

Skripsi

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FRAKSI NON-POLAR AKAR
SIDAGURI *Sida rhombifolia* L. SERTA BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTI-INFLAMASI**

RISMAULI SIMANJUNTAK

H311 13 504



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2017**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FRAKSI NON-POLAR AKAR
SIDAGURI *Sida rhombifolia* L. SERTA BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTI-INFLAMASI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk mendapatkan gelar sarjana sains*

Oleh:

RISMAULI SIMANJUNTAK

H311 13 504



MAKASSAR

2017

SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FRAKSI NON-POLAR AKAR
SIDAGURI *Sida rhombifolia* L. SERTA BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTI-INFLAMASI**

Disusun dan diajukan oleh:

RISMAULI SIMANJUNTAK

H311 13 504

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

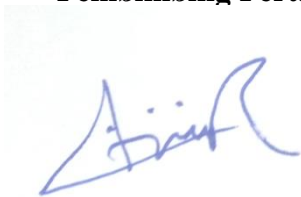
Pembimbing Utama



Drs. F.W. Mandey, M.Sc.

NIP. 19650118 199002 1 001

Pembimbing Pertama



Dr. Abd. Karim, M.Si.

NIP. 19620710 198803 1 002

Pembimbing Kedua



Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc.

NIP. 19601216 198702 2 002

Lembar Persembahan

“Harta yang tak pernah habis adalah Ilmu pengetahuan dan ilmu yang tak ternilai
adalah pendidikan”

“Kuliah itu kayak naek gunung, makin tinggi makin nyesek. Tapi pemandangan di
puncak selalu lebih oke daripada di lembah”

PRAKATA

Puji syukur saya panjatkan kepada TUHAN yang Maha Kuasa atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini dengan judul “**Isolasi dan Identifikasi Senyawa Fraksi Non-Polar Akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) serta Bioaktivitasnya sebagai Anti-Inflamasi**” dapat terselesaikan.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa yang tulus, penulis persembahkan kepada Ayahanda **Jonter Simanjuntak** dan Ibunda **Yenni Sadikun** yang telah memelihara, membesarkan, mendidik dengan penuh keikhlasan dan kesabaran, menanamkan nilai-nilai luhur dan kasih sayang yang tulus senantiasa mengiringi perjalanan penulis dalam menuntut ilmu. Semoga Tuhan senantiasa melimpahkan kemuliaan kepada keduanya di dunia dan di akhirat. Adik tercinta **Febrina Simanjuntak** dan **Secilia Simanjuntak** beserta Keluarga Besar dari Ayah dan Ibu yang telah memberikan dukungan dan senantiasa mendoakan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Tuhan membalasnya dengan kebaikan.

Terima kasih dan penghargaan terbesar yang setinggi-tingginya kepada Bapak **Drs, F.W. Mandey, M.Sc.** selaku pembimbing utama Bapak **Dr. Abd. Karim, M.Si.** selaku pembimbing pertama dan Ibu **Dr.drg. Maria Tanumihardja, MD.Sc.** selaku pembimbing kedua yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk serta arahan yang begitu berharga bagi penulis sejak awal penelitian hingga penyusunan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih dan

penghargaan sedalam-dalamnya yang telah memberikan bantuan secara moril, materil maupun tenaga kepada :

1. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, S.Si., M.Si selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin beserta Staf dan pegawai.
2. Bapak **Prof. Dr. Ahyar Ahmad** selaku penasehat akademik saya, terima kasih atas arahan dan bimbingan yang diberikan.
3. Seluruh dosen Jurusan Kimia FMIPA UNHAS yang telah mengajarkan berbagai hal dan memberikan ilmu yang bermanfaat bagi penulis serta staf jurusan kimia yang selalu membantu penulis, terima kasih atas bantuan dan kerja samanya, semoga Tuhan senantiasa memberikan pahala yang berlipat ganda.
4. Tim Dosen Penguji Ujian Sarjana Kimia, yaitu: **Prof. Dr. Abd. Wahid Wahab, M.Sc** (ketua), **Dr. Maming, M.Si** (Sekretaris), **Drs. Fredryk W. Mandey, M.Sc** (Ex.officio), **Dr. Abd. Karim, M.Si** (Ex.officio), **Dr.drg. Maria Tanumihardja, MD.Sc** (Ex.officio) dan **Ir.Abd. Hayat Kasim, MT** (anggota), terima kasih atas kritik dan sarannya.
5. Para guru, SDN 1 Pinrang, SMPN 1 Pinrang dan SMAN 1 Pinrang yang telah memberi, mendidik dan menanamkan dasar-dasar keilmuan yang sangat berguna bagi pendidikan.
6. Teman-temanku angkatan 2013 (**TITRASI**) yang tercinta, terima kasih atas segala pembelajaran yang telah kalian berikan, kalian memperlihatkan betapa indahnya persaudaraan dengan beragam karakter di dalamnya, dan teman-teman angkatan 2013 **MIPA** yang tidak sempat disebutkan namanya dalam skripsi ini, serta **Bu Tini, Kak Anti, Kak Fiby, Pak Iqbal, Pak**

Sugeng, Pak Iccang yang selalu membantu penulis dalam penelitian ini. Semoga Tuhan membantu membalasnya dengan kebaikan.

7. Terima kasih kepada Saudara-saudara di **HMK FMIPA UNHAS** dan **KMP-UNHAS** yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini. Semoga segala kebaikan kalian dibalas berlipat ganda oleh Tuhan.
8. Teman-teman KKN Gel. 93 terutama Posko Peneki Kecamatan Takkalalla Kab. Wajo **Kak Afdal, Amel, Dewi, Baso, Rusdi** dan **Aldi** yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini dengan baik. Semoga selalu diberi kesehatan yang baik oleh Tuhan.
9. Teman-temanku yang selama ini bersama-sama dalam laboratorium Kimia Organik yaitu: **Murtina, Suci, Riska, Ifa, Fira** serta **Kak Agustan, Kak Zul, Kak Tadir** terima kasih atas bantuannya mulai dari awal penelitian hingga penulisan skripsi ini. Semoga segala kebaikan kalian dibalas dengan kebaikan yang berlipat ganda oleh Tuhan.
10. Kanda-kanda Kimia Angkatan-angkatan 2010, 2011 dan 2012 yang telah banyak membantu penulis sejak awal penelitian hingga penulisan skripsi ini.
11. Adik-adik Kimia Angkatan 2014, 2015 dan 2016 yang telah banyak memberikan bantuan dan semangat dalam penulisan skripsi ini.
12. Terima kasih juga saya haturkan kepada sahabat-sahabat saya **Suraedah Satir** dan **Sri Magfirah** yang selalu mendukung mulai dari awal penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai. Semoga kita bisa jadi sahabat yang lebih baik.
13. Serta terima kasih kepada Kanda **Aswar Achmad, S.T** yang senantiasa memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

14. Terima kasih kepada pihak-pihak lain yang selalu memberikan bantuan kepada penulis baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka kami mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dalam penulisan artikel selanjutnya.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengobatan dan pengembangan penggunaan senyawa-senyawa kimia bahan alam dalam industri farmasi. Serta, melengkapi informasi tentang senyawa yang berpotensi sebagai bahan obat terutama obat herbal.

Penulis

2017

ABSTRAK

Tanaman Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak digunakan untuk mengatasi berbagai jenis penyakit yang disebabkan oleh proses inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa aktif pada fraksi non-polar akar *Sida rhombifolia* L. dan menguji potensinya sebagai anti-inflamasi secara *in vitro* melalui penghambatan enzim siklooksigenase-2. Efek anti-inflamasi dianalisis menggunakan prinsip ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 405 nm. Senyawa yang berhasil diisolasi adalah asam (*Z*)-3,6,6-trimethylhept-2-en-1-ol (senyawa 1) dan *Nonanoic Acid* (senyawa 2). Hasil uji ELISA menunjukkan bahwa kedua senyawa yang didapatkan berpotensi sebagai anti-inflamasi tetapi tidak selektif terhadap penghambatan enzim prostaglandin pada COX-1 dan COX-2.

Kata kunci: *Sida rhombifolia* L.; fraksi non-polar; inflamasi; ELISA; siklooksigenase-2;

ABSTRACT

Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) plant is one of the medicinal plant that commonly used to treat various inflammatory diseases. This research is aimed to isolate active constituents from non-polar fraction of the root bark of Sidaguri and further test its potency as an anti-inflammatory agent by ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) with spectrophotometry at wave length of 405 nm. The results of isolation (*Z*)-3,6,6-trimethylhept-2-en-1-ol (compound 1) and *Nonanoic Acid* (compound 2) type of fatty acid . The results of ELISA showed both pure compounds obtained are potentially anti-inflammatory but not selective against inhibition of the prostaglandin enzyme in COX-1 and COX-2.

Key words: *Sida rhombifolia* L.; non-polar fraction; inflammation; ELISA; cyclooxygenase-2;

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Maksud Penelitian.....	3
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat	5
2.2 Sidaguri (<i>Sida rhombifolia</i> L.).....	5
2.2.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.2.2 Deskripsi Morfologi <i>Sida rhombifolia</i> L.	6
2.2.3 Nama Daerah	7
	xi

2.3 Tinjauan tentang Inflamasi	7
2.4 Fitokimia Genus <i>Sida</i>	8
2.4.1 Alkaloid.....	8
2.4.2 Porifirin	8
2.4.3 Flavonoid	9
2.4.4 Steroid.....	10
2.5 Aktivitas <i>Sida rhombifolia</i> L. sebagai Anti-inflamasi	11
2.5.1 Bioaktivitas Bagian Daun	14
2.5.2 Bioaktivitas Bagian Batang	15
2.5.3 Bioaktivitas Bagian Akar.....	16
2.6 Senyawa Bioaktif.....	17
2.6.1 Pemilihan Sumber Organisme	18
2.6.2 Ekstraksi Senyawa Bioaktif.....	19
2.6.3 Fraksinasi Senyawa Bioaktif.....	20
2.6.4 Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder	20
2.6.5 Metode Uji Anti-inflamasi.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Bahan Penelitian	22
3.2 Alat Penelitian.....	22
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.4.1 Penyiapan Sampel.....	23
3.4.2 Ekstraksi.....	23
3.4.3 Isolasi	23
3.4.4 Uji Fitokimia.....	24
3.4.5 Identifikasi	24

3.4.6 Uji Anti-inflamasi	24
3.4.6.1 Pembuatan Larutan Pereaksi	24
3.4.6.2 Pembuatan Larutan Standar Prostaglandin	25
3.4.6.3 Pembuatan Larutan Inhibitor.....	26
3.4.6.4 Pelaksanaan Reaksi COX.....	26
3.4.6.5 Pengenceran Reaksi COX.....	27
3.4.6.6 Pengujian Aktivitas Dengan Metode ELISA	28
3.5 Pengamatan	29
3.5.1 Fraksinasi	29
3.5.2 Analisis KLT	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Ekstraksi	31
4.2 Isolasi	31
4.2.1 Fraksinasi dan Pemurnian.....	31
4.2.2 Uji Fitokimia.....	35
4.3 Analisis Data Spektroskopi.....	36
4.3.1 Spektroskopi FT-IR Senyawa I	36
4.3.2 Spektroskopi FT-IR Senyawa II.....	37
4.3.3 Analisis Spektroskopi ¹ H-NMR Senyawa I	38
4.3.4 Analisis Spektroskopi ¹ H-NMR Senyawa II.....	39
4.4 Uji Anti-inflamasi	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil ekstraksi akar <i>Sidaguri rhombifolia</i> L.....	31
2. Hasil uji fitokimia senyawa 1 dan 2 dari akar <i>Sidaguri rhombifolia</i> L.	35
3. Pendekatan perbandingan pergeseran kimia pada senyawa I	39
4. Pendekatan perbandingan pergeseran kimia pada senyawa II	40
5. Data hasil uji anti-inflamasi.....	41
6. Tingkat selektivitas senyawa I dan II.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Sidaguri <i>Sida rhombifolia</i> L.	6
2. Struktur Kriptolepinon.....	8
3. Struktur Kriptolepin.....	8
4. Struktur Porifirin.....	9
5. Struktur 5,7-dihidroksi-4'-metoksiflavin (<i>acacetin</i>)	9
6. Senyawa flavonol-3-O-Galaktosa.....	10
7. Senyawa turunan steroid.....	10
8. Senyawa SRL-1 (<i>n</i> -heksakos-11-asam enoik).....	11
9. Senyawa SRL-2 (Stigmasterol)	11
10. Senyawa SRL-3 (β -Sitosterol).....	11
11. Kromatogram 17 fraksi hasil KKT	33
12. Kromatogram hasil analisis KLT kristal senyawa I	34
13. Kromatogram hasil analisis KLT kristal senyawa II	34
14. Kromatogram hasil analisis KLT 2 dimensi kristal senyawa I.....	34
15. Kromatogram hasil analisis KLT 2 dimensi kristal senyawa II	35
16. Spektroskopi IR senyawa I	36
17. Spektroskopi IR senyawa II.....	37
18. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa I.....	38
19. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa II.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	50
2. Skema Prosedur Kerja	51
3. Fraksinasi Metode Kupchan	53
4. Bagan Kerja Uji Fitokimia.....	54
5. Foto-foto Kegiatan.....	57
6. Perkiraan Struktur dari Senyawa I dan II	64
7. Perhitungan Aktivitas Anti-inflamasi Senyawa I dan II.....	67

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol dan Singkatan	Artinya
<i>Sida rhombifolia</i> L.	= <i>Sida rhombifolia</i> Linn.
<i>S. rhombifolia</i>	= <i>Sida rhombifolia</i>
DCM	= <i>Dichloromethane</i>
EEDS	= Ekstrak Etanol Daun Sidaguri
<i>E.faecalis</i>	= <i>Enterococcus faecalis</i>
LC ₅₀	= Lethal Concentration 50
LD ₅₀	= Lethal Doses 50
LRP	= <i>Luciferase Reporter Phage</i>
FTIR	= <i>Fourier Transform Infra Red</i>
KKG	= Kromatografi Kolom Gravitasi
KKV	= Kromatografi Kolom Vakum
KKT	= Kromatografi Kolom Tekan
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
<i>M.tuberculosis</i>	= <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NMR	= <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
RLU	= <i>Relative Light Units</i>
COX	= <i>Cyclooxygenase</i>
PG	= Prostaglandin
PPM	= Part Per Million
TA	= <i>Total Activity</i>
NSB	= <i>Non Specific Binding</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan alam hayati, yaitu bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan mikroorganisme, telah digunakan oleh manusia untuk memenuhi berbagai keperluan hidup, seperti pangan, sandang, papan, energi, wangi-wangian, zat warna, insektisida, herbisida dan obat-obatan. Selain itu tumbuh-tumbuhan juga banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bahan obat tradisional yang dikenal sebagai jamu-jamuan (Achmad, 2000).

Pemanfaatan tumbuhan obat untuk pencegahan dan pengobatan penyakit telah lama dikenal di Indonesia, tetapi penggunaannya masih lebih banyak didasarkan pada dugaan dan pengalaman yang diwariskan secara turun-temurun serta belum menggunakan kajian ilmiah. Tumbuhan obat yang digunakan biasanya berbentuk simplisia berupa akar, daun, buah dan biji (Iswantini dkk., 2009).

Obat-obatan tradisional juga banyak digunakan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh proses inflamasi seperti rematik, asma, radang usus (dibedakan menjadi penyakit *Chronic colitis ulseratif*), bahkan kanker. Data Riset Kesehatan Dasar (2013) menunjukkan bahwa prevalensi rematik di Indonesia tahun 2013 pada usia ≥ 15 tahun adalah 24,7% sedangkan asma dan kanker, pada semua usia, masing-masing 4,5% dan 1,4% per mil.

Salah satu strategi yang banyak dipakai dalam pengembangan obat (*drug development*), termasuk obat anti inflamasi, adalah menggunakan tanaman obat. Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai anti-inflamasi adalah

Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.). Keseluruhan bagian tanaman Sidaguri, mulai dari daun, bunga, batang dan akarnya, diketahui memiliki khasiat farmakologis (Dalimarta dan Setiawan, 2003). Kandungan senyawa utama tanaman sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) antara lain tannin, flavonoid, saponin, alkaloid dan glikosida. Disamping itu juga ditemukan kandungan kalsium oksalat, fenol, steroid dan asam amino. Alkaloid, kalsium oksalat, saponin, fenol, asam amino dan minyak atsiri banyak dijumpai pada daun. Selanjutnya Kalsium oksalat dan tannin ditemukan pada batang. Sedangkan Alkaloid dan steroid banyak terdapat pada bagian akar (Dalimartha, 2003).

Sifat analgetik yang dimiliki oleh akar sidaguri, terutama berasal dari molekul steroid dan alkaloid yang aktif. Steroid banyak digunakan untuk menekan inflamasi, alergi, dan respon imun. Saat ini senyawa anti-inflamasi banyak digunakan untuk mengatasi penyakit seperti asma bronkial, artritis reumatoid, inflamasi berat pada mata dan kulit. Selanjutnya senyawa Alkaloid bekerja sebagai analgetik dengan menghambat nyeri pada sistem saraf pusat pada hipotalamus, namun efeknya lebih kecil dibandingkan steroid (Katzung, 1997).

Penelitian yang dilakukan oleh Natsir dkk (2014) memperlihatkan kemampuan akar sidaguri untuk memperlambat rasa nyeri pada kaki mencit yang ditimbulkan oleh panas pada *hot plate* (50 °C). Semakin lama waktu yang ditimbulkan untuk merespon rangsangan tersebut maka semakin tinggi pula daya analgetiknya. Daya analgetik akar sidaguri mulai terlihat pada konsentrasi 0,6 g/kgBB dan meningkat seiring bertambahnya dosis yang digunakan. Akar sidaguri 2,4 g/kgBB memberikan efek yang paling lama untuk menghambat rasa nyeri yang ditimbulkan oleh *hot plate* dan berbeda secara bermakna dibandingkan dengan dosis yang lain dan kontrol negatif ($p > 0,05$). Dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu parasetamol, hasil uji statistik, menunjukkan konsentrasi

akar sidaguri 2,4 g/kgBB memiliki efek sama yang signifikan dengan parasetamol (bermakna = $p < 0,05$).

Berdasarkan uraian di atas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa pada fraksi non-polar akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.), dilanjutkan dengan menguji aktivitasnya sebagai anti-inflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Senyawa apa yang terdapat pada ekstrak non-polar akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) ?
2. bagaimana aktivitas senyawa dari fraksi non-polar akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) sebagai anti-inflamasi ?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak non-polar akar tanaman Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) dan aktivitasnya sebagai anti-inflamasi.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam fraksi non-polar akar sidaguri (*Sida rhombifolia* L.),
2. melakukan uji bioaktivitas anti-inflamasi senyawa yang terkandung dalam fraksi non-polar akar sidaguri (*Sida rhombifolia* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan pada penelitian ini, yaitu:

1. Memberikan informasi tentang jenis dan potensi senyawa akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.),
2. dasar bagi pengembangan penelitian-penelitian lanjutan tentang senyawa aktif akar *Sida rhombifolia* L.,
3. sebagai awal proses eksplorasi obat anti-inflamasi yang baru.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat

Penggunaan bahan alam (*natural products*) untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit memiliki sejarah panjang dalam peradaban manusia. Saat ini bahan alam banyak digunakan sebagai sumber bahan baku obat-obatan modern untuk berbagai penyakit seperti : kardiovaskular, kanker, malaria, penyakit mental dan lain lain. Tanaman obat memberikan sumbangsih yang cukup signifikan dalam penemuan dan pengembangan obat-obatan modern (Dewick, 2004; Cragg dan Newman, 2005). Selanjutnya, Fabricant (2001) dan Choong (2009) menyatakan bahwa obat-obat baru tersebut dihasilkan melalui proses pendahuluan dengan mengamati penggunaan tanaman tertentu dan bagian-bagiannya (daun, akar, kulit, buah atau biji atau seluruh tanaman).

Penelitian etnobotani di wilayah Burkina Faso bagian tengah menunjukkan beberapa tanaman seperti *Cienfuegoisa digitata* Cav. dan *Sida alba* L. (*Malvaceae*) sering digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti malaria, demam, nyeri, variola, serta juga diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri, anti-inflamasi, anti-virus dan bersifat hepatoprotektor (Nacoulma, 1996).

2.2 Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.)

2.2.1 Klasifikasi Tanaman

Berdasarkan ITIS (2015), taksonomi sidaguri adalah sebagai berikut:

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Malvales

Famili : *Malvaceae*

Genus : *Sida*

Spesies : *Sida rhombifolia* L.

2.2.2 Deskripsi Morfologi *Sida rhombifolia* L.

Tanaman *Sida rhombifolia* L. tumbuh liar di tepi jalan, halaman berumput, hutan, ladang dan tempat-tempat dengan sinar matahari cerah atau sedikit terlindung. Tanaman ini tumbuh pada daerah tropis di seluruh dunia dari dataran rendah sampai 1.450 mdpl. Tanaman perdu tegak bercabang ini dapat tumbuh sampai 2 meter dengan cabang kecil. Daun tunggal, bentuk bulat telur atau lanset, tepi bergerigi ujung meruncing, pertulangan menyirip, panjang 1-1,4 cm dan lebar 1-1,5 cm. Daun umumnya berbentuk jajaran genjang dengan bagian bawah berwarna hijau pucat atau abu-abu. Bunga tunggal berwarna kuning cerah. Mekar saat pukul 12.00 dan layu sekitar 3 jam kemudian. Buah dengan 8-10 kenda diameter 6-7 mm (Dalimartha, 2003).



Gambar 1. Morfologi Sidaguri *Sida rhombifolia* L. (Anonim, 2014)

2.2.3 Nama Daerah

Tumbuhan sidaguri (*Sida rhombifolia* L) dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan nama daerah Saliguri (Minangkabau), Sidaguri (Melayu), Sidaguri (Jawa Tengah), sidagori (Sunda), Taghuri (Madura), Kahindu (Sumba), Hutugamo (Halmahera), Digo (Ternate) (Dalimartha, 2003).

2.3 Tinjauan tentang Inflamasi

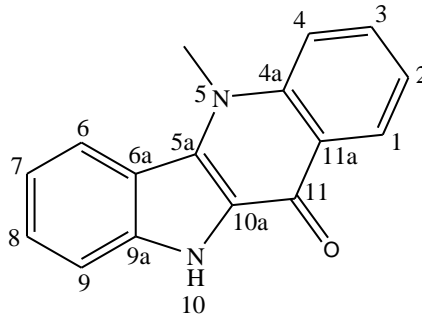
Inflamasi adalah tanggapan sistim perlindungan (protektif) tubuh karena adanya cedera jaringan dan infeksi yang terjadi pada tubuh, serta reaksi antara antigen dan antibodi. Antibodi adalah sistem pertahanan tubuh terhadap bakteri, virus dan sel-sel asing lainnya yang dilakukan oleh sel darah putih. Sel antibodi akan menghadapi antigen dan akan menyerang sendi serta organ eksternal lainnya, peristiwa tersebut dapat menyebabkan terjadinya inflamasi (Darlina dan Wahyuni, 2004).

Ciri-ciri terjadinya inflamasi adalah timbul kondisi merah (rubor), panas (kalor), bengkak (tumor), nyeri (dolor) dan akhirnya menyebabkan gangguan fungsi (*functio laesa*) (Hakim, 2005). Penyebab inflamasi atau cedera jaringan antara lain karena pengaruh bahan kimia, mekanis atau fisika, seperti trauma radiasi, panas, benda asing serta trauma biologis seperti bakteri, fungi atau parasite. Proses inflamasi merupakan suatu mekanisme perlindungan dimana tubuh berusaha untuk menetralkan dan membasmi agen-agen yang berbahaya pada tempat cedera serta mempersiapkan keadaan untuk perbaikan jaringan (Mitchell, 2006).

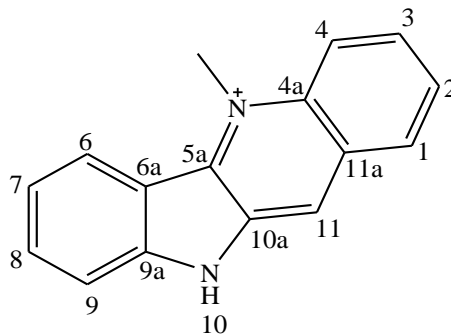
2.4 Fitokimia Genus *Sida*

2.4.1 Alkaloid

Chaves dkk., 2013, berhasil mengisolasi dua senyawa alkaloid, type indoquinoline, dari *Sida rhombifolia* Linn masing-masing Cryptolepinone (Gambar 2) dan Cryptolepine (Gambar 3)



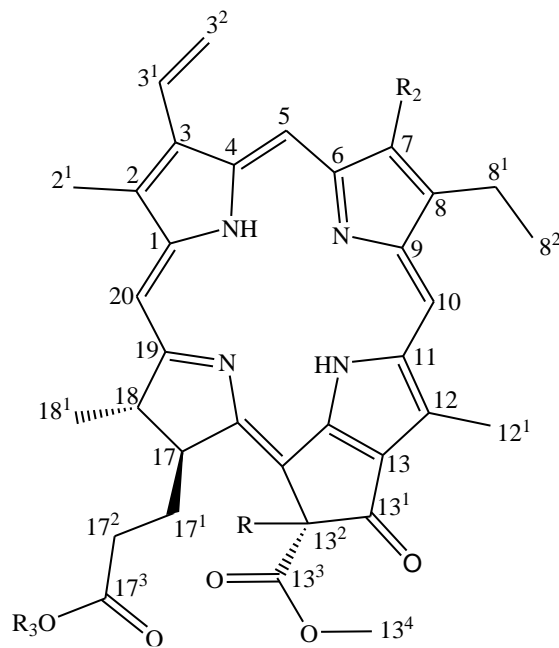
Gambar 2. Struktur Cryptolepinone (Chaves dkk., 2013)



Gambar 3. Struktur Cryptolepine (Chaves dkk., 2013)

2.4.2 Porifirin

Beberapa senyawa golongan porfirin (Gambar 4) berhasil diisolasi dari *Sida rhombifolia* L. diantaranya Phaeophytin A (6), 17³-ethoxypheophorbide A (7), 13²-hydroxy phaeophytin B (8), 17³-ethoxypheophorbide B (9) (Chaves dkk., 2013).

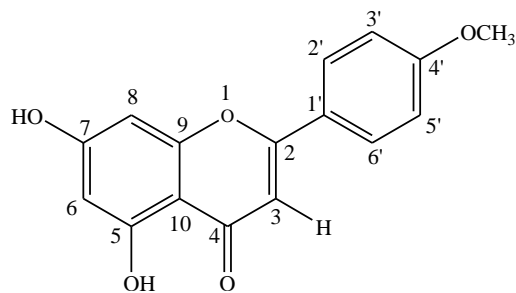


Gambar 4. Porifirin (Chaves dkk., 2013)

- 6 : R=H ; R₂=CH₃ ; R₃ = phytyl ester
- 7 : R=H ; R₂=CH₃ ; R₃ = CH₂CH₃
- 8 : R=OH ; R₂=CHO ; R₃ = phytyl ester
- 9 : R=H ; R₂=CHO ; R₃ = CH₂CH₃

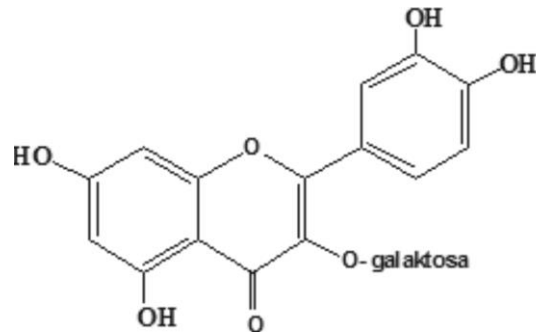
2.4.3 Flavonoid

Sebuah senyawa turunan flavonoid 5,7-dihidroksi-4'-metoxyflavone (acacetin) (Gambar 5) telah dilaporkan untuk pertama kalinya dalam genus *Sida*, senyawa diisolasi untuk pertama kalinya dalam spesies *S. rhombifolia* (Chaves dkk., 2013)



Gambar 5. Flavonoid 5,7-dihidroksi-4'-methoxyflavone (acacetin) (Chaves dkk., 2013)

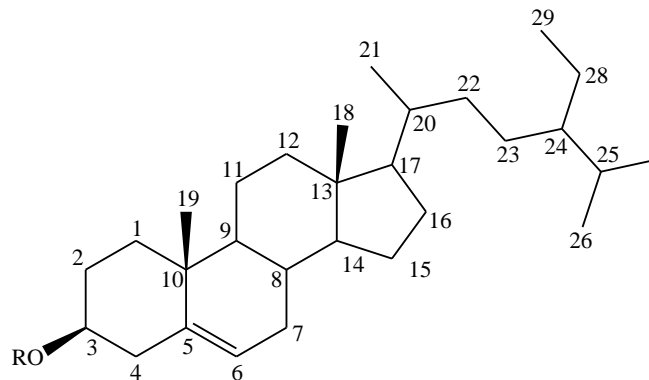
Jubaha dkk (2010) juga berhasil mengisolasi suatu senyawa turunan flavonoid, yaitu flavonol-3-O-Galaktosa pada tanaman *Sida rhombifolia* L.



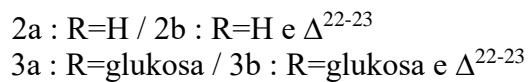
Gambar 6. Flavonol-3-O-Galaktosa (Jubaha dkk., 2010)

2.4.4 Steroid

Beberapa senyawa turunan steroid berhasil diisolasi dari *Sida rhombifolia* diidentifikasi sebagai sitosterol (Gambar 7 (2a)) dan stigmasterol (Gambar 7 (2b)) sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside (Gambar 7 (3a)) dan stigmasterol-3-O- β -Dglucopyranoside (Gambar 7 (3b)) (Chaves dkk., 2013).

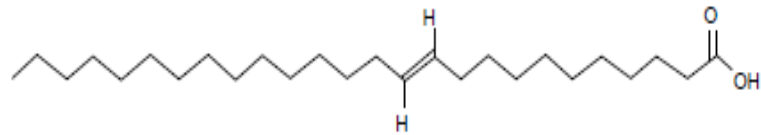


Gambar 7. Senyawa turunan steroid (Chaves dkk., 2013)

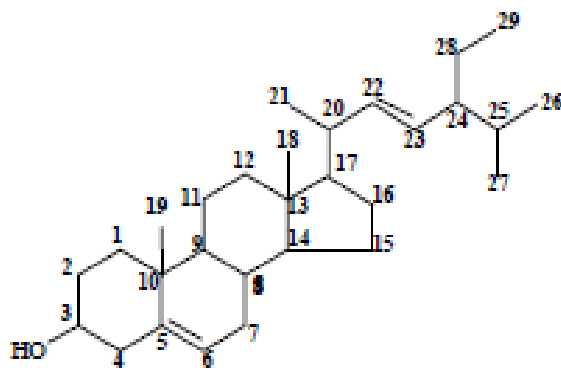


Tiga senyawa murni (SRL-1, SRL-2 dan SRL-3) dari ekstrak kloroform akar *Sida rhombifolia* yang diduga masing-masing merupakan senyawa *n*-hexacos-11-asam enoic, stigmasterol dan β -sitosterol. Senyawa-senyawa

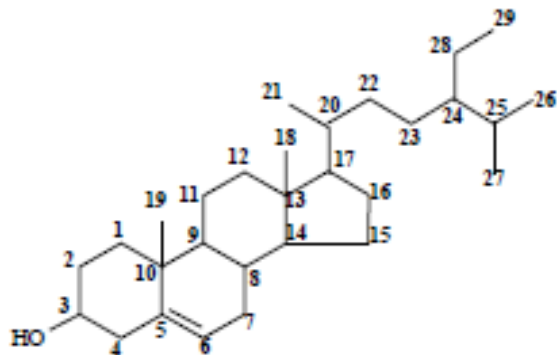
tersebut dikarakterisasi menggunakan teknik spektroskopi (NMR dan IR spektroskopi) (Woldeyes dkk., 2012)



Gambar 8. SRL-1 (*n*-hexacos-11-asam enoic) (Woldeyes dkk., 2012).



Gambar 9. SRL-2 (Stigmasterol) (Woldeyes dkk., 2012).



Gambar 10. SRL-3 (β -Sitosterol) (Wodeyes dkk., 2012).

2.5 Aktivitas *Sida rhombifolia* L. sebagai Anti-inflamasi

Konate dkk (2012) dalam studi pendahuluan untuk uji toksisitas akut pada ekstrak *Sida rhombifolia* L, menghasilkan nilai LD₅₀ lebih dari 5000 mg/kgBB pada dosis 100; 200 dan 400 mg/kgBB. Penghambatan tergantung dosis edema diamati pada 1; 2 dan 3 jam. Namun demikian ekstrak menunjukkan penghambatan paling banyak dalam pada proses induksi pada telinga edema

dengan dosis 200; 300 dan 500 µg/telinga. Adapun untuk aktivitas analgesik, ekstrak menghasilkan efek analgesik yang signifikan dalam asam asetat dengan metode *hot plate* ($p \leq 0,005$) dan penghambatan bergantung pada dosis yang diamati. Konate dkk (2012) menyimpulkan bahwa *Sida rhombifolia* L. memiliki anti-inflamasi dan sifat analgesik. Temuannya tersebut mendukung penggunaan ekstrak *Sida rhombifolia* L. sebagai obat tradisional untuk mengobati kondisi inflamasi dan analgesik.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Papitha dkk (2013), yaitu untuk mengetahui kerentanan *Mycobacterium tuberculosis* untuk etil asetat dan ekstrak etanol daun dan akar *Sida rhombifolia* L. *Luciferase Reporter Phage* (LRP) digunakan untuk mempelajari penghambatan *Mycobacterium tuberculosis*. Uji LRP menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun dan akar pada konsentrasi 100 dan 500 mg/mL menunjukkan aktivitas yang baik terhadap strain standar *M.tuberculosis* H37Rv dan isolat klinis *M.tuberculosis* resisten terhadap S, H, R dan E. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun etil asetat pada 100 µg/mL dapat menyebabkan penurunan 67,18% pada *Relative Light Units* (RLU) dan 500 µg/mL dapat pula menyebabkan penurunan hingga 83,61% pada *Relative Light Units* (RLU). Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat dari daun dan akar *Sida rhombifolia* L. memiliki aktivitas anti TBC terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

Ekstrak etanol dari bagian udara kering *Sida rhombifolia* L. (*Malvaceae*) dilakukan penelitian karena diduga dapat berfungsi sebagai analgesik dan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap hewan uji. Ekstrak yang dihasilkan signifikan ($p < 0,001$) dalam proses penghambatan asam asetat yang diinduksi pada tikus dengan dosis oral 250 dan 500 mg/kgBB dibandingkan dengan standar natrium diklofenak yang diinduksikan obat pada dosis 25 mg/kgBB. Ekstrak etanol minyak mentah juga menunjukkan aktivitas sitotoksik yang paling

menonjol terhadap *Artemia salina* (LC_{50} 40 $\mu\text{g/mL}$ dan LC_{50} 80 $\mu\text{g/mL}$). Berdasarkan hasil yang diperoleh, *Sida rhombifolia* L. dapat digunakan dalam pengobatan tradisional (Rahman dkk., 2011).

Sari dkk (2011) melaporkan bahwa steroid memiliki aktivitas dalam mengurangi kadar asam urat secara *in vitro* dari konsentrasi 6 mg/dL (0,036 mmol/dL), aktivitas steroid sebagai penurun kadar asam urat tidak dapat terdeteksi jika dilakukan penambahan hingga konsentrasi 192 mg/dL (0,35 mmol/dL). Untuk menentukan penyebab penurunan asam urat dengan steroid, reaksi dilakukan antara asam urat dan steroid yang mana steroid harus benar-benar bereaksi dengan asam urat, berat rasio adalah 9,37:1 (b/b) atau 28:1 (mmol/mmol). Analisis dengan KLT menunjukkan bahwa ada dua titik yang dapat diamati, salah satunya adalah asam urat dan lainnya merupakan senyawa baru karena R_f tidak sama baik dengan asam urat atau steroid.

Puspita (2007) melakukan penelitian untuk mengetahui daya analgetik infusa terhadap herba sidaguri dengan menggunakan metode rangsang kimia yang bertujuan untuk menelusuri % proteksi herba sidaguri dengan menggunakan hewan uji mencit putih jantan galur *Swiss*. Hewan uji tersebut terbagi dalam 5 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 6 ekor. Kelompok I diberi perlakuan aquades 25 mL/kgBB (p.o) sebagai control negatif, kelompok II diberi perlakuan suspense asam mefenamat 65 mg/kgBB (p.o) sebagai kontrol positif, kelompok perlakuan II-V diberi perlakuan infusa herba sidaguri masing-masing 2,73 g/kgBB; 5,46 g/kgBB dan 10,92 g/kgBB (p.o). asam asetat 0,5% v/v (i.p) sebagai induksi nyeri diberikan setelah 5 menit dari masing-masing perlakuan. Respon nyeri berupa geliat. Hasil pengamatan berupa data dianalisis dengan ANAVA (Analisis Varian). Hasil penelitian menunjukkan infusa herba sidaguri dosis 2,73 g/kgBB; 5,46 g/kgBB dan 10,92 g/kgBB dapat memberikan daya

analgetik berturut-turut sebesar $(44,94 \pm 3,15) \%$; $(70,04 \pm 3,42)\%$ dan $(97,73 \pm 1,21)\%$. Oleh karena itu disimpulkan bahwa infusa herba sidaguri dosis 2,73 g/kgBB $(44,94 \pm 3,15)\%$ memiliki daya analgetik yang setara dengan asam mefenamat 65 mg/kgBB $(44,94 \pm 2.16)\%$.

2.5.1 Bioaktivitas Bagian Daun

Simarmata dkk (2012) menunjukkan bahwa efek penurunan kadar asam urat suspensi efek ekstrak etanol daun sidaguri (EEDS) dosis 50 mg/kgBB dan suspensi EEDS 200 mg/kgBB lebih kuat dibandingkan suspensi allopurinol 10 mg/kg BB karena persen penurunan suspensi EEDS dosis 50 mg/kgBB adalah 49,45% dan suspensi EEDS dosis 200 mg/kg BB adalah 47,90%, sedangkan suspensi allopurinol dosis 10 mg/kgBB adalah 44,31%. Sementara efek penurunan kadar asam urat dari suspensi EEDS 100 mg/kgBB (43,11%) tidak lebih baik dari suspensi allopurinol dosis 10 mg/kgBB (44,31%). Sehingga dapat disimpulkan bahwa EEDS dosis 50 mg/kgBB memiliki efek penurunan kadar asam urat yang lebih baik.

Khalil dkk (2006) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak hidroalkohol daun sidaguri dosis 400 mg/kg mampu menghambat edema pada tikus yang diinduksi karagenin 1%. Aktivitas anti-inflamasi dari daun sidaguri yakni dengan memodulasi biosintesis prostaglandin melalui penghambatan siklooksigenase arakidonat tapi tidak menghambat lipooksigenase arakidonat, dimana senyawa fitokimia yang berperan sebagai agen anti-inflamasi daun sidaguri ialah alkaloid dan ecdysteroid (Sulaiman dkk., 2008). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gupta dkk (1980) bahwa senyawa aktif β -sitosterol pada tanaman sidaguri memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi.

Berdasarkan hasil penelitian Hidayati dkk (2013), efektivitas fraksi etanol 70% dari ekstrak etanol daun sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) dengan dosis 5,873 mg/20 gBB dapat menurunkan kadar asam urat serum yang sebanding dengan allopurinol dosis 0,39 mg/20 gBB pada mencit jantan galur *Swiss-webster* yang diinduksi kalium oksonat.

2.5.2 Bioaktivitas Bagian Batang

Asam asetil salisilat yang banyak dikenal sebagai asetosal atau aspirin adalah analgetik (penahan rasa sakit atau nyeri), antipiretik (demam) dan anti-inflamasi (peradangan) yang sangat luas digunakan dan digolongkan dalam obat bebas. Ekstrak etanol kulit batang sidaguri dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB memiliki efek analgetik dimana pada dosis 100 mg/kgBB menunjukkan penurunan jumlah geliat berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol ($p > 0,05$) pada menit ke 45, 50, 55, 60; dosis 200 mg/kgBB pada menit ke 30, 35, 35, 40, 45, 50, 55, 60; sedangkan dosis 400 mg/kgBB pada menit ke 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60. Ekstrak etanol kulit batang sidaguri dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB menunjukkan rata-rata total persentase proteksi sebesar 29,74%, 41,03% dan 52,71%; sedangkan efektivitas analgetik sebesar 38, 77%; 55,01%; dan 78,08%. Ekstrak etanol kulit batang sidaguri dosis 3 yaitu 400 mg/kgBB menunjukkan aktivitas analgetik terbesar dengan total penurunan jumlah geliat paling besar, persentase proteksi sebesar 52,71% dan efektivitas analgetik sebesar (78,08%). Ekstrak etanol kulit batang sidaguri dengan dosis 400 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif karena dapat menurunkan jumlah geliat lebih besar dari dosis 100 dan 200 mg/kgBB (Suwandi, 2014).

Penelitian lain yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak sidaguri tidak menyebabkan kematian bahkan pada dosis tertinggi 6 g/kg (nilai LD₅₀ lebih

besar dari 5000 mg/kg) sedangkan penelitian toksisitas sub akut pada tikus Wistar, ekstrak sidaguri secara signifikan menunjukkan tidak adanya perbedaan berat badan dan organ (jantung, paru-paru, hati dan lambung) antara kelompok uji dan kelompok kontrol (10% DMSO). Pada parameter biokimia menunjukkan peningkatan ALT, AST dan ALP yang signifikan. Namun untuk parameter biokimia lain (glukosa, kretanin, nitrogen urea, trigliserida, bilirubin total dan bilirubin langsung), terdapat penurunan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. Pada parameter hematologi terdapat penurunan yang signifikan pada monosit, basophil, hemoglobin, hematocrit dan MCV antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Ouedraogo dkk., 2013).

2.5.3 Bioaktivitas Bagian Akar

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Tanumihardja dkk (2016) penelitian *in vitro* terhadap ekstrak akar sidaguri dengan menggunakan pelarut etanol 95% menunjukkan efek analgetik dan anti inflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan efek anti bakterinya. Hasil ini ditegaskan dalam penelitian selanjutnya terhadap hewan coba yang menunjukkan potensi anti-inflamasi ekstrak akar sidaguri pada tikus Wistar dengan model lesi periapikal.

Penelitian lain yang telah dilakukan pada tanaman sidaguri adalah Logeswari dkk (2013) mengenai aktivitas anti-inflamasi ekstrak air dan etanol akar sidaguri pada tikus yang diinduksi karagenin. Hasil skrining fitokimia kedua ekstrak menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tannin dan glikosida. Pada ekstrak etanol juga diduga terdapat senyawa steroid, alkaloid dan terpen. Pada uji toksisitas akut sampai dosis 2000 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya toksisitas pada tikus. Ekstrak air dan etanol akar sidaguri pada dosis 200, 400, 600 mg/kgBB tikus memiliki aktivitas sebagai agen anti-inflamasi.

Tanumihardja dkk (2016) melaporkan bahwa tingkat tertinggi pengujian anti-inflamasi akut menggunakan metode induksi karagenan pada tikus ditemukan pada dosis 2,4 g/kg/BW dengan 20,78% dari indeks anti-inflamasi dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Sementara aktivitas analgesik dengan menggunakan metode *hot plate* pada tikus secara *in vivo* menyatakan bahwa waktu terpanjang yang dapat dicapai ($p < 0,05$). Ekstrak etanol *Sida rhombifolia* menunjukkan daya hambat yang bergantung dengan dosis yang diberikan dan pengaruh ekstrak pada dosis 3,36 mg/kgBB lebih baik dibandingkan dengan ekstrak yang diberikan pada dosis rendah serta kontrol negatif yang diberikan secara oral pada tikus. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak akar *S. rhombifolia* memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi dan analgesik.

Uji daya hambat ekstrak etanol akar sidaguri terhadap *E. faecalis* dan *Actinomyces spp* menggunakan metode difusi agar pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% didasarkan pada pengukuran zona hambat yang ditimbulkan oleh masing-masing konsentrasi ekstrak. Daya hambat yang paling besar terhadap bakteri *E. faecalis* didapatkan pada konsentrasi 20% ($p < 0,05$) sedangkan pada *Actinomyces spp* tidak didapatkan zona hambat sama sekali. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol akar sidaguri paling efektif terhadap *E. faecalis* pada konsentrasi 20%, akan tetapi sama sekali tidak efektif terhadap *Actinomyces spp* (Tanumihardja dkk., 2013).

2.6 Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif diartikan sebagai senyawa kimia bahan alam yang mempunyai aktivitas biologi yang dapat dimanfaatkan. Senyawa bioaktif diperkirakan terdapat di alam dalam jumlah yang sangat besar dan tidak terbatas yang sampai saat ini penelusuran dan pencarian masih terus dilakukan. Senyawa

bioaktif yang berhasil diisolasi terutama senyawa yang mempunyai aktivitas yang berguna dan sangat potensial untuk dikembangkan. Banyak senyawa bahan alam yang bersifat bioaktif berhasil diisolasi baik dari hewan maupun tumbuhan yang sangat berguna misalnya sebagai insektisida, pestisida, antifungi dan sitotoksik. Senyawa ini bahkan telah banyak disintesis pada skala industri dalam bidang pertanian dan obat-obatan (Suriani, 2006).

Pemisahan berbagai komponen kimia yang ada dalam ekstrak tumbuhan dapat dilakukan dengan metode isolasi. Pemisahan ini didasarkan atas sifat adsorpsi dan partisi dari setiap komponen tertentu. Metode isolasi yang dilakukan dan telah banyak dikembangkan terdiri atas empat tahap yaitu dimulai dari pemilihan sumber organisme, ekstraksi senyawa bioaktif, fraksinasi senyawa bioaktif, dan uji bioaktivitas senyawa metabolit sekunder (Suriani, 2006).

2.6.1 Pemilihan Sumber Organisme

Dalam upaya pencarian senyawa bioaktif dari alam, pemilihan pendekatan (*approach*) yang dilakukan sangat memegang peranan penting. Pemilihan material dari alam secara acak yang dikombinasikan dengan proses seleksi (*screening*) bioaktivitas merupakan metode yang banyak digunakan oleh industri-industri besar dalam pencarian bahan aktif dari alam. Cara ini sering dianggap tidak efisien apabila pencarian tersebut dikombinasikan dengan memberikan kriteria tertentu. Sebagai contoh hewan atau tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional sering memberikan senyawa-senyawa aktif secara farmakologi. Tumbuhan atau tanam-tanaman yang termasuk dalam satu familia pada umumnya mempunyai anatomi dan morfologi yang mirip sehingga kemungkinan besar mempunyai proses fisiologi yang mirip pula. Karena proses fisiologi ini berhubungan dengan sel tumbuhan, maka diduga hal inilah yang menyebabkan

banyak tumbuh-tumbuhan satu familia mempunyai kandungan kimia yang sejenis. Akan tetapi antara tumbuhan yang satu dengan yang lainnya tidak akan memiliki kandungan kimia yang semuanya persis sama, ada salah satu atau beberapa yang khas untuk masing-masing (Suriani, 2006).

Kandungan kimia yang terdapat dalam satu familia dapat mempunyai beberapa arti dimana yang pertama yaitu golongan kandungan kimia yang selalu terdapat dalam setiap tumbuhan dari familia tersebut tetapi tidak khas atau terdapat juga pada familia yang lain, kedua adalah golongan atau kandungan kimia yang selalu khas hanya terdapat pada familia tersebut dan yang ketiga adalah kandungan kimia suatu tumbuhan yang tidak dikandung oleh tumbuhan dari familia lain, dan yang terakhir adalah yang khas hanya terdapat dalam satu tumbuhan atau tidak ditemukan dalam tumbuhan lain baik dalam satu familia maupun bukan dalam satu familia. Disamping itu terdapat pula kandungan kimia yang tersebar luas dalam berbagai tumbuhan dan tidak memberikan arti yang besar dalam pendekatan kemotaksonomi (Suriani, 2006).

2.6.2 Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Untuk menarik kandungan senyawa aktif dari bahan alam yang akan diisolasi dapat dilakukan dengan cara ekstraksi. Ekstraksi adalah proses pelarutan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan. Metode maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut yang polar. Bisa juga dilakukan dengan menggunakan pelarut polar seperti metanol secara langsung dilakukan partisi dengan pelarut pada kepolaran yang terus ditingkatkan melalui proses ekstraksi (Suriani, 2006).

2.6.3 Fraksinasi Senyawa Bioaktif

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa kimia yang satu dengan senyawa kimia yang lain dari suatu ekstrak bahan alam. Metode fraksinasi yang digunakan adalah metode kromatografi dimana pemisahan senyawa kimia tergantung pada sifat partisi, adsorpsi, dan distribusi komponen kimia terhadap fase diam dan fase gerak. Beberapa metode fraksinasi yang digunakan antara lain kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom gravitasi (KKG) dan kromatografi kolom tekan (KKT) (Suriani, 2006).

2.6.4 Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder

Dipermukaan bumi ini terdapat ratusan ribu spesies yang masing-masing berpotensi mengandung metabolit sekunder yang unik. Dengan demikian jumlah senyawa metabolit sekunder pun sangat banyak di antaranya ada yang mempunyai aktivitas biologis dan ada pula yang tidak aktif biologis. Oleh karena itu perlu dilakukan uji bioaktivitas senyawa metabolit sekunder hasil ekstraksi (Suriani, 2006).

2.6.5 Metode Uji Anti-inflamasi

Metode uji anti-inflamasi akut dan sub akut menurut Patel dkk (2012) adalah UV-eritema pada hewan babi, permeabilitas vascular, induksi oxazonon pada telinga mencit, edema minya *croton* pada tikus dan mencit, induksi radang pada tikus, uji pleura dan teknik pembuatan granuloma.

Penelitian ini menggunakan uji anti-inflamasi dengan induksi radang pada telapak kaki tikus Wistar jantan menggunakan karagenin. Uji aktivitas anti-inflamasi dengan metode induksi karagenin merupakan salah satu metode yang sederhana, mudah dan sering dilakukan. Selain itu pembentukan radang oleh karagenin tidak menyebabkan kerusakan jaringan (Fitriyani dkk., 2011).

Karagenin digunakan sebagai penginduksi inflamasi karena ada beberapa keuntungan yang didapat antara lain tidak menimbulkan kerusakan jaringan, tidak menimbulkan bekas dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat anti-inflamasi (Vogel, 2002).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa akar tumbuhan sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) diperoleh dari Kabupaten Bone. Bahan penelitian lain seperti: etanol p.a, akuades, *n*-heksan p.a, diklorometan p.a, kloroform p.a, etil asetat p.a, aseton p.a, metanol p.a, es batu, plastik *wrap*, *aluminium foil*, *tissue roll*, plat KLT (Merk Kiesel gel 60 F254 0,25 mm), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7733), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7734).

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain corong pisah, statif dan klem, alat-alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium, botol vial, timbangan digital (Ohaus AP-110), botol semprot, blender, alat Soxhlet, alat evaporasi (BUCHI Rotavapor R-200), alat destilasi, alat KLT (*chamber*, pipet, pensil, *cutter*, dan mistar), inkubator, penangas air, kromatografi kolom gravitasi (KKG), kromatografi kolom tekan (KKT), kromatografi kolom vakum (KKV), lampu UV254-365nm, sementara untuk analisis spektrofotometer IR dengan varian FT-IR Prestige-21 Shimadzu, JEOL JMN A 5000 yang bekerja pada 500,0 MHz untuk spektrum ¹H-NMR dan 125,65 MHz untuk spektrum ¹³C-NMR.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2017 sampai bulan Agustus 2017 di Laboratorium Kimia Organik untuk preparasi sampel, Laboratorium Kimia Terpadu untuk analisis FT-IR Jurusan Kimia, Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Farmakologi untuk analisis anti-inflamasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Laboratorium Kimia ITB untuk analisis NMR.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penyiapan Sampel

Akar tumbuhan *Sida rhombifolia* L. sebanyak 1,2 kg dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka pada suhu kamar. Sampel yang telah kering dipotong-potong kecil kemudian dihaluskan dengan blender sampai diperoleh serbuk. Hasil yang diperoleh sebanyak 500 gram yang kemudian digunakan sebagai sampel penelitian.

3.4.2 Isolasi

Serbuk akar *Sidaguri rhombifolia* L. sebanyak 500 gram disokhletasi dengan etanol selama 2x24 jam sebanyak 5 kali menghasilkan ekstrak berwarna coklat sebanyak 4,3316 gram.

3.4.3 Fraksinasi

Sampel yang telah disokhlet kemudian suspensikan dalam air dan dipartisi dengan diklorometan, sehingga diperoleh fraksi air dan fraksi diklorometan. Fraksi diklorometan selanjutnya disuspensikan dengan metanol air (9:1) dan dipartisi dengan *n*-heksana. Fraksi metanol air hasil partisi, kemudian disuspensikan dengan metanol air (5:5) dan dipartisi lebih lanjut dengan diklorometan (Kupchan dkk., 1978). Fraksi non-polar yang diperoleh yaitu diklorometan, dan *n*-heksana. Fraksi yang berpotensi sebagai agen anti inflamasi selanjutnya difraksinasi melalui KKV, KKG, dan KKT menggunakan eluen yang

sesuai berdasarkan analisis dengan KLT dan setiap hasil fraksinasi dimonitor kembali melalui analisis dengan KLT.

3.4.4 Uji Fitokimia

Pada fraksi non-polar akar tumbuhan *Sida rhombifolia* L. dilakukan uji fitokimia menurut Harborne (1987) yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid dan tanin. Proses pengujian fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.5 Identifikasi

Isolat tunggal yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen dan pengukuran titik leleh. Data spektroskopi untuk penetapan struktur diperoleh dengan mengukur senyawa murni melalui alat spektrofotometer UV, FT-IR, ¹H NMR, dan ¹³C NMR.

3.4.6 Uji Anti-inflamasi

3.4.6.1 Pembuatan Larutan Pereaksi

1. Larutan *Buffer*

Larutan *buffer* pekat sebanyak 5 mL diencerkan dengan 45 mL air steril.

2. Heme

Heme 100 µL diencerkan dengan 400 µL larutan *buffer*.

3. Asam Arakidonat

Substrat persediaan sebanyak 50 µL dipindahkan ke vial lain, tambahkan 50 µL KOH, vortex dan encerkan dengan 400 µL air steril.

4. HCl 0,1 M

Larutan HCl 1 M diencerkan hingga 500 µL dengan 4,5 mL air steril untuk menghasilkan konsentrasi 0,1 M.

5. SnCl₂

Larutan HCl 0,1 M HCl dimasukkan 5 mL ke dalam vial persediaan SnCl₂ dan vortex hingga larutan jenuh.

6. *Buffer* EIA

Vial yang berisi konsentrasi *buffer* EIA diencerkan dengan 90 mL air steril. Bilas vial untuk membersihkan garam yang mengendap.

7. *Buffer* Cuci

Konsentrat yang berisi *buffer* cuci diencerkan hingga menjadi 2 L dengan air air steril dan tambahkan 0,25 mL Tween 20. *Buffer* cuci volume yang kecil dapat dibuat dengan mengencerkan konsentrat *buffer* cuci 1:400 dan menambahkan Tween 20 (0,5 mL/L *buffer* cuci).

8. *Tracer AChE Skrining Prostaglandin*

Prostaglandin (PG) *Tracer Skrining* direkonstitusi dengan 6 mL *buffer* EIA.

9. *Antiserum Skrining Prostaglandin*

Pristaglandin (PG) *Skrining Antiserum* direkonstitusi dengan 6 mL *buffer* EIA.

3.4.6.2 Pembuatan Larutan Standar Prostaglandin

Larutkan Standar PG terliofilasi dalam 1 mL *buffer* EIA. Konsentrasi larutan ini adalah 100 ng/mL (standar *bulk*). Larutan digunakan sebagai standar untuk digunakan dalam ELISA. Disiapkan 8 tabung uji dan beri label S1 hingga S8. Sebanyak 800 µL *buffer* ELISA dimasukkan ke dalam tabung S1 dan 500 µL *buffer* ELISA pada tabung S2-S8. Dipipet 200 µL standar *bulk* dimasukkan ke tabung S2, dikocok hingga homogen. Kemudian diambil 500 µL dari tabung S2 dan dimasukkan ke tabung S3, kocok hingga homogen. Diulangi perlakuan untuk tabung S4-S8.

3.4.6.3 Pembuatan Larutan Inhibitor

1. Larutan Uji

Isolat dilarutkan kedalam larutan *buffer* pereaksi hingga didapatkan konsentrasi 0,05 ppm dan 0,025 ppm menggunakan *buffer* ELISA.

3.4.6.4 Pelaksanaan Reaksi COX

1. Tabung Background

Inaktif enzim COX-1 dan COX-2 dilakukan dengan memindahkan sebanyak 20 μL dari larutan masing-masing enzim ke dalam *sentrifuge*, dipanaskan tabung pada air mendidih selama 3 menit, lalu ditambahkan 10 μL pembawa DMSO ke dalam tiap tabung.

2. Tabung COX-1 100% *Initial Activity*

Tabung *Effendorf* yang berisi 10 μL larutan heme dan 10 μL COX-1 ditambahkan 160 μL larutan *buffer* kemudian ditambahkan 10 μL pembawa DMSO ke dalam tiap tabung.

3. Tabung COX-2 100% *Initial Activity*

Tabung *Effendorf* yang berisi 10 μL larutan heme dan 10 μL COX-2 ditambahkan 160 μL larutan *buffer* kemudian ditambahkan 10 μL pembawa DMSO ke dalam tiap tabung.

4. Tabung Inhibitor COX-1

Tabung *Effendorf* yang berisi 10 μL larutan heme dan 10 μL COX-1 ditambahkan 160 μL larutan *buffer* .

5. Tabung Inhibitor COX-2

Tabung *Effendorf* yang berisi 10 μL larutan heme dan 10 μL COX-1 ditambahkan 160 μL larutan *buffer* kemudian ditambahkan 10 μL larutan uji isolat ke dalam tabung. Diinkubasi semua tabung pada suhu 37 °C dan

ditambahkan 10 μL asam arakidonat ke dalam semua tabung, diaduk dan diinkubasi selama 2 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$. Ditambahkan 30 μL larutan SnCl_2 pada semua tabung, dipindahkan tabung dari *water bath* dan vortex. Kemudian diinkubasi selama 5 menit pada temperatur ruangan. Jumlah prostaglandin yang terbentuk dapat dikuantifikasi dengan metode ELISA.

3.4.6.5 Pengenceran Reaksi COX

1. *Background Samples* COX (BC)

Tabung *Effendorf* disiapkan dan diberi label BC1 dan BC2. Dimasukkan 990 μL *buffer* ELISA ke dalam tiap tabung, ditambahkan 10 μL supernatan sampel Background COX-1 ke tabung BC1 dan 10 μL supernatan sampel Background COX-2 ke tabung BC2, vortex hingga homogen. COX 100%.

2. *Initial Activity Samples* (IA 100%)

Tabung *Effendorf* sebanyak 3 buah disiapkan dan beri tanda IA1 sampai IA3. Dimasukkan 990 μL *buffer* ELISA ke dalam tabung IA1, ditambahkan 10 μL supernatan sampel IA 100% COX-1 lalu dihomogenkan. Dimasukkan 950 μL *buffer* ELISA ke dalam tabung IA2, tambahkan 50 μL dari tabung IA1 ke dalam tabung IA2, lalu dihomogenkan. Dimasukkan 500 μL *buffer* ELISA ke dalam tabung IA3, ditambahkan 500 μL dari tabung IA2 ke dalam tabung IA3, lalu dihomogenkan. Diulangi perlakuan diatas untuk IA 100% COX-2.

3. COX-1 Inhibitor Sampel

Tabung *Effendorf* sebanyak 3 buah disiapkan dan diberi tanda C1 sampai C3. Dimasukkan 990 μL *buffer* ELISA ke dalam tabung C1, tambahkan 10 μL larutan COX-1 inhibitor lalu dihomogenkan. Larutan *buffer* ELISA sebanyak 950 μL dimasukkan ke dalam tabung C2, ditambahkan 50 μL dari tabung C1 ke dalam tabung C2, lalu dihomogenkan. Dimasukkan 500 μL

buffer ELISA ke dalam tabung C3, ditambahkan 500 μL dari tabung C2 ke dalam tabung C3, lalu dihomogenkan. Diulangi perlakuan diatas untuk COX-2 inhibitor sampel.

3.4.6.6 Pengujian Aktivitas Dengan Metode ELISA

Pada tahap ini digunakan microplate 96 *wells* yang tiap sumurnya akan diisi dengan beberapa reagen yaitu *Non Spesific Binding* (NSB), *Maximum Binding* (B0), *Prostaglandin Screening ELISA Standard*, *Background Samples* COX-1 dan COX-2, COX-1 dan COX-2 100% *Initial Activity Samples*, COX-1 dan COX-2 *Inhibitor Samples* dan *Total Activity*.

Sebanyak 100 μL *buffer* ELISA dimasukkan ke dalam sumur NSB dan 50 μL *buffer* ELISA dimasukkan ke dalam sumur B0. Sumur *Prostaglandin Screening Standard* ditambahkan 50 μL dari tiap masing-masing tabung pengenceran yang ditandai S1 hingga S8, dimulai dari sumur paling bawah S8 hingga sumur paling atas S1. *Background Samples* COX-1 dan COX-2 (Tabung BC12, BC13, BC22, BC23) ditambahkan 50 μL ke dalam sumur masing-masing. Pada sumur COX-1 100% *Initial Activity Samples* (Tabung uji IA2 dan IA3) ditambahkan 50 μL sampel sesuai kodenya IA2 dan IA3 ke dalam sumur masing-masing. Dilakukan perlakuan yang sama untuk COX-2 100% *Initial Activity Samples*. COX-1 Inhibitor Sampel (Tabung uji C2 dan C3) ditambahkan 50 μL sampel sesuai kodenya C2 dan C3 ke dalam sumur masing-masing. Dilakukan perlakuan yang sama untuk COX-2 Inhibitor Sampel.

Sebanyak 50 μL *Prostaglandin Screening AChE Tracer* ditambahkan ke dalam semua sumur, kecuali sumur *Total Activity* (TA) dan *Blanko* (Blk). Selanjutnya sebanyak 50 μL *Prostaglandin Screening ELISA Antiserum* ditambahkan ke dalam semua sumur kecuali sumur TA, NSB dan *blanko*. Sumur *blanko* tidak ditambahkan dengan reagen apapun.

Semua sumur ditutup dengan plastik film dan diinkubasi selama 18 jam pada temperatur ruangan di atas *orbital shaker*, setelah diinkubasi kemudian sumur dicuci dengan *buffer* pencuci kemudian ditambahkan 200 μL reagen *Ellman's* yang sebelumnya telah direkonstitusi satu vial dengan 20 mL air steril. Untuk sumur *Total Activity* (TA) tidak dilakukan penambahan apapun sebelum diinkubasi. Namun, setelah diinkubasi ditambahkan dengan 200 μL reagen *Ellman's* dan 5 μL Prostaglandin *Screening* AChE Tracer. Tutup kembali dengan plastik film dan 12 inkubasi selama 90 menit. pada suhu 37 °C. Setelah diinkubasi dilakukan pembacaan lempeng pada panjang gelombang 405 nm (*Cayman Chemical*, 2017).

3.5 Pengamatan

3.5.1 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan 3 macam kromatografi kolom yaitu KKV, KKG dan KKT dengan menggunakan eluen yang bervariasi. Hasil fraksinasi dianalisis dengan KLT menggunakan eluen yang sesuai, dan fraksi-fraksi dengan nilai R_f yang sama, digabungkan di dalam suatu wadah.

3.5.2 Analisis KLT

Analisis dengan KLT dilakukan dengan menggunakan berbagai variasi pelarut. Maserat ditotolkan pada plat KLT yang memiliki silika gel sebagai adsorben lalu dimasukkan di dalam tabung yang telah dijenuhkan dengan eluen. Noda dari hasil totolan pada *base line* bergerak berdasarkan perbedaan kepolaran dan dihasilkan noda-noda. Sistem ini dilakukan dengan prinsip *trial and error* guna mencari eluen yang sesuai untuk fraksinasi. Eluen yang digunakan dapat berupa campuran dua atau tiga pelarut. Kromatogram yang baik ditandai dengan terpisahnya masing-masing noda yang kemudian dihitung nilai R_f -nya. Senyawa

murni harus menunjukkan noda tunggal pada tiga macam sistem eluen dan kromatogram KLT dua dimensi.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi

Serbuk akar *Sidaguri rhombifolia* L. sebanyak 500 g dibagi menjadi 5 bagian, masing-masing 100 gram, selanjutnya disokletasi dengan etanol selama 2x24 jam. Perlakuan yang sama diulangi untuk porsi lainnya. Setelah ekstrak digabungkan kemudian dirotavap hingga menghasilkan ekstrak kental coklat sebanyak 4,3316 gram.

Sampel hasil sokletasi kemudian diekstraksi dengan pelarut non-polar *n*-heksan dan DCM yang dilakukan selama 2x24 jam. Fraksi yang dihasilkan selanjutnya di evaporasi sehingga menghasilkan bentuk pasta pekat yang bobotnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Akar *Sidaguri rhombifolia* L.

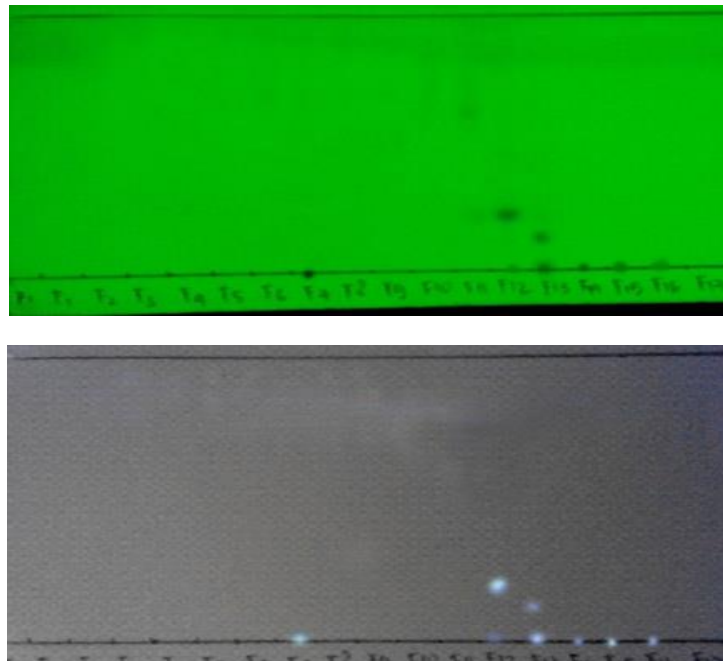
Fraksi	Berat Ekstrak (gram)	Warna Ekstrak	Bentuk
<i>n</i> -heksana	0,7716	Coklat	Pasta
DCM	0,4905	Coklat kehitaman	Pasta

4.2 Isolasi

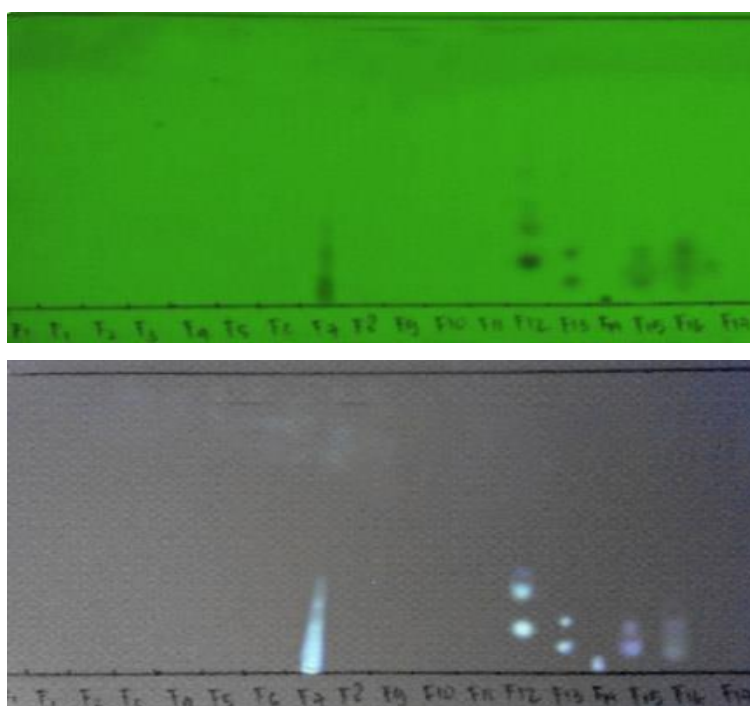
4.2.1 Fraksinasi dan Pemurnian

Hasil ekstraksi *n*-heksan 0,7716 gram difraksinasi dengan kromatografi kolom tekan (KKT). Sebelum fraksinasi dilakukan, terlebih dahulu ekstrak *n*-heksan dikeringkan hingga menjadi padatan agar nantinya mudah untuk dilakukan KKT. Ekstrak kental *n*-heksan yang telah kering sebanyak 0,7716 gram

kemudian diimprek dengan menggunakan silika gel tipe 7733 sampai sampel menjadi butiran-butiran halus yang persis dengan struktur silika itu sendiri. Setelah itu barulah dilakukan KKT untuk memisahkan senyawa menjadi beberapa fraksi. Proses ini dilakukan dengan menggunakan alat KKT dan silika gel tipe 7734, tahapan ini berlangsung dengan menggunakan eluen *n*-heksan 100% (sebanyak 6 kali), *n*-heksana dan kloroform dengan perbandingan (8:2, 7:3 dan 5:5), kloroform dan *n*-heksana (7:3), kloroform 100%, etil asetat dan kloroform (2:8, 5:5 dan 7:3), etil asetat, aseton dan metanol masing-masing 100% dan pada tahapan ini diperoleh 17 fraksi. Pada tahap ini hanya 2 fraksi yang dilanjutkan ke tahap selanjutnya karena pada kedua fraksi tersebut memiliki pemisahan noda yang baik pada *short* dan *long wave* yang diperlihatkan pada kromatogram hasil KLT (Gambar 11) serta jika dilihat secara fisik terdapat pembentukan kristal yang masih tertutupi dengan zat pengotornya.



(a) *n*-heksan : CHCl₃ (4:6)

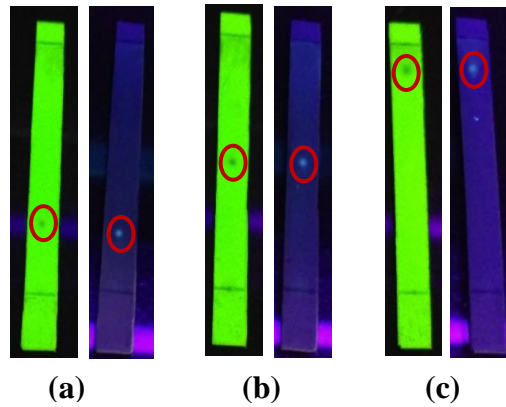


(b) Aseton : *n*-heksan (2:8)

Gambar 11. Kromatogram 17 fraksi hasil KKT

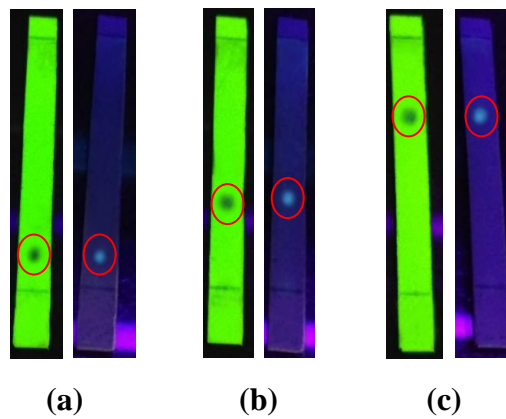
Selanjutnya kedua fraksi tersebut di kristalisasi dan rekristalisasi dengan metanol : etil asetat (T₁₂); metanol : CHCl₃ (T₁₃) untuk pemurnian. Setelah semua pelarutnya menguap, kedua fraksi tersebut menghasilkan dua senyawa X dalam bentuk kristal coklat (T₁₂) sebanyak 62,2 mg dan kristal kuning (T₁₃) sebanyak 4,2 mg.

Uji kemurnian kedua senyawa X dilakukan dengan analisis KLT pada 3 sistem eluen dan KLT 2 dimensi (Gambar 12 dan Gambar 13). Noda tunggal pada kromatogram KLT yang berpendar di bawah lampu UV mengindikasikan bahwa kristal dari fraksi T₁₂ dan T₁₃ merupakan senyawa murni yang selanjutnya dinyatakan sebagai senyawa I (T₁₂) dan senyawa II (T₁₃).



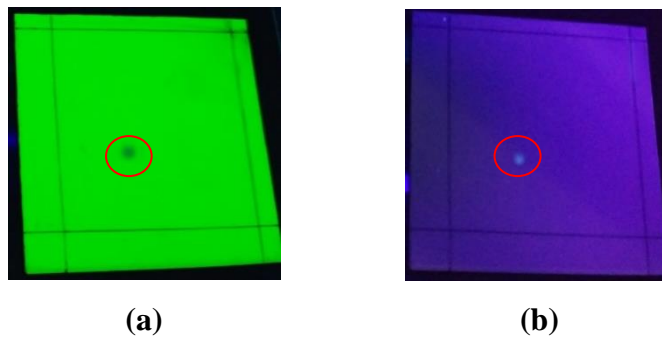
Gambar 12. Kromatogram hasil analisis KLT kristal senyawa I

- (a) *n*-heksan : CHCl_3 (9:1) ($R_f = 0,3$)
- (b) *n*-heksan : EtOAc (9:1) ($R_f = 0,65$)
- (c) EtOAc : CHCl_3 (8:2) ($R_f = 0,85$)

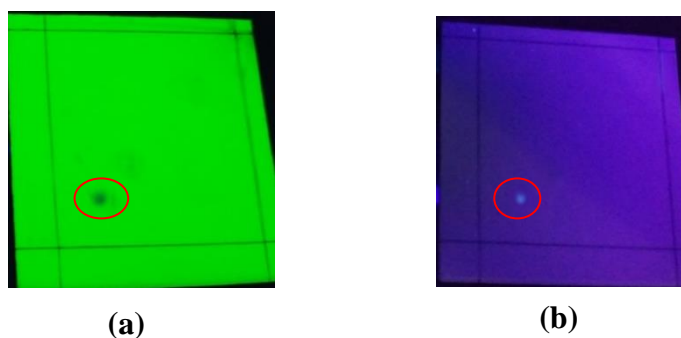


Gambar 13. Kromatogram hasil analisis KLT kristal senyawa I

- (a) Aseton : *n*-heksan (0,25:9,75) ($R_f = 0,2$)
- (b) CHCl_3 100% ($R_f = 0,5$)
- (c) EtOAc : *n*-heksan (0,5:9,5) ($R_f = 0,72$)



Gambar 14. Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal senyawa I



Gambar 15. Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal senyawa II

4.2.2 Uji Fitokimia

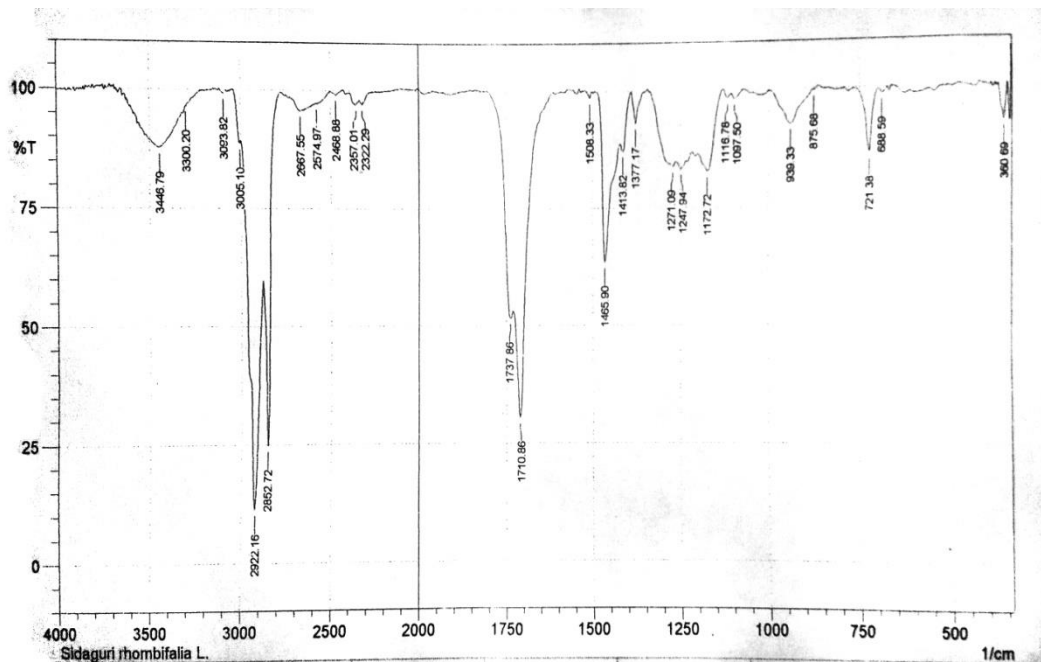
Uji fitokimia terhadap senyawa I dan II menghasilkan data seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia senyawa I dan II dari akar *Sidaguri rhombifolia* L.

Metabolit Sekunder	Senyawa	
	I	II
Alkaloid		
a. Meyer	-	-
b. Wagner	-	-
Flavonoid	-	-
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Steroid	-	-
Triterpenoid		
a. Lieberman-Burchard	++	+

4.3 Analisis Data Spektroskopi

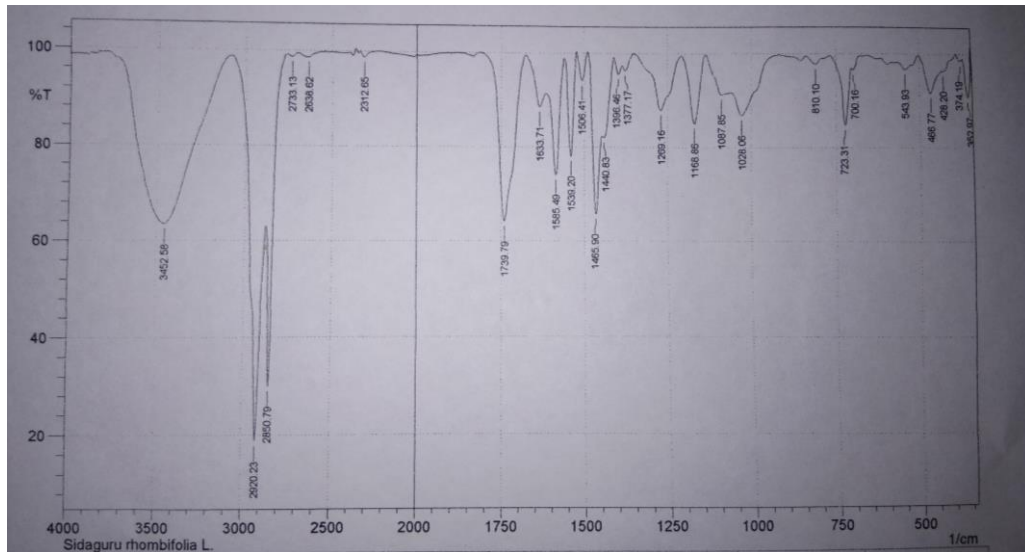
4.3.1 Spektroskopi FT-IR Senyawa 1



Gambar 16. Spektroskopi IR Senyawa I

Data spektroskopi IR senyawa I pada Gambar 16 memperlihatkan adanya gugus OH pada daerah $3446,79\text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang $1172,72\text{ cm}^{-1}$. Pita serapan pada bilangan gelombang $2922,16$ dan $2852,72\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya gugus C-H sp^3 yang diperkuat dengan munculnya pita serapan pada bilangan gelombang $1465,90$ dan $1413,62\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan gugus CH_2 (metilen) serta pita serapan pada bilangan gelombang $1377,17\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan gugus CH_3 (metil), muncul pita serapan pada bilangan gelombang $1737,86$ dan $1710,86\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan gugus C=O ester yang diperkuat dengan adanya pita serapan C-O pada bilangan gelombang $1172,72\text{ cm}^{-1}$.

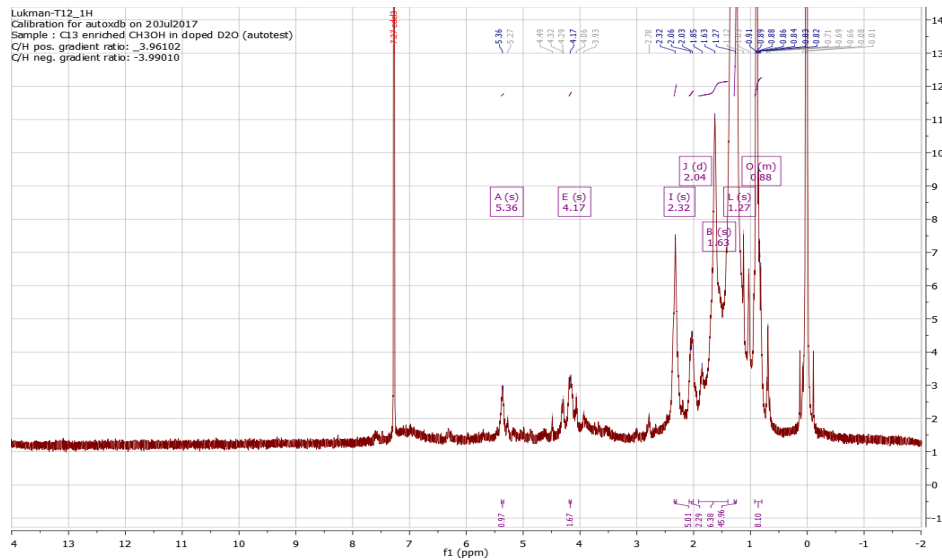
4.3.2 Spektroskopi FT-IR Senyawa II



Gambar 17. Spektroskopi IR Senyawa II

Data spektroskopi IR senyawa II pada Gambar 17 memperlihatkan adanya gugus OH pada daerah $3452,58 \text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat dengan adanya serapan C-O pada daerah $1028,09 \text{ cm}^{-1}$, gugus C-H alifatik pada daerah serapan $2920,23$; $2850,79$ dan $1465,90 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan pada bilangan gelombang $1739,79 \text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya gugus C=O ester yang diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $1168,86 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan pada bilangan gelombang $1653,71 \text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan adanya gugus C=C alkena alifatik.

4.3.3 Analisis Spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ Senyawa I



Gambar 18. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa I

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa I pada Gambar 18 memperlihatkan 7 puncak. Puncak dengan pergeseran kimia 0,88 dan 1,27 ppm menunjukkan adanya gugus CH_3 yang berinteraksi dengan karbon yang mengikat 2 proton (CH_2). Geseran kimia pada 1,63 ppm dengan intensitas yang tinggi menunjukkan adanya dua gugus CH_3 . Sinyal proton pada pergeseran kimia 5,36 ppm berbentuk singlet menunjukkan adanya gugus olefin ($\text{C}=\text{C}$) pada senyawa I. Geseran kimia 2,04 dan 2,32 ppm menunjukkan gugus metilen (CH_2) yang bertetangga dengan gugus olefin, sedangkan sinyal proton pada geseran kimia 4,17 ppm menunjukkan adanya proton yang berasal dari karbon yang terikat dengan oksigen pada gugus ester.

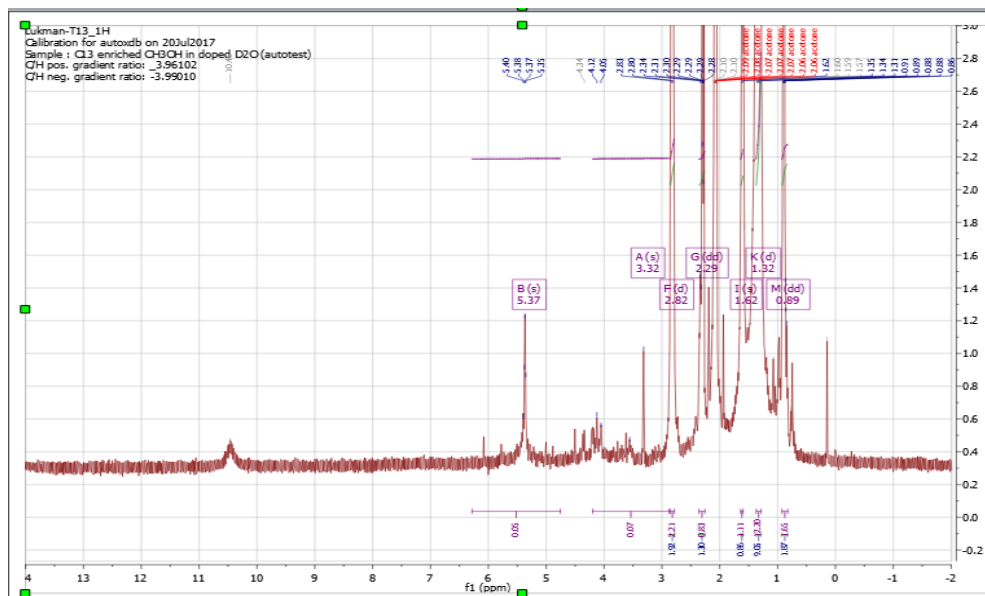
Pada penelitian ini dilakukan pendekatan perbandingan pergeseran kimia dengan $^1\text{H-NMR}$ *Estimation* pada senyawa I yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pendekatan perbandingan pergeseran kimia pada senyawa I

No.	¹ H-NMR Senyawa I (ppm)	¹ H-NMR Estimation (ppm)
1.	4,17	4,18
2.	5,36	5,39
3.	1,63	-
4.	2,32	2,18
5.	1,27	1,19
6.	2,04	-
7.	0,88	0,91

Berdasarkan data uji fitokimia, FT-IR dan ¹H-NMR, senyawa I merupakan senyawa asam lemak dengan perkiraan struktur seperti pada gambar (Lampiran 6).

4.3.4 Analisis Spektroskopi ¹H-NMR senyawa II



Gambar 19. Spektrum ¹H-NMR Senyawa II

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa II (T_{13}) pada Gambar 20 memperlihatkan 7 puncak. Puncak dengan pergeseran kimia 0,89 ppm ($J = 8.9, 5.8$ Hz, dd) merupakan gugus metil (CH_3), puncak dengan pergeseran kimia 1,32 dan 1,62 ppm ($J = 17.0$ Hz, dd) dengan intensitas yang tinggi menunjukkan adanya dua gugus CH_3 yang simetris. Puncak dengan geseran kimia 5,37 ppm berbentuk triplet ($J = 5.9$ Hz, t) adalah gugus olefin ($\text{C}=\text{C}$). Adapun pada puncak dengan geseran kimia 3,32 ppm merupakan gugus oksikarbon ($-\text{OCH}$). Puncak dengan pergeseran kimia 2,82 ppm ($J = 14.5$ Hz, d) merupakan proton yang bertetangga dengan gugus oksikarbon ($-\text{OCH}$), sedangkan puncak dengan geseran kimia 2,29 ppm adalah proton yang bertetangga dengan gugus olefin ($\text{C}=\text{C}$).

Pada penelitian ini dilakukan pendekatan pergeseran kimia dengan $^1\text{H-NMR Estimation}$ pada senyawa II yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. $^1\text{H-NMR Estimation}$ untuk senyawa 1

No	$^1\text{H-NMR}$ Senyawa II (ppm)	$^1\text{H-NMR Estimation}$ (ppm)
1.	5,37	-
2.	2,29	2,21
3.	1,62	1,54
4.	1,32	1,33
5.	3,32	-
6.	2,82	-
7.	0,89	0,88

Berdasarkan data uji fitokimia, FT-IR dan ¹H-NMR, senyawa II merupakan senyawa asam lemak dengan perkiraan struktur seperti pada gambar (Lampiran 6).

4.4 Uji Anti-Inflamasi

Aktivitas anti-inflamasi pada senyawa murni akar *Sidaguri rhombifolia* L. dianalisis menggunakan prinsip ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) (ELISA ELx808 Absorbance Microplate Reader) dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 405 nm (*Cayman Chemical Catalog No. 560131*). Aktivitas anti-inflamasi dapat diketahui dengan besarnya nilai % inhibisi sampel senyawa murni akar *Sidaguri rhombifolia* L. terhadap aktivitas enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) (Dannhardt dan Laufer 2000).

Hasil uji aktivitas anti-inflamasi dari senyawa murni (I dan II) akar *Sidaguri rhombifolia* L. dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data hasil uji anti-inflamasi

Senyawa	COX-	Konsentrasi PG		% Penghambatan	
		terhitung (ng/mL)			
		0,05 ppm	0,025 ppm	0,05 ppm	0,025 ppm
I	1	19,16659	24,513984	98,18	97,67
II	1	43,111978	34,013492	95,91	96,72
I	2	202,64034	112,17121	80,78	89,36
II	2	169,06788	173,32281	83,97	83,56

Dari data di atas, didapatkan % hambatan terhadap COX-1 dari senyawa I dan II pada konsentrasi 0,05 ppm sebesar 98,18% dan 95,91% dan terhadap COX-2 80,78% dan 83,97% secara berturut-turut. Sedangkan pada konsentrasi

0,025 ppm, senyawa I dan II memiliki % hambatan terhadap COX-1 sebesar 97,67% dan 96,72% dan terhadap COX-2 96,72% dan 83,56% secara berturut-turut. Senyawa I dan II tidak memiliki perbedaan yang berarti dalam proses menghambat aktivitas PG pada COX-1 maupun COX-2 maka dapat diasumsikan bahwa, senyawa I dan II yang merupakan hasil isolasi dari ekstrak fraksi non-polar akar sidaguri *Sida rhombifolia* L. tidak selektif dalam penghambatan enzim PG pada COX-1 dan COX-2.

Senyawa I dan II yang didapatkan dari ekstrak *n*-heksan akar *Sidaguri rhombifolia* L. diduga merupakan senyawa turunan terpenoid. Menurut Okoli dkk (1993), senyawa turunan terpenoid merupakan senyawa yang baik karena mampu menghambat sintesis prostaglandin, peningkatan permeabilitas vaskular, migrasi neutrofil serta beberapa faktor transkripsi yang berperan dalam pengaturan ekspresi gen yang terlibat dalam respon inflamasi sehingga menyebabkan terjadinya perbaikan dan penyembuhan jaringan pada sel yang mengalami inflamasi (anti-inflamasi).

Inflamasi merupakan suatu respon jaringan terhadap rangsangan fisik atau kimiawi yang merusak. Penyakit yang melibatkan adanya proses inflamasi dalam tubuh diantaranya, *arthritis*, asma, diabetes, alergi, anemia, Alzheimer, fibrosis, *systemic lupus* (Borne dkk., 2008) sehingga diperlukan obat anti-inflamasi. Obat anti-inflamasi adalah obat yang digunakan untuk meredakan nyeri peradangan. Obat anti-inflamasi yang sering digunakan adalah golongan non-steroid yang dikenal dengan nama NSAIDs (*non steroid anti-inflammatory Drugs*) ada dua jenis, yaitu selektif dan non-selektif. Perbedaan selektif dan non-selektif didasarkan pada mekanisme kerjanya, dimana golongan selektif menghambat enzim COX-2 saja sedangkan yang non-selektif menghambat enzim COX-1 dan COX-2 (Tjay dan Rahardja., 2002). Menurut Dannhardt dan Laufer (2000),

enzim COX-1 bersifat konstitutif, artinya keberadaannya selalu tetap dan tidak dipengaruhi oleh adanya stimulus. Sebaliknya, enzim COX-2 merupakan enzim inducibel, artinya keberadaannya tergantung adanya induksi dari stimulus. Obat NSAIDs ideal hendaknya hanya menghambat COX-2 (peradangan) dan tidak COX-1 (perlindungan mukosa lambung) (Tjay dan Rahardja., 2002).

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini telah dilakukan pengujian tingkat selektifitas senyawa I dan II terhadap penghambatan enzim PG pada COX-1 maupun COX-2 yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 6. Tingkat selektifitas senyawa I dan II

Senyawa	Konsentrasi	Selektifitas
I	0,05 ppm	0,82
II	0,05 ppm	0,87
I	0,025 ppm	0,91
II	0,025 ppm	0,86

**Selectivity Indeks* inhibisi (SI>1) (Fudin, 2014).

Hasil analisis data untuk uji selektifitas senyawa I dan II tidak memperlihatkan perbedaan penghambatan yang signifikan terhadap COX-2. Pada konsentrasi 0,05 ppm memiliki nilai selektifitas 0,82% dan 0,87% sedangkan nilai selektifitas pada konsentrasi 0,025 ppm sebesar 0,91% dan 0,86%.

Menurut data pengujian % keselektifan maka dapat disimpulkan bahwa senyawa I dan II berpotensi sebagai anti-inflamasi tetapi sifatnya tidak selektif.

Dikatakan tidak selektif karena senyawa I dan II mampu menghambat pembentukan prostaglandin pada COX-1 dan COX-2 serta jika ditinjau dari nilai selektifitas inhibisi terhadap COX-2, kedua senyawa diatas tidak mencapai *Selectivity Indeks* inhibisi ($SI > 1$) (Fudin, 2014). Perhitungan % penghambatan dan nilai selektifitas dari senyawa I dan II terhadap COX-1 dan COX-2 dapat dilihat pada Lampiran 7 .

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa yang berhasil diisolasi pada ekstrak non-polar akar *Sidaguri rhombifolia* L. yaitu asam lemak (*Z*)-3,6,6-trimethylhept-2-en-1-ol (untuk senyawa I) dan *Nonanoic Acid* (untuk senyawa II).
2. Kedua senyawa murni yang didapatkan (senyawa I dan II) berpotensi sebagai anti-inflamasi tetapi tidak bersifat selektif karena kedua senyawa tersebut tidak mencapai *Selectivity Indeks* inhibisi ($SI > 1$) terhadap penghambatan enzim PG pada COX-1 dan COX-2.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi komponen kimia dari ekstrak akar *Sidaguri rhombifolia* L. secara spesifik agar memudahkan peneliti selanjutnya untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang diinginkan serta bioaktivitasnya sebagai anti-inflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., 2000, *Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*, Karunika, Jakarta.
- Anonim, 2014, *Sidaguri – Ciri-Ciri Tanaman Serta Khasiat dan Manfaatnya*, (Online), (<http://www.tanamanobat.com/sidaguri-ciri-ciri-tanaman-serta-khasiat-dan-manfaatnya.html>, diakses 07 Februari 2017).
- Borne, P.J., Revi, M., dan Wilson, N., 2008, *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs*, Philadelphia.
- Chaves, O.S., Gomes, R. A., Tomaz, A.C., Fernandes, M.G., Gracas, M.J.L., Agra, M. F., Braga, V.A., and Souza, M.F.V.,2013, Secondary Metabolites from *Sidarhombifolia*L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone, *Molecules*, **18**; 2769-2777.
- Cayman Chemical Co., 2017, *COX (ovine/human) Inhibitor Screening Assay Kit Catalog No. 560131*, Ann Arbor, Michigan, United States of America: Cayman Chemical Company.
- Choong, E.S., 2009, *Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis, Ligands, Immobilization and Organo-catalysis*, Chichester, England.
- Cragg, G.M., and Newman, D.J., 2005, Plants as a Source Of Anti-Cancer Agents, *Journal Ethnopharmacol*, (100); 72-79.
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Edisi Ketiga, Puspa Swara, Jakarta.
- Dalimartha, S., dan Setiawan.,2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid III, Puspa Swara, Jakarta.
- Dannhardt, G., dan Laufer, S., 2000, Structural Approach to Explain The Selectivity of COX-2 Inhibitors: Is there a Common Pharmacophore?, *Curr. Med. Chem* **7**; 1101-1112.
- Darlina dan Wahyuni, S., 2004, *Radiosinovektomi Sebagai Alternatif Pengobatan Radang Sendi Tanpa Operasi*, Edisi ke V, Alara, Jakarta.

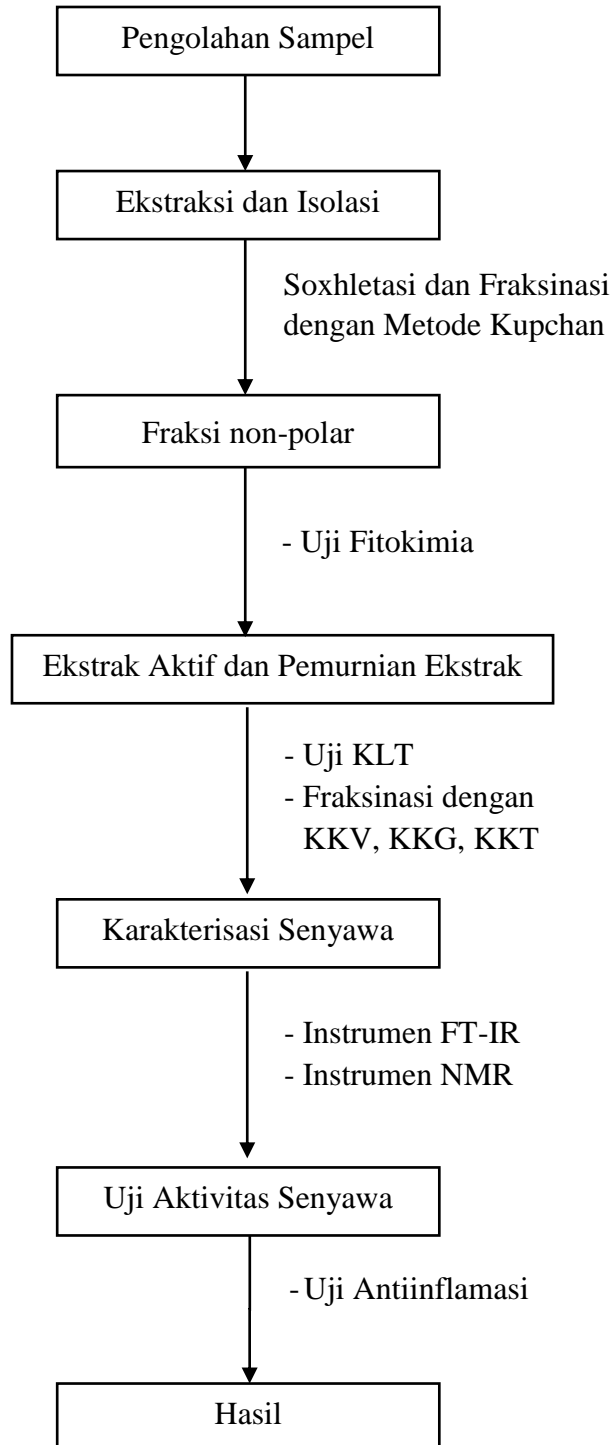
- Dewick, P.M., 2004, *Medicinal Natural Products, a Biosynthetic Approach (2nd edn)*, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, England.
- Fabricant, D.S., and Farnsworth, N., 2001, The Value of Plants Used in Traditional Medicine For Drug Discovery, *Environ Health Perspect*, (109); 69-75.
- Fitriyani, Winarti, Muslichah, dan Nuri., 2011, Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) pada Tikus Putih, *Majalah Obat Tradisional*, **16** (1); 34-42.
- Fudin, J., 2014, *Chemical Classes of Non-Steroidal Anti-Inflammatories (NSAIDs) in US* (Online), (http://paindr.com/wp-content/uploads/2014/07/NSAIDs-Chemical-Classes_2014_Shahzad-Henderson-Fudin.pdf), diakses 10 September 2017)
- Gupta, Nath, Srivastava, Shanker, Kishor, and Bhargava., 1980, Anti-Inflammatory and Antipyretic Activities of β -Sitosterol, *Planta Medica*, **39**; 63-157.
- Hakim, L., 2005, *Inhibisi Formula Ekstrak Sidaguri (Sida rhombifolia) dan Seledri (Apium graveolens) pada Enzim Xantin Oksidase serta Efek Antiinflamasi*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., dan Soediro, I., Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hidayati, D.P., Sediarmo., dan Dwitiyanti., 2013, Uji Efektivitas Fraksi Etanol 70% Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) Terhadap Kadar Asam Urat Serum Pada Mencit yang Diinduksi Kalium Oksonat, *Jurnal Farmasi dan Sains*.
- Iswantini, D., Darusman, L.K., and Hidayat, R., 2009, Indonesia Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) as Antigout and Inhibition Kinetics of Crude Extract The Activity of Xanthine Oxidase, *Journal of Biological Sciences*, **9** (5).
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System)., 2015, *Taxonomic Hierarchy*, (Online), (<http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt.html>), diakses 1 Maret 2017).
- Jubaha, J., Hayati, H., dan Krisyanella., 2010, Isolasi Flavonoid dari Herba *Sida rhombifolia*, Linn., *Jurnal Farmasi Higea*, **2** (1).
- Katzung, B., 1997, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi Keempat, EGC, Jakarta.
- Khalil, N.M., Sperotto, J.S., and Manfron, M.P., 2006, Antiinflammatory Activity of the Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae), *Acta Farmaceutica Bonaerense*, **25** (2); 260-261.

- Konate, K., Mavoungou, J.F., Ouedraogo, M., Lepengue, A.N., Souza, A., Barro, N., and M'Batchi, B., 2012, Preliminary Toxicity Study, Anti-Nociceptive and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae), *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **3** (09); 3136-3145.
- Kupchan, S.M., Stevens, K.L., Rohlfing, E.A., Sickles, B.R., and Sneden, A.T., 1978, New Cytotoxic Neolignans from *Anibamegaphylla* Mez.^{1,2}, *J. Org. Chem.*, **43** (4); 586.
- Logeswari, Dineshkumar, Kumar, and Usha., 2013, In-vivo Anti-Inflammatory Effect of Aqueous and Ethanolic Extract of *Sida rhombifolia* L. Root, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **4** (1); 316-321.
- Mitchell, R.N., 2006, *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Robbins & Cotran*, Edisi Ketujuh, Terjemahan Oleh Handayani, S, Elsevier, New York.
- Nacoulma, O.G., 1996, *Medicinal Plants And Their Traditional Uses In Burkina Faso*. Ph. D. Thesis, University Of Ouagadougou.
- Natsir, N., Tanumihardja, M., Mattulada, I.K., dan Sanusi, V., 2014, Pemanfaatan Akar Sidaguri (*Sida rhombifolia*) Sebagai Bahan Analgesik, *Jurnal PDGI*, **63** (2); 66-69.
- Okoli, C.O., Akah, P.A., Nwafor, S.V., Anisiobi, A.I., Ibegunam, I.N., and Erojikwe, O., 2007, Anti-inflammatory Activity of Hexane Leaf Extract of *Aspilia africana* C.D.Adams, *Journal of Ethnopharmacology*, **109**, (2007); 219-225.
- Ouedraogo, Zerbo, Konate, Barro, and Sawadogo., 2013, Effect of Long-term Use of *Sida rhombifolia* L. Extract on Haemato-biochemical Parameters of Experimental Animals, *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, **4** (1); 18-24.
- Papitha, N., Jayshree, N., Seenivasan, S.P., and Kumar, V., 2013, Anti-Tubercular Activity on Leaves and Roots of *Sida rhombifolia* L., *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **20**, (2); 135-137.
- Puspita, W.A., 2007, *Uji Analgetik Infusa Herba Sidaguri (Sida rhombifolia L.) pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss dengan Metode Rangsang Kimia*, Skripsi tidak diterbitkan, jurusan Farmasi, fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Patel, M., Muruganthan., and Shivalinge, G.K.P., 2012, In Vivo Animal Models in Preclinical Evaluation of Anti Inflammatory Activity-A Review, *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Science*, **1**, (2); 1-5.

- Rahman, A., Paul, L.C., Solaiman, and Rahman, A.A., 2011, Analgesic and Cytotoxic of *Sida rhombifolia* Linn., *Pharmacology online*, **2**; 707-714.
- Sari, A.T.W., Maryanti, T., and Roekmi-ati, T., 2011, The Effect Of Steroid In Sidagori (*Sida rhombifolia* L.) Against Uric Acid In Vitro, *International Seminar On Chemistry*, 322-325.
- Simarmata, Y.B.C., Saragih, A., dan Bahri, S., 2012, Efek Hipourikemia Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L) Pada Mencit Jantan, *Journal of Pharmacologi*, **1** (1); 21-28.
- Sulaiman, Moin, Alias, and Zakaria., 2008, Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Sida rhombifolia* L. in Various Animal Models, *Research Journal of Pharmacology*, **2** (2); 13-16.
- Suriani, 2006, *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Spons Callyspongia sp.*, Tesis tidak diterbitkan, jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Suwandi, D.E., 2014, Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Kulit Batang Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster Dengan Metode Geliat (*Siegmund*), *Jurnal Farmako Bahari*, **2** (2); 64-72.
- Tjay, T.H., dan Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting Khasiat Penggunaan, dan Efek Sampingnya*, Edisi V, Penerbit PT Elex Medi Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Tanumihardja, M., Darmayana., Natsir, N., dan Mattulada, I.K., 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terstandar Akar Sidaguri (*S.rhombifolia*) Terhadap *E.faecalis* dan *Actinomyces spp*, *Dentofasial*, **12** (2); 90-94.
- Tanumihardja, M., Natsir, N., Mattulata, I.K., and Lukman, M., 2016, Potent Anti-Inflammatory Effect of Root of Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) on Rat Periapical Lesion Model, *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, **8** (6); 412-415.
- Tanumihardja, M., Natsir, N., Mattulata, I.K., and Lukman, M., 2016, Pharmacological Evaluation of Ethanol Extract of *Sida rhombifolia* L. roots (Malvaceae), *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **8** (1); 770-774.
- Vogel, H.G., and Vogel, W.H., 2002, *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assay*, Springer Verlag Berlin, Heidelberg.
- Woldeyes, S., Adane, L., Tariku, Y., Muleta, D., and Begashaw, T., 2012, Evaluation of Antibacterial Activities of Compounds Isolated From *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae), *Nat Prod Chem Res*, **1** (1).

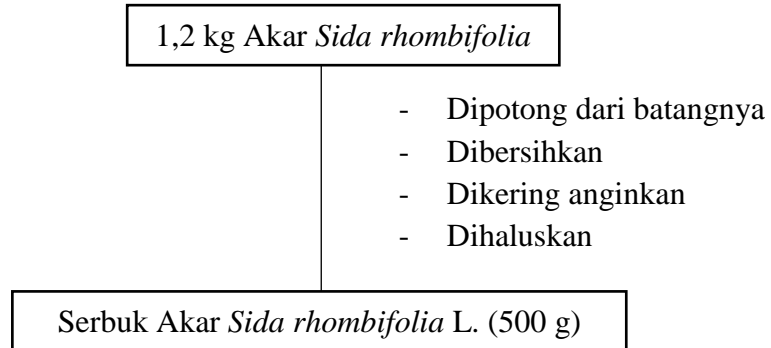
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian

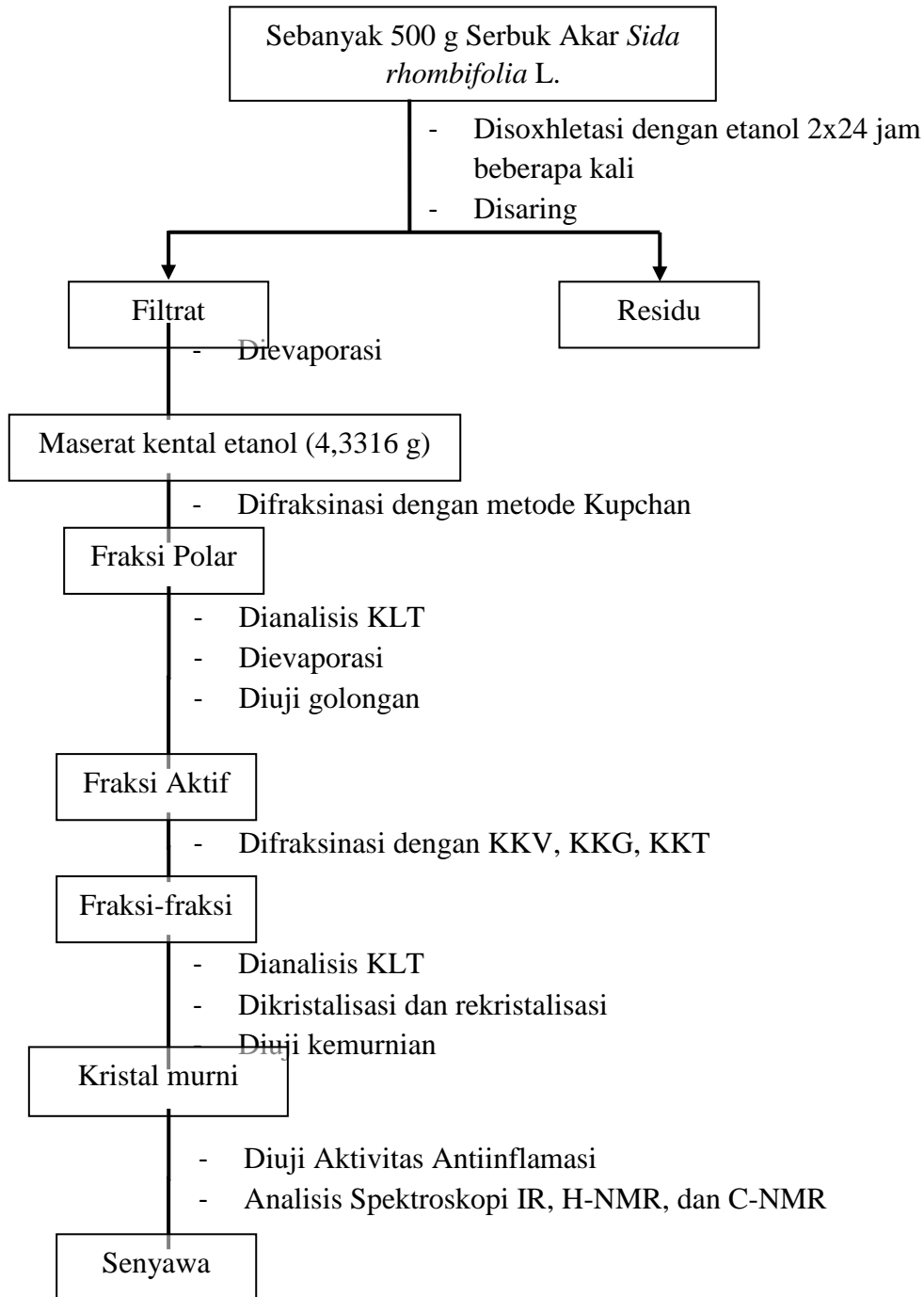


Lampiran 2. Skema Prosedur Kerja

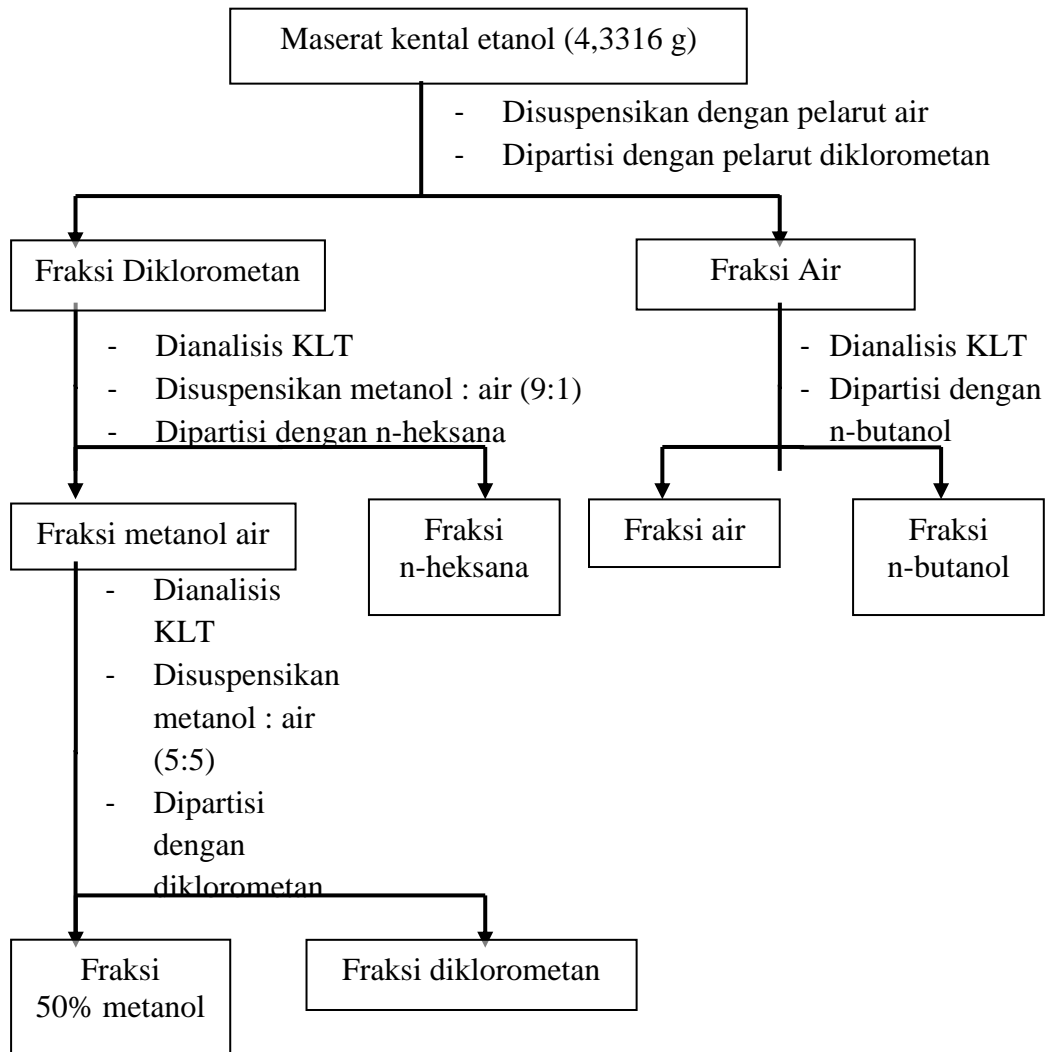
A. Pengolahan Sampel



B. Ekstraksi, Isolasi dan Karakterisasi Akar *Sida rhombifolia* L.

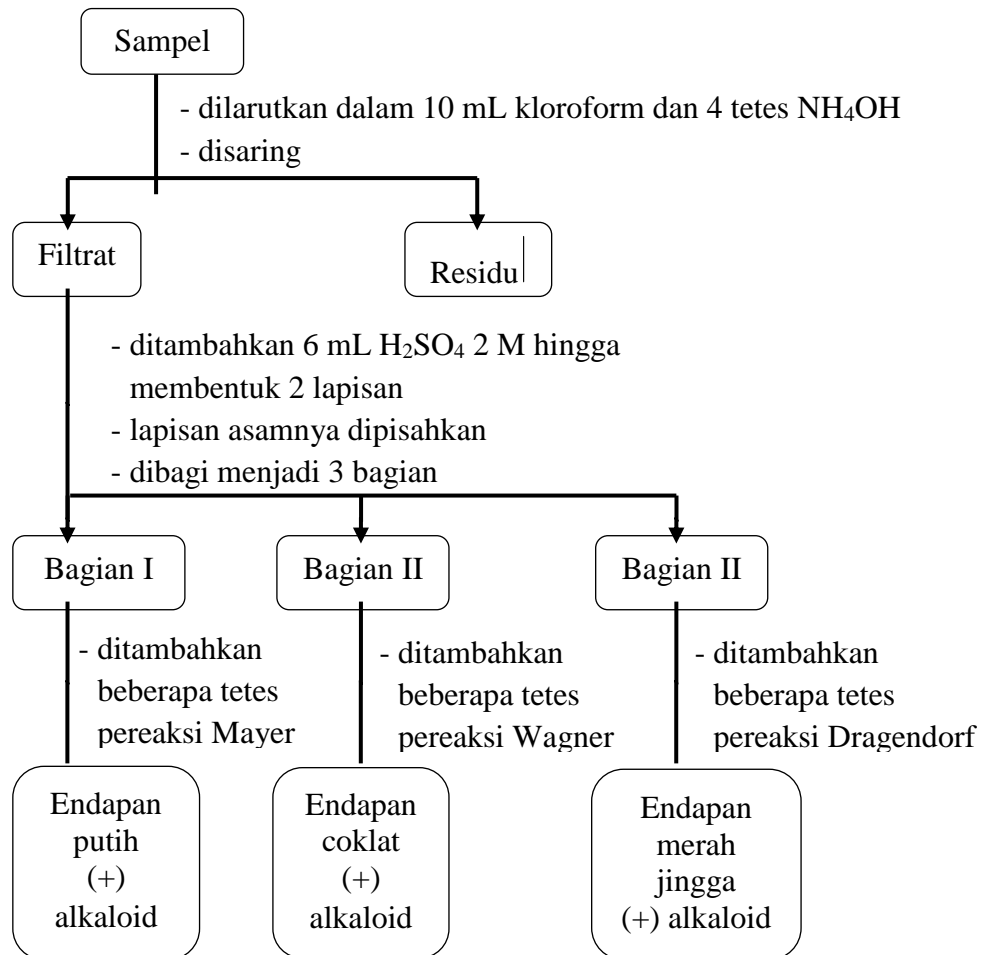


Lampiran 3. Fraksinasi Metode Kupchan

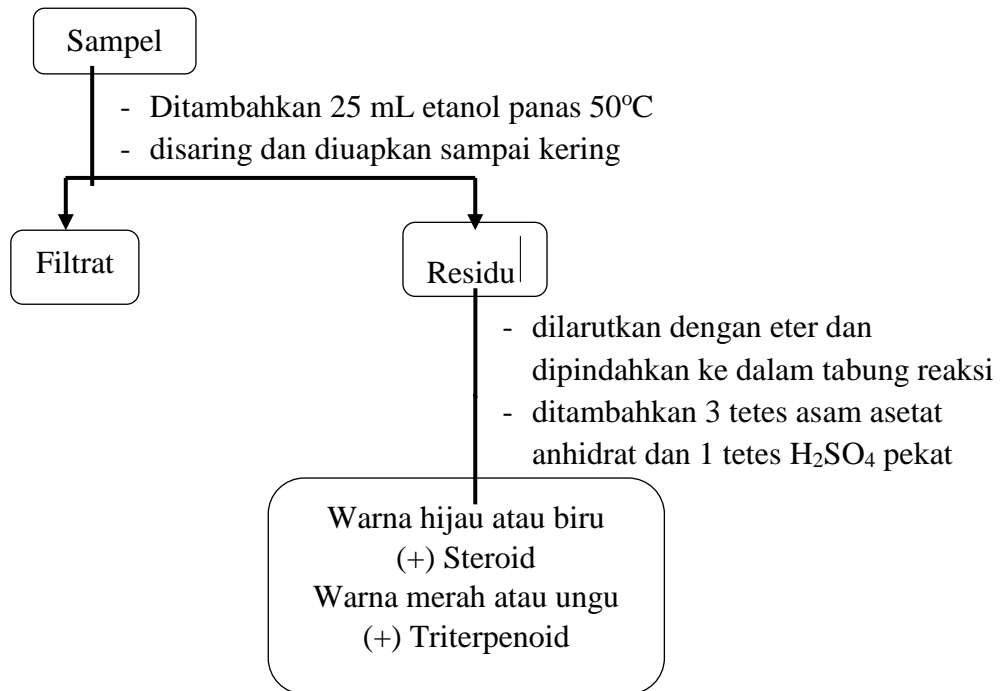


Lampiran 4. Uji Fitokimia

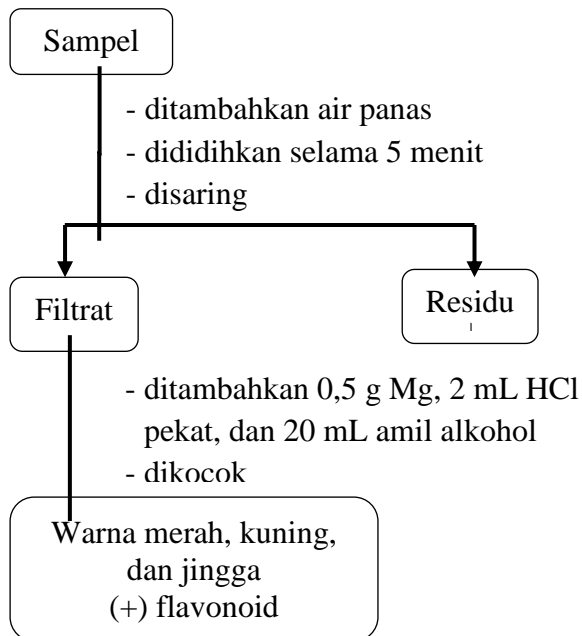
a. Uji Alkaloid



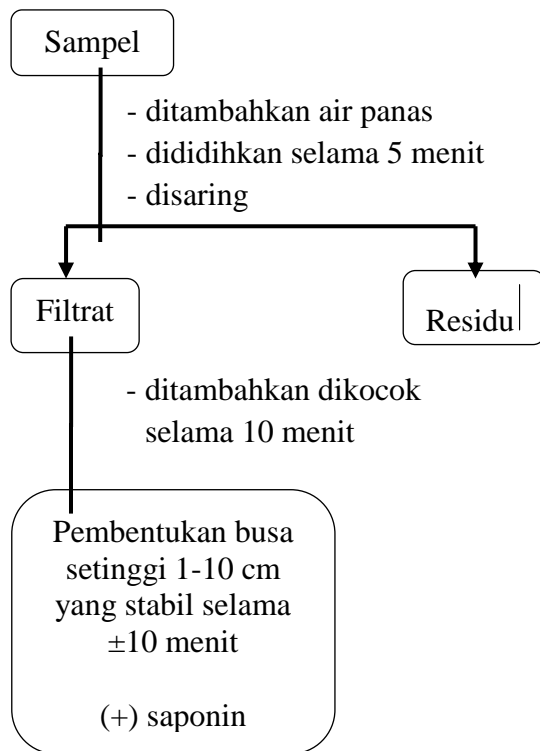
b. Uji Steroid dan Terpenoid (Uji *Liebermann-Burchard*)



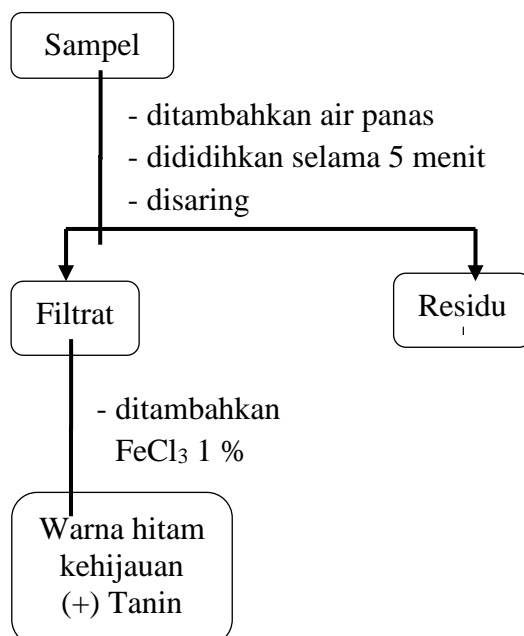
c. Uji Flavonoid



d. Uji Saponin



e. Uji Tanin



Lampiran 5. Foto-foto Kegiatan

A. Esktraksi Soxhlet dan Fraksinasi



Soxhletasi dengan Etanol



Diklorometan (DCM)



N-heksan

B. Evaporasi



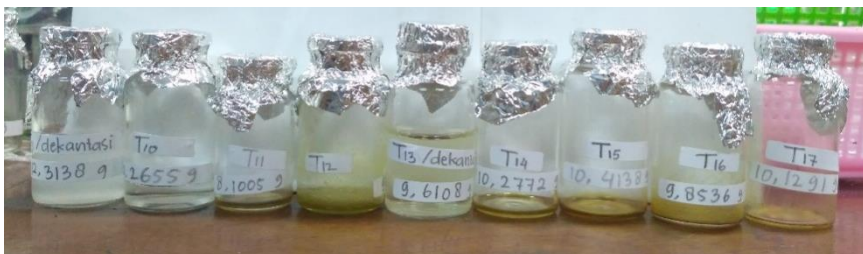
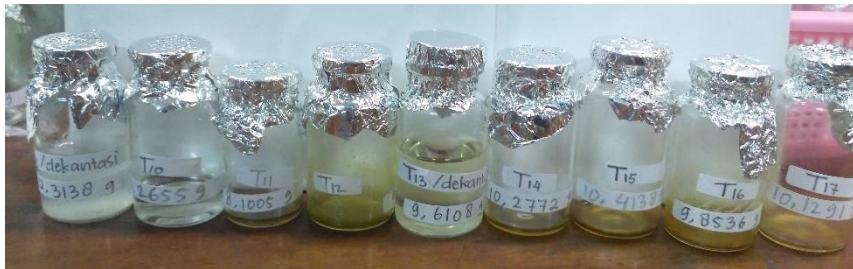
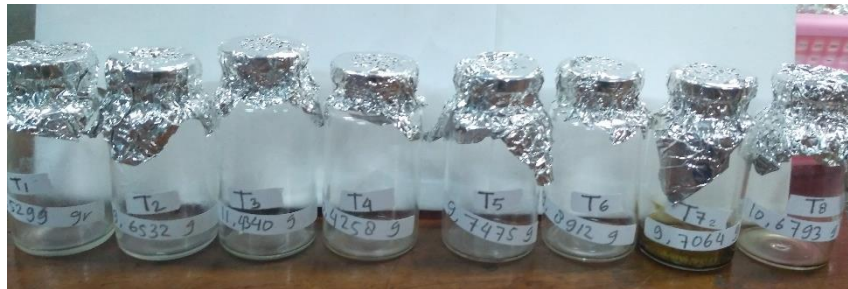
C. KKT Fraksi *n*-heksan



D. Hasil Kromatografi



Hasil KKT Fraksi N-Heksan



Hasil KKT N-heksan

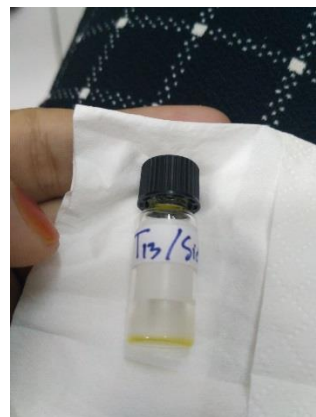
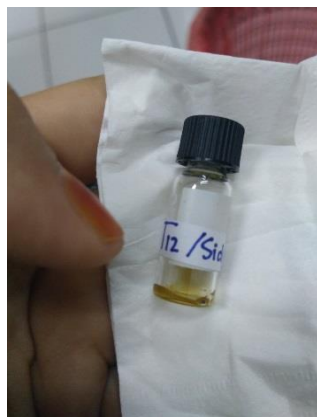
E. Rekristalisasi dan Uji Kemurnian Senyawa T₁₂ dan Senyawa T₁₃



Rekristalisasi Senyawa T₁₂

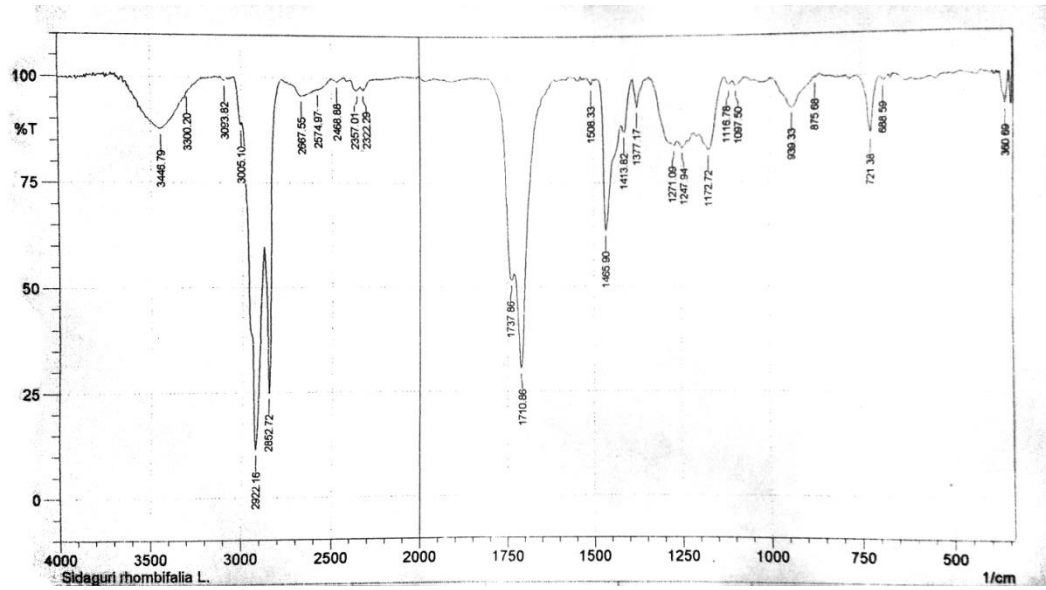


Rekristalisasi Senyawa T₁₃

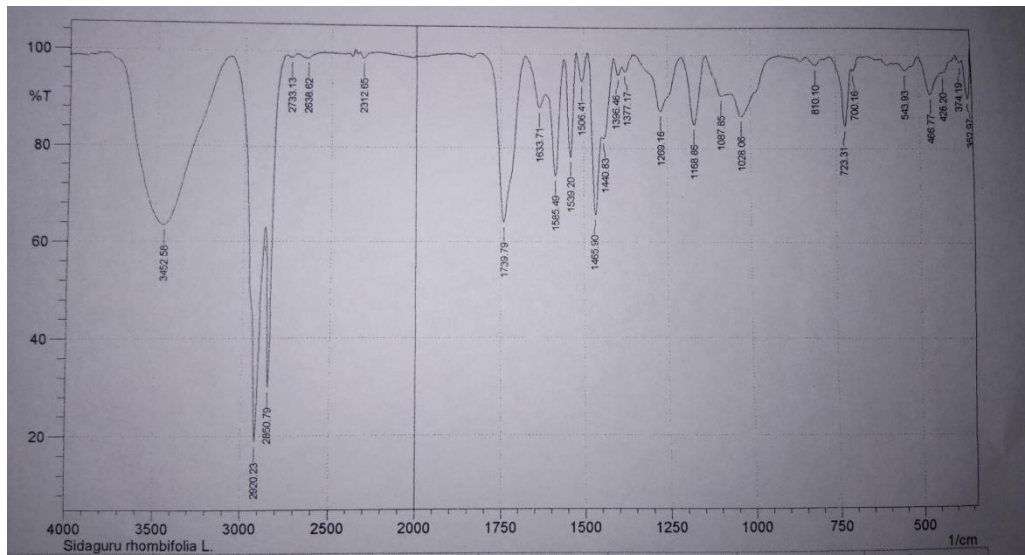


Senyawa T₁₂ dan T₁₃ untuk Pengujian NMR

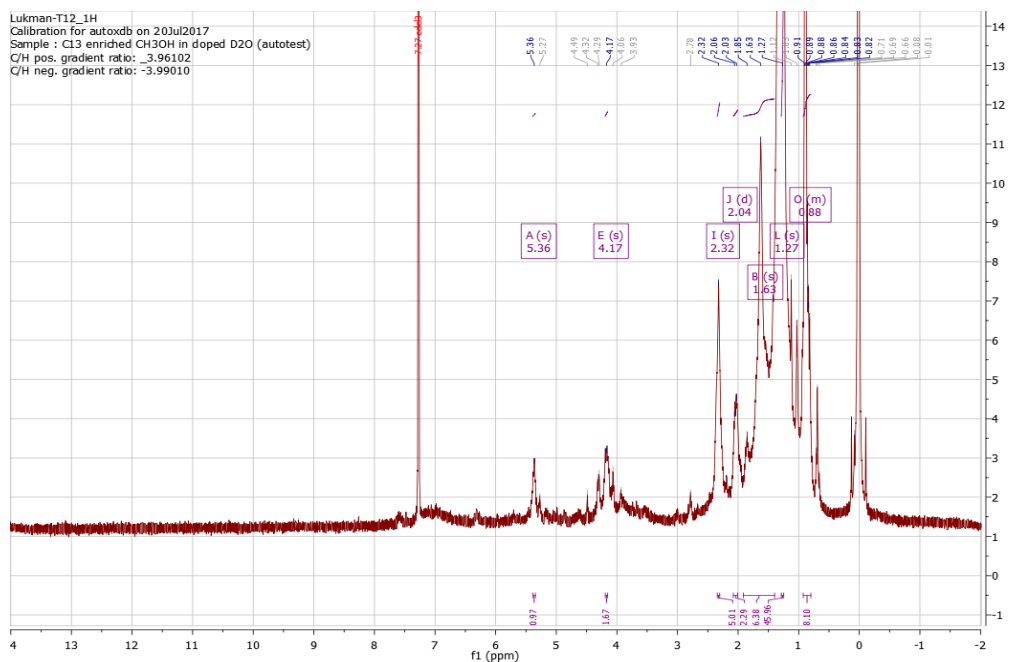
F. Spektroskopi IR dan ¹H-NMR



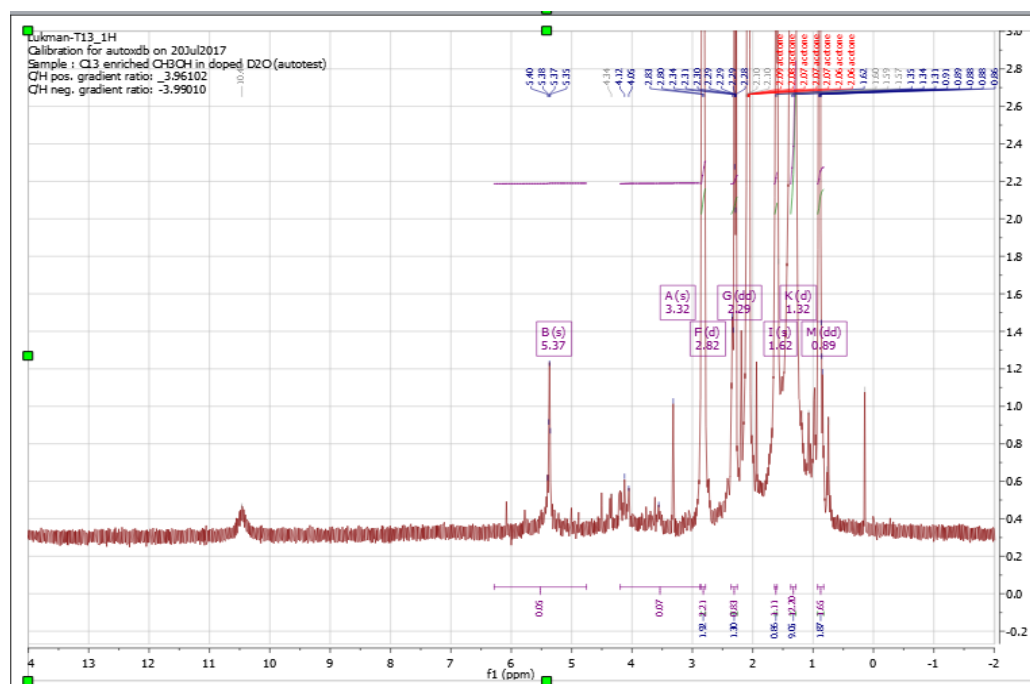
Spektroskopi IR Senyawa 1 (T₁₂)



Spektroskopi IR Senyawa 2 (T₁₃)


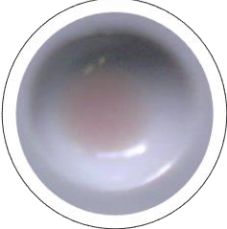


Spektroskopi ^1H -NMR Senyawa 1 (T12)



Spektroskopi ^1H -NMR Senyawa 2 (T13)

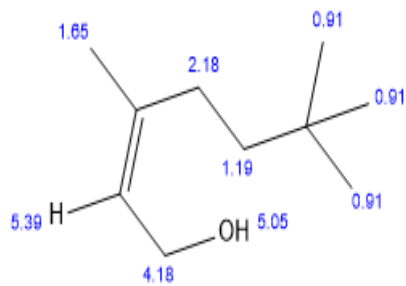
G. Uji Fitokimia

Senyawa	Uji Golongan	Keterangan
I		(+) terpenoid dengan reagen <i>Liebermann-Burchard</i>
II		(+) terpenoid dengan reagen <i>Liebermann-Burchard</i>

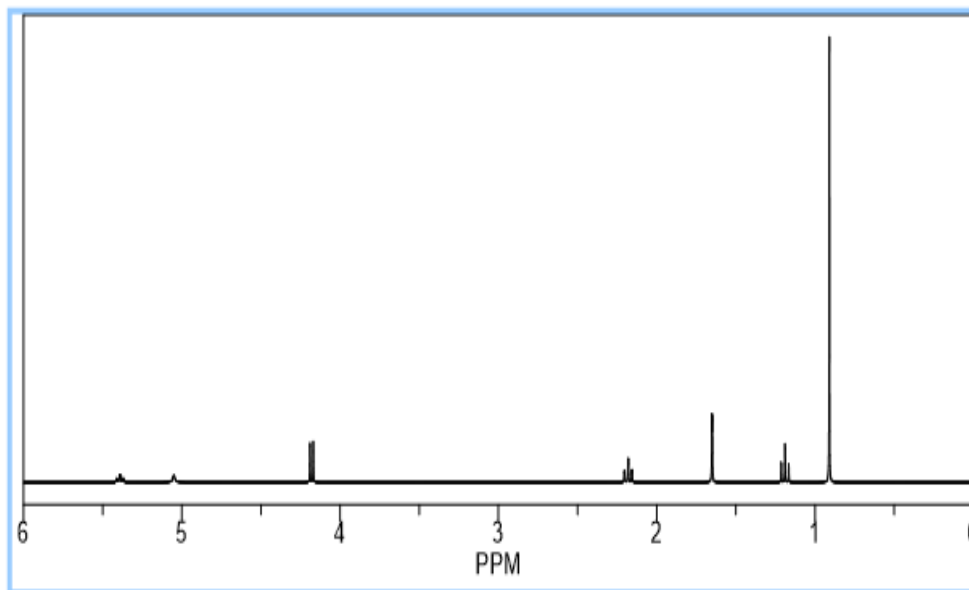
Lampiran 6. Perkiraan Struktur dari Senyawa I dan II

Estimasi struktur senyawa I

ChemNMR ^1H Estimation



Estimation quality is indicated by color: good, medium, rough

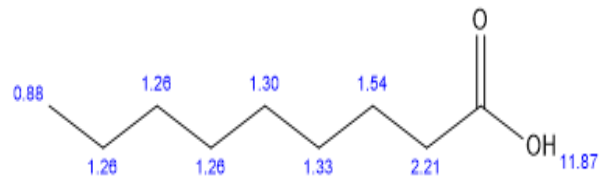


PROTOCOL OF THE H-1 NMR PREDICTION (LIB=SU SOLVENT=DMSO 300 MHZ):

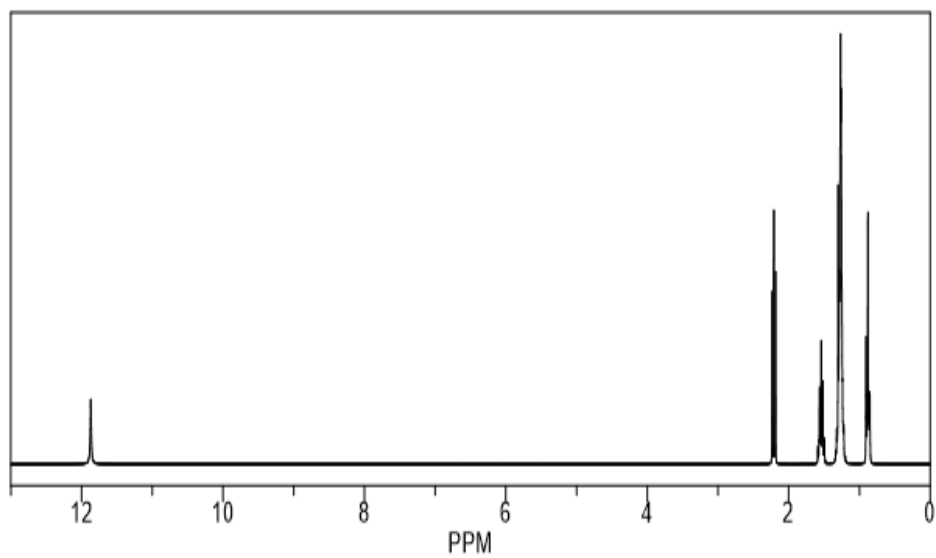
Estimasi struktur senyawa II

ChemNMR ^1H Estimation

nonanoic acid



Estimation quality is indicated by color: **good**, **medium**, **rough**



Protocol of the ^1H NMR Prediction (Lib=SU Solvent=DMSO 300 MHz):

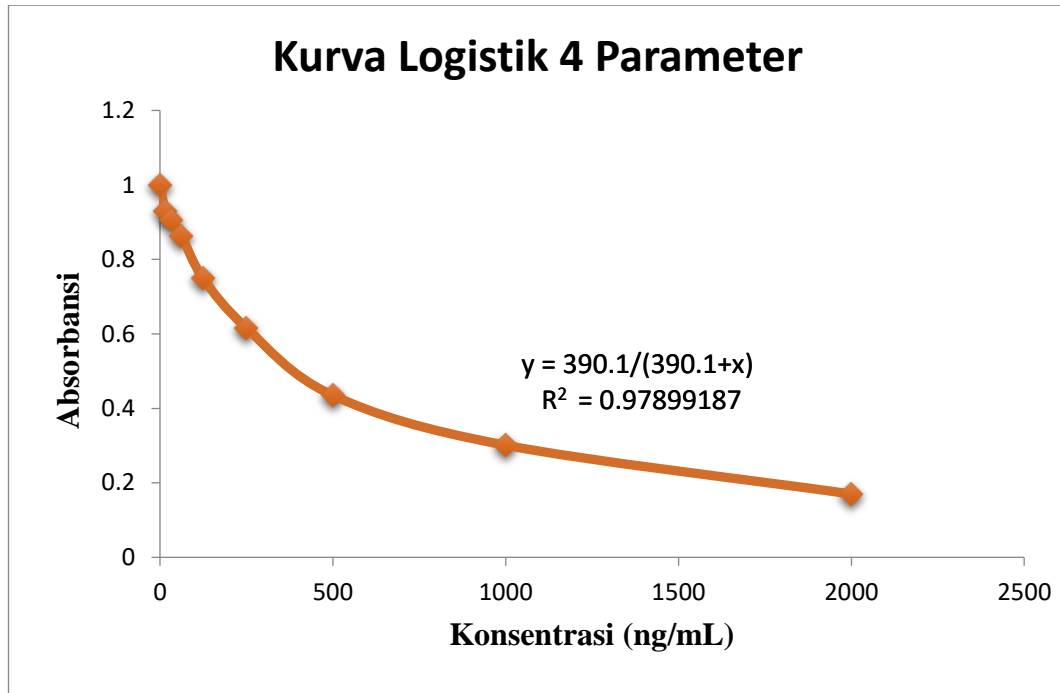
Tabel 3. Pendekatan perbandingan pergeseran kimia pada senyawa I

No.	¹ H-NMR Senyawa 1 (ppm)	¹ H-NMR Estimation (ppm)
1.	4,17	4,18
2.	5,36	5,39
3.	1,63	-
4.	2,32	2,18
5.	1,27	1,19
6.	2,04	-
7.	0,88	0,91

Tabel 4. Pendekatan perbandingan pergeseran kimia pada senyawa II

No	¹ H-NMR Senyawa 2 (ppm)	¹ H-NMR Estimation (ppm)
1.	5,37	-
2.	2,29	2,21
3.	1,62	1,54
4.	1,32	1,33
5.	3,32	-
6.	2,82	-
7.	0,89	0,88

Lampiran 7. Perhitungan Aktivitas Anti-inflamasi Senyawa I dan II



A. Contoh Perhitungan

Absorbansi senyawa I (8B) pada COX-1 = 0,953168

PG Terhitung = 19,16659

Persamaan garis:

$$y = \frac{390,1}{390,1 + x}$$

$$390.1 = (390,1 \times y) + (xy)$$

$$390.1 = (390,1 \times 0,953168) + (X \times 0,953168)$$

$$0.953168x = 390,1 - 371,830837$$

$$x = \frac{18,26916}{0,953168}$$

$$x = 19,1667786$$

Tabel 5.Data hasil uji anti-inflamasi

Senyawa	COX-	Konsentrasi PG		% Penghambatan	
		terhitung (ng/mL)			
		0,05 ppm	0,025 ppm	0,05 ppm	0,025 ppm
I	1	19,16659	24,513984	98,18	97,67
II	1	43,111978	34,13492	95,91	96,72
I	2	202,64034	112,17121	80,78	89,36
II	2	169,06788	173,32281	83,97	83,56

Tabel 6. Tingkat selektivitas senyawa I dan II

Senyawa	Konsentrasi	Selektivitas
I	0,05 ppm	0,82
II	0,05 ppm	0,87
I	0,025 ppm	0,91
II	0,025 ppm	0,86

$$\text{B. Persen (\%) Penghambatan} = \frac{\text{TA} - \text{Tx}}{\text{TA}} \times 100$$

Dimana : TA = Total Activity enzim prostaglandin sebelum penambahan inhibitor (sampel) (**1054,7148 ng/mL**)

Tx = Total PGE yang tidak dihambat setelah ditambahkan sampel.

$$C. \text{ Selektivitas} = \frac{\text{COX-2}}{\text{COX-1}}$$

Contoh Perhitungan untuk senyawa I (8B) terhadap COX-1 pada konsentrasi (0,05 ppm)

$$\begin{aligned} (\%) \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{TA} - \text{T}_x}{\text{TA}} \times 100 \\ &= \frac{1054,7148 - 19,16659}{1054,7148} \times 100 \\ &= \frac{1035,54821}{1054,7148} \times 100 \\ &= 0.98\% \end{aligned}$$

Contoh Perhitungan untuk senyawa I (8B) terhadap COX-2 pada konsentrasi (0,05 ppm)

$$\begin{aligned} (\%) \text{ Penghambatan} &= \frac{\text{TA} - \text{T}_x}{\text{TA}} \times 100 \\ &= \frac{1054,7148 - 202,64034}{1054,7148} \times 100 \\ &= \frac{852,07446}{1054,7148} \times 100 \\ &= 0.80\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Selektivitas} &= \frac{\text{COX-2}}{\text{COX-1}} \\ &= \frac{0,80\%}{0,98\%} \\ &= 0.82 \end{aligned}$$

Lampiran Hasil Data Uji Anti-Inflamasi dengan Metode *ELISA*

sample 6	COX 1 (4B	0.850432	68.608191	sample 56	COX 2 (6B)	0.554515	313.39784
sample 7	COX 1 (5B	0.932972	28.026008	sample 57	COX 2 (7B)	0.431582	513.78379
sample 8	COX 1 (6B	0.946144	22.205228	sample 58	COX 2 (8B)	0.560661	305.68525
sample 9	COX 1 (7B	0.895214	45.661533	sample 59	COX 2 (1C	0.757354	124.98276
sample 10	COX 1 (8B	0.953168	19.16659	sample 60	COX 2 (2C	0.707303	161.43182
sample 11	COX 1 (9B	0.900483	43.111978	sample 61	COX 2 (3C	0.627396	231.6759
sample 12	COX 2 (1B	0.782819	108.22741	sample 62	COX 2 (4C	0.60281	257.03603
sample 13	COX 1 (3C	0.83726	75.824366	sample 63	COX 2 (5C	0.619494	239.60784
sample 14	COX 1 (4C	0.844285	71.947721	sample 64	COX 2 (6C	0.659886	201.06285
sample 15	COX 1 (5C	0.939119	25.289325	sample 65	COX 2 (7C	0.545734	324.71719
sample 16	COX 1 (6C	0.925948	31.198135	sample 66	COX 2 (8C	0.618616	240.50168
sample 17	COX 1 (7C	0.866237	60.238452	sample 67	COX 2 (9B)	0.638812	220.56513
sample 18	COX 1 (8C	0.940875	24.513984	sample 68	COX 2 (9C	0.683594	180.56009
sample 19	COX 1 (9C	0.919801	34.013492	sample 69	TA	0.27	1054.7148
sample 20	COX 2 (1C	0.875896	55.272314	sample 70			
sample 21	COX 2 (2B	0.695888	170.47903	sample 71			
sample 22	COX 2 (3B	0.558905	307.87154	sample 72			
sample 23	COX 2 (4B	0.511488	372.57619	sample 73			
sample 24	COX 2 (5B	0.594907	265.63267	sample 74			
sample 25	COX 2 (6B	0.587882	273.46816	sample 75			
sample 26	COX 2 (7B	0.480755	421.33175	sample 76			
sample 27	COX 2 (8B	0.65813	202.64034	sample 77			
sample 28	COX 2 (9B	0.697644	169.06788	sample 78			
sample 29	COX 2 (2C	0.674813	187.98573	sample 79			
sample 30	COX 2 (3C	0.626518	232.54735	sample 80			
sample 31	COX 2 (4C	0.605444	254.22035	sample 81			
sample 32	COX 2 (5C	0.65813	202.64034	sample 82			
sample 33	COX 2 (6C	0.695888	170.47903	sample 83			
sample 34	COX 2 (7C	0.596663	263.70262	sample 84			
sample 35	COX 2 (8C	0.776672	112.17121	sample 85			
sample 36	COX 2 (9C	0.692375	173.32281	sample 86			
sample 37				sample 87			