

**BIFLAVONOID DARI DAUN DAN RANTING  
AGATHIS ROBUSTA (ARAUCARIACEAE) INDONESIA  
DAN BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIKANKER**

**TESIS**

**Karya tulis sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Magister dari  
Institut Teknologi Bandung**

**Oleh**

**DYAH UTAMI CAHYANING RAHAYU**

**NIM : 20512018**

**(Program Studi Kimia)**



**INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG  
2013**

## **ABSTRAK**

# **BIFLAVONOID DARI DAUN DAN RANTING AGATHIS ROBUSTA (ARAUCARIACEAE) INDONESIA DAN BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIKANKER**

Oleh

**Dyah Utami Cahyaning Rahayu**

**NIM : 20512018**

**(Program Studi Kimia)**

Kanker (tumor ganas) merupakan salah satu penyakit dengan angka kematian tertinggi kedua setelah penyakit jantung. Dewasa ini, pencarian obat antikanker, khususnya yang berasal dari bahan alam (tumbuhan atau organisme laut), berkembang pesat mengingat beberapa obat antikanker telah diketahui jumlahnya terbatas dan memiliki efek samping. Salah satu senyawa alam yang diketahui memiliki potensi sebagai antikanker adalah senyawa biflavonoid atau dimer flavon. Senyawa ini tersusun atas dua unit monomer flavonoid, seperti apigenin atau naringenin, yang bergabung melalui reaksi kopling oksidatif. Reaksi kopling oksidatif ini dapat menghasilkan beberapa jenis kerangka biflavonoid, seperti agathisflavon (**A**), amentoflavon (**B**), kupresuflavon (**C**), robustaflavon (**D**), dan hinokiflavon (**E**) yang perbedaannya terletak pada ikatan antara dua monomernya, baik melalui ikatan C-C maupun C-O-C. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa biflavonoid memiliki aktivitas tinggi terhadap beberapa sel kanker, diantaranya sel kanker paru-paru NCI-H460 dan ginjal RXF-393. Selain memiliki aktivitas antikanker, kelompok senyawa ini diketahui pula memiliki berbagai aktivitas lainnya seperti anti-HIV, antimalaria, antidepresi, antiepilepsi, anti-TBC, antiinflamasi, antiherpes, antiinfluenza, inhibitor replikasi virus hepatitis B, dan inhibitor enzim beta sekretase (BACE-1) sebagai anti Alzheimer's. Salah satu tumbuhan Indonesia yang diketahui memiliki kandungan senyawa biflavonoid yaitu genus *Agathis* (Araucariaceae). Tumbuhan ini sering dijumpai sebagai pohon tinggi yang tumbuh hijau sepanjang tahun dan tersebar di daerah Australia dan Indomalaya, seperti Indonesia (Kalimantan dan Irian Jaya), Papua Nugini, dan Kaledonia Baru. *A. robusta* merupakan salah satu dari lima spesies genus *Agathis* yang tumbuh di Indonesia, khususnya di Pulau Jawa dan Kalimantan. Tumbuhan ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena kayu dan getahnya dapat dimanfaatkan untuk keperluan industri, seperti industri kertas dan perabotan rumah tangga. Selain itu, tumbuhan ini juga memiliki fungsi ekologis sebagai paru-paru kota. Akan tetapi, hingga saat ini penelitian mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder, khususnya biflavonoid, dari *A. robusta* Indonesia belum pernah dilaporkan. Selain itu, walau diketahui memiliki aktivitas

antikanker, belum ada penelitian yang melaporkan aktivitas antikanker senyawa biflavonoid terhadap proliferasi HUVEC (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*) dan sel murin leukemia P-388. Oleh karena itu, pada penelitian ini telah dilakukan isolasi biflavonoid dari daun dan ranting *A. robusta* Indonesia menggunakan metode ekstraksi dan berbagai teknik kromatografi, seperti kromatografi cair vakum, kromatografi radial, serta kromatografi kolom gravitasi silika dan *Sephadex LH-20* sebagai fasa diam. Selanjutnya, terhadap ekstrak dan beberapa senyawa yang diperoleh dilakukan uji sifat antiangiogenesis sebagai inhibitor proliferasi HUVEC dan uji sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388. Empat belas isolat murni yang terdiri dari sembilan senyawa biflavonoid telah berhasil diisolasi dari ekstrak aseton daun dan ranting *A. robusta*. Sembilan senyawa tersebut telah diidentifikasi strukturnya berdasarkan data spektroskopi yang meliputi IR, UV-Vis, NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , NOESY, HSQC, dan HMBC), MS, serta CD Spektra, sebagai 7,7"-di-O-metilagathisflavon (**11**); 4'',7,7"-tri-O-metilagathisflavon (**12**); kayaflavon (**13**); 4',4'',7,7"-tetra-O-metilamentoflavon (**14**); 7,7"-di-O-metilkupresuflavon (**15**); 4',4'',7,7"-tetra-O-metilkupresuflavon (**16**); 7"-mono-O-metilrobustaflavon (**17**); 4',7"-di-O-metilrobustaflavon (**18**); dan imbrikataflavon (**19**). Hasil uji terhadap proliferasi HUVEC terhadap ekstrak aseton daun dan ranting *A. robusta* menunjukkan aktivitas lemah dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  berturut-turut yaitu 35,0 dan 29,0  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya, empat senyawa biflavonoid telah diuji aktivitasnya terhadap proliferasi HUVEC dan didapat bahwa senyawa (**17**) dan (**15**) bersifat aktif dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  berturut-turut 2,1 dan 3,3  $\mu\text{g/mL}$ ; senyawa (**14**) menunjukkan aktivitas lemah dengan  $\text{IC}_{50}$  73,0  $\mu\text{g/mL}$ ; serta senyawa (**16**) tidak aktif terhadap proliferasi HUVEC dengan nilai  $\text{IC}_{50} > 100,0$   $\mu\text{g/mL}$ . Sementara itu, hasil uji sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 menunjukkan bahwa ekstrak aseton daun *A. robusta* bersifat tidak aktif dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  46,0  $\mu\text{g/mL}$ . Menariknya, ekstrak aseton ranting bersifat aktif dengan  $\text{IC}_{50}$  17,6  $\mu\text{g/mL}$ . Lima senyawa biflavonoid telah diuji pula aktivitas sitotoksiknya terhadap sel murin leukemia P-388. Senyawa (**17**) bersifat sangat aktif dengan nilai  $\text{IC}_{50} < 0,1$   $\mu\text{g/mL}$ . Sementara itu, senyawa (**15**) menunjukkan aktivitas aktif dengan  $\text{IC}_{50}$  1,8  $\mu\text{g/mL}$ . Tiga senyawa lain yang diuji yaitu senyawa (**19**), (**16**), dan (**14**) bersifat tidak aktif dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  berturut-turut 44,5; 70,5; dan  $> 100,0$   $\mu\text{g/mL}$ . Dengan demikian, dapat disarankan bahwa senyawa (**15**) dan (**17**) merupakan senyawa yang potensial sebagai senyawa antikanker.

Kata kunci: *Agathis robusta*, angiogenesis, antikanker, Araucariaceae, biflavonoid, inhibitor proliferasi HUVEC, sel murin leukemia P-388.

## ABSTRACT

### **BIFLAVONOIDS FROM LEAVES AND TWIGS OF INDONESIAN *AGATHIS ROBUSTA* (ARAUCARIACEAE) AND ITS BIOACTIVITY AS AN ANTICANCER**

By

**Dyah Utami Cahyaning Rahayu**

**NIM : 20512018**

**(Chemistry Study Program)**

Cancer (malignant tumor) is one of the diseases with the second highest mortality rate in the world beside heart disease. Up to know, the research on cancer drugs particularly cancer drugs obtained from natural resources (terrestrial plants or marine organisms), grows rapidly since the good bioactive compounds for curing cancer are limited and had side effects. One of the natural compound types which have been known to have anticancer activity is biflavonoids or flavone dimers. This compounds are composed of two monomer units of flavonoids, such as apigenin or naringenin, which are joined through oxidative coupling reaction. This reaction can produce several biflavonoid skeletons, such as agathisflavone (**A**), amentoflavone (**B**), cupressuflavone (**C**), robustaflavone (**D**), and hinokiflavone (**E**) having differences in bond linkage of two monomers, either through C-C or C-O-C bond. Previous researches have been reported that biflavonoids have high activity against several cancer cells, including lung carcinoma cells NCI-H460 and renal carcinoma cells RXF-393. In addition, these compounds have also been known to have various activities, such as anti-HIV, anti-malarial, antidepressant, antiepileptic, antituberculosis, antiinflammatory, antiherpes, antiinfluenza, hepatitis B virus replication inhibitor, and beta secretase (BACE-1) enzyme inhibitor as an anti-Alzheimer's. One of Indonesian plants which have known to have biflavonoids is *Agathis* (Araucariaceae). This genus is often found as evergreen tree distributing in Australia and Indomalaya, such as Indonesia (Kalimantan and Irian Jaya), Papua New Guinea, and New Caledonia. *A. robusta* is one of five species from *Agathis* genus which grows well in Indonesia, especially in Java and Kalimantan Island. This species has a high economic value for its wood and resin which can be used for industrial purposes, such as paper and furniture industries. Moreover, this species also has ecological function as the city lungs. However, there are no recent studies have been reported on secondary metabolites, especially biflavonoids, from Indonesian *A. robusta*. Even though biflavonoids have been known to have anticancer activities, but the activities on HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) proliferation and murine leukemia cells P-388 have not reported yet. Therefore, this research has been conducted to



isolate biflavonoid from leaves and twigs of Indonesian *A. robusta* using extraction methods and various chromatographic techniques, such as vacuum liquid chromatography, radial chromatography, gravity column chromatography with silica gel and *Sephadex LH-20* as a stationary phase. Furthermore, the extracts and secondary metabolites isolated were also examined on antiangiogenesis as HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) proliferation inhibitor and cytotoxic activity against murine leukemia P-388 cells. Fourteen compounds which are nine biflavonoid compounds have been successfully obtained from the acetone extract of *A. robusta* leaves and twigs. All compounds were elucidated according their spectroscopic data, including IR, UV-Vis, NMR (1H, 13C, NOESY, HSQC, and HMBC), MS, and CD Spectra as 7,7"-di-O-methylagathisflavone (11); 4'',7,7"-tri-O-methylagathisflavone (12); kayaflavone (13); 4',4'',7,7"-tetra-O-methylamentoflavone (14); 7,7"-di-O-methylcupressuflavone (15); 4',4'',7,7"-tetra-O-methylcupressuflavone (16); 7"-mono-O-methylrobustaflavone (17); 4',7"-di-O-methylrobustaflavone (18), and imbrikataflavone (19). The preliminary HUVEC proliferation assay of acetone extract of the leaves and twigs of *A. robusta* showed weak activity with IC<sub>50</sub> values were 35.0 and 29.0 µg/mL, respectively. Then, four biflavonoid compounds have also been assayed on HUVEC proliferation and indicated that compound (17) and (15) were active with IC<sub>50</sub> values were 2.1 and 3.3 µg/mL, respectively; compound (14) showed weak activity with IC<sub>50</sub> value was 73.0 µg/mL; and compound (16) was not active on HUVEC proliferation with IC<sub>50</sub> values more than 100.0 µg/mL. Furthermore, the preliminary assay of acetone extract of *A. robusta* leaves on cytotoxic against murine leukemia P-388 cells showed inactive with IC<sub>50</sub> value was 46.0 µg/mL. Interestingly, the acetone extract of *A. robusta* twigs was active with IC<sub>50</sub> value of 17.6 µg/mL. Five biflavonoid compounds have also been examined their cytotoxicity against murine leukemia P-388 cells. Compound (17) was very active with IC<sub>50</sub> values less than 0.1 µg/mL. In addition, compound (15) showed active activity with IC<sub>50</sub> value was 1.8 µg/mL. Three other compounds, (19), (16), and (14) and were inactive with IC<sub>50</sub> values 44.5, 70.5, and > 100.0 µg/mL. Thus, it can be suggested that the compound (15) and (17) are potential to be the lead compounds for anticancer.

Keywords: *Agathis robusta*, angiogenesis, anticancer, Araucariaceae, biflavonoid, proliferation HUVEC inhibitor, murine leukemia P-388 cells.

**BIFLAVONOID DARI DAUN DAN RANTING  
AGATHIS ROBUSTA (ARAUCARIACEAE) INDONESIA  
DAN BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIKANKER**

Oleh

**Dyah Utami Cahyaning Rahayu**

**NIM : 20512018**

**(Program Studi Kimia)**

Institut Teknologi Bandung

Menyetujui

Tanggal .....

Pembimbing

---

Dr. Lia Dewi Juliawaty

## **PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS**

Tesis S2 yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Institut Teknologi Bandung, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Institut Teknologi Bandung. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh tesis haruslah seizin Direktur Program Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.



*Untuk Tuhan, bangsa, dan almamater...*

*Kupersembahkan untuk semua orang  
yang telah memberiku semangat, kasih sayang,  
dan selalu mengajakku dalam kebaikan...*



## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas karunia dan kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis ini tepat pada waktunya. Shalawat serta salam semoga tetap tercurah kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Lia Dewi Juliawaty selaku dosen pembimbing yang selalu sabar membimbing penulis hingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Selain itu ucapan terima kasih disampaikan kepada dosen-dosen di Kimia Organik Bahan Alam (KOBAl), yaitu Prof. Dr. Euis Holisotan Hakim, Prof. Dr. Sjamsul Arifin Achmad, Prof. Dr. Yana Maolana Syah, Dr.rer.nat Didin Mujahidin, dan Drs. Lukman Makmur yang selalu memberikan masukan kepada penulis. Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Kunio Takahashi, Prof. Dr. Kiyotaka Koyama, Dr. Kaoru Kinoshita, Hitoshi Kamauchi, serta Yuki Kitoh dari Meiji Pharmaceutical University (MPU) atas kesempatan riset dan bantuan pengukuran NMR, CD Spectra, serta uji inhibitor proliferasi HUVEC (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*).

Selain itu penulis juga ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kementerian Pendidikan Nasional atas bantuan Beasiswa Unggulan *Fast Track* yang diterima selama pendidikan magister.
2. *The Japan Society for the Promotion of Science* (JSPS) atas bantuan beasiswa untuk mengikuti program *sandwich* selama 6 minggu di Meiji Pharmaceutical University, Jepang.
3. Bapak Akbar selaku staf sub bidang registrasi koleksi Kebun Raya Bogor – LIPI atas bantuan dalam mengumpulkan sampel dan identifikasi sampel, serta Bapak Toyo atas bantuan dalam mengeringkan sampel.
4. Suzany Dwi Ellita atas bantuan pengukuran MS dan uji sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388, serta Iqbal Fauzi atas bantuan pengukuran IR.
5. Ayah, Ibu, Mas Adhi, dan Alghi yang selama ini tidak pernah lupa mendoakan penulis dan selalu memberikan penulis semangat.
6. Rekan-rekan mahasiswa kelompok penelitian KOBAl ITB dan laboratorium *Shoyaku* MPU atas bantuan dalam membantu penulis menyelesaikan penelitiannya.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Semoga Allah membalas setiap kebaikan dengan kebaikan yang berlipat ganda.

Bandung, Juni 2013

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                                    |       |
|----------------------------------------------------|-------|
| ABSTRAK.....                                       | ii    |
| ABSTRACT.....                                      | iv    |
| PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS .....                     | vii   |
| UCAPAN TERIMA KASIH.....                           | ix    |
| DAFTAR ISI.....                                    | x     |
| DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI.....                   | xiii  |
| DAFTAR TABEL.....                                  | xvi   |
| DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....                 | xviii |
| Bab I    Pendahuluan.....                          | 1     |
| I.1    Latar Belakang.....                         | 1     |
| I.2    Rumusan Masalah.....                        | 2     |
| I.3    Ruang Lingkup Kajian.....                   | 3     |
| I.4    Hipotesis .....                             | 4     |
| I.5    Tujuan Penelitian .....                     | 4     |
| I.6    Metodologi Penelitian.....                  | 5     |
| Bab II    Tinjauan Pustaka.....                    | 6     |
| II.1    Tinjauan Botani.....                       | 6     |
| II.1.1    Famili Araucariaceae .....               | 6     |
| II.1.2    Genus <i>Agathis</i> .....               | 7     |
| II.1.3 <i>Agathis robusta</i> .....                | 8     |
| II.2    Kandungan Kimia Genus <i>Agathis</i> ..... | 10    |
| II.2.1    Senyawa Fenolik.....                     | 10    |
| II.2.2    Senyawa Non-fenolik.....                 | 12    |
| II.3    Aktivitas Biologi .....                    | 13    |

|         |                                                               |    |
|---------|---------------------------------------------------------------|----|
| II.3.1  | Aktivitas Biologi Senyawa Biflavonoid .....                   | 13 |
| II.3.2  | Biflavonoid Sebagai Antikanker .....                          | 14 |
| II.4    | Angiogenesis dan Sel Murin Leukemia P-388 .....               | 15 |
| II.4.1  | Angiogenesis .....                                            | 15 |
| II.4.2  | Sel Murin Leukemia P-388 .....                                | 18 |
| Bab III | Percobaan dan Hasil .....                                     | 19 |
| III.1   | Penyiapan Sampel .....                                        | 19 |
| III.2   | Alat dan Bahan Kimia yang Digunakan .....                     | 19 |
| III.2.1 | Alat .....                                                    | 19 |
| III.2.2 | Bahan Kimia .....                                             | 20 |
| III.3   | Isolasi Biflavonoid dari Daun <i>Agathis robusta</i> .....    | 20 |
| III.4   | Isolasi Biflavonoid dari Ranting <i>Agathis robusta</i> ..... | 27 |
| III.5   | Data Spektroskopi Biflavonoid Hasil Isolasi .....             | 31 |
| III.5.1 | 7,7''-Di-O-metilagathisflavon ( <b>11</b> ) .....             | 31 |
| III.5.2 | 4'',7,7''-Tri-O-metilagathisflavon ( <b>12</b> ) .....        | 31 |
| III.5.3 | Kayaflavon ( <b>13</b> ) .....                                | 31 |
| III.5.4 | 4',4'',7,7''-Tetra-O-metilamentoflavon ( <b>14</b> ) .....    | 32 |
| III.5.5 | 7,7''-Di-O-metilkupresuflavon ( <b>15</b> ) .....             | 32 |
| III.5.6 | 4',4'',7,7''-Tetra-O-metilkupresuflavon ( <b>16</b> ) .....   | 33 |
| III.5.7 | 7''-Mono-O-metilrobustaflavon ( <b>17</b> ) .....             | 34 |
| III.5.8 | 4',7''-Di-O-metilrobustaflavon ( <b>18</b> ) .....            | 34 |
| III.5.9 | Imbrikataflavon ( <b>19</b> ) .....                           | 35 |
| III.6   | Data Bioaktivitas .....                                       | 35 |
| Bab IV  | Pembahasan .....                                              | 37 |
| IV.1    | Penentuan Struktur Biflavonoid Hasil Isolasi .....            | 37 |
| IV.1.1  | Kelompok Agathisflavon ( <b>A</b> ) .....                     | 37 |

|        |                                                                                        |    |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.1.2 | Kelompok Amentoflavon ( <b>B</b> ) .....                                               | 41 |
| IV.1.3 | Kelompok Kupresuflavon ( <b>C</b> ) .....                                              | 49 |
| IV.1.4 | Kelompok Robustaflavon ( <b>D</b> ).....                                               | 55 |
| IV.2   | Usulan Biogenesis Senyawa-senyawa Hasil Isolasi .....                                  | 62 |
| IV.3   | Bioaktivitas Senyawa-senyawa Hasil Isolasi.....                                        | 64 |
| IV.3.1 | Uji Inhibitor Proliferasi HUVEC ( <i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i> )..... | 64 |
| IV.3.2 | Uji Sitotoksik terhadap Sel Murin Leukemia P-388.....                                  | 65 |
| IV.4   | Makna Keberadaan Biflavonoid Hasil Isolasi .....                                       | 66 |
| Bab V  | Kesimpulan dan Saran .....                                                             | 69 |
| V.1    | Kesimpulan .....                                                                       | 69 |
| V.2    | Saran .....                                                                            | 69 |
|        | Daftar Pustaka .....                                                                   | 70 |

## DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

|              |                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar II.1  | Contoh spesies dari masing-masing genus <i>Araucaria</i> ( <i>A. heterophylla</i> ), <i>Agathis</i> ( <i>A. lanceolata</i> ), dan <i>Wollemia</i> ( <i>W.nobilis</i> ) (www.cornifers.org dan www.endemia.nc).....                | 6  |
| Gambar II.2  | Peta penyebaran spesies <i>Agathis</i> (Kunzmann, 2007) .....                                                                                                                                                                     | 8  |
| Gambar II. 3 | Gambar jaringan tumbuhan <i>A. robusta</i> , (a) seluruh bagian tumbuhan, (b) daun, (c) getah, (d) kulit batang, dan (e) strobilus (www.cornifers.org) .....                                                                      | 9  |
| Gambar II.4  | Sekresi faktor angiogenik oleh sel tumor (Takahashi dkk., 1995)..<br>.....                                                                                                                                                        | 16 |
| Gambar II.5  | Proliferasi dan migrasi sel endotelial ke arah sel tumor (Takahashi dkk., 1995).....                                                                                                                                              | 16 |
| Gambar II.6  | Pembentukan pembuluh darah baru (Takahashi dkk., 1995) .....                                                                                                                                                                      | 17 |
| Gambar III.1 | Profil KLT hasil KKG <i>Sephadex LH-20</i> fraksi MeOH (a) penyinaran di bawah sinar UV ( $\lambda_{254\text{ nm}}$ ) sebelum disemprot penampak noda, (b) setelah disemprot penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ ..<br>..... | 21 |
| Gambar III.2 | Profil KLT hasil KCV fraksi C. (a) penyinaran di bawah sinar UV ( $\lambda_{254\text{ nm}}$ ) sebelum disemprot penampak noda, (b) setelah disemprot penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .....                               | 22 |
| Gambar III.3 | Profil KLT hasil KKG fraksi C2. (a) penyinaran di bawah sinar UV ( $\lambda_{254\text{ nm}}$ ) sebelum disemprot penampak noda, (b) setelah disemprot penampak noda $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .....                              | 23 |
| Gambar III.4 | Profil KLT hasil KKG <i>sephadex LH-20</i> fraksi C3.2 setelah disemprot penampak noda $\text{H}_2\text{SO}_4$ 50% dalam MeOH .....                                                                                               | 23 |
| Gambar III.5 | Profil KLT hasil KKG fraksi C451.1 setelah disemprot penampak noda $\text{H}_2\text{SO}_4$ 50% dalam MeOH.....                                                                                                                    | 24 |
| Gambar III.6 | Profil KLT hasil KKG fraksi C451.3 setelah disemprot penampak noda $\text{H}_2\text{SO}_4$ 50% dalam MeOH.....                                                                                                                    | 24 |
| Gambar III.7 | Profil KLT hasil KKG fraksi gabungan C4.6 dan C4.7 setelah disemprot penampak noda $\text{H}_2\text{SO}_4$ 50% dalam MeOH .....                                                                                                   | 25 |



|               |                                                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar III.8  | Profil KLT senyawa biflavonoid dari daun <i>A. robusta</i> setelah disemprot penampak noda H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dalam MeOH .....                                                                              | 25 |
| Gambar III.9  | Skema isolasi biflavonoid dari daun <i>A. robusta</i> .....                                                                                                                                                                 | 26 |
| Gambar III.10 | Profil KLT hasil KKG <i>Sephadex LH-20</i> ekstrak aseton. (a) penyinaran di bawah sinar UV ( $\lambda_{254}$ nm) sebelum disemprot penampak noda, (b) setelah disemprot penampak noda Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .. | 27 |
| Gambar III.11 | Profil KLT hasil KKG fraksi C23.2 setelah disemprot penampak noda H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dalam MeOH.....                                                                                                        | 28 |
| Gambar III.12 | Profil KLT hasil KKG fraksi C23.4 setelah disemprot penampak noda H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dalam MeOH.....                                                                                                        | 28 |
| Gambar III.13 | Profil KLT hasil KKG fraksi gabungan C4 dan C5. (a) penyinaran di bawah sinar UV ( $\lambda_{254}$ nm) sebelum disemprot penampak noda, (b) setelah disemprot penampak noda Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .....         | 29 |
| Gambar III.14 | Profil KLT hasil KKG fraksi D setelah disemprot penampak noda H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dalam MeOH .....                                                                                                           | 29 |
| Gambar III.15 | Profil KLT senyawa biflavonoid dari ranting <i>A. robusta</i> setelah disemprot penampak noda H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dalam MeOH .....                                                                           | 30 |
| Gambar III.16 | Skema isolasi biflavonoid dari ranting <i>A. robusta</i> .....                                                                                                                                                              | 30 |
| Gambar IV.1   | Kopling <i>orto</i> dua proton pada cincin aromatik (unit cincin B) ...                                                                                                                                                     | 38 |
| Gambar IV.2   | Senyawa-senyawa kelompok agathisflavon ( <b>A</b> ) hasil isolasi.....                                                                                                                                                      | 41 |
| Gambar IV.3   | Cincin aromatik trisubstitusi (unit cincin B) dengan sistem ABX dengan kopling <i>orto</i> dan <i>meta</i> .....                                                                                                            | 43 |
| Gambar IV.4   | (a) Cincin aromatik pentasubstitusi (unit cincin A), dan (b) cincin aromatik tetrasubstitusi dengan kopling <i>meta</i> .....                                                                                               | 44 |
| Gambar IV.5   | Beberapa korelasi NOESY dan HMBC senyawa 4',4'',7,7''-tetra- <i>O</i> -metilamentoflavon ( <b>14</b> ) .....                                                                                                                | 47 |
| Gambar IV.6   | Senyawa-senyawa kelompok amentoflavon ( <b>B</b> ) hasil isolasi.....                                                                                                                                                       | 48 |
| Gambar IV.7   | Beberapa korelasi NOESY senyawa 7,7''-di- <i>O</i> -metilkupresuflavon ( <b>15</b> ).....                                                                                                                                   | 51 |
| Gambar IV.8   | Beberapa korelasi NOESY dan HMBC senyawa 4',4'',7,7''-tetra- <i>O</i> -metilkupresuflavon ( <b>16</b> ) .....                                                                                                               | 52 |

|              |                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar IV.9  | Senyawa-senyawa kelompok kupresuflavon ( <b>C</b> ) hasil isolasi ....                                                                                                                                                              | 52 |
| Gambar IV.10 | Beberapa korelasi NOESY dan HMBC senyawa 7''-mono-O-metilrobustaflavon ( <b>17</b> ) .....                                                                                                                                          | 58 |
| Gambar IV.11 | Beberapa korelasi HMBC senyawa imbrikataflavon ( <b>19</b> ).....                                                                                                                                                                   | 58 |
| Gambar IV.12 | Senyawa-senyawa kelompok robustaflavon ( <b>D</b> ) hasil isolasi .....                                                                                                                                                             | 62 |
| Gambar IV.13 | Usulan biogenesis pembentukan senyawa biflavonoid (Chong dkk., 2009 dan Dewick, 2009).....                                                                                                                                          | 63 |
| Gambar IV.14 | Senyawa 7,7''-di-O-metilkupresuflavon ( <b>15</b> ) dan 4',4'',7,7''-tetra-O-metilkupresuflavon ( <b>16</b> ) beserta nilai IC <sub>50</sub> -nya .....                                                                             | 65 |
| Gambar IV.15 | Senyawa 7,7''-di-O-metilkupresuflavon ( <b>15</b> ); 4',4'',7,7''-tetra-O-metilkupresuflavon ( <b>16</b> ); 7''-mono-O-metilrobustaflavon ( <b>17</b> ); dan imbrikataflavon ( <b>19</b> ) beserta nilai IC <sub>50</sub> -nya..... | 66 |

## DAFTAR TABEL

|             |                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel III.1 | Massa fraksi-fraksi hasil KCV (fraksi C1-C7).....                                                                                                                                                   | 22 |
| Tabel III.2 | Data bioaktivitas ekstrak aseton daun dan ranting <i>A. robusta</i> serta beberapa senyawa hasil isolasi terhadap uji inhibitor proliferasi HUVEC dan sel murin leukemia P-388.....                 | 36 |
| Tabel IV.1  | Perbandingan data <sup>1</sup> H-NMR agathisflavon ( <b>A</b> ) dengan senyawa hasil isolasi (Svenningsen dkk., 2006) .....                                                                         | 38 |
| Tabel IV.2  | Perbandingan data spektrum <sup>1</sup> H-NMR 7,7''-di-O-metilagathisflavon ( <b>11</b> ) hasil isolasi dengan literatur (Ofman dkk., 1996) .....                                                   | 40 |
| Tabel IV.3  | Perbandingan data spektrum <sup>1</sup> H-NMR 4''',7,7''-tri-O-metil-agathisflavon ( <b>12</b> ) hasil isolasi dengan literatur (Ofman dkk., 1996) .....                                            | 40 |
| Tabel IV.4  | Perbandingan data <sup>1</sup> H-NMR amentoflavon ( <b>B</b> ) dengan senyawa hasil isolasi (Svenningsen dkk., 2006) .....                                                                          | 44 |
| Tabel IV.5  | Perbandingan data spektrum <sup>1</sup> H-NMR kayaflavon ( <b>13</b> ) hasil isolasi dan literatur (Sun dkk., 1997) .....                                                                           | 45 |
| Tabel IV.6  | Perbandingan data spektrum <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR 4',4''',7,7''-tetra-O-metilamentoflavon ( <b>14</b> ) hasil isolasi dan literatur beserta data HMBC (Markham dkk., 1987)..... | 47 |
| Tabel IV.7  | Perbandingan data <sup>1</sup> H-NMR kupresuflavon ( <b>C</b> ) dengan senyawa hasil isolasi (Li dkk., 2007).....                                                                                   | 51 |
| Tabel IV.8  | Perbandingan data spektrum <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR 7,7''-di-O-metilkupresuflavon ( <b>15</b> ) hasil isolasi dan literatur (Ofman dkk., 1996) .....                              | 53 |
| Tabel IV.9  | Perbandingan data spektrum <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR 4',4''',7,7''-tetra-O-metilkupresuflavon ( <b>16</b> ) hasil isolasi dan literatur beserta data HMBC (Ofman dkk., 1996).....  | 53 |
| Tabel IV.10 | Perbandingan data <sup>1</sup> H-NMR robustaflavon ( <b>D</b> ) dengan senyawa hasil isolasi (Lin dkk., 1997) .....                                                                                 | 57 |

|                                                                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel IV.11 Perbandingan data spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ 7"-mono-O-metilrobustaflavon ( <b>17</b> ) hasil isolasi dan literatur beserta data HMBC (Xu dan Fang, 1991) ..... | 59 |
| Tabel IV.12 Perbandingan data spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 4',7"-di-O-metilrobustaflavon ( <b>18</b> ) hasil isolasi dan literatur (He dkk., 1996) .                                          | 59 |
| Tabel IV.13 Perbandingan data spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ imbrikataflavon ( <b>19</b> ) hasil isolasi dan literatur beserta data HMBC (Gu dkk., 1990) .....                  | 60 |
| Tabel IV.14 Perbandingan senyawa biflavonoid yang terdapat pada daun dan ranting <i>A. robusta</i> .....                                                                                           | 67 |

## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

| SINGKATAN        | Nama                                          | Pemakaian pertama kali pada halaman |
|------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------|
| KLT              | Kromatografi Lapis Tipis                      | 4                                   |
| KCV              | Kromatografi Cair Vakum                       | 3                                   |
| KR               | Kromatografi Radial                           | 3                                   |
| KKG              | Kromatografi Kolom Gravitasi                  | 3                                   |
| NMR              | <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>             | 3                                   |
| HSQC             | <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> | 3                                   |
| HMBC             | <i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>  | 3                                   |
| NOESY            | <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i> | 3                                   |
| TOF MS           | <i>Time-of-flight Mass Spectrometry</i>       | 19                                  |
| CD Spectra       | <i>Circular Dichroism Spectroscopy</i>        | 3                                   |
| UV-Vis           | <i>Ultraviolet-visible Spectrophotometry</i>  | 3                                   |
| IR               | <i>Infrared Spectrometry</i>                  | 3                                   |
| IC <sub>50</sub> | <i>Inhibition Concentration 50%</i>           | 13                                  |
| HUVEC            | <i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i> | 2                                   |

| LAMBANG        | Nama                                   | Pemakaian pertama kali pada halaman |
|----------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| μg             | Mikrogram (10 <sup>-6</sup> gram)      | 14                                  |
| mL             | Mililiter (10 <sup>-3</sup> liter)     | 14                                  |
| g              | Gram                                   | 21                                  |
| mg             | Miligram                               | 22                                  |
| MeOH           | Metanol                                | 20                                  |
| EtOAc          | Etil asetat                            | 20                                  |
| δ              | Geseran kimia (ppm)                    | 29                                  |
| λ              | Panjang gelombang (nm)                 | 30                                  |
| ν              | Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> ) | 30                                  |
| d <sub>6</sub> | <i>Deuterium-6</i>                     | 20                                  |