



REPUBLIC INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan
Kampus Universitas Negeri Medan
Jl. Willem Iskandar Psr.V Medan 20221
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES ISOLASI EKSTRAK DAUN RANTI HITAM (*Solanum blumei* Nees ex Blume) DAN KOMPOSISINYA YANG MENGANDUNG ZAT AKTIF IMUNOSTIMULAN

Inventor : Dr. Murniaty Simorangkir, MS

Tanggal Penerimaan : 26 November 2015

Nomor Paten : IDP000048080

Tanggal Pemberian : 09 Oktober 2017

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



00-2018-7371

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
REPUBLIC INDONESIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang,

Dra. Dede Mia Yusanti, MLS.
NIP. 196407051992032001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP0000-8030 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 09 Oktober 2017

(51) Klasifikasi IPC⁸ : A 61K 36/81(2006.01), A 61P 37/04(2006.01)

(21) No. Permohonan Paten : P00201507743

(22) Tanggal Penerimaan: 26 November 2015

(30) Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 23 Desember 2016

(56) Dokumen Pemandang:
EP 1 508 334 B1
WO 2010/074553 A1

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan
Kampus Universitas Negeri Medan
Jl. Willem Iskandar Psr.V Medan 20221
INDONESIA

(72) Nama Inventor :
Dr. Murniaty Simorangkir, MS, ID

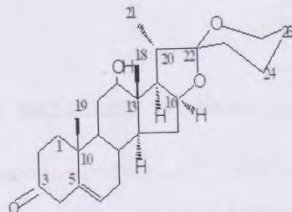
(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Drs. Abdi Saputra Sembiring, M.Si.

Jumlah Klaim : 4

(54) Judul Invensi : PROSES ISOLASI EKSTRAK DAUN RANTI HITAM (*Solanum blumei* Nees ex Blume) DAN KOMPOSISINYA YANG MENGANDUNG ZAT AKTIF IMUNOSTIMULAN

(57) Abstrak :
Invensi ini berhubungan dengan suatu komposisi yang terdiri dari ekstrak daun *Solanum blumei* Nees ex Blume yang mengandung zat aktif senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{28}H_{48}O_4$ dan struktur kimianya sebagai berikut :



yang mempunyai aktivitas imunostimulan, dimana dalam proses ekstraksi menggunakan pelarut bertingkat kepolarannya yaitu *n*-heksana, etil asetat dan etanol.



Deskripsi

PROSES ISOLASI EKSTRAK DAUN RANTI HITAM
(*Solanum blumei* Nees ex Blume)
DAN KOMPOSISINYA YANG MENGANDUNG
ZAT AKTIF IMUNOSTIMULAN

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan suatu proses isolasi dari ekstrak daun tanaman ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) dan komposisi senyawa yang terkandung dalam ekstrak daunnya yang mempunyai aktivitas imunostimulan.

10

Latar Belakang Invensi

Imunostimulan adalah bahan yang berfungsi meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun/kekebalan tubuh terhadap serangan agen infeksius/mikroba. Beberapa tanaman telah diteliti mempunyai khasiat sebagai imunostimulan, bahkan ada yang telah dibuat dalam bentuk sediaan herbal/suplemen (Puri, Saxena, Saxena, 1993 [2]; Srikumar, Arthasarathy dan Devi, 2005 [3]; tanaman *Solanum nigrum* L berpotensi imunostimulan terhadap ikan (Haniffa, 2011).

20

Indonesia kaya akan tanaman yang berpotensi sebagai imunostimulan, seperti daun *Eupatorium inulifolium* H.B.K., batang *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. f. & Thoms, herba *Centella asiatica* (L.) Urban, daun *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq., rimpang *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe,, rimpang dan umbi *Kaempferia rotunda* L., rimpang *Curcuma mangga* Val. & van Zijp (Sekolah Farmasi ITB, 2011)[3]. Salah satu jenis tanaman yang banyak ditemukan di daerah Dairi dan Karo, khususnya desa Kuta Nangka, kecamatan Tanah Pinem adalah ranti hitam. Hasil determinasi tumbuhan oleh "Herbarium Bogoriense" Bidang Botani

30

0

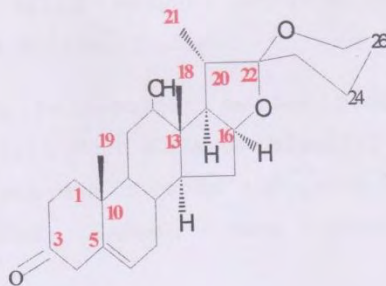
Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor pada bulan Maret 2013, rantihitam adalah jenis *Solanum blumei* Nees ex Blume dan termasuk famili Solanaceae. Secara tradisional ranti hitam digunakan sebagai obat, seperti obat sakit pinggang, demam, sakit 5 perut, sakit telinga, anti peradangan dan sebagainya. Penelitian dan patent aktivitas imunostimulan tanaman ranti hitam belum ada dilakukan. Dalam rangka eksploitasi khasiat dan aktivitas imunostimulan tanaman lokal ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume), dilakukan isolasi dan elusidasi struktur senyawa yang 10 mempunyai aktivitas imunostimulan dari daun tanaman ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) lokal.

Invensi ini juga berhubungan dengan senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin ($C_{26}H_{39}O_4$), hasil isolasi dari ekstrak etanol daun tanaman ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) 15 lokal melalui kromatografi kolom SiO_2 , yang digunakan sebagai imunostimulan alami.

Ringkasan Invensi

Invensi ini berhubungan dengan pemanfaatan senyawa steroid 20 sapogenin turunan diosgenin ($C_{26}H_{39}O_4$) yang diisolasi dari ekstrak etanol daun tanaman ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) lokal melalui kromatografi kolom SiO_2 , yang mempunyai aktivitas imunostimulan terhadap hewan uji kelinci. Daun ranti hitam dikumpulkan dari desa Kuta Nangka, Kec. Tanah Pinem, Kabupaten 25 Dairi. Proses isolasi dilakukan dengan fraksinasi ekstrak etanol daun ranti hitam melalui kromatografi kolom SiO_2 (I) EtilAc : MeOH (10 : 1 sampai 1:1) yang dilanjutkan dengan kromatografi kolom SiO_2 (II) $CHCl_3$: MeOH = 10 : 1 ~ 1 : 1 dan diperoleh senyawa murni (D2-2) berbentuk serbuk putih. Senyawa D2-2 mempunyai 30 aktivitas imunostimulan dengan besar titer antiserum 16 (kontrol 4) dan kadar imunoglobulin serum kelinci hewan uji sebesar 52,5 ppm (kontrol 44,5 ppm). Hasil analisis spektra 1H -NMR dan ^{13}C -NMR 1,2 D, senyawa isolat D2-2 merupakan senyawa steroid

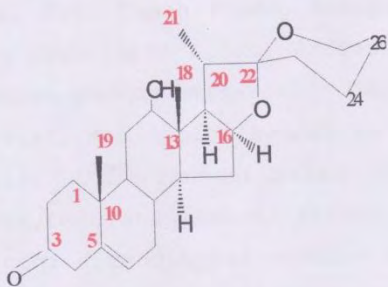
sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{26}H_{39}O_4$ dan struktur kimia sebagai berikut :



Uraian Lengkap Invensi

5 Invensi ini berhubungan dengan proses isolasi dari ekstrak daun ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume).

Invensi ini berhubungan dengan suatu komposisi yang terdiri dari ekstrak daun *Solanum blumei* Nees ex Blume yang mengandung zat aktif senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{26}H_{39}O_4$ dan struktur kimianya sebagai berikut :



yang mempunyai aktivitas imunostimulan.

15 Invensi ini berhubungan dengan proses isolasi ekstraksi daun ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) dengan menggunakan pelarut yang bertingkat kepolarannya (nonpolar, semipolar dan polar) yaitu *n*-heksana, etilasetat dan etanol. Pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran yang lebih tinggi mempunyai aktivitas imunostimulan yang lebih baik.

Invensi ini berhubungan dengan penggunaan komposisi yang terdiri dari ekstrak etanol daun *Solanum blumei* Nees ex Blume yang mengandung zat aktif senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{26}H_{39}O_4$.

- 5 Invensi ini juga berhubungan dengan penggunaan komposisi yang terdiri dari ekstrak daun *Solanum blumei* Nees ex Blume yang mengandung zat aktif senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{26}H_{39}O_4$ yang mempunyai aktivitas imunostimulan.
- 10 Invensi terbagi menjadi tiga bagian yaitu 1) proses isolasi senyawa dari daun tanaman lokal ranti hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) (desa Kuta Nangka, Kec. Tanah Pinem, Kabupaten Dairi, Sumatera Utara), 2) aktivitas imunostimulan dan 3) struktur kimia senyawa isolat tersebut.
- 15 Invensi ini berhubungan dengan proses isolasi dimulai dengan pengumpulan sampel daun tanaman ranti hitam dari desa Kuta Nangka, Kec. Tanah Pinem, Kabupaten Dairi dan penyediaan serbuk kering daun ranti hitam. Proses ekstraksi serbuk daun ranti hitam dilakukan dengan maserasi bertingkat menggunakan pelarut dari
- 20 non polar, semi polar sampai ke polar (*n*-heksana, etil asetat dan etanol). Uji imunostimulan dilakukan terhadap masing-masing ekstrak, ternyata ekstrak etanol mempunyai aktivitas imunostimulan tertinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan ekstrak *n*-heksana. Proses isolasi dilanjutkan dengan fraksinasi ekstrak etanol
- 25 melalui kromatografi kolom SiO_2 dengan fase gerak pelarut EtilAc : MeOH (10 : 1 sampai 1:1). Hasil fraksinasi diperoleh 9 fraksi yaitu F1 ~ F9 (Tabel 1).

Tabel 1. Data Fraksi F1 ~ F9 Hasil Kromatografi Kolom Ekstrak Etanol Daun Ranti Hitam

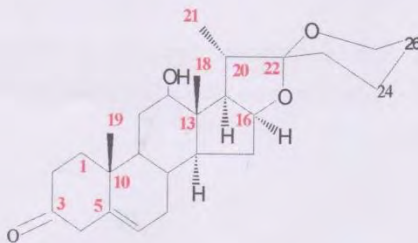
No.	Fraksi	No. Vial	Fase Gerak Untuk Kolom	Fase Gerak Untuk KLT	Rf	Bobot (g)
1	F1	1 - 23	EtilAc:MeOH (10:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,96; 0,80; 0,74	1,01
2	F2	24 - 78	EtilAc:MeOH (10:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,96; 0,74; 0,44	1,02
3	F3	79-98	EtilAc:MeOH (8:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,74; 0,56; 0,44; 0,40	8,05
4	F4	99-183	EtilAc:MeOH (6:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,74; 0,56; 0,44; 0,40; 0,24; 0,16.	7,25
5	F5	184-298	EtilAc:MeOH (4:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,80; 0,74; 0,24	1,5
6	F6	299-368	EtilAc:MeOH (2:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,80; 0,74; 0,44; 0,24	2,80
7	F7	369-408	EtilAc:MeOH (2:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,44; 0,40; 0,24	1,90
8	F8	409-508	EtilAc:MeOH (1:1)	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,44; 0,40; 0,24	1,84
9	F9	509-597	MeOH	CHCl ₃ :MeOH (5:1)	0,54; 0,40; 0,24	1,60

5 Uji aktivitas imunostimulan dilakukan terhadap kesembilan fraksi secara *in vivo* pada kelinci. Hasil uji aktivitas imunostimulan terhadap fraksi F1~F9 menunjukkan bahwa fraksi F3 dan F4 mempunyai aktivitas imunostimulan dengan titer antiserum 16 dan 16 (kontrol 4) dan konsentrasi imunoglobulin serum kelinci 10 53,60 ppm dan 51,90 ppm (kontrol 44,50 ppm.)

Fraksi aktif F3 dan F4 digabung dan dimurnikan kembali dengan kromatografi kolom SiO₂ dengan fase gerak pelarut CHCl₃: MeOH secara gradien (CHCl₃: MeOH = 10 : 1 ~ 1: 1) dan diperoleh fraksi nomor 13~17 yang murni dan mempunyai kromtogram yang sama. Fraksi 13~17 selanjutnya digabung diperoleh isolat D2-2, 15 berbentuk serbuk putih dengan Rf 0.43.

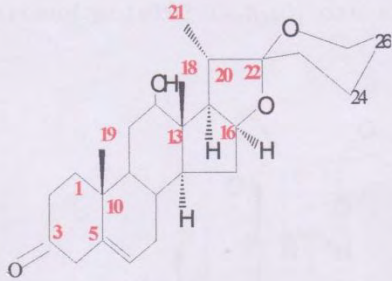
Pemberian Isolat D2-2 secara *in vivo* pada kelinci dengan dosis 0,3 mg/Kg bb, selama 10 hari secara oral (cekok), ternyata senyawa D2-2 mempunyai aktivitas imunostimulan dengan besar titer antiserum 16 (kontrol 4) dan kadar imunoglobulin serum kelinci hewan uji sebesar 52,5 ppm (kontrol 44,5 ppm).

Hasil penentuan struktur senyawa isolat D2-2 berdasarkan analisis data spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dan analisis DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) menunjukkan adanya sinyal-sinyal 26 atom karbon pada struktur kimia senyawa isolat. Satu atom karbonil ($-\text{C}=\text{O}$) yang terletak sangat *down field* yaitu δC 202,45 (s). Untuk karbon olefatik ($-\text{CH}=\text{CH}-$) terdapat pada δC 120,64 (d) yang berada pada sisi *overlapping*. Sebanyak tiga buah karbon gugus metil (CH_3) dengan pergeseran kimia berturut-turut δ 17,03 (q); 21,13 (q) dan 18,13 (q), sepuluh sinyal untuk karbon metilen (CH_2) yang terdapat pada δC 36,24 (t); 32,67 (t); 42,47 (t); 31,81 (t); 22,58 (t); 29,05 (t); 34,29 (t); 27,44 (t); 21,53 (t) dan 85,13 (t), delapan sinyal untuk gugus karbon metin (CH) yang terdapat pada δC 120,64 (d); 45,51 (d); 29,81 (d); 78,51 (d), 45,51 (d); 68,48 (d), 39,07 (d); 70,30 (d), dan empat buah atom kuartar yang memiliki pergeseran kimia pada δC 167,61 (s); 71,39 (s); 77,97 (s) dan 80,39 (s). Berdasarkan interpretasi data spektra $^{13}\text{C-NMR}$ dan DEPT, senyawa isolat D2-2 ditetapkan sebagai suatu senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{O}_4$ dengan struktur senyawa sebagai berikut :



Klaim

1. Suatu komposisi yang terdiri dari ekstrak daun *Solanum blumei* Nees ex Blume yang mengandung zat aktif senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{26}H_{39}O_4$ dan struktur kimianya sebagai berikut :



yang mempunyai aktivitas imunostimulan.

10 2. Suatu komposisi sesuai dengan klaim 1 lebih disukai menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol.

3. Suatu komposisi sesuai dengan klaim 2 lebih disukai menggunakan pelarut etanol.

15

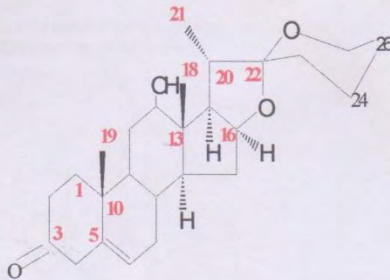
4. Penggunaan komposisi sesuai dengan klaim 1-3 untuk pembuatan obat yang mempunyai aktivitas imunostimulan.

20

Abstrak

PROSES ISOLASI EKSTRAK DAUN RANTI HITAM
(*Solanum blumei* Nees ex Blume)
DAN KOMPOSISINYA YANG MENGANDUNG
ZAT AKTIF IMUNOSTIMULAN

Invensi ini berhubungan dengan suatu komposisi yang terdiri dari ekstrak daun *Solanum blumei* Nees ex Blume yang mengandung zat aktif senyawa steroid sapogenin turunan diosgenin dengan rumus molekul $C_{26}H_{39}O_4$ dan struktur kimianya sebagai berikut :



yang mempunyai aktivitas imunostimulan, dimana dalam proses ekstraksi menggunakan pelarut bertingkat kepolarannya yaitu *n*-heksana, etil asetat dan etanol.

Q

