



TESIS

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TANAMAN OBAT TRADISIONAL BALI DAN ISOLASI SENYAWA TERPENOID DARI EKSTRAK METANOL DAUN PARE (*Momordica charantia*)

Luh Lian Pertiwi (1414201038)

Prof. Dr. Taslim Ersam
Sri Fatmawati, M.Sc., Ph. D

Program Pascasarjana
Jurusan Kimia

Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya





PENDAHULUAN



KESIMPULAN

METODE DAN
PEMBAHASAN





PENDAHULUAN

KESIMPULAN

METODE DAN
PEMBAHASAN





Latar Belakang



Merusak struktur dan fungsi membran

Oksidatif
Stress

Penyakit
Degeneratif

Kebutaan

Stroke



Gagal Ginjal

Jantung
koroner



Antioksidan Sintesis

- Efektifitasnya tinggi



Antioksidan Alami

- Senyawa bahan alam pada tumbuhan (turunan fenol, kumarin, flavonoid)



Keanekaragaman Tumbuhan di Indonesia (Sumber Antioksidan Alami)

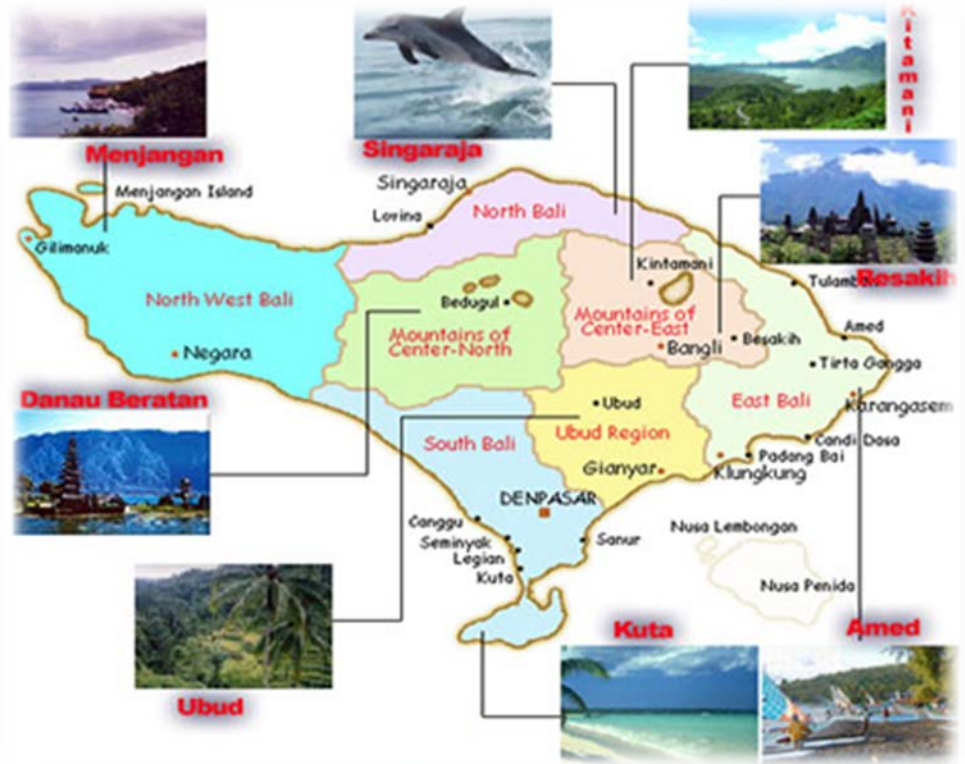




INDONESIA



BALI



SPA TRADISIONAL BALI



PURI PENGOBATAN TRADISIONAL



USADHA



Ilmu pengobatan tradisional Bali yang sumbernya berasal dari Lontar



Lontar Rukmini
Tatwa





Pendahuluan

Keanekaragaman
Tanaman Obat Bali

Lontar Rukmini Tatwa



Wawancara
Masyarakat Bali Utara

13 Tanaman Obat Tradisional Bali



DAUN PARE

Kubola (2008) ekstrak daun pare
memiliki aktivitas antioksidan (DPPH)
 IC_{50} 9,72 μ g/mL

ABTS
??

Aktivitas antioksidan ekstrak daun pare terhadap ABTS??
Dari ekstrak yang aktif antioksidan apakah masih berpeluang
ditemukan senyawa baru dan aktif antioksidan??



Pendahuluan

Tujuan Penelitian

Untuk mendapatkan nilai aktivitas antioksidan daun pare terhadap ABTS dan mendapatkan senyawa baru dan aktif antioksidan.

Manfaat

Memberikan bukti ilmiah tentang pengobatan dengan menggunakan tanaman obat tradisional. Potensi tanaman obat tradisional Bali dapat menjadi salah satu pengobatan alternatif yang diharapkan mampu menarik minat wisatawan.

Potensi tanaman tradisional sebagai agen antioksidan ini diharapkan dapat memberikan peluang baru penemuan sebagai obat yang efektif dan aman serta terjangkau oleh semua masyarakat Indonesia.



PENDAHULUAN

METODE DAN
PEMBAHASAN

KESIMPULAN





PENDAHULUAN

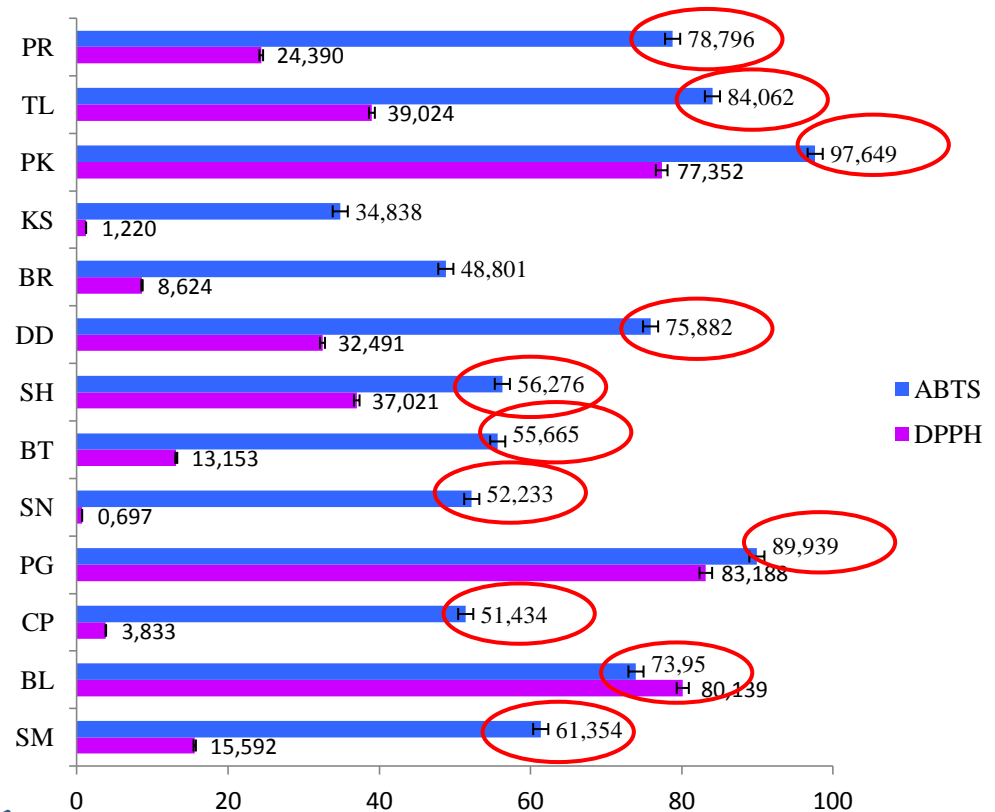
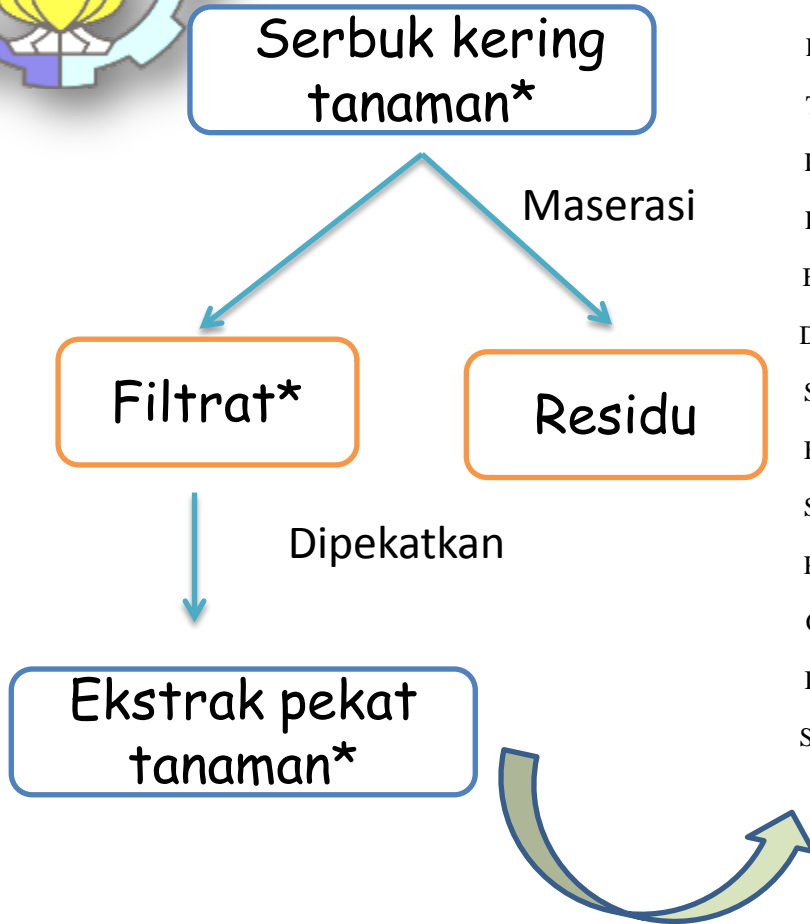
METODE DAN
PEMBAHASAN

KESIMPULAN





METODE DAN PEMBAHASAN



11 ekstrak dengan persen inhibisi diatas 50% (ABTS)



METODE DAN PEMBAHASAN

ANTIOKSIDIAN



DPPH
73%



DPPH
 IC_{50} 0,07 $\mu\text{g/mL}$
ABTS
 $1,18 \pm 0,89 \mu\text{g/mL}$



DPPH
 IC_{50} 11,0
 IC_{50} 17,8
 **IC_{50} 9,72
(daun)**



DPPH
 $72,96 \pm 0,78\%$
 $52,45 \pm 0,66\%$
 $48,59 \pm 0,97\%$
 $44,42 \pm 0,94\%$

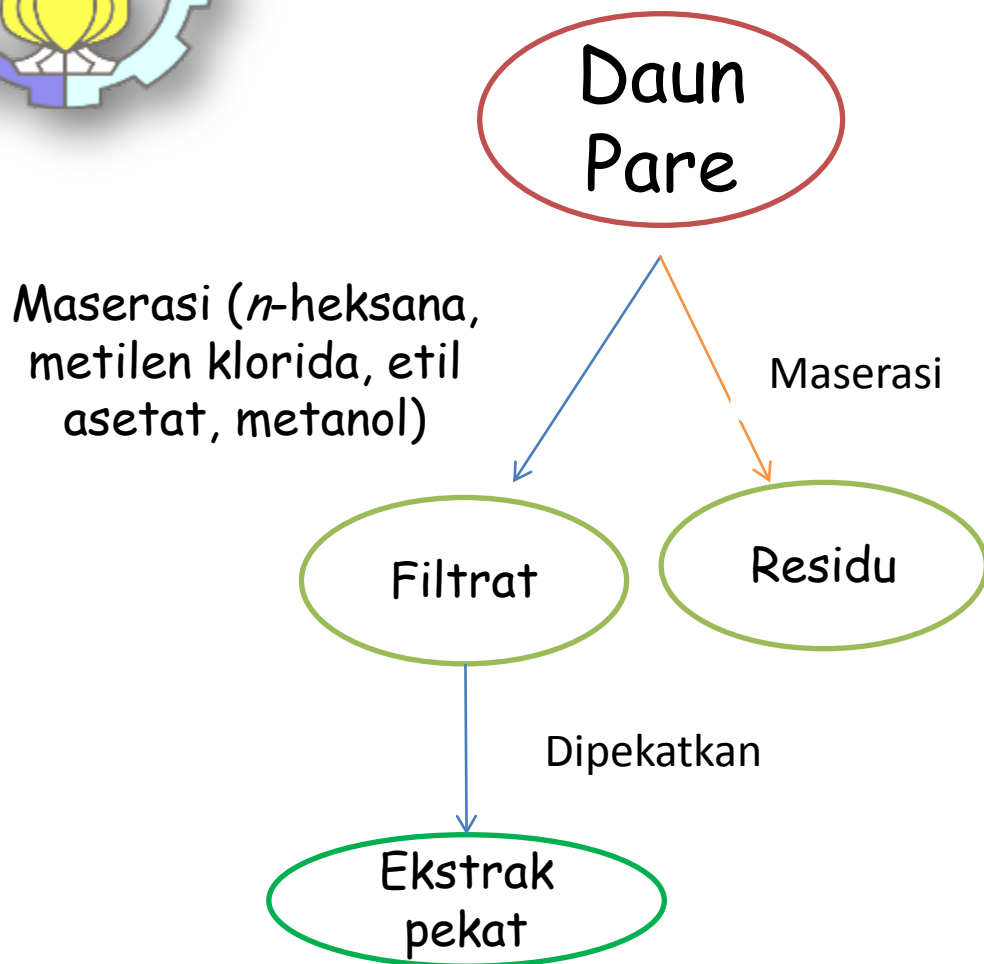


DPPH
 $96,4 \pm 15,2$
 $\mu\text{mol/g fw}$
ABTS
 $3,75 \pm 0,16 \mu\text{mol/g fw}$





METODE DAN PEMBAHASAN



Monitoring KLT dengan eluen kloroform 100%



METODE DAN PEMBAHASAN

Daun
Pare



Ekstrak *n*-heksana

Ekstrak metilen
klorida

Ekstrak etil asetat

Ekstrak metanol



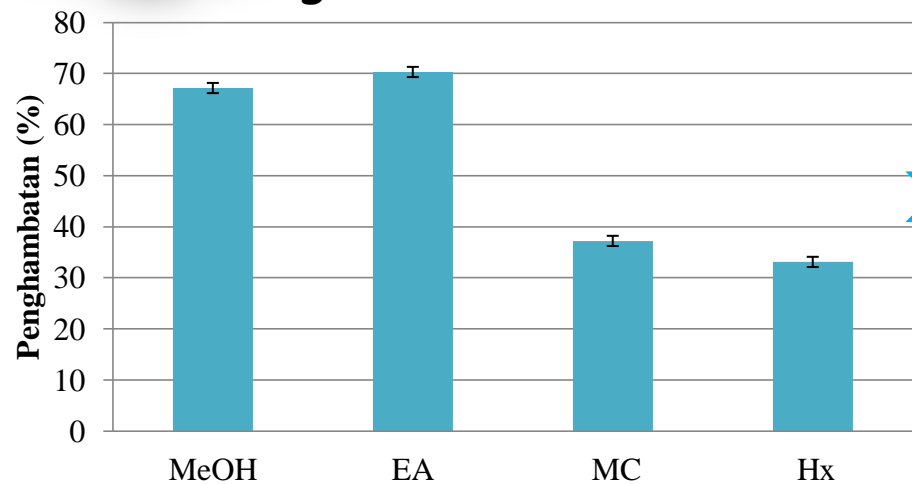
Diuji dengan ABTS

DATA

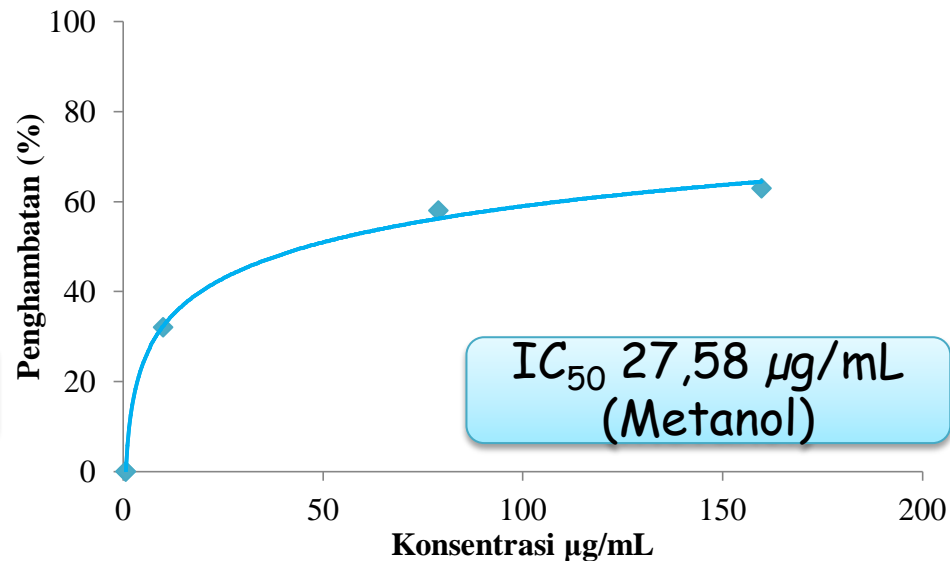
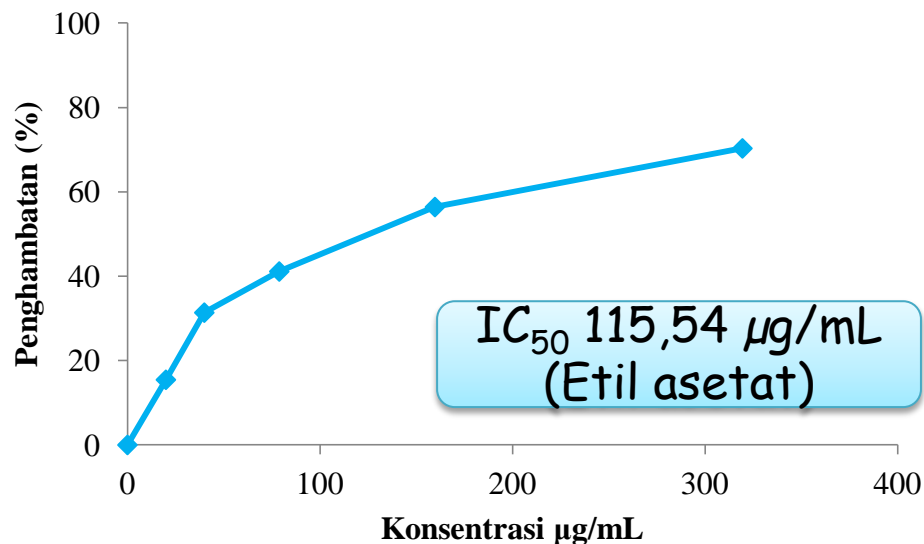


METODE DAN PEMBAHASAN

Penghambatan ABTS



Ekstrak Etil asetat: $70,30 \pm 0,02\%$
Ekstrak Metanol: $67,15 \pm 0,03\%$,
Ekstrak metilen klorida: $37,22 \pm 0,03\%$
Ekstrak n-heksana: $33,11 \pm 0,03\%$.





METODE DAN PEMBAHASAN



Sampel Daun Pare

dikeringkan



Sample kering
900 g

Maserasi
3x 24 jam

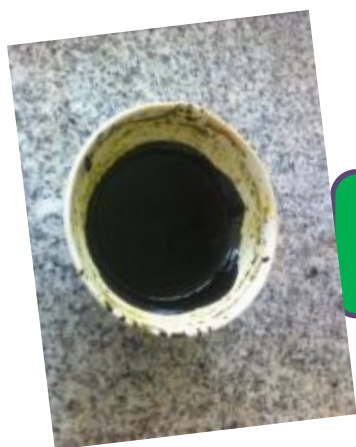


Filtrat

Residu

Evaporasi

Ekstrak pekat
(97,49 g)



METODE DAN PEMBAHASAN

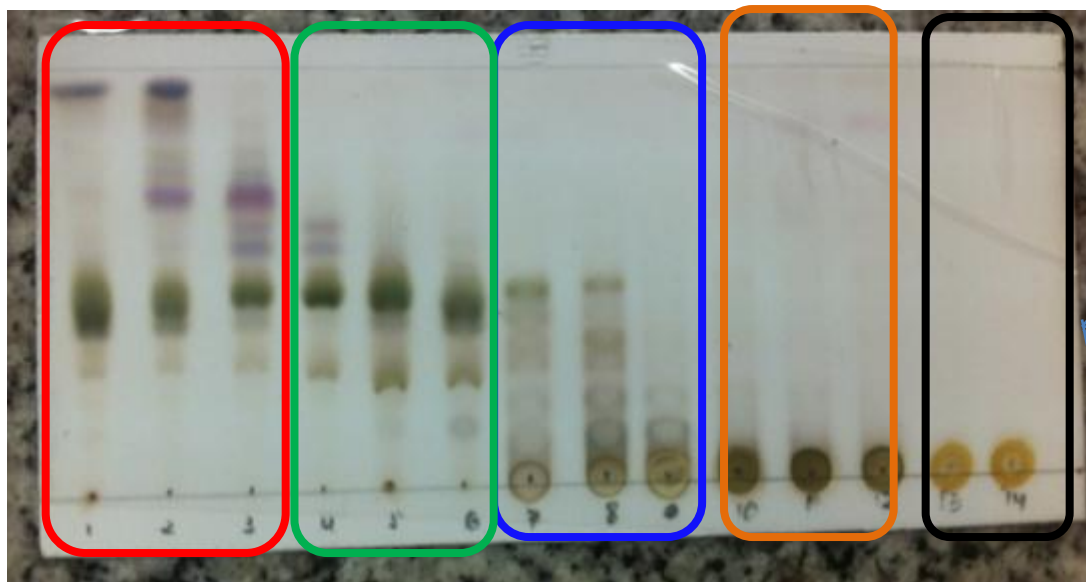


Ekstrak
Pekat Pare
(50 g)

Fraksinasi
(KCV)



Monitoring
KLT



Fraksi T
(3,169 g)

Fraksi P
(1,774 g)

Fraksi R
(9,386 g)

Fraksi Q
(1,925 g)

Fraksi S
(17,937 g)

KCV Tahap ke-2



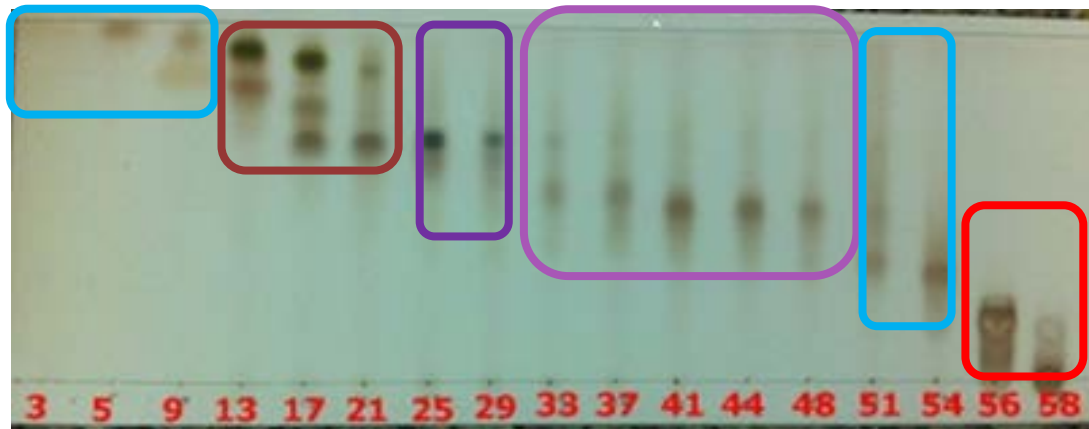
METODE DAN PEMBAHASAN

KCV Tahap ke-2

Fraksi R
9,368 g

Refraksinasi
(KCV)

Monitoring
KLT



Fraksi R1
(0,485 g)

Fraksi R2
(1,779 g)

Fraksi R3
(0,339 g)

Fraksi R4
(0,623 g)

Fraksi R5
(0,825 g)

Fraksi R6
(4,754 g)

KCV Tahap ke-3



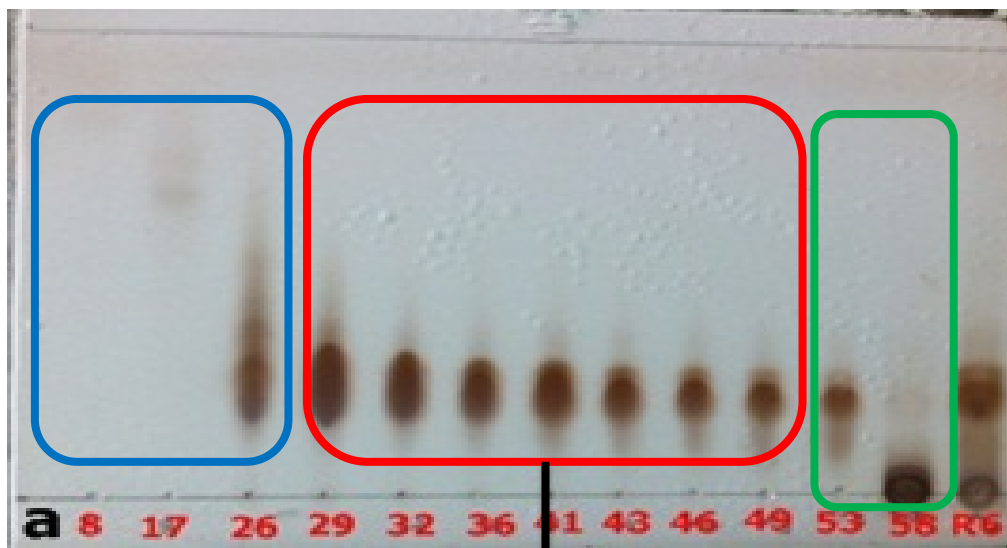
METODE DAN PEMBAHASAN

KCV Tahap ke-3

Fraksi R6
(4,754 g)

Refraksinasi
(KCV)

Monitoring
KLT



Fraksi R6a
(185 mg)

Fraksi R6b
(638 mg)

Fraksi R6c
(56 mg)

Rekristalisasi

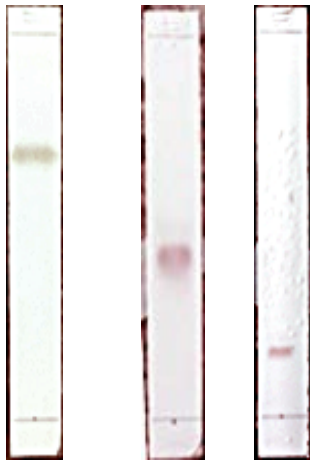


METODE DAN PEMBAHASAN

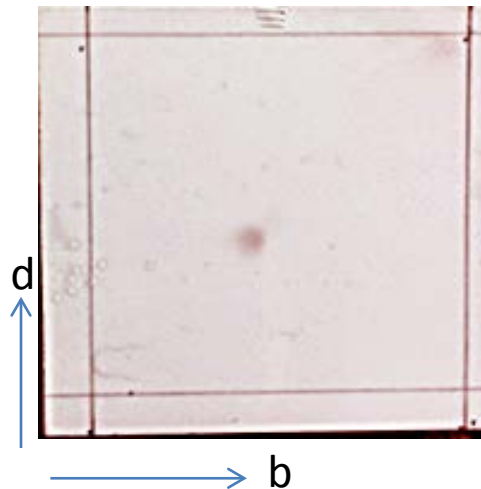
Uji Kemurnian Senyawa R6b (486 mg)

1

KLT 3 Eluen



KLT 2 D



2

Uji Titik Leleh
(128°C- 129°C)

Keterangan 3 Eluen:

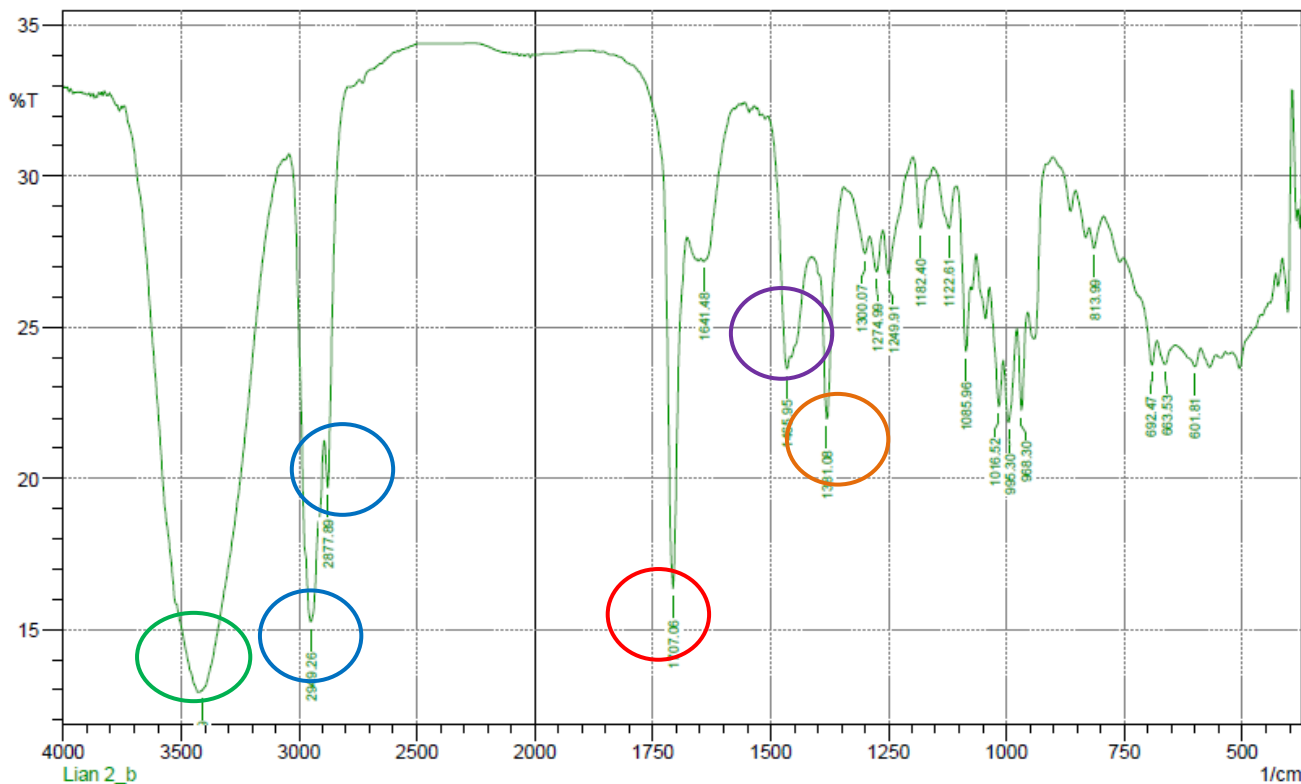
- Etil asetat: n-heksana 95%
- Etil asetat: Metilen klorida 60%
- Metanol: n-heksana 5%
- Etil asetat: n-heksana 50%



METODE DAN PEMBAHASAN

1

IR Senyawa R6b



3412 cm⁻¹ (OH)
Alkohol

2877 cm⁻¹ dan 2949
cm⁻¹ (C-H sp³)

1707 cm⁻¹ (C=O)

1381 cm⁻¹ (C-O)

1641 cm⁻¹ (C=C)



METODE DAN PEMBAHASAN

2

Data $^1\text{H-NMR}$ Senyawa R6b

δ_{H} (ppm)
Compound R6b

9,88 (1H, s)

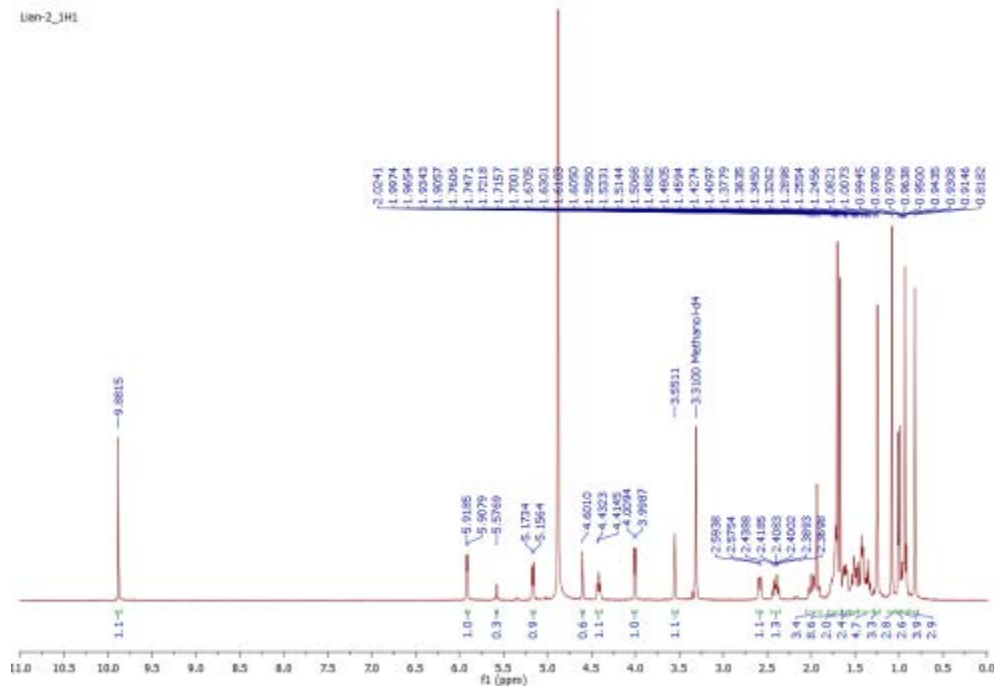
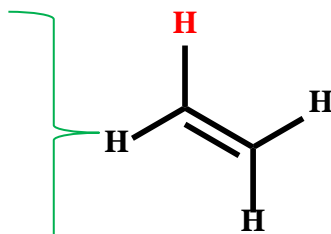
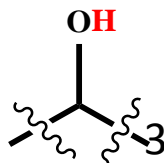
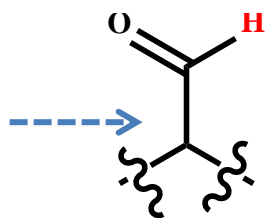
3,55 (1H, brs)

4,00 (1H, d)

4.42 (1H, dt)

5,91 (1H, d, $J = 5$ Hz)

5,16 (1H, d, $J = 10$ Hz)





METODE DAN PEMBAHASAN

3

Data ^{13}C -NMR Senyawa R6b

δ_c (ppm)
Compound R6b

209,7

66,53

66,89

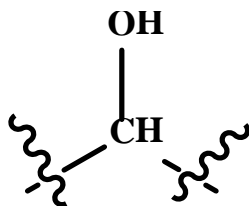
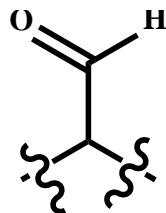
77,05

147,32

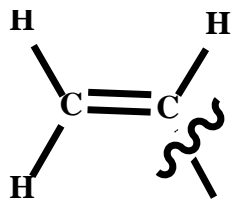
133,4

130,4

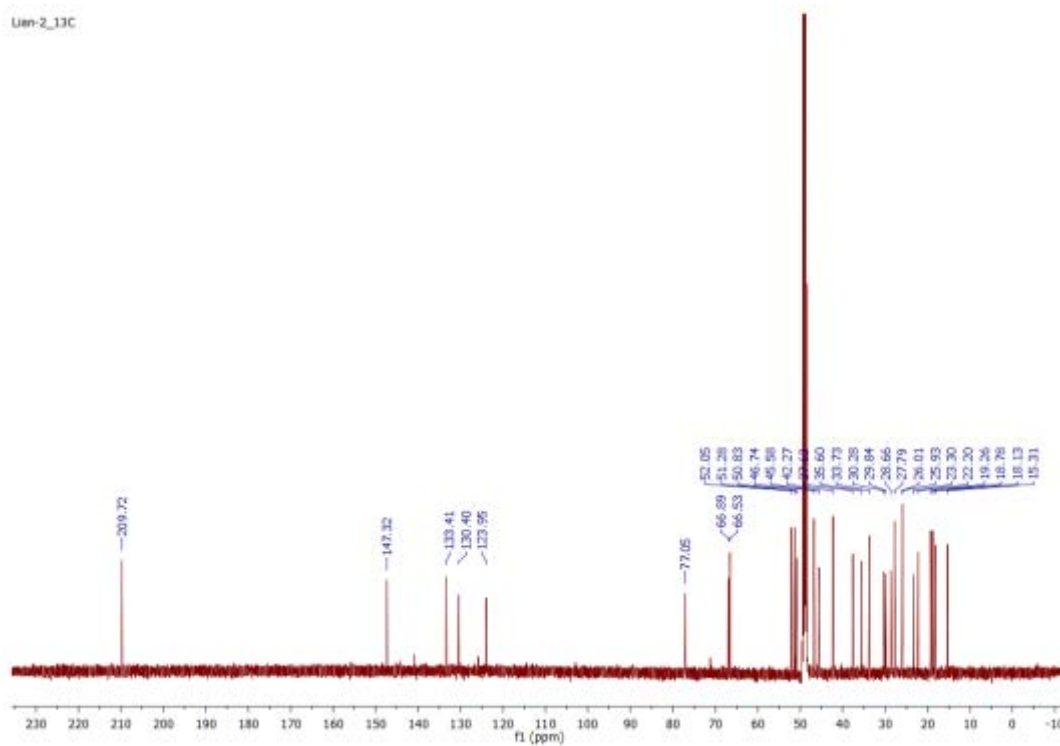
123,95



2



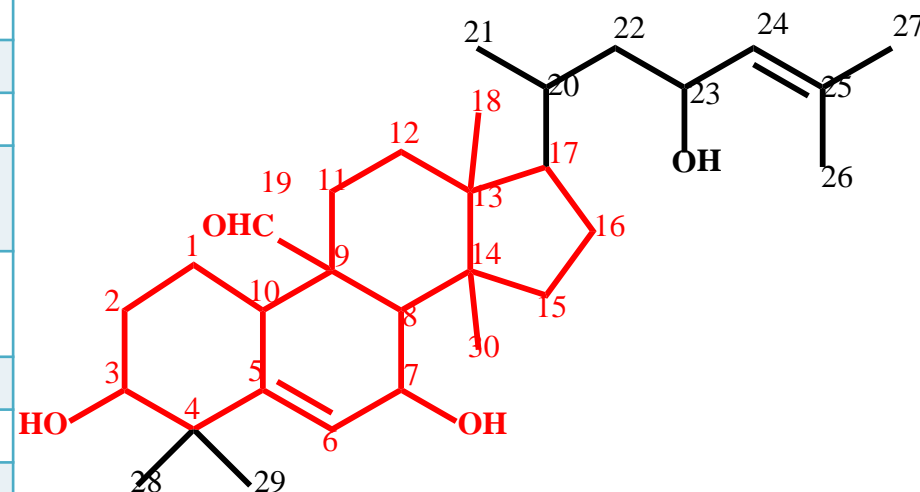
Uem-2_13C



METODE DAN PEMBAHASAN



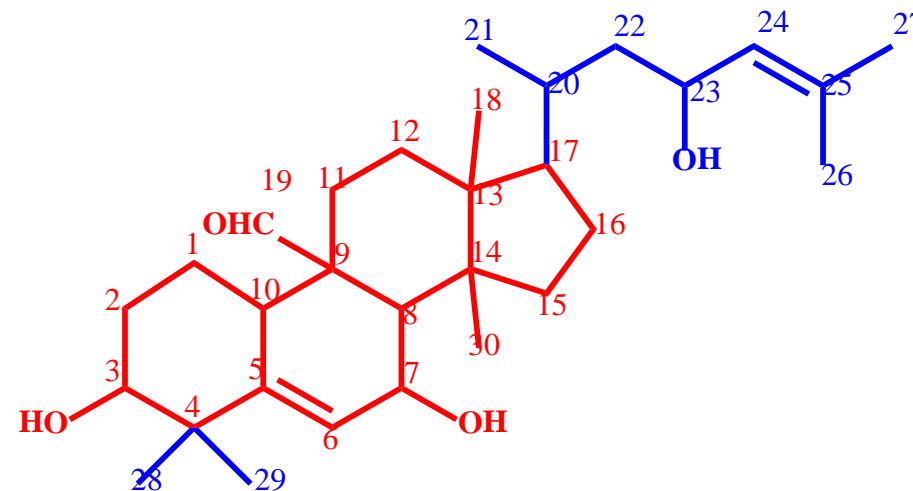
Posisi	Senyawa R6		Momordicine I	
	δH (ppm)	δC (ppm)	δH (ppm)	δC (ppm)
1.		22,2		22,2
2.		30,2		30,3
3.	3,55 (1H, brs)	77,0	3,55 (1H, brs)	77,1
4.		42,2		42,3
5.		147,3		147,3
6.	5,91 (1H, d, J=5 Hz)	123,9	5,91(1H, d, J=4 Hz)	124,0
7.	4,00 (1H, d, J= 5Hz)	66,8	4,00 (1H, d, J= 5,2 Hz)	66,9
8.	2,40 (1H, m)	50,8	2,40 (1H, m)	50,8
9.		52,0		52,1
10.	2,58 (1H, d, J= 10 Hz)	37,7	2,58 (1H, m)	37,7
11.		23,3		23,3
12.		29,8		29,8
13.		46,7		46,8
14.		49,0		49,0
15.		35,6		35,6
16.		28,6		28,6
17.		51,2		51,3
18.		15,3		15,3
19.	9,88 (1H, s)	209,7	9,88 (1H, s)	209,7



METODE DAN PEMBAHASAN



Posis i	Senyawa R6		Momordicine I	
	δH (ppm)	δC (ppm)	δH (ppm)	δC (ppm)
20.	1,96 (1H, m)	33,7	1,98 (1H, m)	33,7
21.	1,00 (3H, d, J= 5 Hz)	19,2	1,00 (3H, d, J= 6,4 Hz)	19,3
22.		45,5		45,6
23.	4,42 (1H, dt, J= 10 Hz)	66,5	4,41 (1H, dt, J=8,8 Hz)	66,6
24.	5,16 (1H, d, J= 10 Hz)	133,4	5,16 (1H, d, J=8,8 Hz)	133,4
25.		130,4		130,5
26.	1,70 (s)	18,7	1,70 (3H, s)	18,8
27.	1,67 (s)	26,0	1,68 (3H, s)	26,0
28.		25,9		25,9
29.		27,7		27,8
30.		18,1		18,1



3,7,23-trihidroksi-kukurbita-5,24-dien-19-al
(Momordicine I)

Momordicine I telah dilaporkan sebelumnya dari ekstrak etanol daun Pare (Bing et al., 2008), (Li et al., 2015) dan ekstrak metanol (Ma et al., 2010)



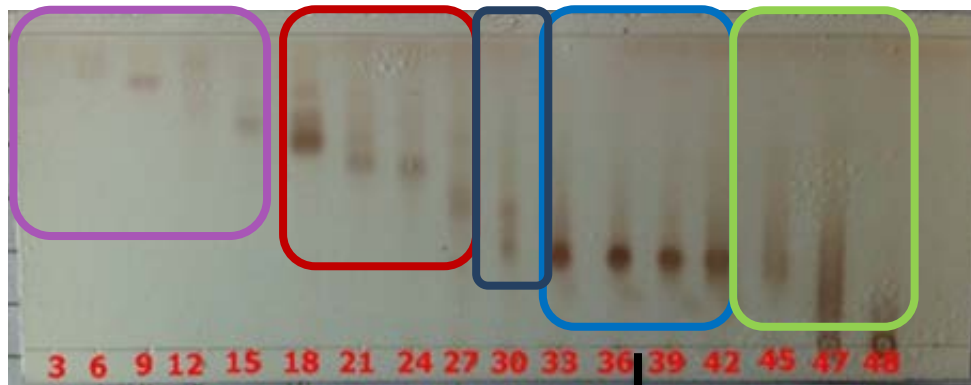
METODE DAN PEMBAHASAN

ISOLASI SENYAWA R5d

Fraksi R5
(0,825 g)

Refraksinasi
(KCV)

Monitoring
KLT



Fraksi R5a
(208,6 mg)

Fraksi R5b
(151,2 mg)

Fraksi R5c
(109 mg)

Fraksi R5d
(450,2 mg)

Fraksi R5e
(201,3 mg)

KKG

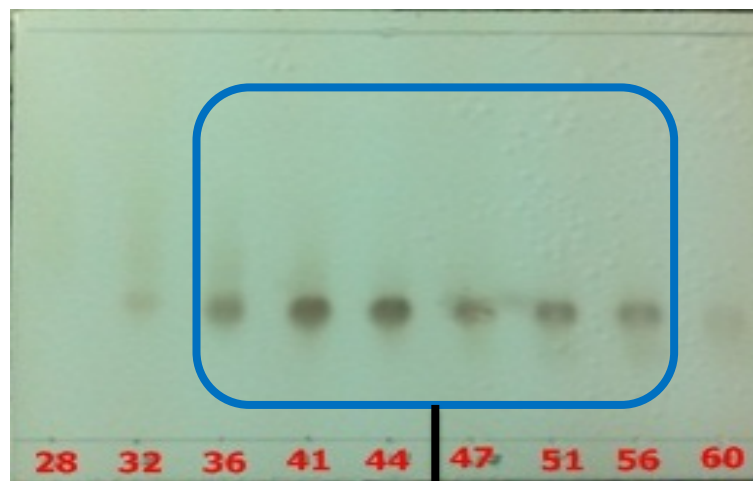


METODE DAN PEMBAHASAN

Fraksi R5d
(450,2 mg)

Refraksinasi
(KKG)

Monitoring
KLT



Rekristalisasi

Senyawa R5d
(40 mg)



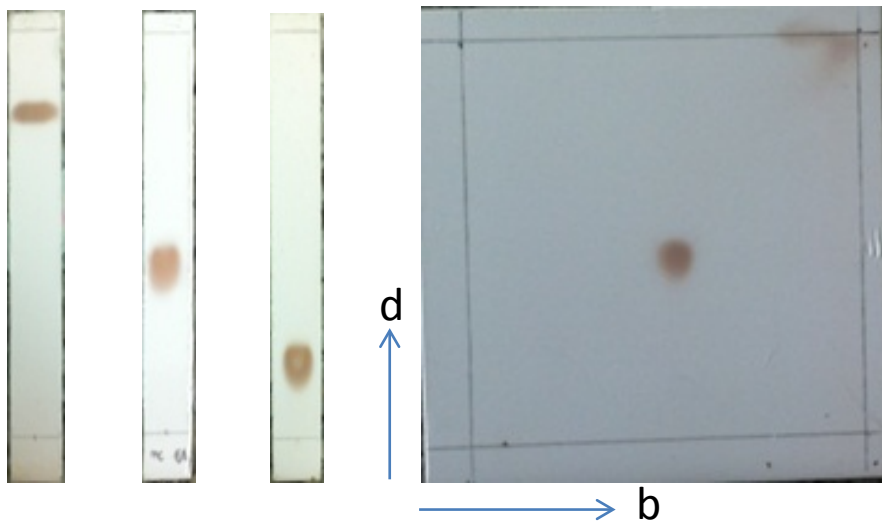
METODE DAN PEMBAHASAN

Uji Kemurnian Senyawa R5d (40 mg)

1

KLT 3 Eluen

KLT 2 D



Keterangan 3 Eluen:

- Metanol: Metilen klorida 5%
- Etil asetat: Metilen klorida 40%
- Etil asetat: n-heksana 95%
- Etil asetat: n-heksana 50%



2

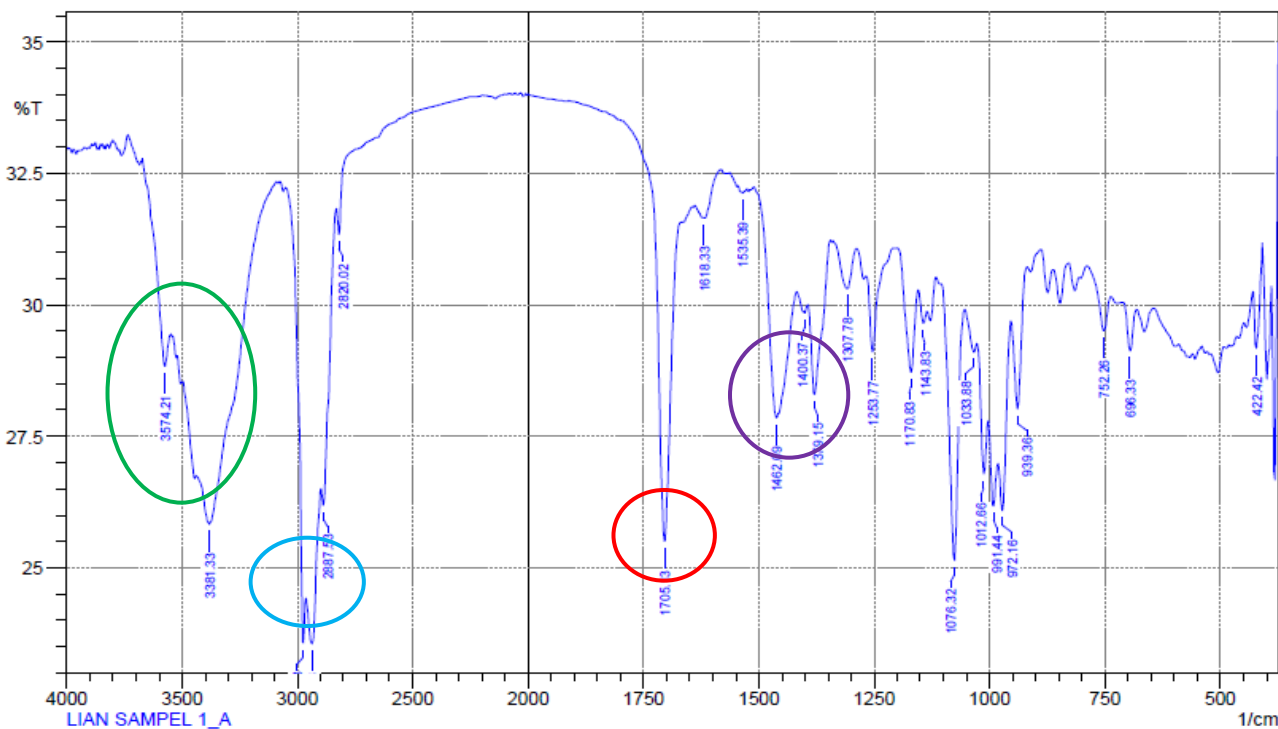
Uji Titik Leleh
(160-161°C)

HASIL DAN PEMBAHASAN SENYAWA R5d



1

IR Senyawa R5d



3381 cm^{-1} dan 3574 cm^{-1} (OH) Alkohol

2877 cm^{-1} dan 2937 cm^{-1} (C-H sp^3)

1705 cm^{-1} (C=O)

1462 cm^{-1} (C-O)

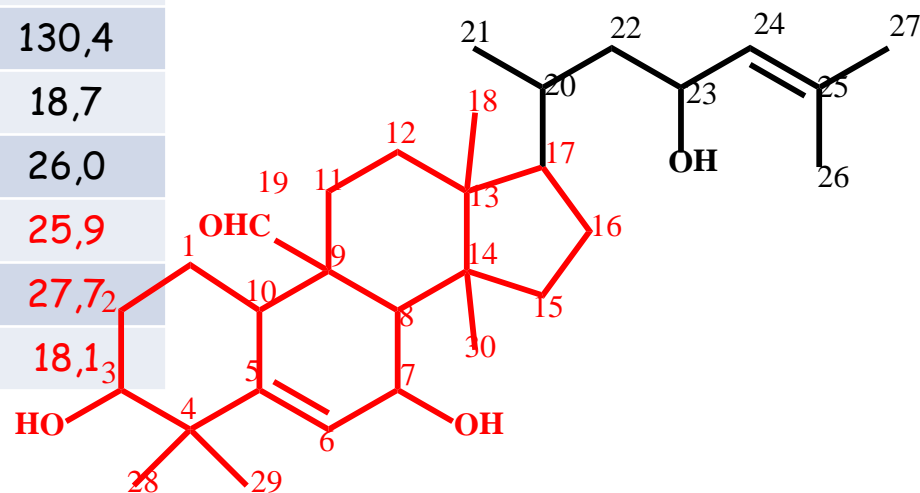
1618 cm^{-1} (C=C)

HASIL DAN PEMBAHASAN



^{13}C NMR (δ_{C} , ppm)

Karbon	Senyawa R5d	Senyawa R6b	Karbon	Senyawa R5d	Senyawa R6b
1	21,3	22,2	16	27,2	28,6
2	28,5	30,2	17	47,9	51,2
3	76,2	77,0	18	15,0	15,3
4	41,5	40,2	19	208,0	209,7
5	145,5	147,3	20	36,2	33,7
6	123,9	124,0	21	18,9	19,2
7	66,2	66,8	22	39,4	45,5
8	50,0	50,8	23	136,9	66,5
9	50,3	52,0	24	128,4	133,4
10	36,7	37,7	25	75	130,4
11	23,4	23,3	26	26,2	18,7
12	29,1	29,8	27	25,5	26,0
13	45,4	46,7	28	25,9	25,9
14	47,6	49,0	29	27,1	27,7,2
15	34,8	35,5	30	18,0	18,1,3

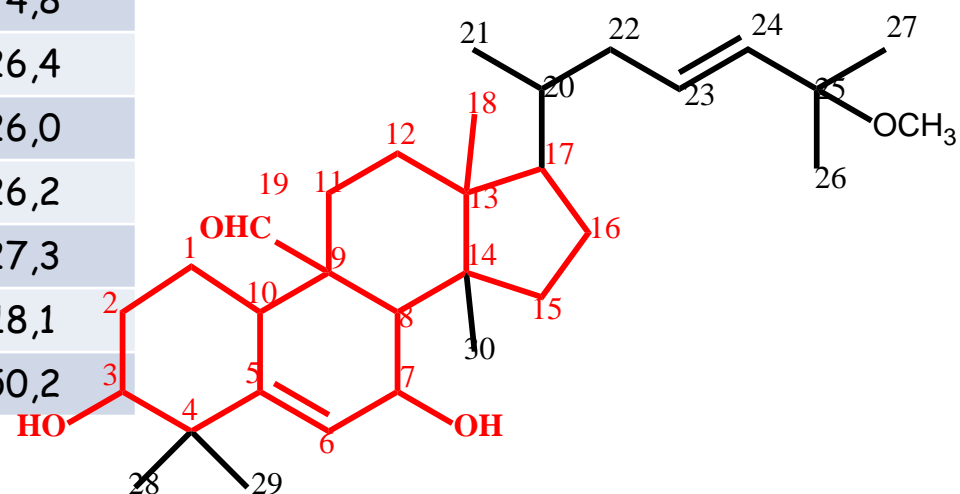


HASIL DAN PEMBAHASAN



¹³C NMR (δ_c , ppm)

C	Senyawa R5d	Senyawa (Fatope 1990)	C	Senyawa R5d	Senyawa (Fatope 1990)
1	21,3	22,2	16	27,2	28,6
2	28,5	30,2	17	47,9	51,2
3	76,2	77,0	18	15,0	15,3
4	41,5	40,2	19	208,0	209,7
5	145,5	147,3	20	36,2	36,3
6	123,9	124,0	21	18,9	18,9
7	66,2	66,8	22	39,4	39,7
8	50,0	50,8	23	128,4	128,4
9	50,3	52,0	24	136,9	137,6
10	36,7	37,7	25	75	74,8
11	23,4	23,3	26	26,2	26,4
12	29,1	29,8	27	25,5	26,0
13	45,4	46,7	28	25,9	26,2
14	47,6	49,0	29	27,1	27,3
15	34,8	35,5	30	18,0	18,1
OCH ₃				50,0	50,2

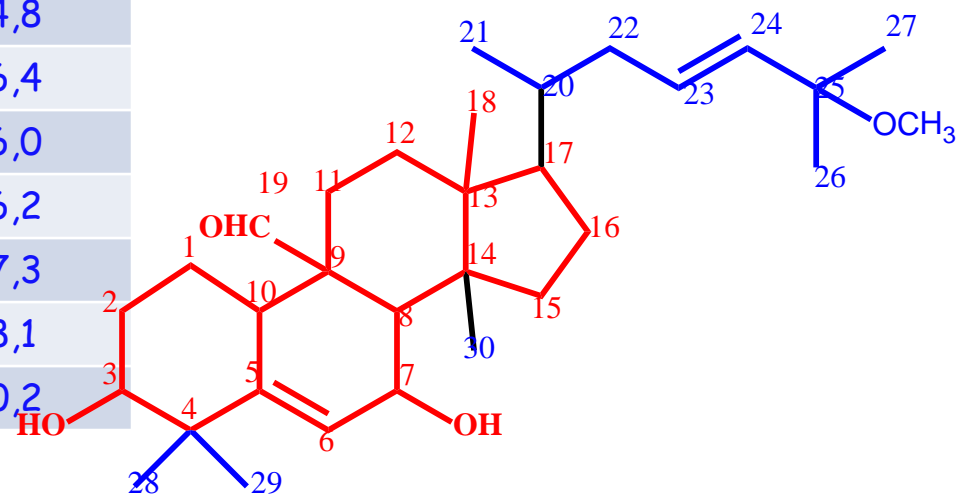


HASIL DAN PEMBAHASAN



^{13}C NMR (δ_c , ppm)

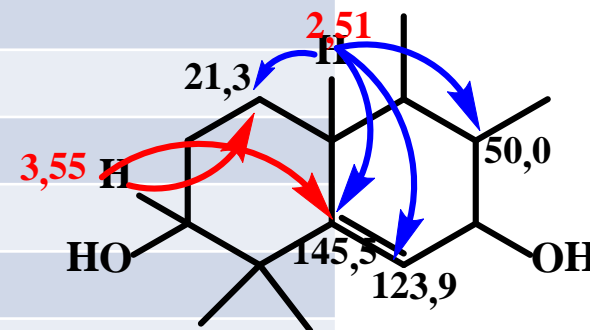
C	Senyawa R5d	Senyawa (Fatope 1990)	C	Senyawa R5d	Senyawa (Fatope 1990)
1	21,3	22,2	16	27,2	28,6
2	28,5	30,2	17	47,9	51,2
3	76,2	77,0	18	15,0	15,3
4	41,5	40,2	19	208,0	209,7
5	145,5	147,3	20	36,2	36,3
6	123,9	124,0	21	18,9	18,9
7	66,2	66,8	22	39,4	39,7
8	50,0	50,8	23	128,4	128,4
9	50,3	52,0	24	136,9	137,6
10	36,7	37,7	25	75	74,8
11	23,4	23,3	26	26,2	26,4
12	29,1	29,8	27	25,5	26,0
13	45,4	46,7	28	25,9	26,2
14	47,6	49,0	29	27,1	27,3
15	34,8	35,5	30	18,0	18,1
OCH ₃				50,0	50,2



HMQC dan HMBC



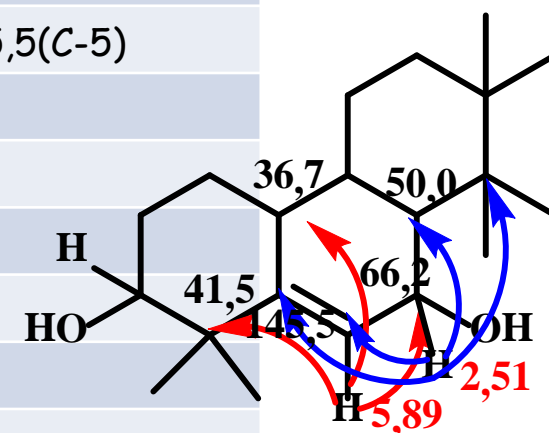
Posisi C	C-NMR	HMQC	HMBC
3	76,2	3,55	21,3 (C-1) , 145,5 (C-5)
7	66,2	2,51	50,0 (C-8),21,33 (C-1), 123,9 (C-6), 145,5 (C-5)
25	75,0	-	
6	123,9	5,89	36,7 (C-10), 41,5 (C-4), 47,6 (C-17), 66,2 (C-7)
23	128,4	5,47	136,9 (C-24), 39,49 (C-22), 75,0 (C-25)
24	136,9	5,39 : 5,36	128,4 (C-23), 25,5 (C-26), 39,4 (C-22), 75,0 (C-25)
5	145,5	-	
8	50,0	1,47	45,4 (C-13) ,18,04(C-30) 27,5 (C-16)
9	50,3	-	
10	36,7	2,51	50,0 (C-8), 21,3(C-1), 123,9 (C-6), 145,5(C-5)
14	47,9	2,06	34,8(C-20), 45,4(C-13), 47,6(C-17)
22	39,4	2,16 : 1,76	36,2 (C-15) ,18,9(C-21) ,136,9(C-24)
15	36,2	1,55	
20	34,8	1,47 : 1,50	45,5 (C-13) , 47,6 (C-17) 27,5(C-16)
12	29,1	1,67 : 1,66	15,0(C-18), 23,5(C-11)
2	28,5	1,60 : 1,63	
16	27,5	1,36 : 1,34	45,4(C-13), 47,6 (C-17), 50,0 (C-8)



HMQC dan HMBC



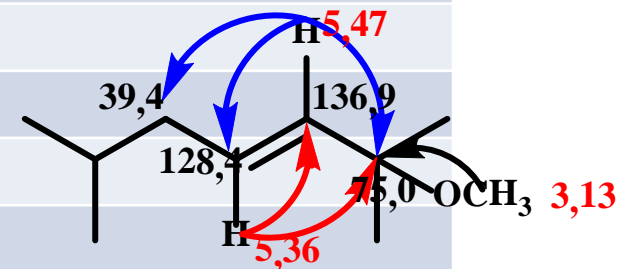
Posisi C	C-NMR	HMQC	HMBC
3	76,2	3,55	21,3 (C-1) , 145,5 (C-5)
7	66,2	2,51	50,0 (C-8), 21,33 (C-1), 123,9 (C-6), 145,5 (C-5)
25	75,0	-	
6	123,9	5,89	36,7 (C-10), 41,5 (C-4), 47,6 (C-17), 66,2 (C-7)
23	128,4	5,47	136,9 (C-24), 39,49 (C-22), 75,0 (C-25)
24	136,9	5,39 ; 5,36	128,4 (C-23), 25,5 (C-26), 39,4 (C-22), 75,0 (C-25)
5	145,5	-	
8	50,0	1,47	45,4 (C-13) ,18,04(C-30) 27,5 (C-16)
9	50,3	-	
10	36,7	2,51	50,0 (C-8), 21,3(C-1), 123,9 (C-6), 145,5(C-5)
14	47,9	2,06	34,8(C-20), 45,4(C-13), 47,6(C-17)
22	39,4	2,16 ; 1,76	36,2 (C-15) ,18,9(C-21) ,136,9(C-24)
15	36,2	1,55	
20	34,8	1,47 ; 1,50	45,5 (C-13) , 47,6 (C-17) 27,5(C-16)
12	29,1	1,67 ; 1,66	15,0(C-18), 23,5(C-11)
2	28,5	1,60 ; 1,63	
16	27,5	1,36 ; 1,34	45,4(C-13), 47,6 (C-17), 50,0 (C-8)



HMQC dan HMBC



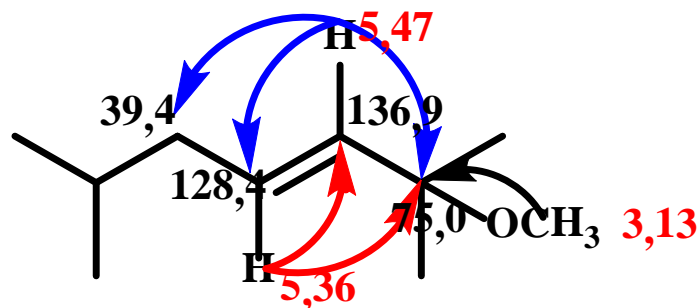
Posisi C	C-NMR	HMQC	HMBC
3	76,2	3,55	21,3 (C-1) , 145,5 (C-5)
7	66,2	2,51	50,0 (C-8),21,33 (C-1), 123,9 (C-6), 145,5 (C-5)
25	75,0	-	
6	123,9	5,89	36,7 (C-10), 41,5 (C-4), 47,6 (C-17), 66,2 (C-7)
23	128,4	5,47	136,9 (C-24), 39,49 (C-22), 75,0 (C-25)
24	136,9	5,39 ; 5,36	128,4 (C-23), 25,5 (C-26), 39,4 (C-22), 75,0 (C-25)
5	145,5	-	
8	50,0	1,47	45,4 (C-13) ,18,04(C-30) 27,5 (C-16)
9	50,3	-	
10	36,7	2,51	50,0 (C-8), 21,3(C-1), 123,9 (C-6), 145,5(C-5)
14	47,9	2,06	34,8(C-20), 45,4(C-13), 47,6(C-17)
22	39,4	2,16 ; 1,76	36,2 (C-15) ,18,9(C-21) ,136,9(C-24)
15	36,2	1,55	
20	34,8	1,47 ; 1,50	45,5 (C-13) , 47,6 (C-17) 27,5(C-16)
12	29,1	1,67 ; 1,66	15,0(C-18), 23,5(C-11)
2	28,5	1,60 ; 1,63	
16	27,5	1,36 ; 1,34	45,4(C-13), 47,6 (C-17), 50,0 (C-8)



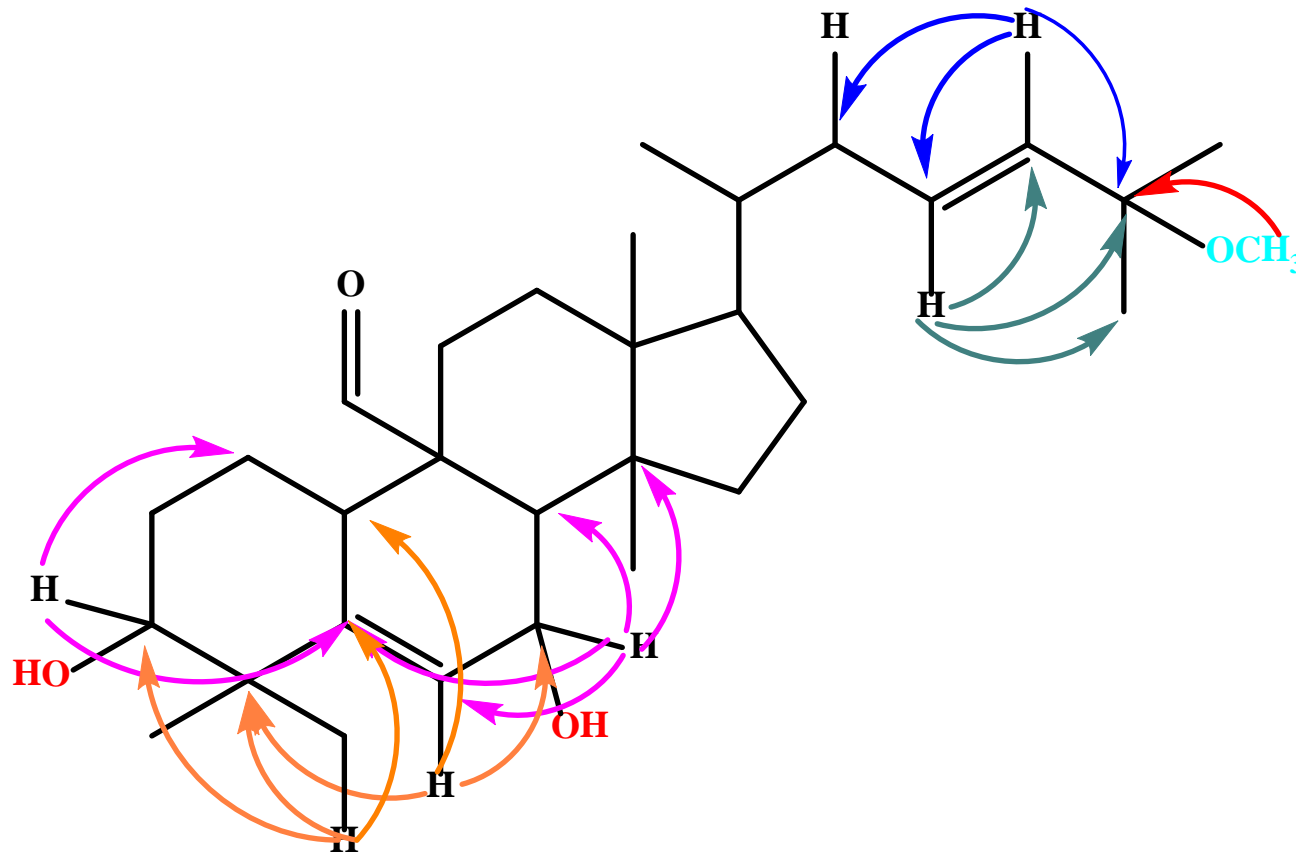
HMQC dan HMBC



Posisi C	C-NMR	HMQC	HMBC
29	27,1	1,04	41,5(C-4), 145,5(C-5), 76,2(C-3)
27	26,2	1,23	-
28	25,9	1,23	41,5(C-13)
26	25,5	1,22	26,2(C-27)
11	23,5	1,55 ; 2,25	29,1(C-12)
21	18,9	0,89	36,2(C-15), 39,4(C-22)
30	18,0	0,72	45,4 (C-13) 47,6 (C-17) 34,8(C-20)
18	15,0	0,87	47,6(C-17), 45,4(C-13), 50,0(C-8)
19	208,0	9,74	
23	128,4	5,47	136,9 (C-24), 39,49 (C-22), 75,0 (C-25)
24	136,9	5,39 ; 5,36	128,4 (C-23), 25,5 (C-26), 39,4 (C-22), 75,0 (C-25)
OCH₃	50,0	3,13	75,0 (C-25)



HMBC Senyawa R5d



Senyawa R5d ($3\beta,7\beta$ -dihidroksi-25metoksi-kukurbita-5-21-diena-al)

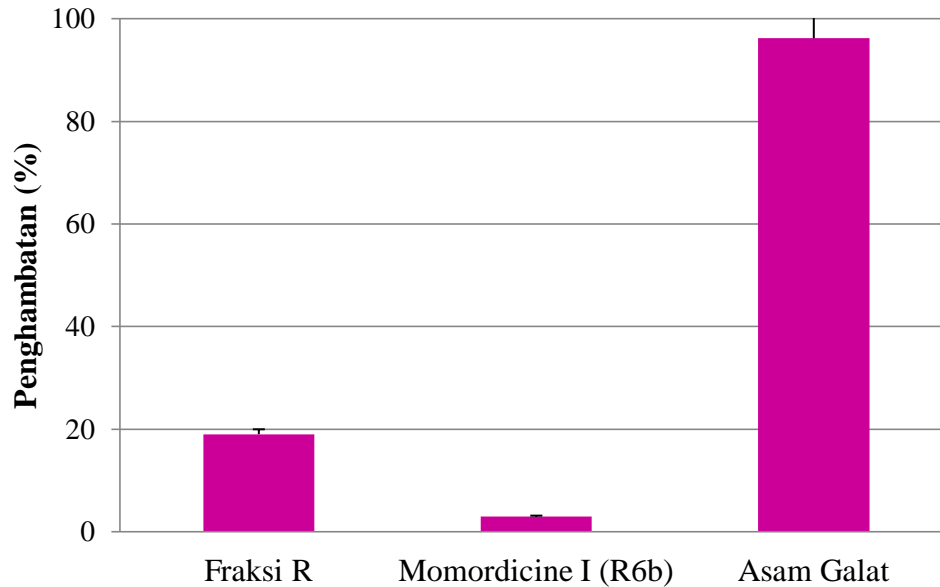
Telah diisolasi pertama kali dari ekstrak metanol daun pare (Fatope et al., 1990), (Jiang et al., 2016), ekstrak campuran *n*-heksana, klorofom dan metanol (Mulholland et al., 1997),



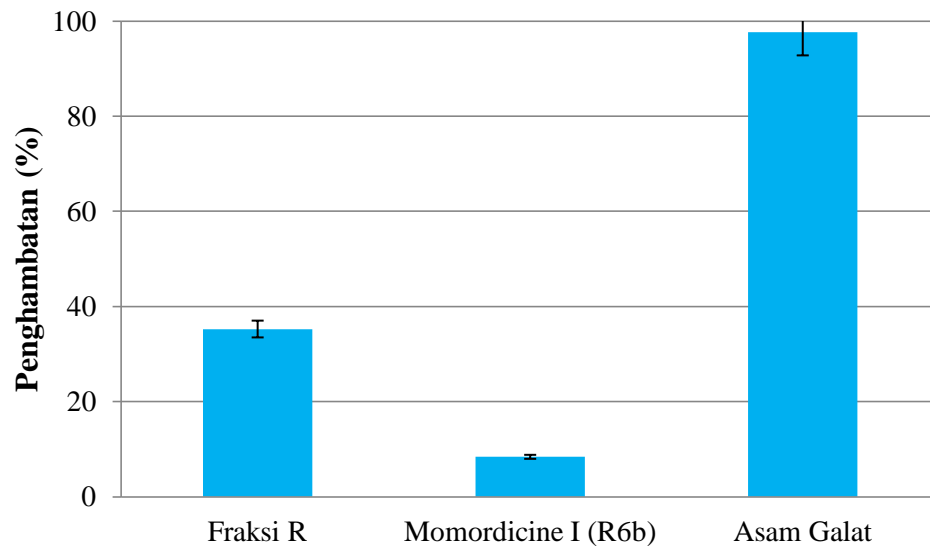
ABTS

DPPH

Aktivitas Antioksidan



Fraksi R: 21,12±0,02%
Senyawa R6b: 5,51±0,02%
IC₅₀ asam galat: 2,24 µg/mL



Fraksi R: 40,28±0,04%
Senyawa R6b: 36,76±0,03%
IC₅₀ asam galat: 1,36 µg/mL



PENDAHULUAN

METODE DAN
PEMBAHASAN

KESIMPULAN





PENDAHULUAN

METODE DAN
PEMBAHASAN

KESIMPULAN



KESIMPULAN



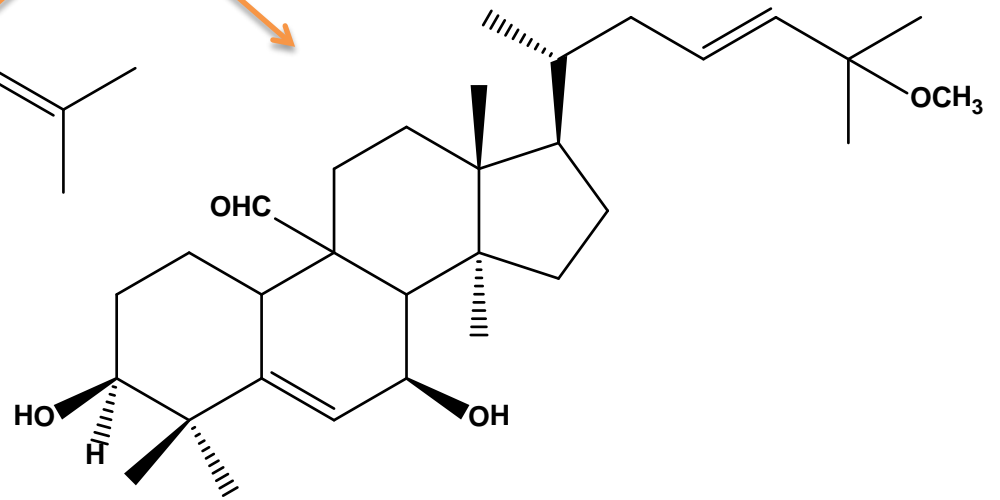
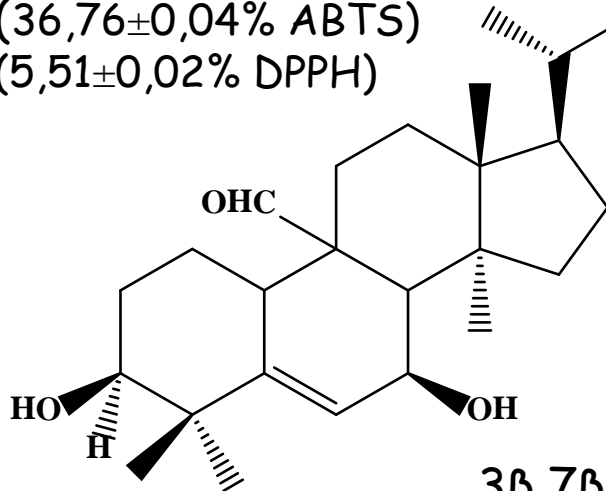
Ekstrak Metanol Daun Pare
(IC_{50} 27,58 ABTS)



Fraksi R
($21,12 \pm 0,02\%$ DPPH) dan ($40,28 \pm 0,04\%$ ABTS)



($36,76 \pm 0,04\%$ ABTS)
($5,51 \pm 0,02\%$ DPPH)



3β,7β-dihidroksi-25metoksi-kukurbita-5-23-dien-19-al (40 mg)

Momordicine I (489 mg)



TERIMA KASIH

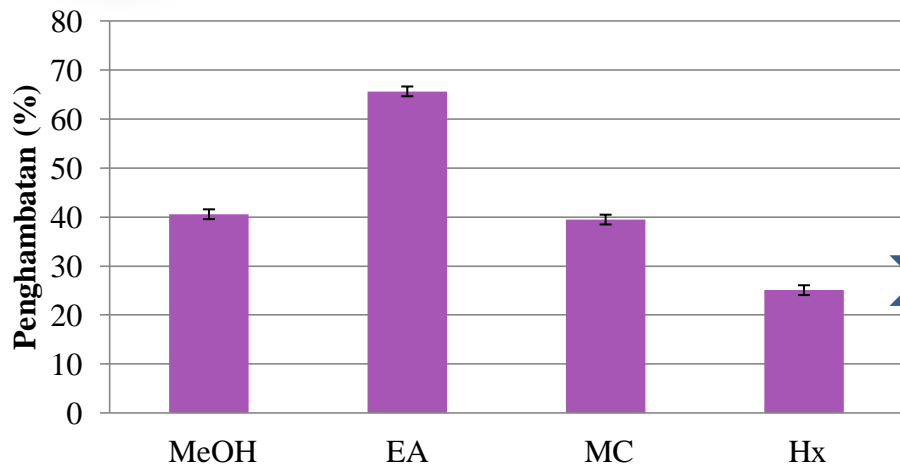
Prof. Dr. Taslim Ersam, M.S Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D.	Dosen Pembimbing
Prof. Mardi Santoso, Ph.D.	Ketua Sidang
Suprpto, M.Si., Ph.D.	Penguji
Ratna Ediati, M.S., Ph.D.	Penguji
Pak Edi Purwodadi	Identifikasi Tanaman
Prof. Yana M. Syah (ITB)	(Uji NMR)
Elvira Hermawati, M.Si (ITB)	
Erfan Rofianto	Uji IR



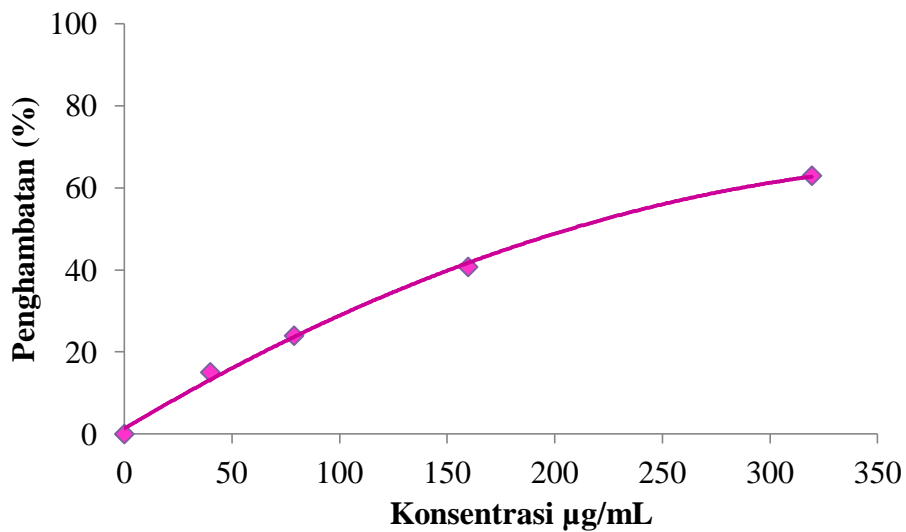


PROSEDUR, HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghambatan DPPH



Ekstrak Etil asetat: 65,65±0,02%
Ekstrak Metanol: 40,57±0,06%,
Ekstrak metilen klorida: 39,48±0,05%
Ekstrak n-heksana: 25,07±0,1%.



IC_{50} ekstrak etil asetat 211 µg/mL



METODELOGI

ALAT

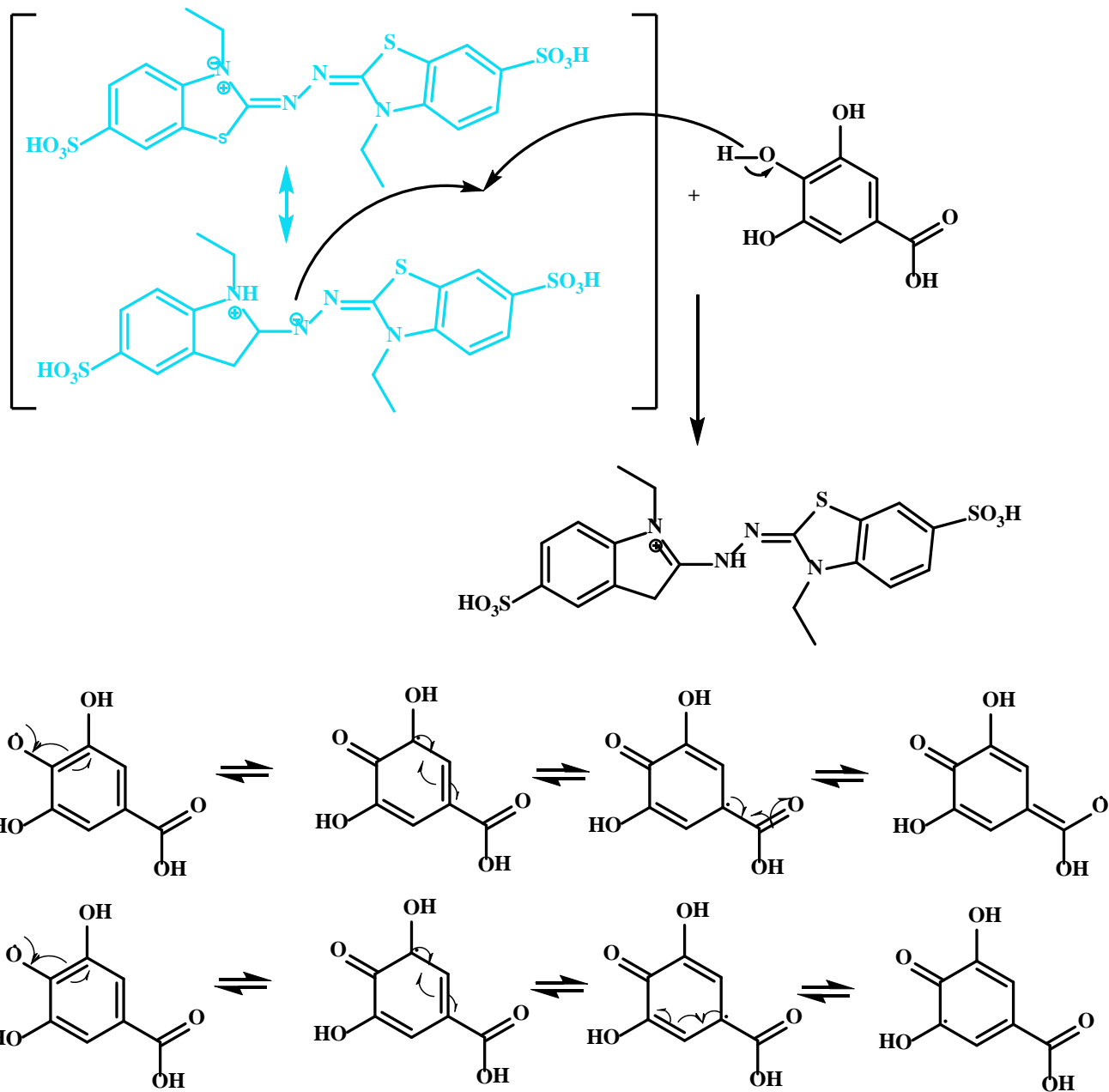
Gelas piala, gelas kimia, *hotplate stirrer*, *magnetic stirrer*, pengaduk, erlenmeyer, kaca arloji, pipet tetes, pipa kapiler, gelas ukur, botol vial, pinset, chamber, kertas saring, tabung steril, peralatan sokletasi, pH meter, peralatan kromatografi cair vakum (KCV), *rotary evaporator* Eyela N-1001, alat ukur titik leleh Fisher John, lampu UV ($\lambda = 254$ dan 365 nm), spektrometer FT-IR Shimadzu, spektrometer $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ JEOL.

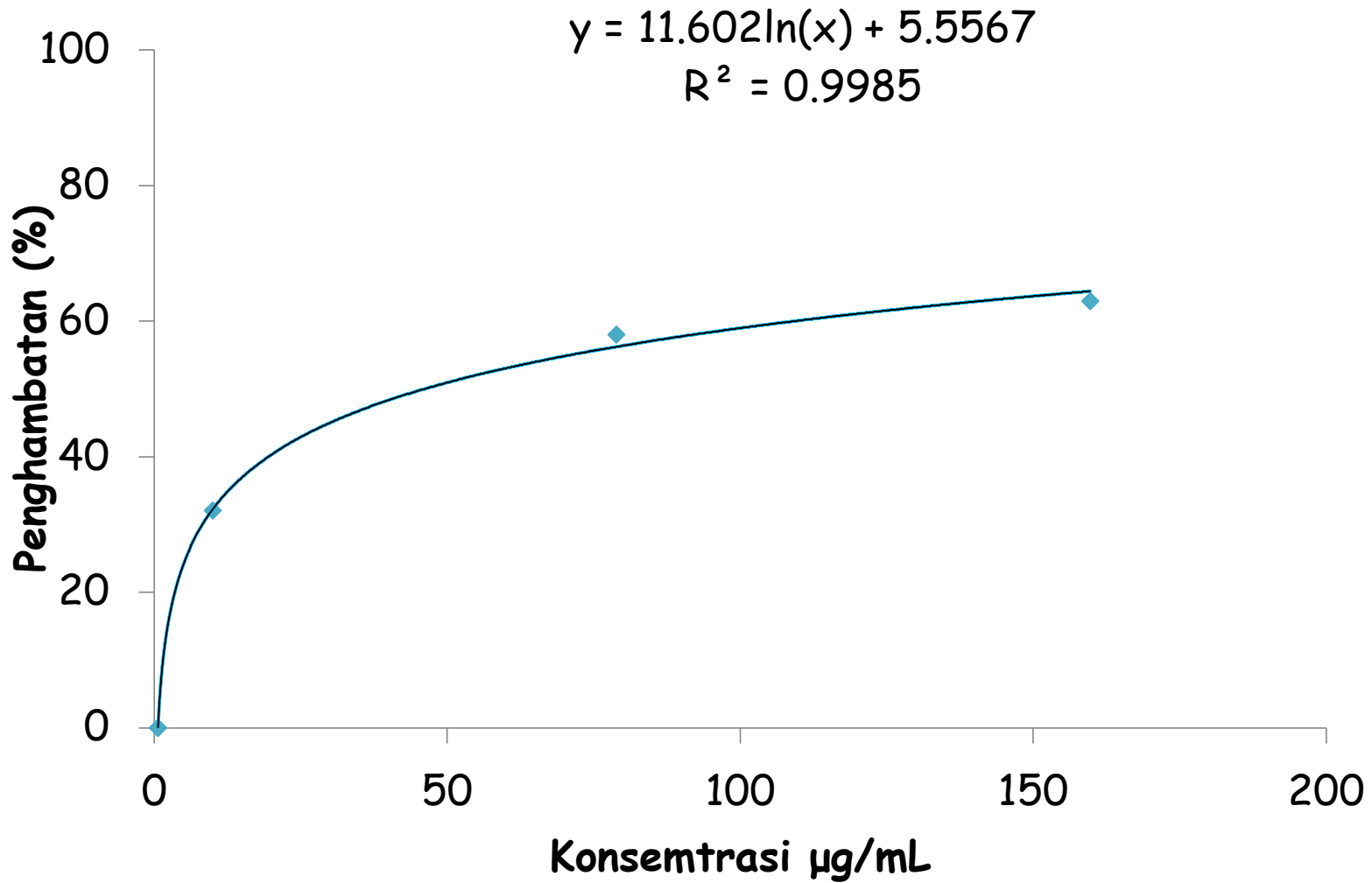
BAHAN

Sampel kering, silika gel 60 G, plat KLT alumunium silika gel 60 GF₂₅₄ (KLT), larutan penampak noda 1,5 % serium sulfat dalam H₂SO₄, H₂SO₄ 2 N, akuades, n-heksan teknis, etil asetat teknis (EtOAc), metanol teknis (MeOH), diklorometana teknis (CH₂Cl₂), serta pelarut pro analitik antara lain metanol dan kloroform (CHCl₃).



Mekanisme Reaksi ABTS





Ekstrak metanol ABTS