mendapat perhatian peneliti untuk menemukan obat antikanker yang efektif dan selektif sebagai alternatif untuk menanggulangi penyakit tersebut serta aktif antioksidan untuk meningkatkan stamina dan sistem imun tubuh.

Macaranga merupakan genus besar tumbuhan tropis yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae yang menghasilkan senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid yang terpadu dengan jenis terpenoid. Senyawa-senyawa flavonoid dan stilbenoid dari tumbuhan *Macaranga* memperlihatkan berbagai bioaktivitas seperti antitumor, antikanker, antivirus, antimikroba, dan antioksidan.

Penelitian tahun kedua ini bertujuan untuk membuktikan khasiat sebagai antikanker serviks dan kekuatan aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada isolat daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F., serta mengetahui struktur senyawa isolat. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat ditemukan isolat yang aktif antioksidan dan antikanker serviks yang dapat dikembangkan sebagai obat herbal serta sifat antioksidan dan antikanker yang kuat dari senyawa turunan flavonoid tumbuhan ini dapat dijadikan sebagai senyawa induk (**lead compound**) untuk pengembangan senyawa obat antikanker baru.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstraksi, fraksinasi dan pemurnian menggunakan berbagai teknik kromatografi seperti kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom flash, dan kromatografi radial (KR). Penentuan struktur molekul ditetapkan berdasarkan cara-cara spektroskopi, yang meliputi spektroskopi ultraviolet (UV), resonansi magnet inti (NMR) 1D (^1H NMR dan ^{13}C NMR) dan 2D (HMQC dan HMBC) serta spektroskopi massa (MS). Selanjutnya, senyawa-senyawa hasil isolasi ditentukan sifat antioksidan terhadap pereaksi DPPH (2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan metode peredaman radikal bebas dan aktivitas antikanker terhadap sel kanker leher rahim (HeLa) dengan metode *microculture tetrazolium technique* (MTT).

Penelitian ini telah berhasil mengisolasi 4 senyawa yakni 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H1), 6-isoprenileriodiktiol (H2), 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin (H3) dan lonkokarpol A (H4). Aktivitas antioksidan daun *M. hosei* dengan IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) isolat berturut-turut (198,86; -, 286,50; 174,193). Aktivitas antikanker serviks terhadap sel HeLa daun *M. hosei* dengan IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) isolat berturut-turut (6,39; -, 21,46; 5,62). Berdasarkan nilai IC_{50} , senyawa 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H3) dan lonkokarpol A (H4) berpotensi sebagai antioksidan dan antikanker serviks. Hasil penelitian ini dalam proses *under review* artikel pada *Asian Journal of Chemistry* dan telah disampaikan pada *International Conference of The Indonesian Chemical Society* (ICICS) tanggal 17-18 oktober 2017 di Palembang.

Kata Kunci : *Macaranga hosei* King ex Hook .F., flavonoid, antioksidan dan antikanker serviks

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. yang senantiasa memberikan petunjuk, bimbingan dan kemudahan-Nya sehingga laporan akhir Penelitian Produk Terapan tahun ke-2 yang berjudul “Potensi daun *Macaranga hosei* King Ex Hook F. sebagai obat kanker Serviks” dapat diselesaikan. Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Rektor Universitas Mulawarman.
2. Dekan FMIPA Universitas Mulawarman.
3. Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia yang telah memberikan dana Penelitian Produk Terapan.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan laporan akhir ini masih belum sempurna, untuk itu segala saran sangat diharapkan demi kesempurnaan penyusunan laporan kemajuan ini.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Kanker.....	3
2.2 Fitokimia dan Bioaktivitas <i>Macaranga</i>	4
2.3 Fitokimia <i>Macaranga hosei</i> King Ex Hook F.....	6
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	7
3.1 Tujuan Penelitian.....	7
3.2 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	8
4.1 Bagan Penelitian Secara Keseluruhan.....	8
4.2 Lokasi Penelitian	9
4.3 Metode Penelitian	9
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	12
5.1 Hasil Penelitian.....	12
5.1.1 Pemurnian Senyawa Flavonoid.....	12
5.1.2 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi.....	12
5.1.3 Aktivitas Antioksidan.....	17
5.1.4 Aktivitas Antikanker serviks terhadap sel HeLa.....	18
5.2 Luaran yang dicapai.....	20
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	21
6.1 Kesimpulan.....	21
6.2 Saran.....	21
DAFTAR PUSTAKA.....	22
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	24

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Aktivitas antikanker senyawa flavonoid <i>Macaranga</i>	4
Tabel 2.2 Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid <i>Macaranga</i>	5
Tabel 5.1 Data spektrum NMR senyawa 4'- <i>O</i> -metill-8-isoprenilnaringenin dalam CDCl ₃	14
Tabel 5.2 Data spektrum NMR senyawa lonkokarpol A dalam CDCl ₃	17
Tabel 5.3 Uji aktivitas antioksidan senyawa isolat dari daun <i>M. hosei</i>	17
Tabel 5.4 Uji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa senyawa isolat dari daun <i>M. hosei</i>	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Senyawa flavanoid tumbuhan <i>Macaranga</i> aktif sebagai antikanker.....	4
Gambar 2.2 Senyawa flavanoid tumbuhan <i>Macaranga</i> aktif sebagai antioksidan.....	5
Gambar 2.3 Senyawa flavanon terprenilasi tumbuhan <i>M. hosei</i> King ex Hook .F.....	6
Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian secara Keseluruhan (2 Tahun)..	8
Gambar 5.1 Korelasi HMBC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.....	15
Gambar 5.2 Korelasi HMBC senyawa lonkokarpol A.....	16
Gambar 5.3 Grafik hubungan konsentrasi dan persen inhibisi aktivitas antioksidan tiga isolat <i>Macaranga hosei</i>	18
Gambar 5.4 Grafik hubungan konsentrasi dan persen inhibisi aktivitas antioksidan tiga isolat <i>Macaranga hosei</i>	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	24
Lampiran 1.1	24
Lampiran 1.2	25
Lampiran 1.3	33
Lampiran 1.4	34
Lampiran 1.5	35
Lampiran 1.6	36
Lampiran 1.7	37
Lampiran 2	38
Lampiran-2.1	38
Lampiran-2.2	39
Lampiran-2.3	40
Lampiran-2.4	41
Lampiran-2.5	42
Lampiran-2.6	43
Lampiran-2.7	44
Lampiran-2.8	45
Lampiran-2.9	46
Lampiran-2.10	47
Lampiran-2.11	48
Lampiran-2.12	49

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini penyakit kanker menjadi masalah kesehatan utama baik di dunia maupun di Indonesia. Menurut data WHO tahun 2013, insiden kanker meningkat dari 12,7 juta kasus tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus tahun 2012. Sedangkan jumlah kematian meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Kanker menjadi penyebab kematian nomor 2 di dunia sebesar 13% setelah penyakit kardiovaskular. Diperkirakan pada 2030 insiden kanker dapat mencapai 26 juta orang dan 17 juta diantaranya meninggal akibat kanker. Indonesia merupakan prevalensi penyakit kanker serviks tertinggi di dunia. Berdasarkan estimasi Globocan, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, insiden kanker leher rahim 17 per 100.000 perempuan (Kemkes RI, 2014).

Kanker serviks ditandai dengan tumbuhnya sel-sel tidak normal pada leher rahim. Diperkirakan 90 persen kanker leher rahim disebabkan *human papilloma virus* (HPV). HPV menyerang kulit dan membran mukosa pada manusia dan hewan. Selain itu di dalam tubuh kita juga terbentuk radikal bebas secara terus – menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti polusi lingkungan, ultraviolet (UV), asap rokok dan lain – lain memicu munculnya penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

Kanker merupakan penyakit akibat pembelahan sel jaringan tubuh yang tidak terkendali. Pertumbuhan sel yang tidak terkendali ini akan menyerang jaringan biologis di dekatnya serta mampu bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik hingga dapat menyebabkan kematian. Salah satu teknik pengobatan kanker ialah kemoterapi. Senyawa metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial. Sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan (Farida, *et .al.*, 2010).

Macaranga merupakan genus besar tumbuhan tropis yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae. Sekitar 300 spesies *Macaranga*, 125 spesies diantaranya tumbuh di Indonesia. Di Indonesia tumbuhan ini dikenal dengan nama daerah mahang merupakan tumbuhan pelopor, dan banyak dijumpai pada lahan terbuka atau hutan

yang sudah rusak (Slik, *et.al.*, 2000). Tumbuhan *Macaranga* telah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, diantaranya sebagai bahan bangunan untuk tiang atau atap serta pengobatan tradisional. Beberapa penggunaan obat tradisional dari tumbuhan ini yang penting, antara lain digunakan sebagai obat diare, luka, dan batuk (Heyne, 1987). Kajian fitokimia tumbuhan *Macaranga* masih relatif terbatas. Dari penelusuran literatur diketahui bahwa *Macaranga* menghasilkan senyawa fenolik yakni golongan flavonoid dan stilbenoid. Keunikan senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid tumbuhan ini yakni terikatnya jenis terpenoid pada inti aromatik antara lain jenis prenil (C₅), geranil (C₁₀), farnesil (C₁₅), dan geranil geranil (C₂₀) (Tanjung, *et.al.*, 2012; Sutthivaiyakit, *et.al.*, 2002; Syah, *et.al.*, 2009). Senyawa-senyawa turunan flavonoid sangat efektif sebagai zat antikanker dan kemopreventif kanker (Lin dan Weng, 2006). Senyawa-senyawa flavonoid dan stilbenoid dari tumbuhan ini memperlihatkan bioaktivitas sebagai antioksidan, inhibitor enzim COX (*cyclooxygenase*), antikanker, antitumor, dan sifat pengatur pertumbuhan tanaman (Tanjung, *et.al.*, 2012; Kingston, 2011; Sutthivaiyakit, *et.al.*, 2002; Jang, *et.al.*, 2002). Berdasarkan skrining fitokimia daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. mengandung senyawa flavonoid dari isolasi ekstrak etilasetat tumbuhan tersebut serta analisis data spektrum UV-Vis, NMR dan ESI-MS menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa flavonoid golongan flavanon yang tersubstitusi prenil (Marliana, *et. al.*, 2015).

Tumbuhan *Macaranga* yang telah dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker, namun baru terhadap sel *murine leukemia* P-388 yaitu *M. recurvata* (Tanjung, *et.al.*, 2012), *M. lowii* (Agustina, *et.al.*, 2012) *M. rhizinoides* (Tanjung, *et.al.*, 2010) dan *M. gigantea* (Tanjung, *et.al.*, 2009). Dari kajian literatur bioaktif senyawa flavonoid *Macaranga*, belum ada penelitian antikanker yang spesifik pada sel kanker leher rahim, maka senyawa-senyawa flavonoid dari *Macaranga hosei* King ex Hook .F. sangat berpotensi sebagai obat antikanker leher rahim atau serviks.

Berdasarkan latar belakang di atas diharapkan dapat ditemukan ekstrak dan fraksi yang aktif antioksidan dan antikanker serviks yang dapat dikembangkan sebagai obat herbal serta sifat antioksidan dan antikanker serviks yang kuat dari senyawa turunan flavonoid daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. ini dapat dijadikan sebagai senyawa induk (***lead compound***) untuk pengembangan obat antikanker serviks baru.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker merupakan penyakit akibat pembelahan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal atau tidak terkendali. Pertumbuhan sel yang tidak normal ini akan menyerang jaringan biologis di dekatnya serta mampu bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik hingga dapat menyebabkan kematian (Farida, *et. al.*, 2010). Pengobatan kanker umumnya menggabungkan pembedahan dan radiasi dengan kemoterapi. Tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial, sehingga sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan. Fungsi kerja obat-obatan ini ialah sebagai pelindung dan penekan terjadinya karsinogenesis.

Salah satu metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antikanker ialah metode *microculture tetrazolium technique* (MTT) secara *in vitro*. Sel kanker yang digunakan ialah sel HeLa yang merupakan sel kanker rahim. Dalam metode MTT, penambahan senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker rahim HeLa dapat mempengaruhi proses reduksi garam tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang berada pada mitokondria sel kanker hidup.

Reaksi reduksi tersebut akan menghasilkan kristal formazan berwarna biru gelap yang tidak dapat larut dalam air. Penambahan reagen dimetil sulfoksida akan melarutkan kristal formazan biru gelap yang kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm menggunakan alat yang disebut *Biotech Powerwave XS plate reader*. Intensitas warna biru gelap yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang hidup (Fahmi, *et. al.*, 2014).

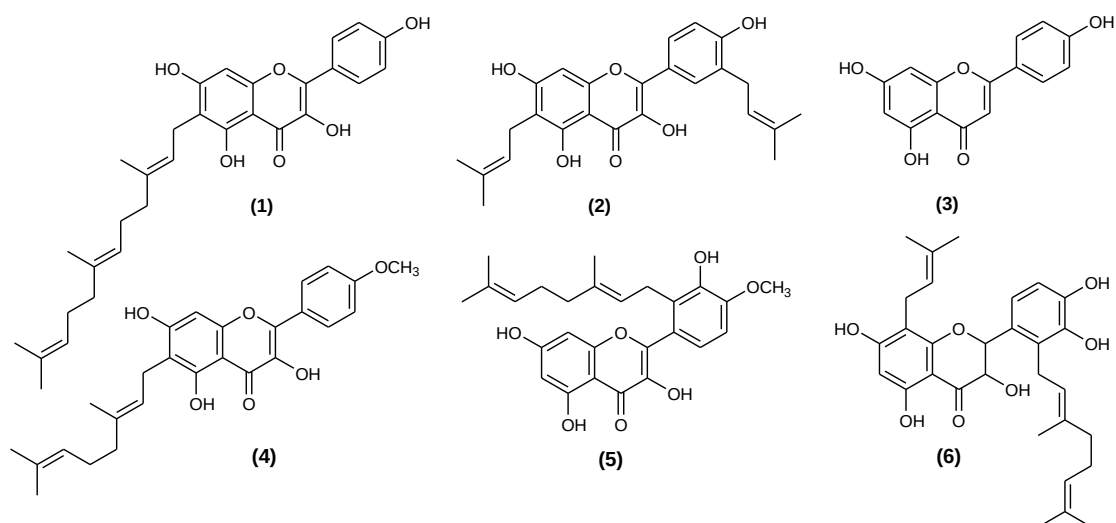
Dalam metode MTT, nilai IC_{50} dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan senyawa uji terhadap berbagai konsentrasi. Sifat sitotoksik suatu senyawa dikategorikan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 2$ ppm (10 μ M), sedang 2-4 ppm (10-20 μ M), lemah > 4 ppm (IC_{50} 20-40 μ M), dan tidak aktif jika $IC_{50} > 40$ μ M (Ito, *et.al.*, 2003).

2.2 Fitokimia dan Bioaktivitas *Macaranga*

Sifat antikanker senyawa turunan flavonoid dari tumbuhan *Macaranga* yang telah dipublikasikan adalah macagigantin (1), glyasperin (2), apigenin (3) dari *Macaranga gigantea* (Tanjung, *et.al.*, 2009) dan macarhizinoidins A (4) dan macarhizinoidins B (5) dari *Macaranga rhizinoides* (Tanjung, *et.al.*, 2010) dan macarecurvatin B (6) dari *Macaranga recurvata* (Tanjung, *et.al.*, 2012). Aktivitas antikanker senyawa-senyawa tersebut terhadap sel kanker leukemia Murine P-388 dapat dilihat pada Tabel-2.1.

Tabel-2.1. Aktivitas antikanker senyawa flavonoid *Macaranga*

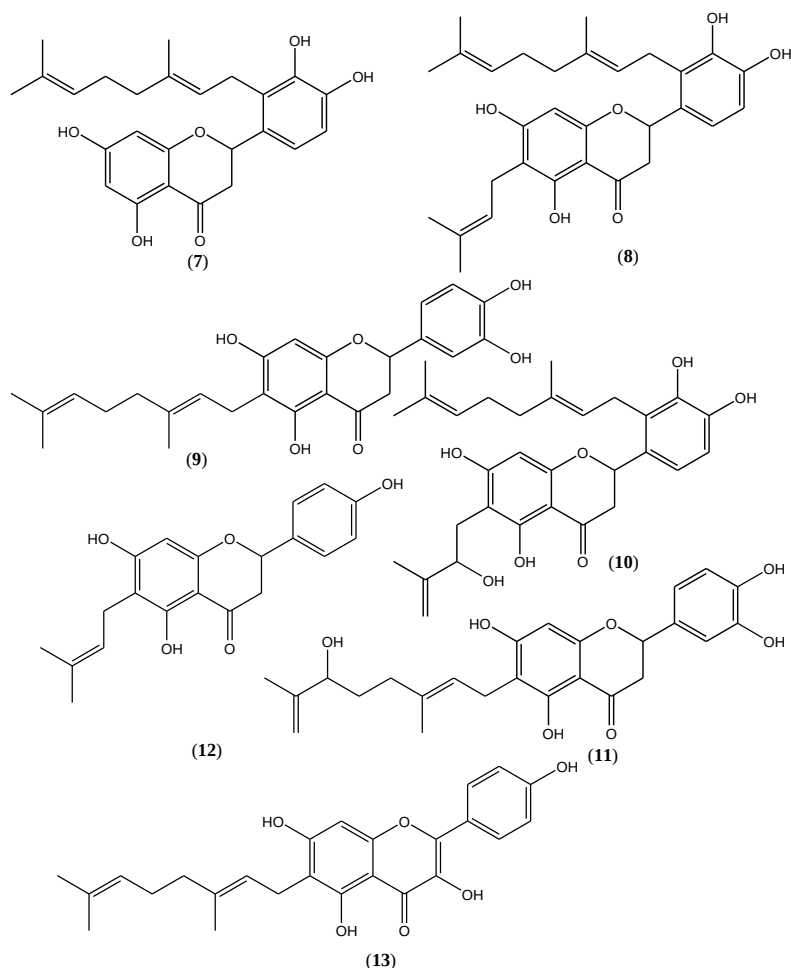
Senyawa	IC ₅₀ (μM)
macagigantin (1)	113.6
glyasperin (2)	6.0
apigenin (3)	5.1
macarhizinoidins A (4)	11.4
macarhizinoidins B (5)	13.9
Macarecurvatin (6)	0.83



Gambar-2.1. Senyawa flavanoid tumbuhan *Macaranga* aktif sebagai antikanker

Sifat antioksidan senyawa-senyawa turunan flavonoid tumbuhan *Macaranga*, enam senyawa turunan flavanon yakni senyawa nimpaeol B (7), nimpaeol C (8), dan nimpaeol A (9), tanariflavanon C (10), tanariflavanon D (11), soforaflavanon B (12) dan satu turunan flavonol (senyawa makarangin) (13) telah diujikan terhadap radikal bebas DPPH. Hasil pengujian sifat antioksidan tersebut tercantum pada Tabel-2 dengan menggunakan BHT [(2,6-di-tert-butil)-4-metilfenol] sebagai kontrol positif.

Hasil uji antioksidan senyawa tanariflavanon C (10) dan makarangin (13) memperlihatkan sifat antioksidan sebanding dengan BHT. Nimpaeol A (9), nimpaeol B (7), dan nimpaeol C (8) memperlihatkan sifat antioksidan dua kali lebih kuat dibandingkan dengan BHT. (Phommart *et.al.*, 2005; Sutthivaiyakit *et.al.*, 2002).



Gambar-2.2. Senyawa flavanoid tumbuhan *Macaranga* aktif sebagai antioksidan

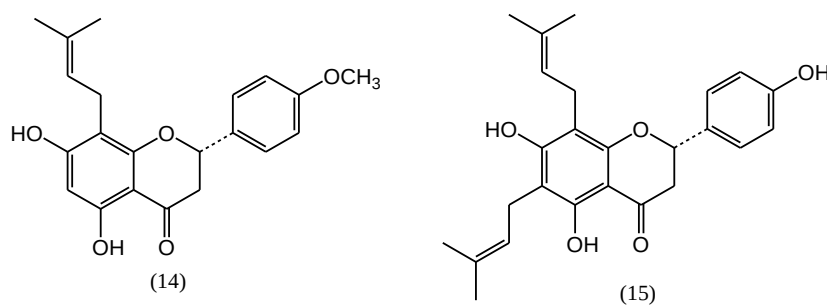
Tabel-2.2. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid *Macaranga*

Senyawa	Jenis	IC ₅₀ (µg/mL)
Nimpaeol B (7)	Flavanon	13
Nimpaeol C (8)	Flavanon	15
Nimpaeol A (9)	Flavanon	14
Tanariflavanon C (10)	Flavanon	33
Tanariflavanon D (11)	Flavanon	20
Soforaflavanon B (12)	Flavanon	Tidak aktif
Makarangin (13)	Flavonol	32
BHT (kontrol positif)	-	30

Senyawa golongan flavonoid tumbuhan *Macaranga* mempunyai pola *meta* dioksigenasi di C-5 dan C-7 di cincin A, monooksigenasi di C-4' atau *orto* dioksigenasi di C-3' dan C-4' di cincin B seperti lazimnya senyawa flavonoid yang ditemukan pada tumbuhan. Demikian juga halnya dengan senyawa golongan stilbenoid memperlihatkan pola yang sama dengan flavonoid mengingat secara biosintesis pembentukan senyawa flavonoid dan stilbenoid berasal dari jalur sikhimat (Dewick, 2002). Keragaman struktur senyawa golongan flavonoid dan stilbenoid diperluas dengan adanya gugus terpenil yang terikat pada inti aromatik yakni substituen prenil (C₅), geranil (C₁₀), farnesil (C₁₅), dan geranil geranil (C₂₀). Dengan adanya gugus terpenil tersebut pada kerangka flavonoid dan stilbenoid memberi peluang ditemukannya senyawa baru dan kerangka baru dari tumbuhan *Macaranga*.

2.3 Fitokimia *Macaranga hosei* King ex Hook .F.

Tanaman *Macaranga hosei* King ex Hook .F. banyak ditemukan di Kalimantan (Slik, *et.al.* 2000). Dari studi literatur dilaporkan fitokimia *Macaranga hosei* King ex Hook .F. terkandung senyawa flavonoid terprenilasi 4'-O-methyl-8-isoprenylnaringenin (14) dan Lonchocarpol A (15) (Marliana, *et.al.*, 2015).



Gambar-2.3. Senyawa flavanon terprenilasi tumbuhan *M. hosei* King ex Hook .F.

Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan adalah determinasi tanaman di herbarium wanariset Samboja Kaltim. Skrining fitokimia dengan metode kromatografi lapis tipis positif mengandung flavonoid dan skrining antioksidan berdasarkan kromatografi lapis tipis dengan pereaksi DPPH diketahui senyawa flavonoid memiliki sifat antioksidan. Berdasarkan studi literatur dan uji pendahuluan maka akan dilakukan isolasi senyawa flavonoid yang potensial sebagai antioksidan dan antikanker serviks yang juga diujikan pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat.

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah membuktikan khasiat sebagai antikanker serviks dan kekuatan aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak metanol, fraksi aktif dan senyawa-senyawa isolat dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. serta dilakukan elusidasi struktur senyawa-senyawa hasil isolasi.

Tujuan Penelitian Tahun Kedua

- a. Isolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi aktif lainnya dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F.
- b. Menentukan struktur kimia senyawa-senyawa hasil isolasi.
- c. Menentukan aktivitas antioksidan senyawa-senyawa hasil isolasi dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. dengan metode peredaman radikal DPPH.
- d. Menentukan aktivitas antikanker serviks dari senyawa-senyawa hasil isolasi dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. dengan metode MTT terhadap sel kanker serviks (HeLa).

3.2 Manfaat Penelitian

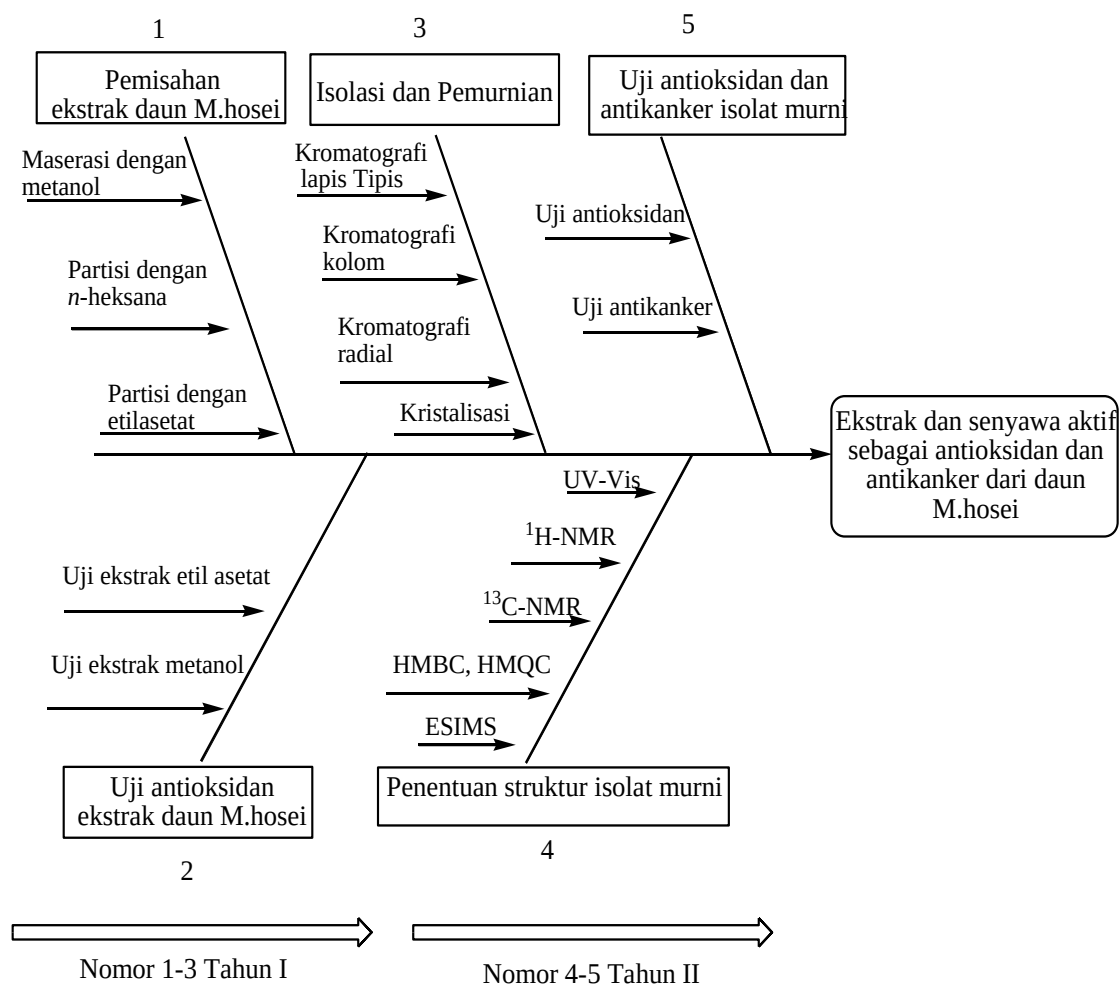
Dari 125 spesies *Macaranga* yang tumbuh di Indonesia baru 8 spesies dilaporkan data fitokimianya. Untuk uji antikanker baru terbatas pada sel kanker leukemia Murine P-388 (Tanjung, *et.al.*, 2009, 2010, 2012 dan Agustina, *et.al.*, 2012), belum ada uji aktivitas pada sel kanker leher rahim (HeLa). Sebagai bagian untuk menemukan antioksidan dan antikanker dari tumbuh-tumbuhan, penelitian ini mengkaji potensi antioksidan dan antikanker tumbuhan *Macaranga hosei* King ex Hook .F. yang tumbuh di Kaltim dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Dari penelitian ini diharapkan ekstrak, fraksi dan senyawa flavonoid dari daun *Macaranga hosei* King ex Hook .F. yang aktif antioksidan dan antikanker serviks dapat dikembangkan sebagai obat herbal dapat dijadikan sebagai senyawa induk (**lead compound**) untuk pengembangan obat antikanker serviks baru.

BAB 4

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Tujuan penelitian dapat dicapai menggunakan metode yang umum digunakan dalam penelitian kimia bahan alam yaitu dimulai dengan pemilihan dan identifikasi spesies tumbuhan untuk keabsahan sampel yang digunakan, isolasi dan pemurnian, penentuan struktur kimia, uji bioaktivitas serta analisis data yang diperoleh.

4.1 Bagan Penelitian Secara Keseluruhan



Gambar -4.1 : Diagram Alur Penelitian secara Keseluruhan (2 Tahun)

4.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman, Samarinda. Analisis spektroskopi NMR dilakukan di laboratorium Pusat Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis spektroskopi massa di Laboratorium instrumen ITB. Dan uji aktivitas antikanker dilakukan di laboratorium Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor.

4.3 Metode Penelitian

TAHUN II

1. Fraksinasi dan Pemurnian

Melanjutkan fraksinasi dan pemurnian dari fraksi aktif kedua, hasil ekstraksi tahun pertama. Pemisahan dan pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom tekan dan kromatografi radial. Untuk penampak noda pada masing-masing hasil kromatografi menggunakan lampu UV dan pereaksi $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Senyawa Murni sebagai target diuji kemurniannya menggunakan analisis KLT dengan berbagai eluen.

2. Verifikasi Kemurnian Isolat

Kemurnian isolat ditentukan berdasarkan hasil analisis KLT dengan fasa diam silika gel. Isolat dikatakan murni apabila tetap memberikan satu noda pada tiga sistim eluen yang berbeda.

3. Pembuatan Spektrum UV, NMR dan MS

Penentuan struktur molekul senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan spektrometer ultraviolet (UV), *nuclear magnetic resonance* (NMR), dan spektrometer massa (MS). Pengukuran panjang gelombang maksimum λ_{max} , menghitung koefisiensi eksistensi molar ε_{max} dan penentuan efek batokromik dengan NaOH atau pereaksi geser lainnya pada senyawa hasil isolasi ditentukan menggunakan spektrometer ultraviolet (UV) dalam pelarut metanol. Penentuan massa molekul dan rumus molekul ditentukan dengan pengukuran spektrometer massa HRESIMS (*high resolution electro spray ionization mass spectrometer*). Pengukuran spektrum NMR dilakukan dengan melarutkan senyawa hasil isolasi dengan aseton- d_6 atau CDCl_3 . Pengukuran spektrum NMR dilakukan dengan cara *auto shimming*, terlebih dahulu ditentukan *high frequency* pada 400 MHz untuk pengukuran ^1H -NMR dengan memprogram pergeseran kimia proton 0-14 ppm sedangkan *low frequency* pada 125 MHz dengan memprogram pergeseran kimia karbon 0-220 ppm untuk pengukuran ^{13}C -NMR pada pengukuran 1D

NMR. Pengukuran 2D NMR dilakukan setelah terlebih dahulu dibuat spektrum 1D NMR dibuat (^1H dan ^{13}C NMR). Pengukuran 2D NMR meliputi eksperimen HMQC, dan HMBC. Umumnya eksperimen HMQC, dan HMBC yang sering dilakukan untuk pengukuran senyawa-senyawa alam.

4. Analisis Data Spektrum dan Penentuan Struktur

Penentuan struktur terhadap isolat murni dan dilakukan berdasarkan metodologi yang sesuai untuk penentuan struktur senyawa alam. Data spektroskopi yang diinterpretasi adalah data NMR 1D (^1H -NMR dan ^{13}C -NMR), konformasi struktur dipertegas berdasarkan analisis data NMR 2D (HMQC dan HMBC) serta massa molekul senyawa ditentukan dengan hasil ESI-MS.

5. Penentuan aktivitas antioksidan senyawa isolat

Penentuan aktivitas antioksidan terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan pereaksi DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) menggunakan metode spektrometer UV pada λ 517 nm (Kadoma *et al*, 2011). Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara melarutkan senyawa uji dengan metanol dalam berbagai konsentrasi sebanyak 200 μL , kemudian, ditambahkan 200 μL larutan buffer asetat 0,1 M (pH 5,5) dan ditambahkan 100 μL larutan radikal DPPH $5 \cdot 10^{-4}$ M. Penentuan diukur setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (37°C). Nilai IC_{50} dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan larutan radikal DPPH dari senyawa uji. Untuk menentukan sifat antioksidan senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan senyawa kontrol positif yakni asam askorbat.

6. Penentuan aktivitas antikanker senyawa isolat dengan sel kanker HeLa

Penyiapan kultur

Kultur sel kanker rahim HeLa dibiakkan dalam *eagle's minimum essential medium* yang mengandung $1,5 \text{ gL}^{-1}$ natrium bikarbonat dan ditambah dengan 1% L-glutamin, 1% formulasi antibiotik dan antimikotik, 1% asam amino non-esensial, 1% natrium piruvat dan 10% serum janin sapi yang digunakan sebagai medium. Selanjutnya sel tersebut diinkubasi dengan inkubator 5% karbon dioksida pada temperatur 37°C .

Penentuan aktivitas antikanker

Pengujian aktivitas antikanker senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker rahim HeLa menggunakan metode MTT. Sel HeLa ditempatkan dalam 12 sumuran dan dalam setiap sumuran mengandung 25.000 sel. Setelah 24 jam, sel dicuci dengan larutan *phosphate-buffered saline* (PBS) dan diinkubasi dengan berbagai konsentrasi senyawa hasil isolasi selama 24 jam. Selanjutnya sel tersebut dicuci dengan larutan PBS sebanyak dua kali. Kemudian sebanyak 1 mL larutan garam tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] dengan konsentrasi 500 mg.mL⁻¹ ditambahkan ke dalam sel dan diinkubasi selama 4 jam.

Selama inkubasi tersebut terjadi reaksi reduksi garam tetrazolium MTT oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang berada pada mitokondria sel hidup. Reaksi tersebut akan menghasilkan kristal formazan berwarna biru yang tidak dapat larut dalam air. Jumlah kristal formazan biru gelap yang dihasilkan proporsional dengan jumlah sel hidup. Kristal formazan biru gelap tersebut selanjutnya dilarutkan dengan 200 µl dimetil sulfoksida untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm dengan menggunakan *biotech powerwave XSplate reader* (Fahmi, *et al.*, 2014).

BAB 5

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Pemurnian senyawa flavonoid

Pemurnian subfraksi A2 lanjutan penelitian tahun pertama, dengan kolom kromatografi tekan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (9:1 - 3:7), menghasilkan dua subfraksi utama A2.1 dan A2.2. Pemurnian subfraksi A2.1 menggunakan kromatografi radial dengan eluen n-heksana : kloroform (1:1 - 3:7), dilanjutkan dengan eluen n-heksana : aseton (9:1 - 2:8) menghasilkan senyawa (**H3**) sebanyak 11,9 mg dan (**H4**) sebanyak 13,1 mg.

Kedua senyawa hasil isolasi selanjutnya ditentukan struktur molekul menggunakan spektroskopi UV, MS, 1D dan 2D NMR. Pada keempat senyawa juga dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH.

5.1.2. Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi

1. Senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin (**H3**)

Senyawa (**H3**) berupa padatan putih mempunyai rumus molekul $C_{21}H_{21}O_5$ dari hasil analisis HR-ESIMS (Lampiran-2.1) dengan massa ion kuasi molekul negatif m/z $[M-H]^-$ 353,1380 (perhitungan $[M-H]^-$ 353,1457). Spektrum UV dalam metanol memperlihatkan λ_{maks} nm (log ϵ) : 209 (4,53), 261 (4,56) dan 298 (4,67) yang merupakan ciri senyawa flavanon (Mabry, Markham. 1970). Penambahan NaOH, $AlCl_3$ dan $AlCl_3+HCl$ memperlihatkan efek batokromik yakni bertambahnya serapan panjang gelombang. Penambahan NaOH memperlihatkan serapan maksimum pada 211 (4,59), 287 (4,64) dan 334 (4,63), (MeOH+ $AlCl_3$) : 209 (4,62), 277 (4,70), 312 (4,66) dan (MeOH+ $AlCl_3+HCl$) : 210 (4,63), 282 (4,60) dan 313 (4,62).

Spektrum 1H -NMR senyawa isolasi (Lampiran-2.2) dalam $CDCl_3$, δ_H (ppm) : 5,35 (1H, *dd*, $J = 13,0, 3,0$ Hz, H-2), 3,04 (1H, *dd*, $J = 17,0, 13,0$ Hz, H-3_{ax}), 2,79 (1H, *dd*, $J = 17,0, 3,0$ Hz, H-3_{eq}), 6,01 (1H, *s*, H-6), 7,36 (2H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-2'/H-6'), 6,93 (2H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-3'/H-5'), 3,28 (2H, *d*, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 5,18 (1H, *t*, $J = 7,4$ Hz, H-2''), 1,70 (3H, *s*, H-4''), 1,68 (3H, *s*, H-5''), 11,99 (1H, *s*, 5-OH), 3,82 (1H, *s*, 4-OCH₃). Spektrum ^{13}C -NMR (Lampiran-2.3) δ_C (ppm) : 78,8 (C-2), 43,1 (C-3), 196,7 (C-4),

103,2 (C-4a), 162,2 (C-5), 97,0 (C-6), 163,9 (C-7), 106,7 (C-8), 161,4 (C-8a), 130,8 (C-1'), 127,5 (C-2'/C-6'), 114,2 (C-3'/C-5'), 160,0 (C-4'), 21,9 (C-1''), 121,7 (C-2''), 134,6 (C-3''), 25,9 (C-4''), 17,9 (C-5''), 55,5 (4-OCH₃).

Analisis spektrum ¹H-NMR senyawa (**H3**) memperlihatkan karakter senyawa flavanon yakni tiga buah sinyal proton *doublet-doublet* pada δ_H 5,35 ($J = 13,0$; 3,0 Hz, H-2), 3,04 ($J = 13,0$; 17,0 Hz, H-3_{ax}), dan 2,79 ($J = 17,0$; 3,0 Hz, H-3_{eq}) yang merupakan ciri khas senyawa flavanon. Sepasang sinyal *doublet* ($J = 8,4$ Hz) pada δ_H 7,36 dan 6,93 merupakan sinyal proton aromatik monosubstitusi pada cincin B (Tanjung, *et al.*, 2009). Sinyal proton aromatik *singlet* pada δ_H 6,01 menunjukkan proton aromatik di cincin A. Senyawa flavanon hasil isolasi memperlihatkan satu substituen isoprenil yakni pada sinyal δ_H 3,28 (2H, *d*, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 5,18 (1H, *t*, $J = 7,4$ Hz, H-2''), 1,70 (3H, *s*, H-4''), 1,68 (3H, *s*, H-5'') dan satu sinyal *singlet* gugus metoksi pada δ_H 3,82.

Analisis spektrum ¹³C-NMR (percobaan APT) senyawa (**H3**) memperlihatkan 19 sinyal karbon yang mewakili 21 atom karbon yang terdiri dari lima atom karbon metin, dua atom karbon metilen, tiga atom karbon metil dan sembilan atom karbon kuartener. Satu sinyal karbon karbonil (δ_C 196,7), satu sinyal karbon metin oksikarbon (δ_C 78,8) dan empat sinyal karbon oksiaril (162,2; 163,9; 161,4; 160,0) mengindikasikan bahwa senyawa flavanon mempunyai struktur dasar naringenin.

Penempatan gugus isoprenil dan gugus metoksi ditetapkan berdasarkan data spektrum HMQC (Lampiran-2.4) dan HMBC (Lampiran-2.5). Korelasi jarak jauh antara sinyal proton *deshielding* δ_H 11,99 (5-OH) dengan dua sinyal atom karbon kuartener (δ_C 162,2, C-5; 103,2, C-4a) dan satu C metin aromatik (δ_C 97,0, C-6) mengindikasikan bahwa gugus isoprenil terikat pada C-8. Korelasi sinyal proton *singlet* dari metoksi pada δ_H 3,82 dengan sinyal karbon oksiaril (δ_C 160,0) menunjukkan bahwa gugus metoksi terikat pada C-4'. Hal ini didukung oleh korelasi sinyal proton aromatik di cincin B yakni δ_H 7,36 (H-2'/6') dengan sinyal karbon oksiaril (δ_C 160,0) yang menunjukkan gugus metoksi terikat di C-4'. Berdasarkan data UV, HRESI-MS, 1D dan 2D-NMR, senyawa flavanon hasil isolasi diidentifikasi sebagai 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin. Sinyal ¹H dan ¹³C-NMR memperlihatkan

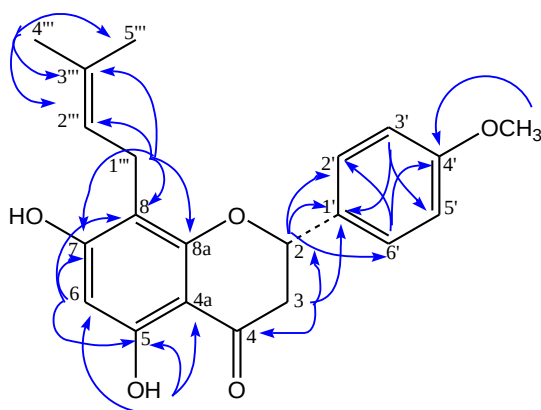
kesesuaian yang tinggi dengan spektrum senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin yang diisolasi dari *Macaranga lowii* (lampiran 2.6) (Agustina, *et al.*, 2012).

Berdasarkan analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMQC, dan HMBC, maka masing-masing posisi proton dan karbon senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Data spektrum NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin dalam CDCl_3 .

No. C	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC
2	5,35 (dd, 13,0, 3,0)	78,8	C-1', C-2', C-6', C-4
3	3,04 (dd, 13,0, 17,0) _{ax} 2,79 (dd, 17,0, 3,0) _{eq}	43,1	C-2, C-1', C-4
4	-	196,7	-
4a	-	103,2	-
5	-	162,2	-
6	6,01 (s)	97,0	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	163,9	-
8	-	106,7	-
8a	-	161,4	-
1'	-	130,8	-
2'/6'	7,36 (d, 8,4)	127,5	C-2, C-2', C-6', C-3', C-5', C-4'
3'/5'	6,93 (d, 8,4)	114,2	C-1', C-3', C-5', C-4'
4'	-	160,0	-
1''	3,28 (d, 7,2)	21,9	C-7, C-8, C-8a, C-2'', C-3''
2''	5,18 (t, 7,4)	121,7	C-1'', C-4'', C-5''
3''	-	134,6	-
4''	1,70 (s)	25,9	C-2'', C-3'', C-4'', C-5''
5''	1,68 (s)	17,9	C-2'', C-3'', C-4'', C-5''
5-OH	11,99 (s)	-	C-4a, C-5, C-6, C-7
4'OCH ₃	3,82 (s)	55,5	C-4'

Korelasi penting antara sinyal proton dan sinyal karbon pada spektrum HMBC yang mendukung senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1. Korelasi HMBC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.

2. Senyawa lonkokarpol A (**H4**)

Senyawa (**H4**) berwujud padatan kuning mempunyai rumus molekul $C_{25}H_{29}O_5$ berdasarkan hasil pengukuran HR-ESIMS (Lampiran-2.7) dan mempunyai massa ion kuasi molekul positif m/z $[M+H]^+$ 409,2018 (perhitungan $[M+H]^+$ 409,1937). Spektrum UV dalam metanol memperlihatkan serapan maksimal pada λ_{maks} nm ($\log \epsilon$) : 208 (4,75), 257 (4,81), 306 (*sh*) (4,95), (MeOH+NaOH) : 220 (4,58), 287,5 (4,66), 344 *sh* (5,08), (MeOH+ $AlCl_3$) : 210 (4,43), 266,5 (4,46), 316 (4,93), dan (MeOH+ $AlCl_3$ +HCl) : 207 (4,28), 265 (4,42), 315,5 (4,91). Profil spektrum UV senyawa hasil isolasi memperlihatkan karakter senyawa flavanon sama dengan senyawa (**H3**).

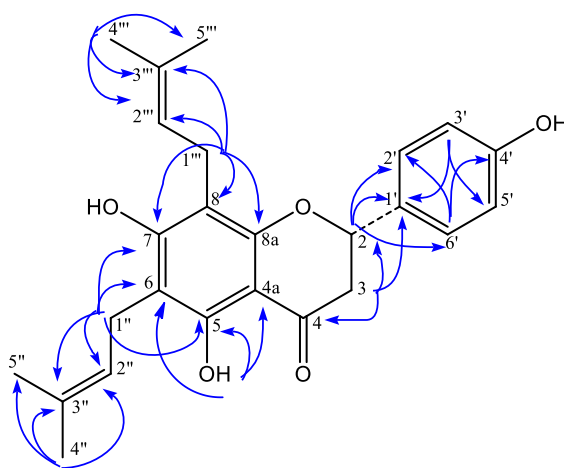
Spektrum 1H -NMR senyawa (**H4**) (Lampiran-2.8) dalam $CDCl_3$, δ_H (ppm) : 5,30 (1H, *dd*, $J = 13,0, 3,0$ Hz, H-2), 3,02 (1H, *dd*, $J = 17,0, 13,0$ Hz, H-3_{ax}), 2,79 (1H, *dd*, $J = 17,0, 3,0$ Hz, H-3_{eq}), 7,30 (2H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-2'/H-6'), 6,85 (2H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-3'/H-5'), 3,33 (2H, *d*, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 5,22 (1H, *t*, $J = 7,2$ Hz, H-2''), 1,80 (3H, *s*, H-4''), 1,70 (3H, *s*, H-5''), 3,28 (2H, *J = d*, 7,2 Hz, H-1'''), 5,20 (1H, *t*, $J = 7,2$ Hz, H-2'''), 1,73 (3H, *s*, H-4'''), 1,68 (3H, *s*, H-5'''), 12,30 (1H, *s*, 5-OH). Spektrum ^{13}C -NMR (Lampiran-18) δ_C (ppm) : 78,6 (C-2), 43,3 (C-3), 196,8 (C-4), 102,9 (C-4a), 159,4 (C-5), 107,4 (C-6), 162,5 (C-7), 106,6 (C-8), 157,9 (C-8a), 130,9 (C-1'), 127,3 (C-2'/C-6'), 115,6 (C-3'/C-5'), 156,2 (C-4'), 22,0 (C-1''), 122,0 (C-2''), 134,8 (C-3''), 17,9 (C-4''), 25,9 (C-5''), 21,3 (C-1'''), 121,8 (C-2'''), 134,0 (C-3'''), 17,8 (C-4'''), 25,9 (C-5''').

Analisis spektrum 1H -NMR senyawa (**H4**) memperlihatkan karakter yang sama dengan senyawa (**H3**), yakni tiga buah sinyal proton *doublet-doublet* pada δ_H 5,30 ($J =$

13,0 ; 3,0 Hz, H-2), 3,03 ($J = 13,0$; 17,0 Hz, H-3_{ax}), dan 2,79 ($J = 17,0$; 3,0 Hz, H-3_{eq}) dan sepasang sinyal *doublet* aromatik ($J = 8,4$ Hz) pada δ_H 7,30 dan 6,85 dengan substitusi *p*-hidroksifenil di cincin B. Senyawa flavanon hasil isolasi memperlihatkan dua gugus isopreni yakni empat sinyal metil (δ_H 1,80; 1,70; 1,73; 1,68), dua sinyal vinil (5,22 ; 5,20) dan dua sinyal metilen (3,33; 3,28).

Analisis spektrum ^{13}C -NMR senyawa (**H4**) (lampiran-2.9) memperlihatkan 23 sinyal karbon yang mewakili 25 atom karbon yang terdiri dari lima atom karbon metin, tiga atom karbon metilen, empat atom karbon metil dan 11 atom karbon kuartener. Penempatan gugus isoprenil ditetapkan berdasarkan data spektrum HMQC (Lampiran-2.10) dan HMBC (Lampiran-2.11). Korelasi jarak jauh antara sinyal proton *deshielding* δ_H 12,30 (5-OH) dengan tiga sinyal atom karbon kuartener (δ_C 159,4, C-5; 102,9, C-4a; 107,4, C-6) mengindikasikan bahwa gugus isoprenil terikat pada C-6 dan C-8.

Berdasarkan data UV, HRESI-MS, 1D dan 2D-NMR, senyawa ini diidentifikasi sebagai 6,8-diisoprenilnaringenin atau lonkokarpol A sesuai dengan spektrum senyawa lonkokarpol A dari *Erythrina crista-galli* (Lampiran-2.12) (Tjahjandarie, *et. al.*, 2014). Korelasi HMBC yang mendukung senyawa lonkokarpol A hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2. Korelasi HMBC senyawa lonkokarpol A

Berdasarkan analisis spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMQC, dan HMBC, masing-masing posisi proton dan karbon senyawa lonkokarpol A dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Data spektrum NMR senyawa lonkokarpol A dalam CDCl₃.

No. C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	HMBC
2	5,30(dd, 13,0, 3,0)	78,6	C-1', C-2', C-6', C-4
3	3,03(dd, 13,0, 17,0) _{ax} 2,79(dd, 17,0, 3,0) _{eq}	43,3	C-2, C-1', C-4, C-4,
4	-	196,8	-
4a	-	102,9	-
5	-	159,4	-
6	-	107,4	-
7	-	162,5	-
8	-	106,6	-
8a	-	157,9	-
1'	-	130,9	-
2'/6'	7,30(d, 8,4)	127,3	C-2, C-2', C-6', C-3', C-5', C-4'
3'/5'	6,85(d, 8,4)	115,6	C-1', C-3', C-5', C-4'
4'	-	156,2	-
1''	3,33(d, 7,2)	22,0	C-8a, C-2'', C-3''
2''	5,22(t, 7,2)	122,0	C-1'', C-4'', C-5''
3''	-	134,8	-
4''	1,80(s)	17,9	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1,70(s)	25,9	C-2'', C-3'', C-4''
1'''	3,28(d, 7,2)	21,3	C-6, C-2'', C-3'',
2'''	5,20(t, 7,2)	121,8	C-1'', C-4'', C-5''
3'''	-	134,0	-
4'''	1,73(s)	17,8	C-2'', C-3'', C-5''
5'''	1,68(s)	25,9	C-2'', C-3'', C-4''
5-OH	12,30(s)	-	C-4a, C-5, C-6

5.1.3. Aktivitas Antioksidan

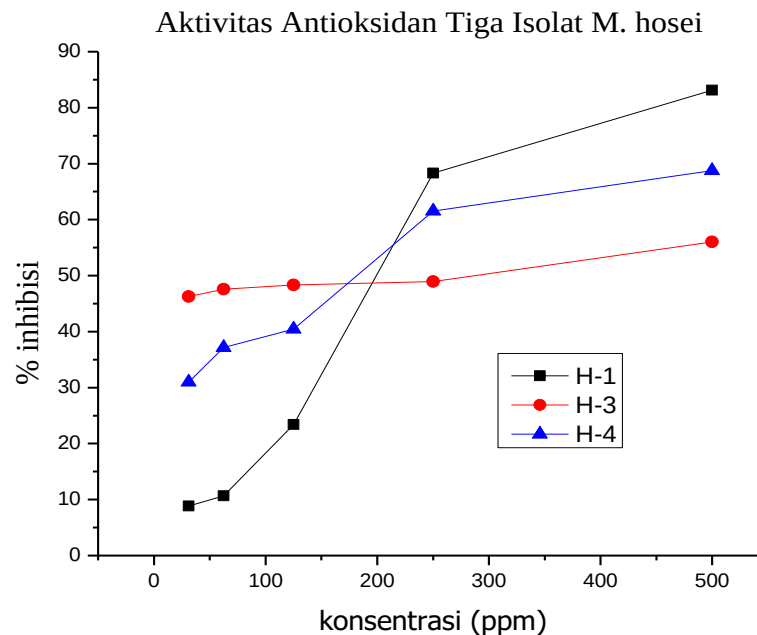
Analisis aktivitas antioksidan senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi dengan metoda peredaman radikal DPPH memberikan hasil sebagaimana tertera pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Uji aktivitas antioksidan senyawa isolat dari daun *M. hosei*.

C (µg/mL)	Sampel					
	H1		H3		H4	
	Abs	% inhibisi	Abs	% inhibisi	Abs	% inhibisi
500	0,139	83,13	0,521	56,03	0,178	68,74
250	0,258	68,33	0,605	48,94	0,238	61,54
125	0,618	23,42	0,612	48,35	0,318	40,47
62,5	0,743	10,68	0,621	47,59	0,355	37,14
31,25	0,768	8,86	0,637	46,24	0,437	30,99
Control	0,824		1,185		0,5695	
IC ₅₀ (µg/mL)	198,86		286,50		174,193	

Ket : C = konsentrasi
EA = etilasetat
Abs = absorbansi
% inh = % inhibisi

H1 = 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol
H3 = 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin
H4 = lonkokarpol A



Gambar 5.3. Grafik hubungan konsentrasi dan persen inhibisi aktivitas antioksidan tiga isolat *Macaranga hosei*

Berdasarkan tabel 5.3 dan gambar 5.3, aktivitas antioksidan senyawa isolat 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H-1) (IC_{50} 198,86 $\mu\text{g/mL}$), dan lonkokarpol A (H4) (IC_{50} 174,193 $\mu\text{g/mL}$) termasuk kategori aktif karena memiliki nilai IC_{50} antara 100-200 $\mu\text{g/mL}$. 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin (H3) (IC_{50} 286,50 $\mu\text{g/mL}$) dan senyawa 6-isoprenileriodiktiol (H2) tidak diuji karena isolat yang didapat hanya 1,2 mg. (Muharni, *et al.*, 2013).

Senyawa turunan flavonoid dan senyawa polifenol lainnya aktif sebagai antioksidan karena sangat reaktif sebagai donor hidrogen atau elektron. Hubungan struktur dan aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid sangat dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksi yang terikat, terbukti senyawa H-1 dan H-4 memiliki gugus hidroksi lebih banyak daripada senyawa H-3 (Seyoum, *et. al.*, 2006).

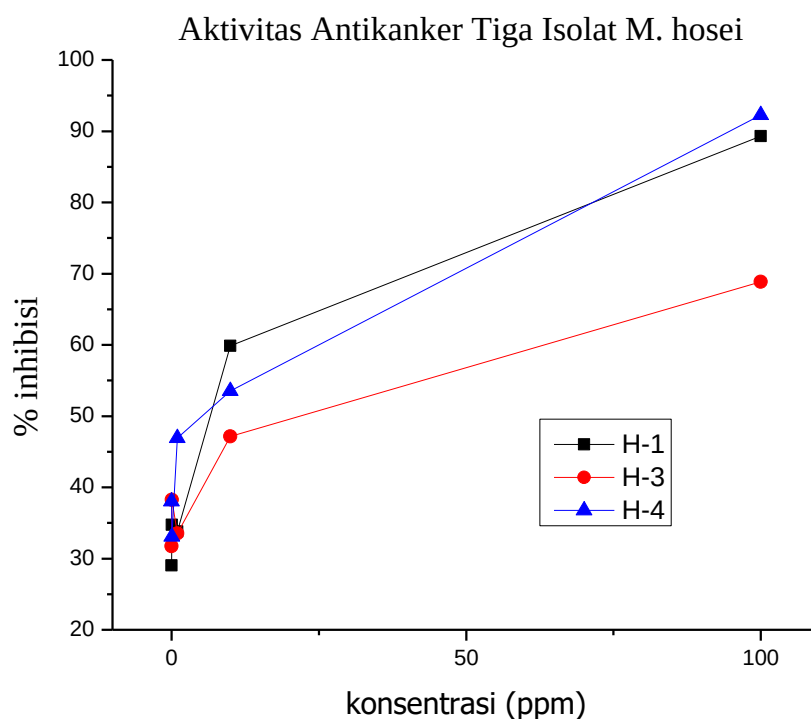
5.1.4. Aktivitas Antikanker terhadap Sel HeLa

Analisis aktivitas antikanker terhadap sel HeLa tiga senyawa isolat dengan metoda MTT memberikan hasil sebagaimana tertera pada tabel 5.4

Tabel 5.4. Uji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa senyawa isolat *M. hosei*.

C ($\mu\text{g/mL}$)	Sampel					
	H-1		H-3		H-4	
	Abs	% inh	Abs	% inh	Abs	% inh
100	0,049	89,31	0,143	68,87	0,035	92,29
10	0,184	59,85	0,242	47,13	0,213	53,53
1	0,303	33,82	0,305	33,53	0,243	46,91
0,1	0,299	34,76	0,283	38,25	0,307	33,09
0,01	0,325	29,02	0,313	31,71	0,284	38,04
kontrol	0,445	0,00	0,445	0,00	0,445	0,00
IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	6,39		21,46		5,62	

Ket : C = konsentrasi
 EA = etilasetat
 Abs = absorbansi
 % inh = % inhibisi
 H1 = 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol
 H3 = 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin
 H4 = lonkokarpol A



Gambar 5.4. Grafik hubungan konsentrasi dan persen inhibisi aktivitas antikanker tiga isolat *Macaranga hosei*

Berdasarkan tabel 5.4 dan gambar 5.4, aktivitas antikanker terhadap sel HeLa senyawa isolat 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (H-1) (IC₅₀ 6,39 $\mu\text{g/mL}$), 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin (H-3) (IC₅₀ 21,46 $\mu\text{g/mL}$) dan lonkokarpol A (H4) (IC₅₀ 5,62

µg/mL) termasuk kategori aktif sebagai antikanker karena memiliki nilai IC₅₀ antara ≤ 30 µg/mL menurut *National Cancer Institute* (Benzivin, *et al.*, 2003)

Ketiga senyawa isolat dari *M. hosei* berpotensi sebagai antikanker serviks, hal ini tidak terlepas dari senyawa-senyawa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan tersebut adalah senyawa flavonoid yang terisoprenilasi. Senyawa-senyawa flavonoid terisoprenilasi aktif sebagai antikanker (Tanjung, *et al.*, 2012).

5.2. Luaran yang Dicapai

1. Pada tahun kedua berhasil mengisolasi dua senyawa flavonoid terisoprenilasi dari tumbuhan *M. hosei* yakni 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin (**H3**) dan lonkokarpol A (**H4**), sehingga total senyawa isolat penelitian ini empat senyawa.
2. Publikasi ilmiah :
 - Marliana, E., Kosala, K., Astuti, W., Hairani, R., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2017. Chemical Composition and Anticancer Activity of *Macaranga hosei* leaves. **Under review : Asian Journal of Chemistry**
3. Seminar ilmiah
 - Marliana, E., Kosala, K., Astuti, W., Hairani, R., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2017. Isoprenylated Flavanone derivatives and Anticancer Activity of *Macaranga hosei* King ex Hook. F. Leaves, **International Conference of The Indonesian Chemical Society (ICICS)** Palembang, 17-18 Oktober 2017.
 - Marliana, E., Kosala, K., Hairani, R., Tjahjandarie, TS., Tanjung, M., 2017, Senyawa Turunan Flavanon dari Daun *Macaranga hosei*, **Seminar Nasional Kimia**, Samarinda 4 September 2017.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Empat senyawa flavonoid terisoprenilasi berhasil diisolasi dari daun *M. hosei* yakni 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol (**H1**), 6-isoprenileriodiktiol (**H2**), 4'-*O*-metil-8-isoprenilnaringenin (**H3**) dan lonkokarpol A (**H4**).
2. Aktivitas antioksidan terhadap DPPH keempat senyawa isolat daun *M. hosei* 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol, 6-isoprenileriodiktiol, 4'-*O*-metil-8-isoprenilnaringenin dan lonkokarpol A yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ yaitu 198,86; -; 286,50; 174,19 µg/mL.
3. Aktivitas antikanker terhadap sel HeLa keempat senyawa isolat daun *M. hosei* 4'-*O*-metil-8-isoprenileriodiktiol, 6-isoprenileriodiktiol, 4'-*O*-metil-8-isoprenilnaringenin dan lonkokarpol A yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ yaitu 6,39; -; 21,46; 5,62µg/mL. Senyawa isolat dari daun *M. hosei* berpotensi dikembangkan untuk obat kanker serviks.

6.2 Saran

Penentuan aktivitas antikanker serviks terhadap sel HeLa senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi secara in-vivo.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., Juliawaty, L.D., Hakim, E.H., Syah, Y.M. 2012. Flavonoid from *Macaranga Lowii*, *ITB J. Sci.*, 44 A (1) : 13-18.
- Dewick, and Paul, M., (2002), *Medical Natural Product, A Biosynthetic Approach*, 2nd Ed., John Wiley and Sons, New York
- Fahmi, M. Z., Ou, K., Chen, J., Ho, M., Tzing, S., and Chang, J., 2014. Development of Bovine Serum Albumin-Modified Hybrid Nanoclusters for Magnetofluorescence Imaging and Drug Delivery, *Royal Soc. Chem. Adv.*, 4, 32762.
- Farida, Y., Martati, T., Musir, A., and Edward, B., 2010, Cytotoxic Activity and Antioxidants from *Typhonium divaricatum* Leaf Extract (L) Decne, *Indonesian J. Pharm. Sci.*, 8 (2), 69-140.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Balai Kehutanan Indonesia, Departemen Kehutan, Jakarta.
- Ito, C., Itoigawa, M., Takakura, T., Ruangrunsi, N., Enjo, F., Tokuda, H., Nishino, H., and Furukawa, H., 2003, Chemical Constituents of *Garcinia fusca*: Structure Elucidation of Eight New Xanthenes and Their Cancer hemopreventive Activity, *J. Nat. Prod.*, 66 (2), 200-205.
- Jang, D.S., Cuendet, M., Hawthorne, M.E., Kardono, L.B.S., Kawanishi, K., Fong, H.H.S., Mehta, R.G., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D. 2002. Prenylated Flavonoids of The Leaves of *Macaranga conifera* with Inhibitory Activity against Cyclooxygenase-2, *J. Phytochem.* 61: 867-873.
- Kadoma, Y., and Seiichiro, F., 2011, Radical-Scavenging Activity of Dietary Phytophenols in Combination with co-Antioxidants Using the Induction Period Method, *J. Molecules*, 16, 10457-10470
- Kemkes RI 2014, Hilangkan Mitos Tentang Kanker.
- Kingston, D.G.I. 2011. Modern Natural Products Drug Discovery and Its Relevance to Biodiversity Conservation, *J. Nat. Prod.*, 74: 496-511.
- Lin, J.K. and Weng, M.S., 2006, Flavonoids as Nutraceuticals, In Grotewold, E., At The Science of Flavonoids, The Ohio State University Columbus, Ohio, USA.
- Mabry, T.J., & K.R. Markham. 1970. Flavonoids: The Systematic Identification of Flavonoid . Sringer-Verlag : New York. pp.35-61.
- Marliana, E., Tanjung, M., Tjahjandarie, T.S., (2015), Isoprenilated flavanone derivatives from *Macaranga hosei* King ex Hook .F. King ex Hook.F., *J.Der Pharmacia Lettre*, 7(3), 153-156.
- Muharni, Elfita, & Amanda, 2013. Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon Dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia xanthochymus*). *Prosiding Semirata FMIPA*. Universitas Lampung, Lampung. Hal.:265-268.
- Phommart, S., Sutthivaiyakit, P., Chimnoi, N., Ruchirawat, S., and Sutthivaiyakit, S., (2005), Constituents of the Leaves of *Macaranga tanarius*, *J. Nat. Prod.*, 68, 927-930.
- Seyoum, A., Asres, K., & El-Fiky, F.K., 2006. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Phytochemistry*, 65:2058-2070.
- Slik, J.W.F., Priyono, Welzen, v.P.C., (2000), *Key to the Macaranga Thou. And Mallotus Lour. Species (Euphorbiaceae) of East Kalimantan, Indonesia, Garden's Bulletin Singapore*, 52, 11-87.

- Sutthivaiyakit, S., Unganont, S., Sutthivaiyakit, P., and Suksamrarn, A., (2002), *Diterpenylated and Prenylated Flavonoids from Macaranga denticulata*, *J. Tetrahedron*, 58, 3619-3622.
- Syah, Y.M., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Hanafi, M., Ghisalberti, E.L., (2009), *Isoprenylated Flavanones and Dihydrochalcones from Macaranga trichocarpa*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 4, 63-67.
- Syah, Y.M., Ghisalberti, E.L., (2010), *Phenolic Derivatives with an Irregular Sesquiterpenyl Side Chain from Macaranga pruinosa*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 5, 219-222.
- Tanjung, M., Hakim, E.H., Mujahidin, D., Hanafi, M., Syah, Y.M., (2009), *Macagigantin, a Farnesylated Flavonol from Macaranga gigantea*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 11, 929-932.
- Tanjung, M., Mujahidin, D., Hakim, E.H., Darmawan, Syah, Y.M. 2010. Geranylated flavonols from *Macaranga rhizinoides*, *J. Nat. Prod. Commun.*, 5(8):1209-1211.
- Tanjung, M., Hakim, E.H., Elfahmi, Latip, J., M., Syah, Y.M. 2012. Dihydroflavonol and Flavonol Derivatives from *Macaranga recurvata*, *J. Nat. Prod. Commun.* 7(10):1309-1310.
- Tjahjandarie, T.S., Saputri, R.D., and Tanjung, M., 2014, Isoprenylated Pterocarpan and Flavanone from The Tree Bark of *Erythrina crista-galli* with Their Antiplasmodial Activity. *Asian Pacific Jurnal of Tropical Biomedicine*, 6(4):786-790.
- Winarsi H, Dr. M.S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Lampiran 1. Luaran Penelitian

Lampiran 1.1. Keterangan *Asian Journal of Chemistry*.

WhatsApp Email Facebook 2 4G 97% 07:50

Asian Journal of Chemistry ::View Manuscript

⇒ Navigate

cross check  **cross ref**
Powered by iThenticate

OPEN ACCESS

Manuscript Status

SrNo	Title	Status	Manuscript No	Publication Remarks	Uploaded Date
1	Chemical composition and anticancer activity of Macaranga hosei leaves	Under Review	21004/2017		22/08/2017

Our other Journals

- [AJMC](#)
- [AJOMC](#)

> **Send Reprint Request**

< > ≡ 1 🏠

Chemical composition and anticancer activity of *Macaranga hosei* leaves

EVA MARLIANA,^{1,†}WINNI ASTUTI,¹KHEMASILI KOMALA,²RITA HAIRANI,¹TJITJIEK SRIE TIAHJANDARIE,³ and MULYADI TANJUNG³

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Mulawarman University, Samarinda 75123, East Kalimantan, Indonesia.

²Pharmacology Research Group, Faculty of Medicine, Mulawarman University, Samarinda 75123, East Kalimantan, Indonesia.

³Natural Products Chemistry Research Group, Organic Chemistry Division, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya 60115, East Java, Indonesia.

Abstract

The anticancer activity of MeOH extract and EtOAc fraction of *Macaranga hosei* leaves against HeLa cell lines were evaluated by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Both extracts displayed anticancer activity with IC₅₀ values of 36.18 and 7.01 μ M, respectively, which can be suggested that *M. hosei* is a great potential source of anticancer agents. In addition, two isoprenylated flavanones, 4'-O-methyl-8-isoprenyleryodictyol (**1**) and 6-isoprenyleryodictyol (**2**) have been isolated from EtOAc fraction. The structures of both compounds have been elucidated based on their spectroscopic data, including 1D and 2D NMR spectra.

Keywords: *Macaranga hosei*, Anticancer, MTT Assay, Flavanones, Isoprenylated

[†]Corresponding author: Eva Marliana, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Mulawarman University, Samarinda 75123, East Kalimantan, Indonesia.

Tel: +62 812 5313 454 Fax: +62 541 747 974

E-mail: eva_samarinda@yahoo.com

INTRODUCTION

Macaranga is one genus of the family Euphorbiaceae comprising of ± 300 species. In Indonesia, this plant known as “Mahang.” The distribution of *Macaranga* plants is relatively wide, other than Indonesia, also can be found in Africa, Madagascar, Asia, the east coast of Australia and the Pacific islands.¹

According to previous studies, phenolics such as flavonoids and stilbenoids can be isolated from this genus. The uniqueness of flavonoids and stilbenoids from this genus is the presence of terpenoids at aromatic core such as prenyl, geranyl, farnesyl, and geranylgeranyl.^{2,3} Prenylated flavonoids including flavanone derivatives mostly can be found in *M. triloba*, *M. trichocarpa*, *M. conivera*, and *M. lowii*.³⁻⁶ Flavonol derivatives can be obtained from *M. gigantea*, *M. recurvate*, *M. pruinosa*, *M. rizhinoides*, and *M. bicolor*.^{2,5,7-9} Dihydroflavone derivatives mostly can be attained in *M. conivera*, *M. alnifolia*, *M. pruinosa*, and *M. lowii*.^{6,8,10,11}

Previous studies have revealed that the presence of isoprenoid chains plays an important role for the biological activity of prenylated aromatic compounds which made them possess better bioactivity than their mother compounds without derivatization or modification.¹² An isoprenylated flavanone compound named 4'-O-methyl-8-isoprenyleryodictyol from *M. pearsonii* displayed an antioxidant activity with IC₅₀ value of 536.89 µM.¹³ In addition, another isoprenylated flavanones such as 4'-O-methyl-8-isoprenylnaringenin and lonchocarpol A from *M. hosei* leaves exhibited antioxidant activities with IC₅₀ values of 1298.0 and 1115.7 µM, respectively.¹⁴ Prenylated flavonoids were reported to have good anticancer effects. Several of these compounds which were isolated from *M. indica*, *M. kurzii* showed cytotoxic activities against cancer cell lines.^{15,16}

Although numbers of bioactivities have been reported in this genus, the anticancer activity from *M. hosei* leaves extract has not been investigated. In our research, the anticancer activity of MeOH extract and its EtOAc fraction were determined. Moreover, two compounds belong to isoprenylated flavanones named 4'-O-methyl-8-isoprenyleryodictyol (**1**) and 6-isoprenyleryodictyol (**2**) have been isolated from the MeOH extract of *M. hosei* leaves.

EXPERIMENTAL

General Information:

All reagents used were obtained from Merck Chemical, Co. without further additional purification. The isolation were monitored by Thin Layer Chromatography (TLC) and visualized under UV 254 and 356 nm with Cerium sulfate (CeSO₄) as staining agent. Vacuum liquid chromatography (VLC) and radial chromatography were carried out using Silica gel 60 GF₂₅₄ and Silica gel 60 PF₂₅₄. For TLC analysis, pre-coated silica gel plates (Merck Kieselgel 60 GF₂₅₄, 0.25 mm thickness) were used. ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded with a JEOL ECS 400 spectrometer operating at 400 (¹H) and 100 (¹³C) MHz in CDCl₃ using TMS as the internal standard. In addition, BioTek PowerWave XS Plate Reader and 5% CO₂ incubator at 37°C were also used in this research.

Plant Material:

The leaves of *Macaranga hosei* were collected from Samboja, Kutai Kartanegara, East Kalimantan, Indonesia. This species was identified at the Herbarium of Wanariset, Samboja, Kutai Kartanegara, East Kalimantan, Indonesia and a voucher specimen had been deposited at that herbarium.

Extraction and Isolation:

The dried leaves of *M. hosei* (1.0 kg) were grounded and macerated with MeOH at room temperature and filtered every two days. The MeOH crude extract (150 g) was obtained after evaporation by rotary evaporator. Furthermore, the crude was partitioned with *n*-hexane and EtOAc, respectively. The EtOAc fraction (35 g) was further fractionated by VLC on silica gel with *n*-hexane:EtOAc by increasing the polarity (9:1, 4:1; 7:3, 1:1, and 1:4). Further separation by VLC using *n*-hexane:EtOAc (9:1 to 3:7), followed by *n*-hexane:CHCl₃ (9:1 to 3:7) using chromatotron yielded compound (1) 12.0 mg and compound (2) 0.6 mg. Moreover, the structures of these compounds were elucidated by spectroscopic including 1D and 2D NMR.

Determination of Anticancer Activity:

Cell Culture: HeLa cervical cancer cell lines were cultured in the eagle's minimum essential medium containing 1.5 g/L of Na₂CO₃ and supplemented with 1% of L-glutamine, 1% of formulation of antibiotics and antimycotics, 1% of non-essential amino acids, 1% of sodium pyruvate and 10% of fetal bovine serum (FBS). Furthermore, these cells were incubated with 5% CO₂ incubator at a temperature of 37°C.

Anticancer Activity: The anticancer activities of MeOH extract and EtOAc fraction of *M. hosei* leaves were determined by method as described by Fahmi, *et.al*¹⁷ with modification, using MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay. HeLa cells were placed in 12 wells containing 25,000 cells/well. After 24 h, cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS) and incubated with different concentrations of sample for 24 h. Furthermore, the cells were washed with PBS twice. Then 1 mL of 500 mg/mL MTT was added into each cell and incubated for 4 h. Dark blue formazan crystals formed were then dissolved in 200 mL of DMSO to measure the absorbance at a λ of 570 nm by BioTek PowerWave XS Plate Reader.

RESULTS AND DISCUSSION**Anticancer Activity:**

The result of anticancer activities of MeOH extract and EtOAc fraction against HeLa cells by MTT assay is shown in Table 1.

Table 1. Anticancer activities of MeOH extract and EtOAc fraction of *M. hosei* against HeLa cells

Sample	IC ₅₀ (μ g/mL)
MeOH extract	36.18
EtOAc fraction	7.01

According to Table 1, particularly, MeOH extract and EtOAc fraction of *M. hosei* leaves were active as anti-cervical cancer against HeLa cell lines with IC₅₀ values of 36.18 and 7.01 μ g/mL, respectively. The IC₅₀ values indicated that the anticancer activities of MeOH extract belongs to moderate while EtOAc fraction displayed higher effect than MeOH extract. Based on National Cancer Institute, EtOAc fraction

signified as an active anticancer due to it has $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$.¹⁸ The anticancer activity which is showed by *M. hosei* can be assumed caused by its bioactive compounds, one of them is prenylated flavonoids such as flavanone derivatives which known have a wide variety of biological activities.

Flavanone Derivatives:

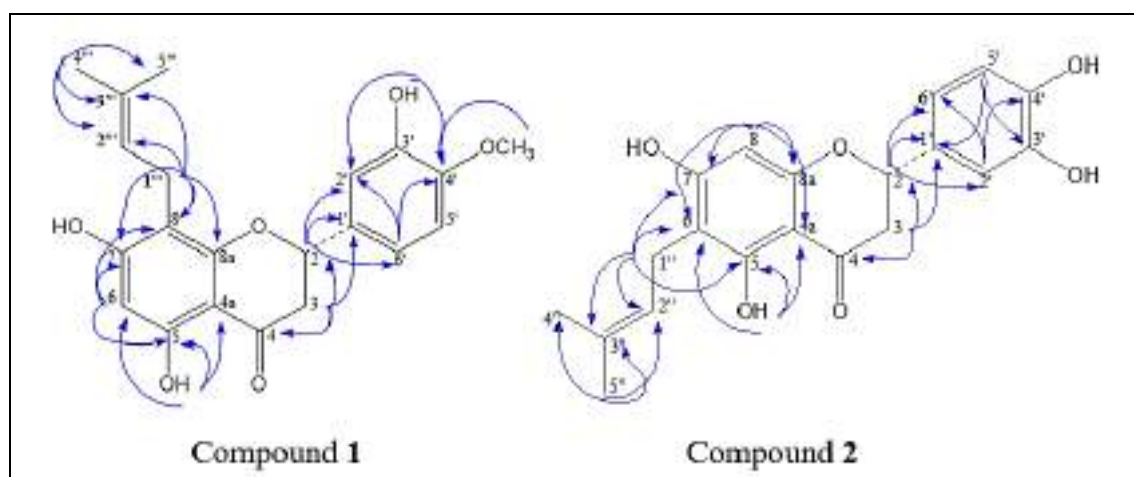
Due to EtOAc fraction of *M. hosei* leaves was found to be more active than its MeOH extract, further separation had been conducted to isolate bioactive compounds. Two isolated flavanone derivatives, i.e. 4'-O-methyl-8-isoprenyleriodictyol (**1**) and 6-isoprenyleriodictyol (**2**). The position of protons and carbons of compounds **1** and **2** are presented in Table 2 and 3, respectively. In addition, HMBC correlations of both compounds are shown in Figure 1.

Table 2. NMR data of compound **1** in CDCl_3 , 400 MHz

No. C	δ_H (mult, <i>J</i> in Hz)	δ_C	HMBC
2	5.36(<i>dd</i> , 12.0, 3.2)	78.5	C-4, C-1', C-2', C-6'
3	3.03(<i>dd</i> , 17.1, 12.0) _{ax} 2.70(<i>dd</i> , 17.1, 3.2) _{eq}	42.5	C-2, C-4 C-1'
4	-	197.1	-
4a	-	102.3	-
5	-	161.6	-
6	5.98(<i>s</i>)	95.8	C-4a, C-5, C-7, C-8
7	-	164.8	-
8	-	107.4	-
8a	-	160.0	-
1'	-	132.0	-
2'	6.87(<i>d</i> , 2.4)	114.4	C-2, C-4', C-6'
3'	-	146.9	-
4'	-	148.2	-
5'	6.89(<i>d</i> , 8.4)	112.3	C-1', C-3'
6'	6.82(<i>dd</i> , 8.4, 2.4)	117.8	C-2', C-4'
1''	3.04 (<i>d</i> , 7.0)	21.8	C-7, C-8, C-8a, C-2'', C-3''
2''	5.05(<i>t</i> , 8.6)	123.2	C-3'', C-4'', C-5''
3''	-	130.8	-
4''	1.55(<i>s</i>)	18.1	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1.52(<i>s</i>)	26.0	C-2'', C-3'', C-4''
5-OH	12.05(<i>s</i>)	-	C-4a, C-5, C-6
7-OH	10.70(<i>s</i>)	-	C-7, C-8
3'-OH	9.01(<i>s</i>)	-	C-2', C-4'
4'-OCH ₃	3.73(<i>s</i>)	56.1	C-4'

Table3. NMR data for compound **2** in CDCl₃, 400 MHz

No. C	δ_H (mult, J in Hz)	δ_C	HMBC
2	5.27(<i>dd</i> , 12.8, 3.2)	78.5	C-2'
3	3.02(<i>dd</i> , 17.2, 12.8) _{ax} 2.79(<i>dd</i> , 17.2, 3.2) _{eq}	43.6	C-2, C-4
4	-	196.8	-
4a	-	103.1	-
5	-	159.6	-
6	-	107.6	-
7	-	162.6	-
8	6.38 (<i>s</i>)	95.8	C-7
8a	-	161.6	-
1'	-	129.3	-
2'	6.98(<i>d</i> , 1.6)	113.7	C-2, C-4', C-6'
3'	-	147.7	-
4'	-	144.0	-
5'	6.89(<i>d</i> , 8.0)	115.7	C-1', C-3'
6'	6.87(<i>dd</i> , 8.0, 1.6)	119.2	C-2, C-4'
1''	3.30(<i>d</i> , 7.2)	21.5	C-5, C-6, C-7, C-2'', C-3''
2''	5.19(<i>bt</i>)	122.0	C-4'', C-5''
3''	-	135.0	-
4''	1.81(<i>s</i>)	18.2	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1.71(<i>s</i>)	26.2	C-2'', C-3'', C-4''
5-OH	12.32(<i>s</i>)	-	C-4a, C-5, C-6

Figure 1. HMBC correlations of compounds **1** and **2**

Compound **1** was obtained as white powder. ¹H NMR spectra analysis of compound **1** displayed the characteristic of flavanone such as three protons signals of doublet-doublet at δ_H 5.36 ppm ($J = 12.0, 3.2$ Hz, H-2), 3.03 ppm ($J = 12.0; 17.1$ Hz, H-3_{ax}), and 2.70 ppm ($J = 17.1; 3.2$ Hz, H-3_{eq}). ¹H NMR spectra analysis of compound 4'-O-methyl-8-isoprenylerydiol exhibited three aromatic protons signals of ABX system such as doublet signal at δ_H 6.89 ppm ($J = 8.4$ Hz, H-5'), doublet signal at δ_H 6.87 ppm ($J = 2.4$ Hz, H-2') and doublet-doublet signal at δ_H 6.82 ppm ($J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6').³ This compound showed one substituent of isoprenyl (vinyl signal as triplet at δ_H

5.05 ppm; methylene signal as doublet at δ_H 3.04 ppm, two methyl signals as singlet at δ_H 1.55 and 1.52 ppm), and one methoxy signal as singlet (δ_H 3.73 ppm). The presence of one proton singlet signal at δ_H 5.98 ppm indicated that isoprenyl substituent bonded at C-6 or C-8.

Spectra analysis of ^{13}C NMR from compound **1** showed 21 carbon signals which are distinguished well. The compound consists of six carbons methine, two carbons of methylene, three carbons of methyl and ten quaternary carbons. The carbonyl signal showed at δ_C 197.1 ppm and one signal of oxycarbonmethine was shown at δ_C 78.5 ppm. Five signals of oxyaryl carbon were shown at δ_C : 164.8, 161.6, 160.0, 148.2, and 146.9 ppm. Those signals indicated flavanone with eriodictyol moiety.

The isoprenyl and methoxy were elucidated based on HMQC and HMBC results. Long-range correlation between proton signal of 5-OH at δ_H 12.05 ppm with two quaternary carbon atoms (δ_C 161.6 ppm, C-5; 102.3 ppm, C-4a) and one aromatic methine carbon (δ_C 95.8 ppm, C-6) showed that isoprenyl substituent bonded at C-8. Correlation of methoxy proton signal at δ_H 3.73 ppm with oxyaryl carbon signal (δ_C 148.2 ppm) displayed that the methoxy group bonded at C-4'. Based on NMR spectra analysis of isolated flavanone it can be elucidated as 4'-O-methyl-8-isoprenyleriodictyol. This compound gave NMR parameter which is suitable with 4'-O-methyl-8-isoprenyleriodictyol from *M.conifera*.⁵

Compound **2** was gained as yellow oil. 1H NMR spectra analysis of compound **2** showed the characteristic of flavanone as well, three protons signals of doublet-doublet at δ_H 5.27 ppm ($J = 12.8, 3.2\text{ Hz}$, H-2), 3.02 ppm ($J = 12.8, 17.2\text{ Hz}$, H-3_{ax}), and 2.79 ppm ($J = 17.2, 3.2\text{ Hz}$, H-3_{eq}), and three protons aromatic signals of ABX system at δ_H 6.98 ppm ($J = 1.6\text{ Hz}$, H-2'), δ_H 6.89 ppm ($J = 8.0\text{ Hz}$, H-5') and doublet-doublet at δ_H 6.87 ppm ($J = 8.0, 1.6\text{ Hz}$, H-6'). The isolated compound displayed one substituent of isoprenyl (vinyl signal as triplet at δ_H 5.19 ppm, methylene signal as doublet at δ_H 3.30 ppm and two methyl signals as singlet at δ_H 1.81 and 1.71 ppm) together with one aromatic proton signal as singlet in A ring at δ_H 6.38 ppm exhibited that isoprenyl bounded at C-6 or C-8.

^{13}C NMR spectra analysis of compound **2** indicated 20 carbon signals which are separated completely, consist of six methine carbon atoms, two methylene carbon atoms, two methyls and ten quaternary carbon atoms. This compound has also eriodictyol structure with one isoprenyl substituent.

Isoprenyl position was elucidated by HMQC and HMBC. Correlation of long-range between proton signal of 5-OH at δ_H 12.32 ppm with three quaternary carbon atoms signals (δ_C 159.6 ppm, C-5; 107.6 ppm, C-6; 103.1 ppm, C-4a) indicated the presence of isoprenyl substituent at C-6.

Based on data of NMR (including 1D and 2D), this flavanone was elucidated as 6-isoprenyleriodictyol. 1H and ^{13}C -NMR spectra of the isolated compound is similar with 6-isoprenyleriodictyol which has a molecular structure as $C_{20}H_{20}O_6$ and positive ion mass m/z $[M]^+$ 356.126.¹⁹

CONCLUSIONS

Two isoprenylatedflavanones named 4'-O-methyl-8-isoprenyleriodictyol (**1**) and 6-isoprenyleriodictyol (**2**) have been isolated from the MeOH extract of *M. hosei* leaves. In addition, the present study revealed that MeOH extract and EtOAc fraction of *M. hosei* leaves exhibited significant anticancer activity against HeLa cell lines. It can be suggested that *M. hosei* is a great potential source as anticancer agents and assumed that two isolated compounds belong to isoprenylated flavanones may play important role in anticancer property.

ACKNOWLEDGMENTS

The author would like to acknowledge Ministry of Research, Technology and Higher Education Indonesia for the research funding. We also thank for Herbarium of Wanariset Samboja, for identification of the plant specimen.

REFERENCES

1. Slik, J.W.F., Priyono and Welzen V.P.C., *Garden's Bulletin Singapore*, **52**, 11 (2000).
2. Tanjung, M., Hakim, E.H., Elfahmi, L.J.M. and Syah, Y.M., *Nat. Prod. Commun.*, **7**, 1309 (2012).
3. Syah, Y.M., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Hanafi, M. and Ghisalberti, E.L., *Nat. Prod. Commun.*, **4**, 63 (2009).
4. Zakaria, I., Ahmat, N., Jaafar, F.M. and Widyawaruyanti, A., *Fitoterapia*, **83**, 968 (2012).
5. Versiani, M.A., Diyabalanage, T., Ratnayake, R., Henrich, C.J., Bates, S.E., McMahon, J.B. and Gustafson, K.R., *J. Nat. Prod.*, **74**, 262 (2011).
6. Agustina, W., Juliawaty, L.D., Hakim, E.H. and Syah, Y.M., *ITB J. Sci.*, **44 A**, 13 (2012).
7. Tanjung, M., Hakim, E.H., Mujahidin, D., Hanafi, M. and Syah, Y.M., *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **11**, 929 (2009).
8. Syah, Y.M. and Ghisalberti, E.L., *Nat. Prod. Commun.*, **5**, 219 (2010).
9. Tanjung, M., Mujahidin, D., Hakim, E.H., Darmawan and Syah, Y.M., *Nat. Prod. Commun.*, **5**, 1209 (2010).
10. Jang, D.S., Cuendet, M., Pawlus, A.D., Kardono, L.B.S., Kawanishi, K., Farnsworth, N.R., Fong, H.H.S., Pezzuto, J.M. and Kinghorn, A.D., *Phytochem.*, **65**, 345 (2004).
11. Yoder, B.J., Dissertation. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia (2007).
12. Botta, B., Delle, M.G., Menendez, P. and Boffi, A., *Trends Pharmacol. Sci.*, **26**, 606 (2005).
13. Marlina, E., Tjahtjandarie, T.S. and Tanjung, M., *Jurnal Kimia Mulawarman*, **3**, 97 (2016).
14. Marlina, E., Tjahtjandarie, T.S. and Tanjung, M., *Der Pharmacia Lettre*, **7**, 153 (2015).
15. Yang, D.S., Peng, W.B., Yang, Y.P., Liu, K.C., Li, X.L. and Xiao, W.L., *Fitoterapia*, **103**, 187 (2015).
16. Yang, D.S., Wei, J.G., Peng, W.B., Wang, S.M., Sun, C., Yang, Y.P., Liu, K.C. and Li, X.L., *Fitoterapia*, **99**, 261 (2014).

- 17 Fahmi,M.Z., Ou, K., Chen, J., Ho, M., Tzing, S. and Chang, J.,*RSC Advances*,**4**, 32762 (2014).
- 18 Benzivin, C., Devehat, T.S. and Boustie, J.,*Phytomedicine*, **10**, 499 (2003).
- 19 Azimova,S.S. and Vinogradova, V.I.,“*Physicochemical and Pharmacological Properties of Flavonoids in Natural Compounds-Flavonoids*, Springer Science Bussiness Media, New York, 158 (2013).

Lampiran 1.3. Abstract Acceptance Letter seminar International Conference The Indonesian Chemical Society (ICICS) di Palembang tanggal 17-18 oktober 2017.



**THE COMMITTEE OF THE 6TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF
THE INDONESIAN CHEMICAL SOCIETY (ICICS 2017)**

Jl. Palembang-Prabumulih Km.32 Indralaya 30662, Sumatera Selatan, Indonesia
Telp. (0711) 580269 Fax. (0711) 580056 Email: icics6.2017@gmail.com



Palembang, 6 August 2017

Eva Marlina
ID Number : 912

ABSTRACT ACCEPTANCE LETTER

Dear Eva Marlina

On behalf of the Organizing Committees, we would like to thank and appreciate for your great contribution in ICICS 2017.

Here we would like to inform you that your abstract entitled

Isoprenylated flavanone derivatives and anticancer activity of *Macaranga hosi* King ex Hook.f. leaves

has been accepted in track of Natural Product and Medicinal Chemistry for Oral Presentation in The 6th International Conference of The Indonesian Chemical Society (ICICS 2017).

Presenter who do not register and pay in full by September 13, 2017, will not include in the schedule and their abstract will not be printed in the Abstract Book.

We are very grateful for contribution and looking forward to receiving your registration. Please do not hesitate us if you have further inquiry and we look forward to welcoming you on October 17-18, 2017 in Palembang, Indonesia.

Yours sincerely,

Hermansyah, M.Si., Ph.D.
Chair of ICICS 2017

Lampiran 1.4. Sertifikat seminar International Conference The Indonesian Chemical Society (ICICS) di Palembang tanggal 17-18 oktober 2017.



Lampiran 1.5. Abstrak seminar International Conference The Indonesian Chemical Society (ICICS) di Palembang tanggal 17-18 oktober 2017.

**Isoprenylated flavanone derivatives and anticancer activity of
Macaranga hosei King ex Hook.F.leaves**

*Four isoprenylated flavanones, 4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (1), 4'-O-methyl-8-isoprenylnaringenin (2), lonchocarpol A (3) and 6-isoprenileriodiktiol (4) have been isolated from the leaves of Macaranga hosei King ex Hook.f. The structure of fourth compounds have been elucidated based on their spectroscopic data, including UV, 1D and 2D NMR, and HREISMS spectra. Compounds 1–3 displayed anticancer activity toward HeLa cell lines that were evaluated by MTT assay with IC₅₀ values of 6.39, 21.46, 5.62, (compound 4 was not test) μ M respectively were evaluated. It can be suggested that *M. hosei* is a great potential source of anticancer agents.*

Keywords : Macaranga hosei, anticancer, MTT assay, flavanones, isoprenylated.

Lampiran 1.6. Serifikat seminar Nasional Kimia



Lampiran 1.7. Abstrak Seminar Nasional Kimia

Senyawa Turunan Flavanon dari Daun *Macaranga hosei*

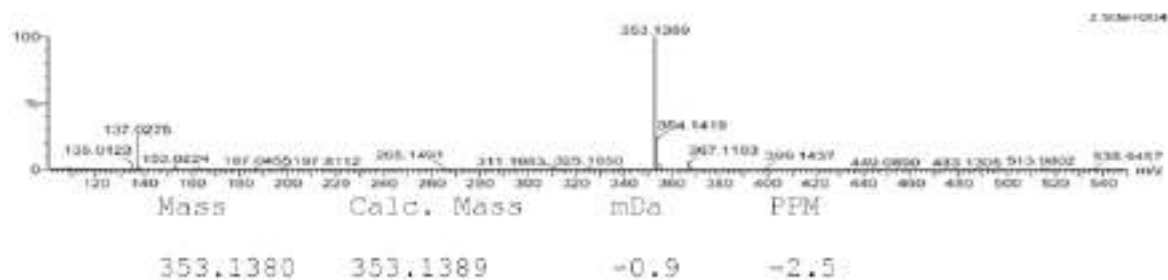
Abstrak

Empat senyawa turunan flavanon yaitu *4'-O-metil-8-isoprenileriodiktiol (1)*, *6-isoprenileriodiktiol (2)*, *lonkokarpol A (3)* dan *4-O-metil-8-isoprenilnaringenin (4)* telah berhasil diisolasi dari daun *Macaranga hosei*. Penentuan struktur keempat senyawa berdasarkan data spektroskopi meliputi *spektrum UV, 1D, 2D NMR, HREIS-MS*.

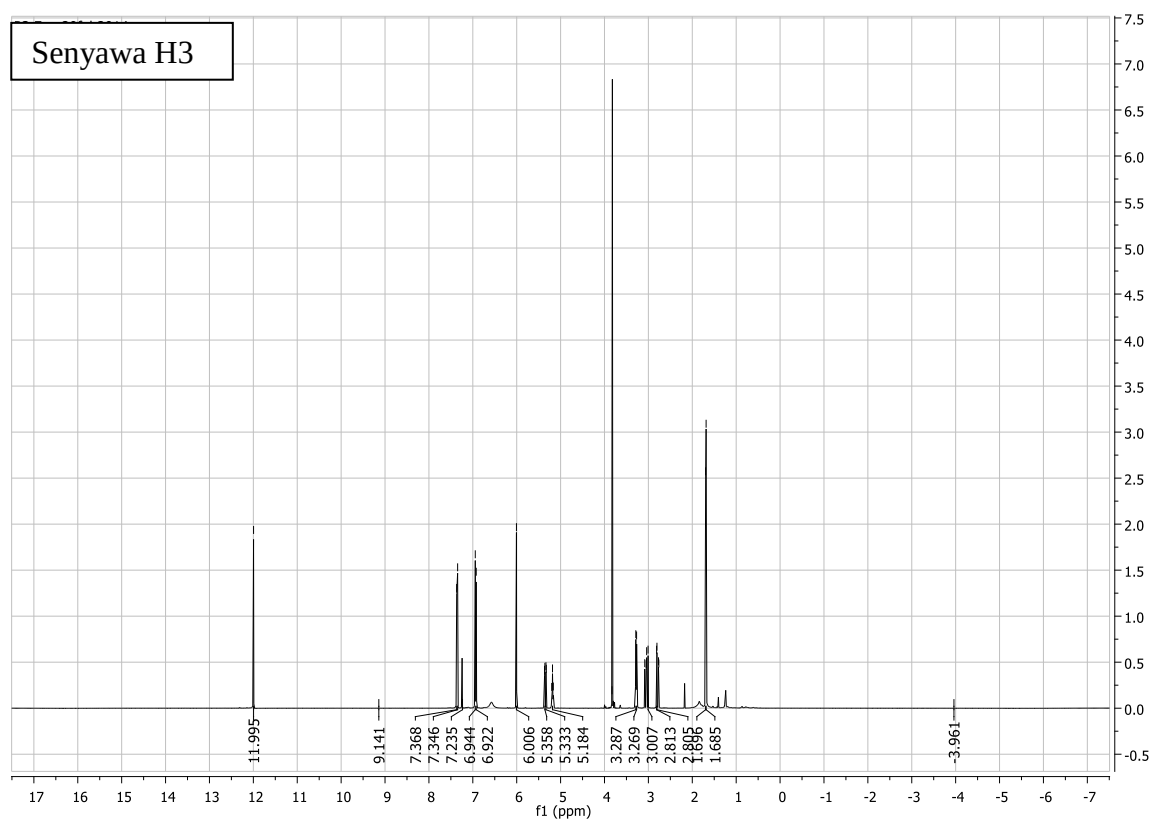
Kata kunci : Macaranga hosei, flavanone, isoprenylated.

Lampiran 2 Data Penelitian

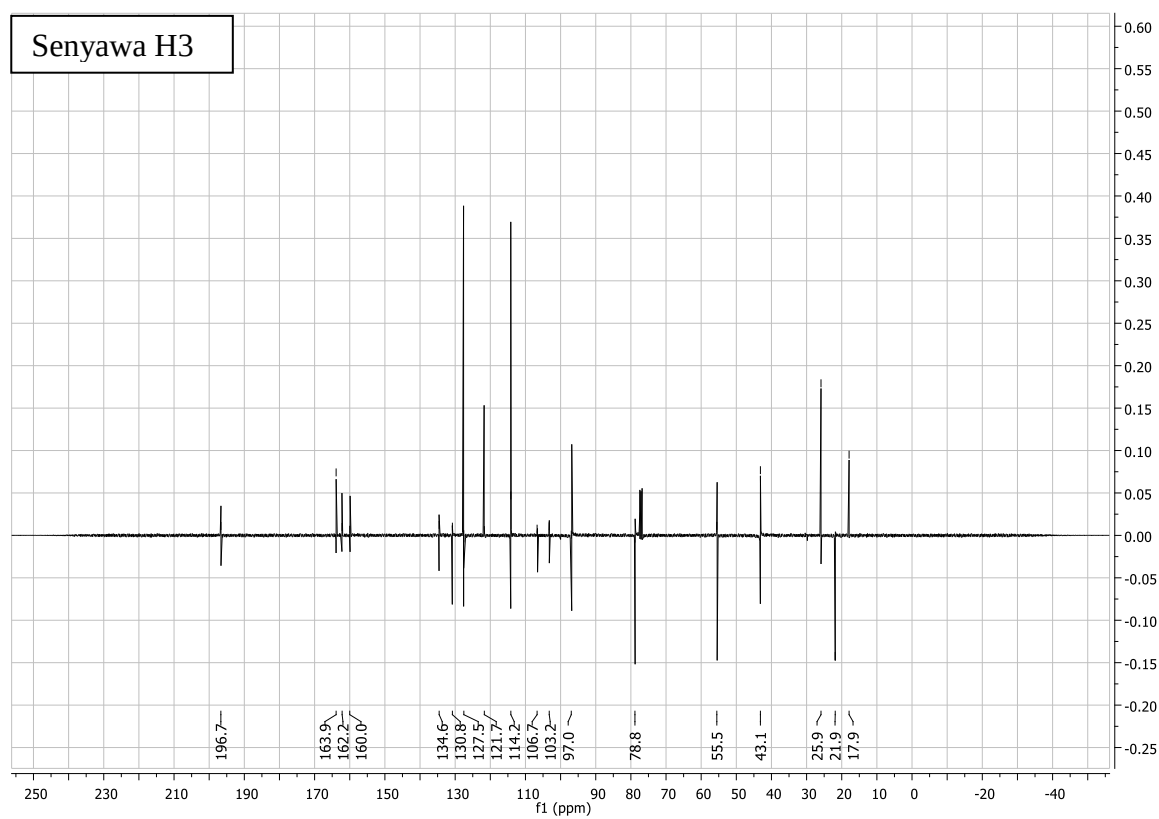
Lampiran-2.1. Spektra ESI-MS senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.



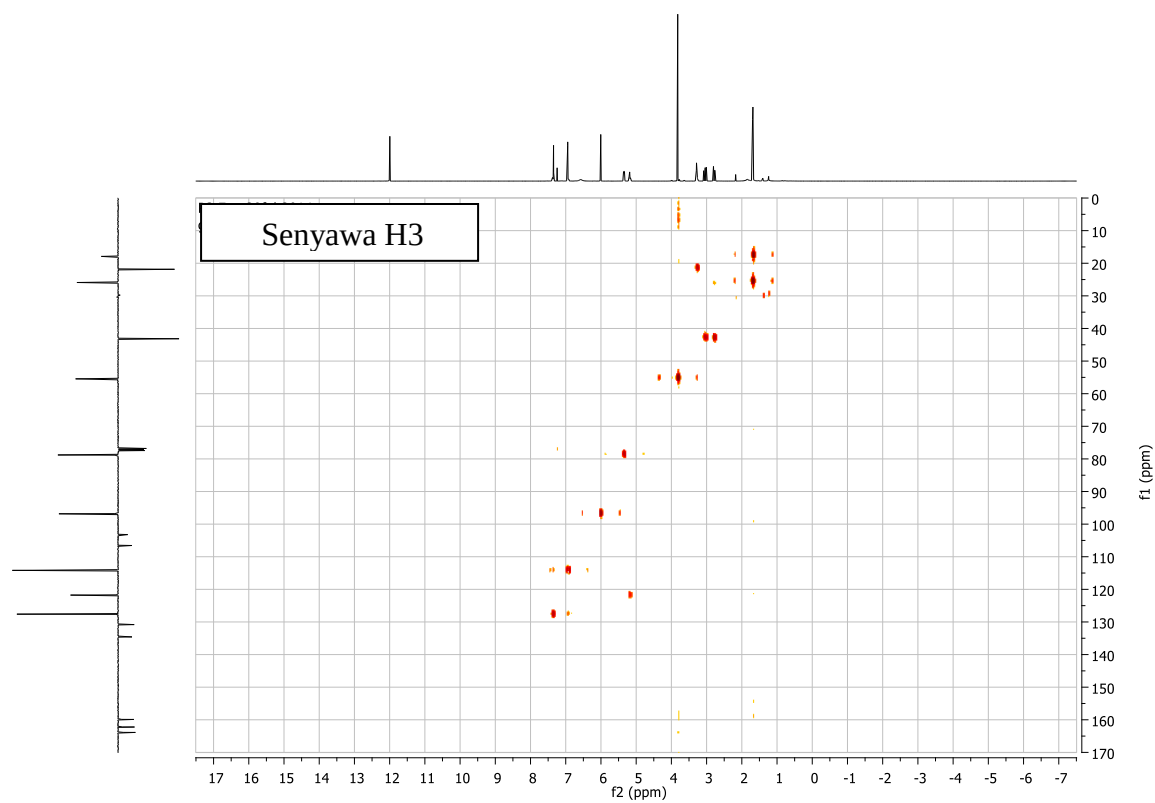
Lampiran-2.2. Spektra ^1H -NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.



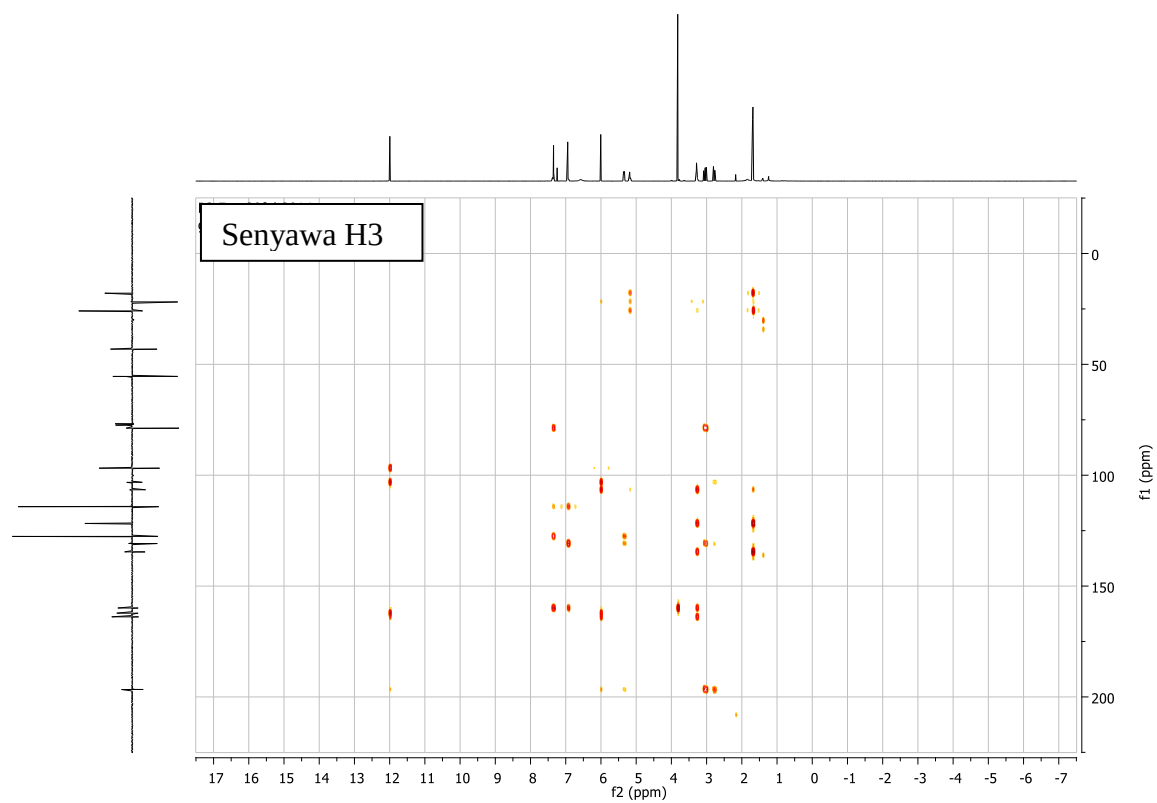
Lampiran-2.3. Spektra ^{13}C -NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.



Lampiran-2.4. Spektra 2D-NMR HMQC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.



Lampiran-2.5. Spektra 2D-NMR HMBC senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.



Lampiran-2.6. Perbandingan data spektrum NMR senyawa 4'-O-metil-8-isoprenilnaringenin.

No. C	4'-O-metil-8-prenilnaringenin (Hasil isolasi)	δ_C	4'-O-metil-8-prenilnaringenin (Agustina, <i>et al.</i> , 2012)	δ_C
	δ_H (mult, J Hz)		δ_H (mult, J Hz)	
2	5,35(dd, 13,0, 3,0)	78,8	5,48 (dd, 13,0, 3,0)	79,5
3	3,04(dd, 13,0, 17,0) _{ax} 2,79(dd, 17,0, 3,0) _{eq}	43,1	3,14 (dd, 17,0, 13,0) 2,77 (dd, 17,0, 3,0)	43,4
4	-	196,7	-	197,4
4a	-	103,2	-	103,2
5	-	162,2	-	162,9
6	6,01(s)	97,0	6,02 (s)	96,3
7	-	163,9	-	164,9
8	-	106,7	-	108,2
8a	-	161,4	-	160,9
1'	-	130,8	-	132,1
2'/6'	7,36(d, 8,4)	127,5	7,49 (d, 9,0)	128,7
3'/5'	6,93(d,8,4)	114,2	6,99 (d, 9,0)	114,7
4'	-	160,0	-	160,8
1''	3,28(d, 7,2)	21,9	3,21 (d, 7,5)	22,2
2''	5,18(t, 7,4)	121,7	5,18 (tm, 7,5)	123,6
3''	-	134,6	-	131,2
4''	1,70(s)	25,9	1,60 (s)	25,8
5''	1,68(s)	17,9	1,59 (s)	17,8
5-OH	11,99(s)	-	12,13 (s)	-
4'OCH ₃	3,82(s)	55,5	3,82 (s)	55,5

Lampiran-2.7. Spektra ESI-MS senyawa lonkokarpol A.

Elemental Composition Report

Page 1

Single Mass Analysis

Tolerance = 50.0 mDa / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: OM

Number of isotope peaks used for LFIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

66 formulae(s) evaluated with 14 results within limits (up to 5 best isotopic matches for each mass)

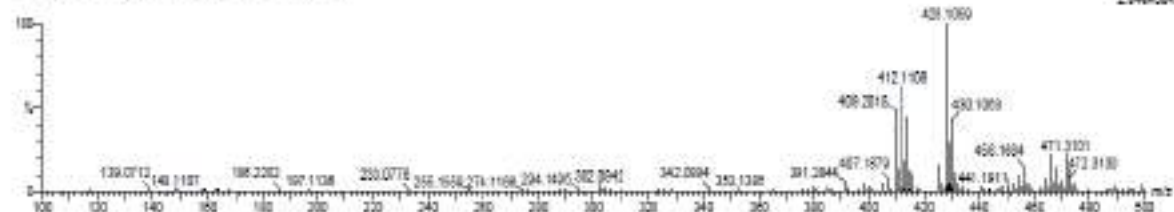
Elements Used:

C: 0-1000 H: 0-1000 O: 0-500

standard

look SF4_esi 434-1078_omp 439-2215_pos 5 (3374) Cn (R7)

TOF MS ES+
2.04e+06

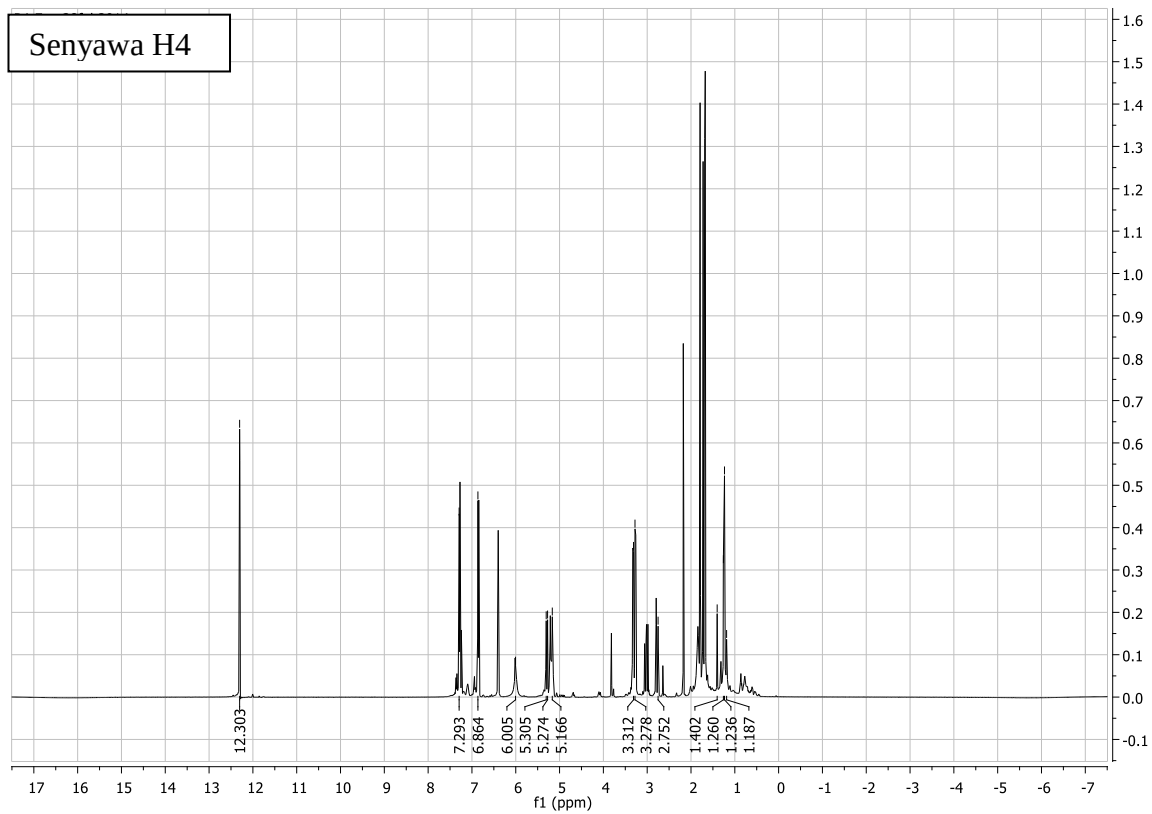


Minimum:

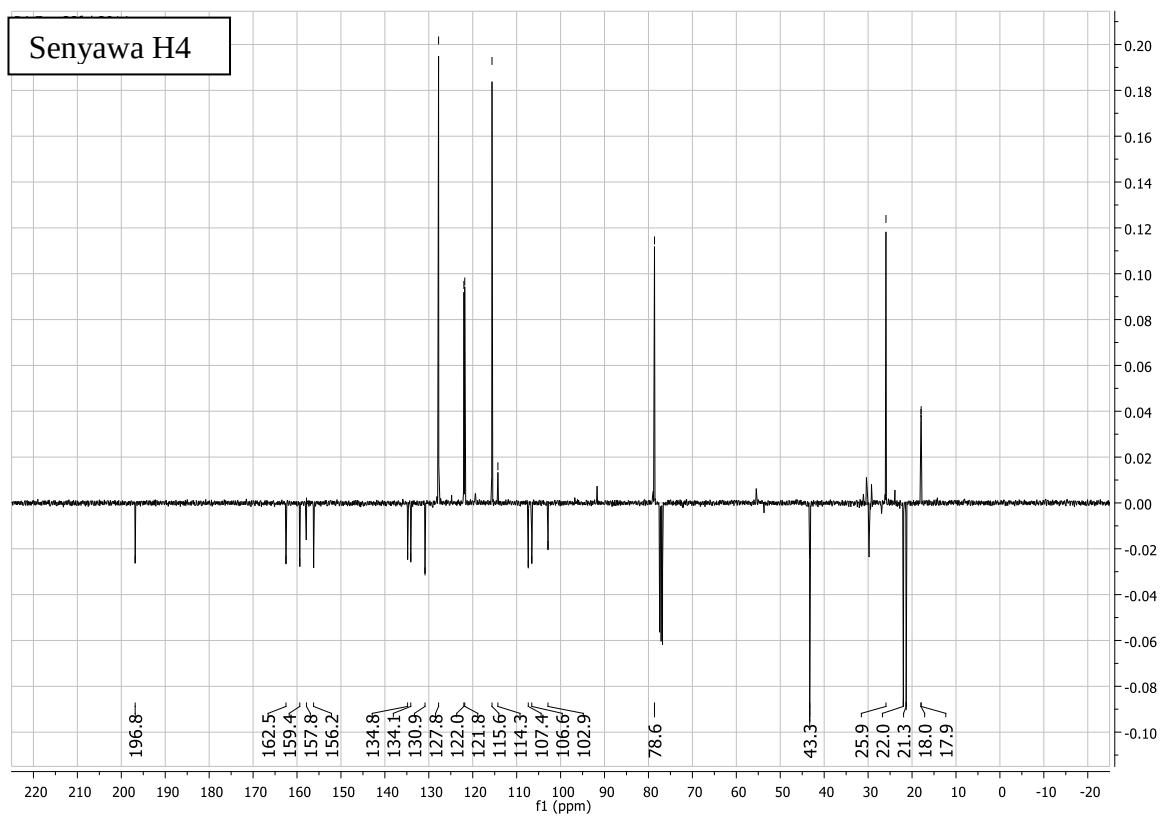
Maximum:

					-1.5			
		50.0	15.0		50.0			
Mass	Calc. Mass	mDa	DBE	LFIT	LFIT (Norm)	Formula		
438.2016	438.2018	0.2	0.7	11.8	817.8	1.1	C28 H29 O8	
	438.2224	-20.8	-30.8	6.5	817.6	1.2	C22 H22 O7	
	439.1691	96.7	55.7	12.8	817.9	1.5	C24 H28 O8	
	439.1662	15.6	15.1	7.5	818.8	2.4	C21 H26 O8	
	439.2279	-25.1	-35.1	10.9	818.9	2.9	C26 H31 O4	

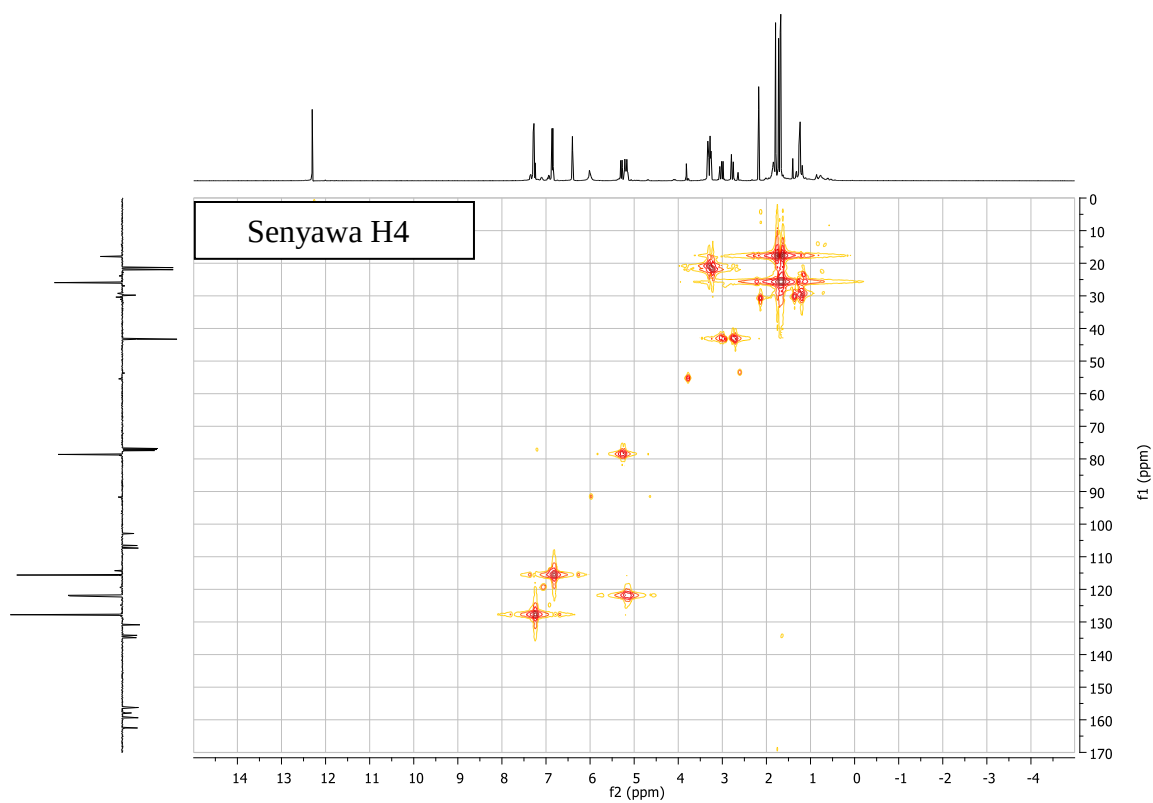
Lampiran-2.8. Spektra ^1H -NMR senyawa lonkokarpol A.



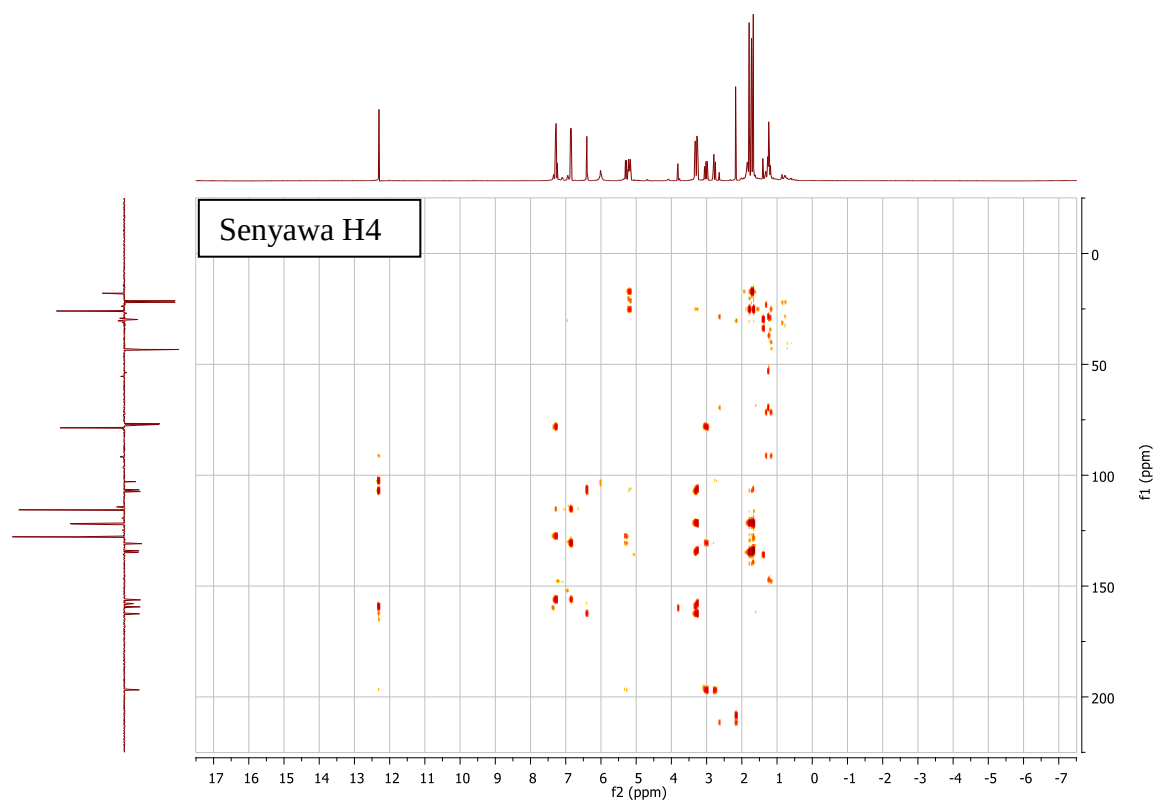
Lampiran-2.9. Spektra ^{13}C -NMR senyawa lonkokarpol A



Lampiran-2.10. Spektra 2D-NMR HMQC senyawa lonkokarpol A.



Lampiran-2.11. Spektra 2D-NMR HMBC senyawa lonkokarpol A



Lampiran-2.12. Perbandingan data spektrum NMR senyawa lonkokarpol A.

No. C	Lonkokarpol A (Hasil isolasi)		Lonkokarpol A (Tjahjandarie, <i>et al.</i> , 2014)	
	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C
2	5,30(dd, 13,0, 3,0)	78,6	5,33 (dd, 12,8, 3,0)	78,6
3	3,03(dd,13,0, 17,0) _{ax} 2,79(dd, 13,0, 3,0) _{eq}	43,3	3,05 (dd, 17,1; 12,8)	43,6
4	-	196,8	-	196,9
4a	-	102,9	-	102,8
5	-	159,4	-	159,4
6	-	107,4	-	107,3
7	-	162,5	-	162,3
8	-	106,6	-	106,3
8a	-	157,9	-	158,0
1'	-	130,9	-	131,2
2'/6'	7,30(d, 8,4)	127,3	7,33 (d, 8,4)	128,0
3'/5'	6,85(d,8,4)	115,6	6,89 (d, 8,4)	115,4
4'	-	156,2	-	156,2
1''	3,33(d, 7,2)	22,0	3,35 (d, 7,4)	22,0
2''	5,22(t, 7,2)	122,0	5,25 (t, 7,7)	121,8
3''	-	134,8	-	134,7
4''	1,80(s)	17,9	1,83 (s)	17,9
5''	1,70(s)	25,9	1,76 (s)	25,8
1'''	3,28(d, 7,2)	21,3	3,31 (d, 7,1)	21,3
2'''	5,20(t, 7,2)	121,8	5,21 (t, 7,9)	121,7
3'''	-	134,0	-	133,9
4'''	1,73(s)	17,8	1,71 (s)	17,8
5'''	1,68(s)	25,9	1,60 (s)	25,6
5-OH	12,30(s)	-	12,30 (s)	-



DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

Sertifikat

Nomor : 4894/E3.2/LT/2017

Diberikan kepada

EVA MARLIANA

Universitas Mulawarman

Atas Partisipasinya sebagai:

PENYAJI

**Pada Seminar Hasil Program Riset Terapan (Penelitian Produk Terapan, MP3EI, PSN Institusi, PTUPT)
Yang Sudah Selesai Tahun 2017**

Di selenggarakan pada tanggal 29 s.d. 30 Nopember 2017 di Makassar

**Jakarta, 11 Nopember 2017
Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat,**



**Prof.Dr. Ocky Karna Radjasa, Msc.
NIP. 196510291990031001**



DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

Piagam Penghargaan

Nomor : 4894/E3.2/LT/2017

Diberikan kepada

EVA MARLIANA

Universitas Mulawarman

Atas Partisipasinya sebagai:

POSTER TERBAIK

**Pada Seminar Hasil Program Riset Terapan (Penelitian Produk Terapan, MP3EI, PSN Institusi, PTUPT)
Yang Sudah Selesai Tahun 2017**

Di selenggarakan pada tanggal 29 s.d. 30 Nopember 2017 di Makassar

Jakarta, 11 Nopember 2017

Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat,

Prof.Dr. Ocky Karna Radjasa, Msc.

NIP. 196510291990031001