



**PERGURUAN TINGGI MUHAMMADIYAH  
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

UAD Kampus 2 Unit B, Jl. Pramuka no. 5F, Pandeyan, Umbulharjo Yogyakarta 55161, email : [lppm@uad.ac.id](mailto:lppm@uad.ac.id)

Nomor : U12.4/225/IV/2021  
Perihal : Pengantar Dokumen Mediasi Paten

Yth. Dian Nurfitri, S.Si. M.H  
Kepala Sub Direktorat Pemeriksaan Paten  
Direktorat Paten, DTLST dan Rahasia Dagang  
Direktorat Jendral Kekayaan Intelektual  
Jl. HR. Rasuna Said kav 6-7 Kuningan, Jakarta Selatan 12940

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakaatuh.*

Dengan hormat, Direktorat Jendral Kekayaan Intelektual Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia, sehubungan dengan telah terlaksananya mediasi Paten yang dilaksanakan pada tanggal 01 s.d 03 Maret 2021 melalui online Zoom Meeting, berikut kami lampirkan dokumen Deskripsi dan Berita Acara Kegiatan Konsultasi Teknis Penyelesaian Pemeriksaan Substantif Paten Universitas Ahmad Dahlan dengan data sebagai berikut:

No.Permohonan : P22201600022  
Pemohon : Lembaga Penelitian & Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan  
Judul Invensi setelah Mediasi : ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIDIABETES 2-DODESIL-6-METOKSISIKLOHEKSA-2, 5-DIEN-1, 4-DION DARI AKAR BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) VARIETAS INDONESIA

Demikian surat ini kami sampaikan, atas kebijakan dan perkenannya kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakaatuh.*

Yogyakarta, 6 April 2021

Hormat kami,  
a.n. Kepala LPPM,  
Kepala Sentra KI



*[Handwritten Signature]*  
Dra. Sudarmini, M.Pd.

**BERITA ACARA KEGIATAN KONSULTASI TEKNIS PENYELESAIAN  
PEMERIKSAAN SUBSTANTIF PATEN UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN**

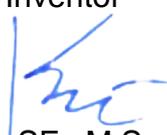
Pada hari Rabu, 3 Maret 2020 Pukul 10.00 WIB melalui media Zoom Meeting telah diadakan konsultasi teknis penyelesaian pemeriksaan substantif paten antara:

- I Pemohon : UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN  
 Nomor Permohonan Paten : P222016500022  
 Judul : METODE KROMATOGRAFI KOLOM UNTUK ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIDIABETES 2-DODESIL-6-METOKSISIKLOHEKSA-2, 5-DIEN-1, 4-DION (MOLEKUL DAHLAN) DARI AKAR BELIMBING MANIS (*Avezrhoa carambola L.*) VARIETAS INDONESIA
- Judul Perbaikan : **ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIDIABETES 2-DODESIL-6-METOKSISIKLOHEKSA-2, 5-DIEN-1, 4-DION DARI AKAR BELIMBING MANIS (*Avezrhoa carambola L.*) VARIETAS INDONESIA**
- Inventor : 1. Kintoko, SF., M.Sc. Apt.  
 II Nama Pemeriksa : Ir. Susilo Wardoyo

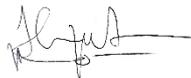
Dengan pelaksanaan mediasi tersebut maka didapatkan hasil sebagai berikut **(Rincian Hasil Konsultasi terlampir)** :

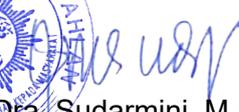
Hal Yang Direkomendasikan	
<input type="checkbox"/>	Bisa Diberi Paten
<input type="checkbox"/>	Tidak Bisa Diberi Paten
<input checked="" type="checkbox"/>	Bisa Diberi Paten dengan catatan wajib diperbaiki
<input type="checkbox"/>	Tidak Bisa Diberi Paten kecuali mengajukan perubahan permohonan dari Paten Sederhana menjadi Paten Biasa atau Paten Biasa menjadi Paten Sederhana

Demikian Berita Acara ini dibuat dengan sebenarnya untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Inventor  
  
 (Kintoko, SF., M.Sc. Apt.)

Pemeriksa Paten  
  
 Ir. Susilo Wardoyo

PIC  
  
 Mulyadi

Pemohon  
  
  
 Dra. Sudarmini, M.Pd.  
**UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN**

Mengetahui,  
 Kasubid Pemeriksaan Paten  
  
  
 Dian Nurfitri, S.SI.SM.H

**RINCIAN HASIL PADA KEGIATAN KONSULTASI TEKNIS PENYELESAIAN  
PEMERIKSAAN SUBSTANTIF PATEN UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN**

No	Hal Yang Harus Diperbaiki
1	<p>Deskripsi dan klaim diperbaiki sesuai dengan lingkup dan spirit fitur invensi berkenaan dengan spesifikasi teknis dari tahapan-tahapan isolasi senyawa aktif antidiabetes 2-dodesil-6-metoksisikloheksa-2, 5-dien-1, 4-dion dari akar belimbing manis (<i>avezrhoa carambola l.</i>) varietas Indonesia menggunakan teknik kromatografi kolom, dengan spesifikasi spirit fitur invensi adalah sebagaimana tersebut dsalam klaim 1 samai dengan 7, dimana klaim-klaim turunan 2 sampai dengan 7 digabungkan dengan klaim mandiri 1 sebagai spesifikasi dari tahapan-tahapan :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. pembuatan simplisia;</li> <li>b. ekstrasi;</li> <li>c. remaserasi;</li> <li>d. fraksinasi;</li> <li>e. isolasi, dan</li> <li>f. purifikasi.\</li> </ul>
2	<p>Judul diperbaiki menjadi:</p> <p><b>ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIDIABETES 2-DODESIL-6-METOKSISIKLOHEKSA-2, 5-DIEN-1, 4-DION DARI AKAR BELIMBING MANIS (<i>Avezrhoa carambola L.</i>) VARIETAS INDONESIA</b></p>

## Deskripsi

**ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIDIABETES  
2-DODESIL-6-METOKSISIKLOHEKSA-2, 5-DIEN-1, 4-DION DARI AKAR  
5 BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L.*) VARIETAS INDONESIA**

### **Bidang Teknik Invensi**

Invensi ini berhubungan dengan isolasi senyawa aktif  
10 antidiabetis 2-dodesil-6-metoksisikloheksa-2, 5-dien-1, 4-  
dion dari akar belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*)  
menggunakan teknik kromatografi kolom.

### **Latar Belakang Invensi**

15

Belimbing manis merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara  
yang banyak terdapat di Indonesia. Belimbing manis dikenal  
sebagai tanaman holtikultura kelompok buah-buahan. Berbagai  
bagian tanaman ini telah dimanfaatkan oleh manusia untuk  
20 bermacam-macam kegunaan, salah satunya bagian akar yang  
dimanfaatkan untuk pengobatan anti diabetes.

Akar tanaman ini mengandung komponen senyawa kimia  
turunan benzoquinone yang bisa dipisahkan dengan berbagai  
teknik seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC)  
25 kromatografi radial dan kromatografi gas. Namun demikian,  
metode-metode pemisahan tersebut membutuhkan peralatan yang  
mahal. Selain itu, teknik operasionalnya memerlukan tenaga  
yang terlatih. Oleh sebab itu, dikembangkan metode isolasi/  
pemisahan senyawa kimia aktif dari akar belimbing manis yang  
30 relatif sederhana, murah dan mudah yaitu dengan metode  
kromatografi kolom.

Metode isolasi dengan kromatografi kolom menggunakan sis  
tem fase diam dalam kolom yang dialiri fase gerak berupa  
campuran pelarut dengan polaritas dari nonpolar ke polar.  
35 Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam isolasi dengan  
kromatografi kolom adalah ukuran dan panjang kolom; jenis,  
ukuran partikel dan homogenitas fase diam. Sedangkan faktor  
yang terkait dengan pelarut adalah campuran pelarut yang

tepat. Terakhir, adalah faktor perbandingan antara senyawa yang kan diisolasi dengan fase diam.

Senyawa dari akar belimbing manis sesuai invensi sekarang ini dipisahkan menggunakan kolom yang terbuat dari bahan gelas dengan diameter kolom 3 cm dan panjang kolom 80 cm. Fase diam yang digunakan adalah silika gel ukuran 200-300 mesh. Homogenitas fase diam dicapai dengan membuat bubur silika dalam pelarut sikloheksan dan dialirkan secara perlahan melalui dinding kolom. Untuk mendapatkan tampilan kolom yang homogen, bubur silika yang sudah dituang dalam kolom didiamkan selama semalam. Ketiadaan tampilan yang retak dalam kolom menunjukkan fase diam telah mencapai homogenitas.

Fase gerak yang digunakan merupakan campuran dari pelarut yaitu sikloheksan dan etil asetat dengan sifat polaritas yang berbeda. Sikloheksan lebih bersifat nonpolar dibandingkan etil asetat, namun keduanya dapat bercampur membentuk 1 fase. Polaritas campuran merupakan hasil resultante dari perbandingan antara kedua campuran pelarut tersebut. Fase gerak dengan polaritas paling rendah dialirkan terlebih dahulu ke dalam fase diam dan terakhir dialiri pelarut dengan polaritas paling tinggi. Sampel yang akan dipisahkan dibuat campuran homogen menggunakan silika gel dengan perbandingan.

Belum banyak invensi tentang belimbing manis. Satu-satunya invensi yang didaftarkan adalah tentang metode pembuatan minuman dari belimbing manis dengan nomor paten US 5928698 ([www.google.com/patents](http://www.google.com/patents)). Sedangkan invensi tentang metode isolasi kandungan senyawa aktif anti diabetes dari akar belimbing manis tidak ditemukan paten sebelumnya. Dengan demikian, invensi ini merupakan invensi terbaru tentang metode isolasi senyawa aktif antidiabetes akar belimbing manis menggunakan sistem kromatografi kolom.

### **Ringkasan Invensi**

35

Isolasi senyawa aktif antidiabetes dari akar belimbing manis sesuai invensi sekarang ini menggunakan metode kromatografi kolom bisa memisahkan senyawa tersebut dengan

rendeman sebanyak 2%. Karakteristik isolasi menggunakan metode kolom kromatografi ini tergantung dari ketepatan dalam menentukan polaritas campuran fase geraknya. Parameter tingkat ketepatan polaritas dari campuran kedua pelarut diuji menggunakan kromatografi lapis tipis. Spot senyawa aktif hasil isolasi dengan tampilan bulat atau oval menunjukkan campuran fase gerak tersebut tepat polaritasnya dengan polaritas senyawa yang diisolasi.

Senyawa aktif terisolasi pada fraksi nomor 4 dengan ciri organoleptis berupa kristal kuning mengkilap dan tidak larut dalam pelarut polar. Pemurnian senyawa aktif ini dilakukan dengan teknik rekristalisasi menggunakan metanol.

#### **Uraian Lengkap Invensi**

15

Invensi ini mencakup tahapan isolasi senyawa aktif yang merupakan senyawa baru dari akar belimbing manis (*Averrhoa carambola*) sesuai invensi sekarang ini. Tujuan akhir dari invensi ini tercapai dengan diperolehnya senyawa 2-dodesil-6-metoksi sikloheksa-2, 5-dien-1, 4-dion dari akar belimbing manis dengan karakteristik berbentuk serbuk, berwarna kuning mengkilat dan tidak larut air.

Isolasi senyawa aktif tersebut terbagi menjadi 6 tahap, yaitu pembuatan simplisia akar belimbing manis, ekstraksi, remaserasi, fraksinasi, isolasi dan purifikasi. Pembuatan simplisia dilakukan dengan cara mengambil bagian akar belimbing manis saat tumbuhan tersebut berbunga atau berbuah. Tahapan selanjutnya membersihkan dan mengeringkan akar dengan oven sampai kadar air maksimal 10%. Pembuatan serbuk dilakukan dengan menggiling akar kering menggunakan penggiling elektrik/diesel dengan tingkat kehalusan antara 40-100 mesh.

Serbuk akar diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan perbandingan 1:10. Ekstraksi dilakukan selama 3 jam menggunakan metode maserasi panas dengan suhu antara 70-100°C. Ampas sisa maserasi diremaserasi selama 1 jam sebanyak 2 kali menggunakan pelarut yang sama. Fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan sikloheksan

dengan perbandingan volume sama banyak. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan tiap kali fraksinasi didiamkan selama semalaman untuk mendapatkan pemisahan yang sempurna. Isolasi dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase diam silika gel ukuran 200–300 mesh dan fase gerak campuran dari sikloheksan dan etil asetat dengan perbandingan sebagai berikut :

Fase gerak	Sikloheksan	Etil asetat
1	100	0
2	20	1
3	18	1
4	15	1
5	12	1
6	10	1
7	8	1
8	5	1
9	3	1
10	1	1
11	0	100

10 Senyawa aktif terisolasi pada fase gerak yang ke-4 dengan karakteristik berupa kristal warna kuning mengkilap dan tidak larut air. Senyawa ini dimurnikan menggunakan teknik rekristalisasi dengan methanol.

15

20

**Klaim**

1. Isolasi senyawa aktif antidiabetis 2-dodesil-6-metoksisikloheksa-2, 5-dien-1, 4-dion dari akar belimbing manis (*Averrhoa carambola*) terdiri dari tahapan-tahapan berikut:
  - a. pembuatan simplisia dilakukan dengan cara mengambil bagian akar belimbing buah saat tumbuhan memasuki fase generatif yang ditandai dengan munculnya bunga atau buah, selanjutnya akar dicuci bersih dan dikeringkan dengan oven pada suhu antara 50-70°C sampai kadar air dalam akar di bawah 10%, akar yang sudah kering dihaluskan secara mekanik dengan penggiling elektrik/diesel dengan tingkat kehalusan serbuk berkisar antara 40-100 mesh;
  - b. ekstraksi dilakukan selama 3 jam dengan metode maserasi panas pada suhu antara 70-100°C menggunakan pelarut etanol konsentrasi 60-80% yang disubstitusi pendingin balik/kondensor dengan perbandingan jumlah serbuk dengan volume pelarut adalah 1:2 - 1:10;
  - c. remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali, masing-masing selama 1 jam menggunakan cara seperti pada langkah b;
  - d. fraksinasi dilakukan dengan mengumpulkan dan mencampurkan hasil maserasi dengan remaserasi lalu diuapkan menggunakan evaporator vakum sampai diperoleh ekstrak kental, dengan menggunakan corong pisah, ekstrak kental difraksinasi cair-cair dengan cara menambahkan sikloheksan sama banyak, fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali, kemudian hasil fraksinasi dikumpulkan dan dicampurkan menjadi satu lalu diuapkan dengan evaporator vakum sampai kental (sampel);
  - e. Isolasi dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dengan tahapan:

- e.1. sampel yang akan dikolom dikeringkan menggunakan bubuk silika gel ukuran 200-300 mesh dengan perbandingan 1 : 2,
- 5 e.2. kolom kromatografi disiapkan dengan membuat bubuk silika gel ukuran 200-300 mesh menggunakan pelarut kloroform,
- e.3. bubuk silika gel dituang ke dalam kolom kromatografi dengan diameter dan panjang kolom masing-masing 3x80 cm,
- 10 e.4. kolom yang kompak dan tidak pecah dengan satu lapis cairan pada permukaan atas kolom digunakan sebagai fase diam untuk isolasi-
- e.5. satu 1 embar kertas saring Whatman diameter 3 cm diletakkan pada permukaan atas kolom-, Ssampel diletakkan di atas kertas saring dan ditutup kertas saring kedua-,
- 15 e.6. Ffase gerak campuran sikloheksan-etil asetat dengan perbandingan(100 : 0, 20 : 1, 18 : 1, 15 : 1, 12 : 1, 10 : 1, 8 : 1, 0 : 100) ditambahkan ke dalam kolom masing-masing sebanyak 200 mL dan menghasilkan fraksi nomor 1 sampai 7-,
- 20 e.7. fraksi nomor 4 difraksinasi lagi menggunakan fase gerak masing-masing sebanyak 100 mL dengan perbandingan seperti pada langkah e.6 (100 : 0, 20 : 1, 18 : 1, 15 : 1) dan menghasilkan fraksi nomor 4.1 sampai 4.4;
- 25 f.purifikasi dilakukan menggunakan teknik rekristalisasi menggunakan metanol, ke dalam fraksi nomor 4.4 ditambahkan metana secukupnya sambil dikocok-kocok dalam wadah warna gelap, campuran disimpan dalam almari pendingin pada suhu antara 2-8°C semalaman, dimana kristal warna kuning yang mengendap pada dasar wadah dipisahkan dengan menyaring menggunakan kertas *Whatman*, selanjutnya kristal
- 30
- 35

dicuci menggunakan metanol lalu dikeringkan pada suhu kamar, dan kristal kuning kering disimpan dalam wadah kedap udara dan terlindung dari cahaya.

5

10

15

20

25

30

35

**Abstrak**

**ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIDIABETES  
2-DODESIL-6-METOKSISIKLOHEKSA-2, 5-DIEN-1, 4-DION DARI AKAR  
5 BELIMBING MANIS (*Avezrhoa carambola L.*) VARIETAS INDONESIA**

Isolasi senyawa aktif antidiabetis 2-dodesil-6-metoksisikloheksa-2, 5-dien-1, 4-dion dari akar belimbing manis dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom. Metode ini relatif lebih sederhana, murah dan mudah dalam pengerjaannya dibandingkan metode lainnya seperti KCKT/HPLC, kromatografi radial dan gas. Isolasi dilakukan melalui 6 tahapan, yaitu pembuatan simplisia, ekstraksi secara maserasi, remaserasi, fraksinasi, isolasi dan purifikasi. Karakteristik khusus metode isolasi dengan kromatografi kolom ini terletak pada polaritas campuran antara sikloheksan dan etil asetat yang tepat dengan polaritas senyawa aktif antidiabetis 2-dodesil-6-metoksisikloheksa-2, 5-dien-1, 4-dion. Karakteristik lainnya adalah teknik pemurnian hasil isolasi menggunakan metode rekristalisasi dengan metanol.

Invensi ini menghasilkan isolasi yang tepat untuk mendapatkan senyawa aktif antidiabetis 2-dodesil-6-metoksisikloheksa-2, 5-dien-1, 4-dion yang merupakan senyawa baru dari akar belimbing manis dengan karakteristik berupa kristal warna kuning mengkilap dan tidak larut dalam air.