

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN KARAKTERISASI  
METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ASETON SIRIH MERAH  
*Piper crocatum*, DAN BIOAKTIVITASNYA TERHADAP ANTI  
VIRUS *Dengue***

ISOLATION, IDENTIFICATION, AND  
CHARACTERISATION SECONDARY METABOLITE  
EXTRACT ACETON RED BETEL *Piper crocatum*, AND  
BIOACTIVITY AGAINST *Dengue* ANTI-VIRUS

**SEPTARIA YOLAN KALALINGGI  
H012181014**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN KARAKTERISASI METABOLIT  
SEKUNDER EKSTRAK ASETON SIRIH MERAH *Piper crocatum*, DAN  
BIOAKTIVITASNYA TERHADAP ANTI VIRUS *Dengue***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Kimia

Disusun dan diajukan oleh :

**SEPTARIA YOLAN KALALINGGI**

Kepada

**PROGAM STUDI MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**TESIS****ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN KARAKTERISASI METABOLIT SEKUNDER  
EKSTRAK ASETON SIRIH MERAH *Piper Crocatum*, DAN BIOAKTIVITASNYA  
TERHADAP ANTI VIRUS *Dengue***

Disusun dan diajukan oleh :

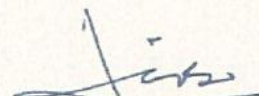
**SEPTARIA YOLAN KALALINGGI**  
**Nomor Pokok : H012181014**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
Pada Tanggal 15 Desember 2020  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui, Komisi  
Penasehat

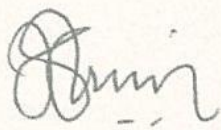


**Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS**  
Ketua



**Dr. Firdaus, M.S**  
Anggota

Ketua Program Studi  
Magister Kimia,



**Dr. Hasnah Natsir, M.Si**

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin,



**Dr. Eng. Amiruddin, M.Si**

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Septaria Yolan Kalalinggi  
Nomor Mahasiswa : H012181014  
Program Studi : Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 8 Januari 2020  
Yang menyatakan



Septaria Yolan Kalalinggi

## Prakata

Syalom...

Puji dan syukur bagi Tuhan Yang Maha Kuasa atas kasih karunia, kesempatan, berkat, dan penyertaanNya untuk semua proses yang telah penulis lalui dari perkuliahan di pasca kimia sampai pada penyusunan tesis. Begitu banyak hambatan, masalah, tantangan, dan kesulitan yang penulis hadapi, namun ayat firman Tuhan Roma 12 : 12 yang berbunyi “Bersukacitalah dalam pengharapan, sabarlah dalam kesesakan, dan bertekunlah dalam doa” menjadi ayat yang menguatkan dan mendorong penulis untuk terus mengandalkan Tuhan. Tiada hentinya rasa syukur dipanjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kudus sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak Aseton Sirih Merah *Piper crocatum*, dan Bioaktivitasnya terhadap Anti Virus *Dengue*”** sebagai salah satu syarat memperoleh gelar magister pada Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Terima kasih kepada keluargaku yang tercinta, orang tuaku Bapak tercinta **Samuel Lante** dan Mama tercinta **Yoritha Linggi Padang** yang senantiasa memberi dukungan, motivasi, bimbingan, saran, solusi, nasehat, dan kasih sayang dalam proses perkuliahan dan penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian ini. Begitu pula, adik tercinta **Chiyuki Yolani Kalalinggi** yang sabar, perhatian, dan peduli sehingga kita senantiasa saling mendukung dan kompak menggapai mimpi di bidang masing-masing.

Ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani, Soekamto, MS** selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik dan Bapak **Dr. Firdaus, MS** selaku pembimbing pertama yang telah memberikan nasehat, saran, solusi, kesempatan dan telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan ilmu yang begitu berharga selama berkuliah di unhas dari jenjang sarjana sampai pascasarjana, serta ucapan maaf atas segala kesalahan baik tutur kata maupun perilaku yang tidak berkenan selama persiapan dan proses penelitian hingga penyusunan tesis ini selesai. Ucapan terima kasih penulis kepada:

1. **Dr. Nursiah La Nafie, M. Sc, Dr. Rugaiyah Arfah, M.Si, dan Dr. Yusafir Hala, M.Si** selaku komisi penilai, terima kasih atas masukan, kritik, saran, dan ide dalam penyempurnaan penulisan tesis.
2. Ketua program studi ilmu kimia, **Dr. Hasnah Natsir, M.Si**, terima kasih atas dukungan, motivasi, dan bantuan selama proses perkuliahan sampai tugas akhir.
3. Dekan dan Wakil Dekan Fakultas MIPA, Ketua Jurusan Kimia FMIPA, dan seluruh dosen Kimia Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu dan saran, serta seluruh staf Fakultas MIPA dan staf pasca kimia (**Pak Iccang dan Pak Latif**), terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
4. Kepala Laboratorium dan seluruh Staf Laboratorium Kimia Organik, Kimia Terpadu, Biokimia, Kimia Analitik, Kimia Anorganik, Kimia Fisika, Universitas Hasanuddin, terima kasih kepada **Ibu Tini, Akbar, Kak Anti, Kak Linda, Kak Hanna, Kak Fiby, dan Pak Sugeng** atas bantuan dan kerjasamanya.
5. **Prof. Yana Maolana Syah. MS, Ph.D** selaku penasehat penelitian dan dosen pembimbing selama di ITB Bandung, terima kasih atas kesempatan, masukan, saran, bimbingan, dan ilmu yang berharga, serta fasilitas yang diberikan selama proses penelitian. Terima kasih kepada seluruh Staf Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Laboratorium Spektroskopi Massa dan NMR, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Bandung. Terima kasih kepada **Ibu Elvira** atas masukan dan sarannya dalam interpretasi data NMR. Terima kasih kepada mahasiswa pascasarjana ITB, yaitu **Pak Widyo, Ibu Tina, Kak Rose, Mbak Churin, Mbak Dita, Annisa Nur Khaeruni, Adik Ayu, Farah, Adel, Arel, dan Erizan** yang telah memberikan bantuan dan saran selama penelitian.
6. Rekan-rekan kelompok penelitian kimia organik, teman seperjuangan penelitian dan tugas akhir, yaitu **Felycitae Ekalaya Appa dan Nur Awaliah**, terima kasih atas bantuan, kerjasama, kepedulian, semangat, motivasi, waktu, doa, perhatian, ide, kritik, dan saran, kiranya kita senantiasa kompak.
7. Terima kasih kepada teman-teman penelitian di Lab. Organik jenjang pascasarjana dan doktoral, yaitu **Ibu Hamsidar, Musrifah, Kak Lulu,**

- Kak Fitri, Kak Dija, Kak Lakolo, Kak Rifai, Kak Fattah, Kak Kadek, Kak Sernita, Bahrin, Akbar, Pak Amir, Pak Sapri, Pak Nohong, dan Pak Iwan.** Terima kasih atas bantuan, kerjasama, dan sarannya.
8. Analis Laboratorium Nutrisi Balai Perikanan Budidaya Air Payau, **Ibu Rosmiati** dan Staf Laboratorium Balai Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan atas bantuan dan fasilitas untuk tahap evaporasi penelitian.
  9. Beasiswa Oikumene Persekutuan Gereja-Gereja di Indonesia (BO PGI) Periode 2019/2020. Terima kasih atas kesempatan yang diberikan dan dukungan dana pada proses perkuliahan dan penelitian.
  10. Teman-teman seperjuangan selama perkuliahan pascasarjana kimia angkatan 2018, yaitu **Surya Pranowo, Miftahul Jannah, Rafsanjany, Andi Fikrah, Yusriadi, Adji Permatasari, Musrifah, Nurul Khaerah, Marinda, Asriani, Nada Pertiwi, Nur Afni, Sulfitriani, Uswah, dan Dartono,** terima kasih atas bantuan, semangat, saran, dan kerjasamanya.
  11. Teman-teman Himpunan Mahasiswa Pascasarjana Kimia Unhas dari angkatan 2016-2020 jenjang magister dan doktor, khususnya **Nur Faiizah, Kak Asmi, Kak Tenri, Yunita Pare Rombe, Kak Lulu, Musrifah, Fely, Awa, Adji, Ibu Hamsidar, Yusri, Rafsan, Pak Wayan, Hera, Asriani, dan Mifta.** Terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
  12. Saudara-saudara PA : **Kak Yanti Sunaidi** (kakak PA panutan), **Felycitae Ekalaya Appa,** dan **kak Dwi Niche** yang saling menguatkan dalam segala hal melalui doa, memberikan semangat, motivasi, sharing bersama, dan selalu bertumbuh bersama dalam iman.
  13. Rekan-rekan kimia **H312OES** angkatan 2012 dan sahabat-sahabatku (**Felycitae Ekalaya Appa, Annisa Nur Khaeruni** (seperjuangan selama penelitian di Bandung), **Ayu Ika Pratiwi, Resky Dwiyana Puspita M., Asriandy, Yenni Oktaviani, Ririn Ayu C., Lilik Akhir T., Cindy Ferrina P.**) yang tidak pernah lelah memberi semangat dan motivasi kepada penulis.
  14. Seluruh saudara seiman dalam GMKI Kom, FMIPA Unhas dan PMKO Filadelfia MIPA-Farmasi Unhas.

15. Seluruh Anggota Persekutuan Pemuda Baji' Pa'mai Maros dan VG. Getsemani.
16. Seluruh karyawan dan tentor JILC, Khususnya Jilc Maros, Jilc Gor Sudiang, Jilc Daya, dan Jilc Antang. Terima kasih atas bantuan, kerjasama, dan pengertiannya selama bekerja sebagai tentor di JILC.
17. Semua pihak yang tidak sempat disebut namanya yang telah memberikan bantuan, dukungan, semangat, dan doa kepada penulis.

Penulis sadar bahwa apa yang disajikan dalam tesis ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhirnya, penulis berharap semoga tesis ini dapat memberikan manfaat kepada peneliti selanjutnya dalam bidang Kimia Organik khususnya mengenai isolasi bahan alam.

Maros, 20 Desember 2020

Penulis

Septaria Yolani Kalalinggi



## ABSTRAK

**SEPTARIA YOLAN KALALINGGI.** Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak Aseton Sirih Merah *Piper crocatum*, dan Bioaktivitasnya terhadap Anti Virus *Dengue* (dibimbing oleh: Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS dan Dr. Firdaus, MS)

Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi metabolit sekunder ekstrak aseton dari tanaman obat sirih merah *Piper crocatum*, serta bioaktivitasnya terhadap anti *dengue* telah dilakukan. Metode isolasi yang digunakan terdiri atas ekstraksi, fraksinasi, dan pemurnian. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut aseton kemudian dievaporasi. Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak aseton tanaman obat sirih merah *P. crocatum* dilakukan melalui uji fitokimia. Karakterisasi metabolit sekunder berdasarkan analisis data spektroskopi IR, NMR-1D ( $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ -NMR), dan NMR-2D (HMBC dan HSQC). Hasil penelitian diperoleh senyawa isolat I berupa serbuk coklat adalah 2'-asetoksi-3',5'-dimetoksi-3,4-metilendioksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan sebanyak 21,9 mg. Senyawa isolat II berupa serbuk hijau muda kekuningan adalah 4',5'-dihidroksi-3,3',7'-trimetoksi flavon atau pachypodol sebanyak 19,1 mg dan senyawa isolat III berupa serbuk coklat muda 2'-asetoksi-3,4,5,3',5'-pentametoksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan atau crocatin A sebanyak 318,4 mg. Uji toksisitas ekstrak aseton dan senyawa crocatin A dilakukan dengan menggunakan metode BSLT terhadap *A. salina*. Nilai  $\text{LC}_{50}$  yang diperoleh sebesar 2,452  $\mu\text{g/mL}$  untuk ekstrak aseton yang dikategorikan sangat toksik, sedangkan nilai  $\text{LC}_{50}$  senyawa crocatin A sebesar 312,071  $\mu\text{g/mL}$  yang dikategorikan tidak toksik terhadap *A. salina*. Pengujian aktivitas anti virus ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum* dilakukan dengan menggunakan metode MTS untuk menentukan nilai  $\text{CC}_{50}$  dan metode viralTox Glo untuk menentukan nilai  $\text{IC}_{50}$ . Nilai  $\text{CC}_{50}$  dan  $\text{IC}_{50}$  ekstrak yang diperoleh berturut-turut sebesar 0,12  $\mu\text{g/mL}$  dan 55,99  $\mu\text{g/mL}$  yang aktif menghambat virus *dengue*.

Kata kunci : *Piper crocatum*, fraksinasi, fitokimia, *Artemia salina*, spektroskopi IR, NMR, flavon, neolignan, crocatin A.

## ABSTRACT

**SEPTARIA YOLAN KALALINGGI.** Isolation, Identification, and Characterisation Secondary Metabolites Extract Acetone Red Betel *Piper crocatum*, and Bioactivity Against *Dengue* Anti-Virus (supervised by Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS and Dr. Firdaus, MS)

Isolation, identification and characterization of secondary metabolite of extract acetone from the *Piper crocatum* red betel plant, and bioactivity against anti *dengue* has been done. Isolation method that been used consists of extraction, fractionation, and purification. Extraction was carried out by using acetone as solvent then evaporated. Identification of the compound's group on acetone extract of *P. crocatum* red betel plant executed by the phytochemical test. Characterization of secondary metabolite based on analysis of IR, NMR-1D (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR), and NMR-2D (HMBC and HSQC) spectroscopy data analysis. The results showed that the compound isolate I in the form of brown powder was 2'-acetyoxy-3',5'-dimethoxy-3,4-methylenedioxy-4'-oxo-8.1',7.3'-neolignan as much as 21,9 mg. The compound isolate II in the form of yellowish green light powder was 4',5-dihydroxy-3,3',7-trimethoxy flavone or pachypodol as much as 19,1 mg and isolate III in the form of light brown powder was 2'-acetoxoy-3,4,5,3',5'-pentamethoxy-4'-oxo-8.1',7.3'-neolignan or crocatin A as much as 318,4 mg. Toxicity test of acetone extract and crocatin A compound was carried out using the BSLT method against *A. salina*. The LC<sub>50</sub> value obtained was 2,452 µg/mL for acetone extract which was categorized as very toxic, while the LC<sub>50</sub> value for crocatin A was 312,071 µg/mL which was categorized as non-toxic against *A. salina*. Antiviral activity of acetone extract red betel *P. crocatum* was carried out using the MTS method to determine the CC<sub>50</sub> value and the viralTox Glo method to determine the IC<sub>50</sub> value. The CC<sub>50</sub> and IC<sub>50</sub> values of the extract obtained were 0,12 µg/mL and 55,99 µg/mL respectively, which actively inhibited the *dengue* virus.

Keywords : *Piper crocatum*, fractionation, phytochemical test, *Artemia salina*, IR spectroscopy, NMR spectroscopy, flavon, neolignan, crocatin A.

**DAFTAR ISI**

|   | <b>halaman</b> |
|---|----------------|
| HALAMAN PENGANTAR                         | i              |
| HALAMAN PERSETUJUAN                       | ii             |
| LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TESIS          | iii            |
| PRAKATA                                   | iv             |
| ABSTRAK                                   | viii           |
| ABSTRACT                                  | ix             |
| DAFTAR ISI                                | x              |
| DAFTAR TABEL                              | xiii           |
| DAFTAR GAMBAR                             | xiv            |
| DAFTAR LAMPIRAN                           | xvi            |
| DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN               | xvii           |
| BAB I PENDAHULUAN                         | 1              |
| A. Latar Belakang                         | 1              |
| B. Rumusan Masalah                        | 6              |
| C. Tujuan Penelitian                      | 7              |
| D. Manfaat Penelitian                     | 7              |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA                   | 8              |
| A. Uraian Umum Tumbuhan <i>Piperaceae</i> | 8              |
| B. Uraian Tanaman Genus <i>Piper</i>      | 10             |
| 1. Kemotaksonomi                          | 10             |
| 2. Fitokimia                              | 13             |
| a) Alkaloid                               | 13             |

|  |    |
|--|----|
| b) Steroid                                   | 17 |
| c) Flavonoid                                 | 18 |
| d) Fenilpropanoid                            | 20 |
| e) Terpen                                    | 23 |
| C. Sirih Merah <i>Piper crocatum</i>         | 26 |
| 1. Taksonomi                                 | 26 |
| 2. Kemotaksonomi                             | 28 |
| D. <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) | 29 |
| E. Bioaktivitas Demam Berdarah               | 30 |
| 1. Definisi                                  | 30 |
| 2. Antivirus <i>Dengue</i>                   | 31 |
| F. Kerangka Pikir                            | 31 |
| G. Hipotesis Penelitian                      | 33 |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN                | 34 |
| A. Waktu dan lokasi penelitian               | 34 |
| B. Alat dan bahan                            | 34 |
| C. Prosedur penelitian                       | 35 |
| 1. Ekstraksi Sirih Merah                     | 35 |
| 2. Fraksinasi                                | 36 |
| 3. Isolasi dan Pemurnian Senyawa Isolat      | 37 |
| 4. Uji Fitokimia                             | 38 |
| 5. Identifikasi                              | 38 |
| 6. Uji Toksisitas                            | 39 |
| 7. Uji Anti DHF                              | 40 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN                  | 45 |

|   |     |
|---|-----|
| A. Ekstraksi  | 45  |
| B. Isolasi dan Pemurnian  | 45  |
| C. Uji Fitokimia  | 55  |
| D. Analisis spektroskopi ekstrak dan senyawa murni  | 55  |
| 1. Analisis FTIR Ekstrak Aseton Sirih Merah   | 55  |
| 2. Analisis spektroskopi senyawa hasil isolasi  | 57  |
| a. 2'-asetoksi-3',5'-dimetoksi-3,4-metilendioksi-4'-okso-<br>-8.1',7.3'-neolignan (senyawa I) | 58  |
| b. 4',5-dihidroksi-3,3',7-trimetoksi flavon (senyawa II)                                      | 71  |
| c. 2'-asetoksi-3,4,5,3',5'-pentametoksi-4'-okso-<br>8.1',7.3'-neolignan (senyawa III)         | 81  |
| E. Uji Bioaktivitas ekstrak aseton dan senyawa murni  | 93  |
| 1. Uji Toksisitas   | 93  |
| 2. Uji Antivirus <i>Dengue</i>  | 93  |
| BAB V PENUTUP   | 100 |
| A. Kesimpulan   | 100 |
| B. Saran  | 101 |
| DAFTAR PUSTAKA  | 102 |
| LAMPIRAN  | 109 |

## DAFTAR TABEL

| Nomor  | halaman |
|--|---------|
| 1. Genus <i>Piper</i> dan Bioaktivitasnya  | 11      |
| 2. Sirih Merah <i>Piper crocatum</i> dan Bioaktivitasnya   | 29      |
| 3. Data Bobot Kering dari 12 Fraksi  | 46      |
| 4. Uji fitokimia ekstrak aseton sirih merah <i>P. crocatum</i>   | 55      |
| 5. Interpretasi spektrum FTIR ekstrak aseton sirih merah   | 57      |
| 6. Interpretasi spektrum FTIR senyawa I  | 59      |
| 7. Data Spektrum <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C NMR, dan HMBC 2'-asetoksi-3',5'-<br>dimetoksi-3,4-metilendioksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan (I) | 70      |
| 8. Interpretasi spektrum FTIR senyawa II   | 72      |
| 9. Data Spektrum <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C NMR, dan HMBC<br>4',5-dihidroksi-3,3',7-trimetoksi flavon (II)                                  | 80      |
| 10. Interpretasi spektrum FTIR senyawa III   | 82      |
| 11. Data Spektrum <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C NMR, dan HMBC 2'-asetoksi-<br>3,4,5,3',5'-pentametoksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan (III)       | 92      |
| 12. Nilai toksisitas (LC <sub>50</sub> ) ekstrak aseton dan senyawa III  | 93      |
| 13. Aktivitas sitotoksik ekstrak aseton sirih merah <i>P. crocatum</i><br>terhadap sel vero (CC <sub>50</sub> )                                  | 94      |
| 14. Aktivitas penghambatan sitotoksik ekstrak aseton sirih<br>merah <i>P. crocatum</i> terhadap virus dengue (IC <sub>50</sub> )                 | 97      |
| 15. Hubungan antara CC <sub>50</sub> , ICC <sub>50</sub> , dan SI ekstrak aseton<br><i>P. crocatum</i>   | 99      |

## DAFTAR GAMBAR

| Nomor   | halaman |
|---|---------|
| 1. Sirih Merah <i>Piper crocatum</i>                          | 27      |
| 2. Diagram Kerangka Pikir                                     | 33      |
| 3. Kromatogram 12 fraksi ekstrak aseton hasil fraksinasi KKV  | 45      |
| 4. Kromatogram fraksi 10 hasil kromatotron I                  | 47      |
| 5. Kromatogram fraksi 10 hasil kromatotron II                 | 48      |
| 6. Kromatogram fraksi 10 hasil kromatotron III                | 48      |
| 7. Kromatogram fraksi 8 hasil kromatotron IV                  | 49      |
| 8. Kromatogram fraksi 8 hasil kromatotron V                   | 50      |
| 9. Kromatogram fraksi 8 hasil kromatotron VI                  | 50      |
| 10. Kromatogram hasil analisis KLT Senyawa I                  | 51      |
| 11. Kromatogram fraksi 11 hasil fraksinasi KKV                | 52      |
| 12. Kromatogram fraksi 5 hasil kromatotron I                  | 53      |
| 13. Kromatogram hasil analisis KLT Senyawa II                 | 53      |
| 14. Kromatogram fraksi 12 hasil fraksinasi KKV                | 54      |
| 15. Kromatogram hasil analisis KLT Senyawa III                | 54      |
| 16. Spektrum IR Ekstrak Aseton Sirih Merah <i>P. crocatum</i> | 56      |
| 17. Spektrum IR Senyawa I                                     | 59      |
| 18. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa I                    | 61      |
| 19. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa I                     | 63      |
| 20. Spektrum HSQC Senyawa I                                   | 65      |
| 21. Spektrum COSY Senyawa I                                   | 66      |
| 22. Spektrum HMBC Senyawa I                                   | 67      |

|  |    |
|--|----|
| 23. Korelasi $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ NMR Senyawa 2'-asetoksi-3',5'-dimetoksi-3,4-metilendioksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan <b>(I)</b> | 69 |
| 24. Struktur Kimia Senyawa <b>(I)</b>  | 69 |
| 25. Spektrum IR Senyawa II   | 72 |
| 26. Spektrum $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa II   | 73 |
| 27. Spektrum $^1\text{H}$ -NMR Senyawa II  | 75 |
| 28. Spektrum HSQC Senyawa II   | 77 |
| 29. Spektrum HMBC Senyawa II   | 78 |
| 30. Korelasi $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ NMR Senyawa 4',5'-dihidroksi-3,3',7'-trimetoksi flavon <b>(II)</b>                               | 79 |
| 31. Struktur Kimia Senyawa <b>(II)</b>   | 79 |
| 32. Spektrum IR Senyawa III  | 82 |
| 33. Spektrum $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa III  | 85 |
| 34. Spektrum $^1\text{H}$ -NMR Senyawa III   | 85 |
| 35. Spektrum HSQC Senyawa III  | 87 |
| 36. Spektrum HMBC Senyawa III  | 88 |
| 37. Korelasi $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ NMR Senyawa 2'-asetoksi-3,4,5,3',5'-pentametoksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan <b>(III)</b>        | 90 |
| 38. Struktur Kimia Senyawa <b>(III)</b>  | 91 |
| 39. Hubungan %toksisitas dan konsentrasi untuk ekstrak aseton sirih merah <i>P. Crocatum</i> terhadap sel vero                               | 95 |
| 40. Hubungan %viabilitas Sel dan konsentrasi untuk ekstrak aseton sirih merah <i>P. Crocatum</i>   | 98 |



## DAFTAR LAMPIRAN

| <b>nomor</b>   | <b>halaman</b> |
|--|----------------|
| 1. Bagan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak aseton sirih merah <i>Piper crocatum</i>  | 109            |
| 1a. Bagan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak aseton sirih merah <i>Piper crocatum</i> | 110            |
| 2. Skema Kerja Uji Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)                                       | 111            |
| 3. Bagan Uji Fitokimia   | 114            |
| 4. Perhitungan nilai LC <sub>50</sub> ekstrak aseton sirih merah <i>P. crocatum</i>                | 116            |
| 5. Perhitungan nilai LC <sub>50</sub> senyawa neolignan crocadin A                                 | 118            |
| 6. Perhitungan pada pengujian antivirus  | 120            |
| 7. Dokumentasi Penelitian  | 125            |
| 8. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa I  | 127            |
| 9. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa I   | 128            |
| 10. Spektrum HSQC Senyawa I  | 131            |
| 11. Spektrum COSY Senyawa I  | 134            |
| 12. Spektrum HMBC Senyawa I  | 136            |
| 13. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa II  | 141            |
| 14. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa II   | 142            |
| 15. Spektrum HSQC Senyawa II   | 144            |
| 16. Spektrum HMBC Senyawa II   | 145            |
| 17. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR Senyawa III   | 149            |
| 18. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR Senyawa III  | 150            |
| 19. Spektrum HSQC Senyawa III  | 153            |
| 20. Spektrum HMBC Senyawa III  | 156            |

**DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN**

|                  |   |
|------------------|---|
| BSLT             | = <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>  |
| LC <sub>50</sub> | = <i>Lethal Concentration 50%</i>   |
| IC <sub>50</sub> | = <i>Inhibitor Concentration 50%</i>  |
| CC <sub>50</sub> | = <i>Cytotoxic Concentration 50%</i>  |
| FT-IR            | = <i>Fourier Transform Infrared</i>   |
| H-NMR            | = <i>Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance</i>  |
| C-NMR            | = <i>Carbon Nuclear Magnetic Resonance</i>  |
| HSQC             | = <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>   |
| HMBC             | = <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>  |
| DMEM             | = <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>   |
| FBS              | = <i>Fetal Bovine Serum</i>   |
| PBS              | = <i>Phosphate Buffered Saline</i>  |
| MTS              | = (3-(4,5dimethylthiazol-2-yl) -5- (3-carboxy methoxyphenyl)<br>-2- (4-sulfophenyl) -2H- tetrazolium) |
| ELISA            | = <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>  |
| UV               | = <i>Ultraviolet</i>  |
| KLT              | = <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>   |
| KKV              | = <i>Kromatografi Kolom Vakum</i>   |
| K                | = <i>Kromatotron atau Kromatografi Radial</i>   |

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Demam berdarah adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengan perantara nyamuk betina *Aedes aegypti*. Di samping penyakit demam berdarah, nyamuk ini juga menularkan penyakit chikungunya, demam kuning dan infeksi Zika. Demam berdarah disebabkan oleh virus dari famili *Flaviviridae* (WHO, 2019<sup>b</sup>). Ada 4 serotipe virus yang ditemukan sebagai penyebab demam berdarah, yaitu : DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4 (Medina, dkk., 2012).

Demam berdarah menjadi penyebab kematian dan rawat inap di negara-negara Asia dan Amerika Latin. Dalam kurun waktu bulan Januari hingga minggu kedua bulan Agustus 2019, ada 1850 kasus demam berdarah di Kamboja dan 2.741 kasus demam berdarah termasuk 1 kematian dilaporkan di Malaysia. Pada tahun yang sama pula, jumlah kumulatif kasus DBD di Filipina per 23 Agustus 2019 mencapai 208.917 dengan 882 kematian. Selanjutnya, ada 788 kasus DBD dilaporkan di China pada Juni 2019 yang jumlah kasusnya lebih tinggi dari yang dilaporkan selama periode yang sama pada tahun-tahun sebelumnya, (WHO, 2019<sup>a</sup>). Kasus DBD di Indonesia dari bulan Januari hingga 3 Februari 2019 adalah sebanyak 16.692 kasus dengan 169 orang meninggal dunia (Kemenkes RI, 2019).

Sampai saat ini, tidak ada pengobatan spesifik untuk demam berdarah. Salah satu upaya yang telah dilakukan adalah pengembangan vaksin oleh Sanofi Pasteur Dengvaxia (WHO, 2019<sup>b</sup>). Dengvaxia adalah vaksin demam berdarah pertama di dunia yang mendapatkan persetujuan penggunaan di 19 negara dan diluncurkan di 11 negara endemik DBD. Sebagian besar vaksin dijual di Filipina melalui program imunisasi pemerintah yang diberikan untuk 730.000 anak. Selain itu, vaksin demam berdarah juga paling banyak dijual di Brazil. Namun, vaksin tersebut memiliki resiko yaitu bisa memperparah penyakit demam berdarah pada kasus-kasus tertentu (VOA Indonesia, 2017).

Di Indonesia, penggunaan vaksin demam berdarah dengue (DBD) dengvaxia telah beredar pada 31 Agustus 2016, dan saat ini sedang dilakukan re-evaluasi keamanan dan manfaat produk vaksin oleh Badan POM. Hal ini dilakukan karena hasil penelitian terbaru dari perusahaan farmasi asal Prancis yang menyatakan bahwa vaksin tersebut justru berbahaya bagi mereka yang belum pernah terjangkit virus *dengue* dan disisi lain harganya relatif mahal (BBC Indonesia, 2017). Kondisi ini menyebabkan perlunya dilakukan upaya lain untuk menangani penyakit demam berdarah, salah satunya adalah mencari senyawa isolat dari bahan alam yang berpotensi sebagai anti *dengue hemorrhagic fever* (DHF). Salah satu bahan alam yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan potensi sebagai anti *dengue* adalah tanaman obat.

Tanaman obat telah digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Indonesia (pengobatan herbal) yang efektif menyembuhkan berbagai macam penyakit. Tanaman obat sebagai obat tradisional

memiliki keunggulan pada bahan dasar alami dengan efek samping yang kecil. Efek samping yang dapat dihindari dengan menggunakan tanaman obat diantaranya tidak menimbulkan resistensi pada tubuh sehingga tidak membunuh bakteri yang baik dalam tubuh, tidak menimbulkan efek samping pada ginjal dan hati, dan tidak merusak fungsi ginjal dan hati dalam penggunaan jangka panjang dan dosis berlebihan (Redaksi Agromedia, 2008; Utami dan Puspaningtyas, 2013). Tanaman obat mampu mengobati penyakit dengan efek samping seminimal mungkin karena adanya kandungan senyawa bioaktif dalam tanaman obat (Utami dan Puspaningtyas, 2013).

Salah satu tanaman obat dari famili *Piperaceae* yang telah digunakan dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit, seperti TBC, diabetes, jantung, sariawan, dan batuk adalah sirih merah *Piper crocatum* (Manoi, 2007; Ernawati, 2019). Beberapa penelitian mengenai metabolit sekunder tumbuhan dari famili *Piperaceae* telah banyak dilakukan, baik dari pelarut non polar, semi polar, maupun polar seperti *n*-heksan, diklorometan, kloroform, etil asetat, etanol, metanol, dan aseton. Pelarut aseton digunakan dalam penelitian ini karena bersifat polar sehingga dapat mengekstrak komponen polar suatu bahan alam seperti senyawa flavonoid dan belum pernah digunakan untuk mengekstrak metabolit sekunder sirih merah *P. crocatum*. Aseton memiliki kelebihan, yaitu kemudahan untuk diuapkan menggunakan evaporator, dapat melarutkan berbagai macam senyawa, dan larut dengan pelarut organik lainnya dalam berbagai perbandingan, seperti air, etanol, dietil eter, dll. Adapun golongan metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari famili

*Piperaceae*, yaitu alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, dan fenilpropanoid. Senyawa golongan alkaloid yang telah berhasil diisolasi adalah *N*-isobutil-(2*E*,4*E*,14*Z*)-eikosatrienamida (**8**) dari ekstrak metanol batang *P. caninum* (Salleh, dkk., 2015) dan senyawa alkaloid amida (**15**) dari ekstrak etanol buah *P. longum* (Jiang, dkk., 2013). Selanjutnya, senyawa golongan steroid, yakni  $\beta$ -sitosterol (**19**) yang telah diisolasi dari ekstrak n-heksan sirih merah *P. crocatum* oleh Emrizal dkk., (2014) dan stigmasterol (**22**) dari ekstrak diklorometan akar *P. dilatatum* Rich (Santos, dkk., 2013).

Senyawa terpenoid yang telah berhasil diisolasi, yaitu monoterpen dihidrokalkon telah diisolasi dari ekstrak metanol *P. montealegreanum* Yuncker oleh Alves, dkk. (2017), yaitu claricine (**59**) dan maisine (**60**). Selanjutnya, senyawa seskuiterpen, yaitu nerolidal (**67**) telah diisolasi dari daun *P. clausenianum* (Miq.) C. DC (Marques, dkk., 2017) dan senyawa triterpen dari batang *P. wallichii*, yaitu 2-okso-3 $\beta$ ,19 $\alpha$ ,23-trihidroksi-12-en-28-oat atau asam  $\beta$ -*D*-glukopiranosil ester (**69**) (Shi, dkk., 2015). Senyawa golongan flavonoid yang telah berhasil diisolasi adalah 4',5-dihidroksi-3,3',7-trimetoksiflavon (**23**) dari ekstrak etil asetat daun sirih merah *P. crocatum* (Arbain, dkk., 2018), dua glukosida fenol, yaitu pipericroside (**24**) dan B (**25**), serta erigeside (II) (**26**) dari ekstrak metanol daun *P. crocatum* (Li, dkk., 2019). Selanjutnya, senyawa isoflavan-4-on, yaitu 5,8-dihidroksi-6,7-dimetil isoflavan-4-on (**28**) dari ekstrak etanol batang *P. chaba* Hunter (Roy, dkk., 2018). Senyawa fenilpropanoid golongan neolignan, yaitu crocadin A (**39**) dan crocadin B (**40**) telah diisolasi dari ekstrak etil asetat daun sirih merah *P. crocatum* Ruiz & Pav oleh (Arbain,

dkk., 2018). Selanjutnya, senyawa lignan 2-(5',6'-dimetoksi-3',4'-metilen dioksi fenil)-6-(3",4",5"-trimetoksi fenil)-3,7-dioksa-bisiklo [3,3,0] oktan (**41**) telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksan sirih merah *P. crocatum* (Emrizal, dkk., 2014), serta piperoside (**42**) dari sirih *P. Retrofractum* (Luyen, dkk., 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh (Emrizal, dkk., 2014) melaporkan bahwa skrining bioaktivitas sirih merah *P. crocatum* terhadap *Artemia salina* Leach diperoleh bahwa ekstrak metanol, *n*-heksan, etil asetat, dan butanol memiliki nilai LC<sub>50</sub> secara berturut-turut, yaitu 27,40 µg/mL; 2,04 µg/mL; 1,34 µg/mL, dan 2,08 µg/mL. Selanjutnya, bioaktivitas tumbuhan dari famili *Piperaceae* menunjukkan bahwa tiga senyawa alkaloid, yaitu dua alkaloid amida (**15**) dan (**16**), serta senyawa piperin (**1**) dari ekstrak etanol buah *Piper longum* memiliki aktivitas penghambatan HBV yang signifikan menekan sekresi antigen permukaan virus hepatitis B HBsAg dan antigen e virus hepatitis B HBeAg dalam garis sel Hep G dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing 0,13; 0,11; dan 0,15 mM untuk HBsAg, dan nilai IC<sub>50</sub> 0,16; 0,11; dan 0,14 untuk HbeAg (Jiang, dkk., 2013). Senyawa Erigeside II (**2**) dari ekstrak metanol daun *P. crocatum* menunjukkan aktivitas penghambatan epoksida hidrolase larut (sEH) dengan nilai IC<sub>50</sub> 58,5 µM (Li, dkk., 2019). sEH telah dianggap sebagai target terapi potensial untuk penyakit vaskular (Bai, 2015). Senyawa baru fenilpropanoid piperoside (**4**) dan senyawa alkil glikosida (**5**) dari ekstrak metanol *Piper retrofractum* menunjukkan penghambatan α-glukosidase sederhana (4,60 ± 1,74% hingga 11,97 ± 3,30%) dengan kategori sedang (Luyen, dkk., 2014). Ekstrak air dari *Piper cubeba* memperlihatkan aktivitas penghambatan

terhadap virus hepatitis C protease (HVC-PR) dengan  $IC_{50}$  18  $\mu\text{g/mL}$  (Hussein, dkk., 2000). Senyawa Linolool yang diisolasi dari salah satu genus *Piper* yaitu *Piper clausenianum* menunjukkan aktivitas sangat kuat terhadap ADV-2 (Adeno-viruses) dengan nilai  $EC_{50}$  = 16,9 mg/L; SI = 10,5 (Chiang, dkk., 2005; Marques, dkk., 2017).

Berdasarkan hal yang telah diuraikan, tanaman sirih merah *P. crocatum* adalah salah satu jenis sirih dari genus *Piper* dan beberapa jenis senyawa antivirus telah diisolasi dari genus *Piper*, maka diharapkan pada sirih merah *P. crocatum* juga diperoleh ekstrak dan senyawa antivirus lain. Akan tetapi, penelitian terhadap *P. crocatum* masih kurang, termasuk penelitian mengenai ekstrak aktif bahan alam yang dapat digunakan untuk antivirus *dengue* belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian tentang aktivitas ekstrak tanaman obat sirih merah *P. crocatum* sebagai antivirus *dengue* dan kandungan metabolit sekundernya perlu dilakukan.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum* ?
2. bagaimana aktivitas antivirus *dengue* metabolit sekunder isolat dari ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum* ?
3. bagaimana struktur metabolit sekunder isolat dari ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum* ?



### **C. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. menentukan golongan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum*,
2. menguji aktivitas antivirus *dengue* metabolit sekunder ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum*,
3. mengisolasi dan mengidentifikasi struktur metabolit sekunder dari ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum*.

### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. memberikan data terkait kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam sirih merah *P. crocatum*,
2. menghasilkan data terkait bioaktivitas ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum*,
3. menghasilkan data mengenai struktur metabolit sekunder isolat dari sirih merah *P. crocatum*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Uraian Umum Tumbuhan *Piperaceae*

Famili tumbuhan aromatik yang biasa dimanfaatkan sebagai tanaman obat dan tanaman hias di Indonesia, salah satunya adalah *Piperaceae* (Munawaroh dan Yuzammi, 2017). Famili *Piperaceae* terdiri dari 13 genus dan sekitar 2658 spesies (Munawaroh, dkk., 2011; Anonim, 2013).

Salah satu tanaman yang termasuk dalam famili *Piperaceae* adalah sirih. Sirih memiliki berbagai nama daerah, yaitu suruh, sedah (Jawa), seureuh (Sunda), base (Bali), donile, parigi (Sulawesi), dan bido, gies (Maluku). Sirih merupakan perdu yang tumbuh merambat dengan panjang mencapai puluhan meter. Batang berkayu, berbentuk bulat, berbuku-buku, dan berwarna hijau kecoklatan. Daun tunggal, berbentuk pipih menyerupai jantung, tangkai agak panjang, permukaan licin, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau tua. Bunga majemuk dengan bulir, berbentuk bulat panjang, kepala pulik tiga sampai lima dan berwarna putih, serta warna bunga hijau kekuningan (Redaksi Agromedia, 2008).

Sirih liar yang banyak dijumpai di hutan wilayah Enrekang (Sulawesi Selatan) dengan ciri-ciri daun yang berwarna merah hati, dilengkapi garis-garis ornamen putih di bagian permukaan atas helaian daun adalah *Piper ornatum* atau *Celebes pepper* (Sulianti dan Chairul,

2002; Anonim, 2013). Selain itu, data hasil kegiatan pencarian tumbuhan pada tahun 2001-2010 memperlihatkan bahwa sirih merah *Piper crocatum* merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di kawasan Sulawesi (Astuti dan Munawaroh, 2011). Beberapa jenis sirih berdasarkan warnanya yang digunakan masyarakat di Indonesia adalah sirih hijau, sirih merah, sirih hitam, sirih wulung dan sirih golden. Berdasarkan uji fitokimia pada kelima sirih tersebut diperoleh bahwa sirih merah memiliki kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan steroid, sirih wulung memiliki kandungan hidrokuinon, flavonoid, tannin, triterpenoid serta sedikit saponin dan streroid. Selanjutnya sirih hijau dan golden memiliki kandungan hidrokuinon, flavonoid, tannin, streroid, dan sedikit saponin. Sirih yang terakhir, sirih hitam hanya memiliki kandungan flavonoid dan tannin, serta sedikit streroid, saponin dan hidrokuinon (Rahmawati dan Kurniawati, 2016; Saputra, dkk., 2016).

Ada dua sirih merah yang dikenal di Indonesia, yaitu spesies *Piper crocatum* Ruitz & Pav dan spesies *Piper porphyrophyllum* NE. Br. *Piper crocatum* adalah jenis tanaman yang berasal dari Peru, Amerika Selatan namun tidak diketahui kapan dan siapa yang pertama kali memperkenalkan tanaman tersebut di Indonesia (Graf, 1992). Sirih merah merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan masyarakat Indonesia untuk menyembuhkan berbagai penyakit, yaitu TBC, diabetes, jantung, sariawan, dan batuk (Ernawati, 2019). Selanjutnya, *Piper porphyrophyllum* merupakan sirih merah yang tumbuh di hutan dan dapat ditemukan di kawasan hutan sumatera dan Kalimantan (Astuti dan Munawaroh, 2011).

## B. Uraian Tanaman Genus *Piper*

### 1. Kemotaksonomi

Pendekatan taksonomi didasarkan pada kedekatan kekerabatan tumbuhan yang telah diketahui memiliki kandungan kimia tertentu. Tumbuh-tumbuhan atau organisme lain dalam satu famili sering dijumpai memproduksi senyawa yang mirip secara alami (Anderson, 1990).

*Piper* merupakan tanaman aromatik yang digunakan sebagai bumbu dapur mengandung metabolit sekunder yang memberikan efek biologis pada kesehatan manusia. Metabolit sekunder ini ditemukan dalam buah, biji, daun, cabang, akar dan batangnya. *Piper* telah digunakan sebagai obat tradisional di seluruh dunia untuk mengobati beberapa penyakit, seperti masalah urologi atau saluran kemih, penyakit kulit, hati, perut, untuk penyembuhan luka, agen antipiretik dan anti-inflamasi. Selain itu, fitokimia dan minyak atsiri dari tanaman *Piper* telah menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan dengan antioksidan sintetik serta menunjukkan antibakteri dan antijamur terhadap patogen manusia (Salehi, dkk., 2019).

Tabel 1. Genus *Piper* dan Bioaktivitasnya

| Spesies<br>(Bagian<br>tumbuhan,<br>Ekstrak)           | Nama Senyawa  | Bioaktivitas   |
|---|---|--|
| <i>Piper aduncum</i><br>L. (daun,<br>metilen klorida) | Senyawa amida baru<br>aduncamide ( <b>2</b> )   | Memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel karsinoma nasofaring KB dengan ED <sub>50</sub> 5,7 µg/mL dan memiliki aktivitas antibakteri kategori aktif terhadap bakteri Gram (+) <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Micrococcus Luteus</i> (Orjala, dkk., 1993)         |
| <i>Piper retrofractum</i><br>(metanol)                | Senyawa baru fenilpropanoid piperoside atau 2(R)-3-(4'-O-β-D-glukopiranosil-3'-metoksi fenil) propan-1,2-diol ( <b>4</b> ) dan senyawa alkil glikosida baru 2(S) isoheptanol 2-O-β-D-xilo piranosil (1-->6)-O-β-D-gluko piranosida ( <b>5</b> ) | Menunjukkan penghambatan α-glukosidase sederhana (4,60 ± 1,74% hingga 11,97 ± 3,30%) dengan kategori sedang (Luyen, dkk., 2014)  |
| <i>Piper cubeba</i><br>(buah, air)                    | Dua senyawa lignan, yaitu senyawa (8R,8'R)-4-hidroksi cubebinon ( <b>6</b> ) dan (8R,8'R,9'S)-5-metoksi clusin ( <b>7</b> ), serta satu senyawa seskuiterpen (5α,8α)-2-okso-1(10),3,7(11)-guaiatrien-12,8-olide ( <b>8</b> )                    | Menunjukkan aktivitas penghambatan kategori aktif terhadap CYP3A4 dengan nilai IC <sub>50</sub> = 7,4 µM untuk senyawa ( <b>6</b> ), IC <sub>50</sub> = 0,83 µM untuk senyawa ( <b>7</b> ), dan IC <sub>50</sub> = 8,8 untuk senyawa ( <b>8</b> ) (Usia, dkk., 2005) |
| <i>Piper arborescens</i><br>(batang,<br>metanol)      | Tiga senyawa baru amida siklobutanoid, yaitu piperarborenine C ( <b>11</b> ), piperarborenine D ( <b>12</b> ), dan piperarborenine E ( <b>13</b> )  | Menunjukkan aktivitas sitotoksik kategori sangat aktif terhadap sel kanker P-388, A549, dan HT-29 dengan nilai IC <sub>50</sub> berturut-turut = 0,11; 0,16; dan 0,14 µg/mL untuk senyawa ( <b>11</b> ),   |

Lanjutan Tabel 1

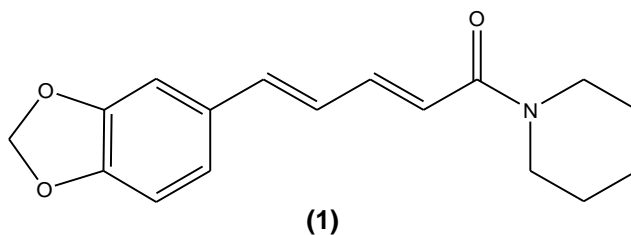
|   |  |  |
|---|--|--|
|   |  | nilai IC <sub>50</sub> berturut-turut 0,12; 0,21; dan 0,17 µg/mL untuk senyawa <b>(12)</b> , dan nilai IC <sub>50</sub> berturut-turut 0,01; 0,13; 0,11 µg/mL untuk senyawa <b>(13)</b> (Tsai, dkk., 2005).  |
| <i>Piper longum</i><br>(buah, etanol)               | Tiga senyawa alkaloid, yaitu eritro-1-[1-okso-9(3,4-metilen dioksi fenil)- 8,9-dihidroksi-2 <i>E</i> -nonenil]-piperidin <b>(15)</b> dan treo-1-[1-okso-9 (3,4-metilen dioksi fenil)- 8,9-dihidroksi-2 <i>E</i> -nonenil]-piperidin <b>(16)</b> , dan senyawa piperin <b>(1)</b> | Senyawa <b>(15)</b> , <b>(16)</b> , dan <b>(1)</b> memiliki aktivitas penghambatan HBV yang signifikan menekan sekresi HBsAg dan HBeAg dalam garis sel Hep G dengan nilai masing-masing IC <sub>50</sub> 0,13; 0,11; dan 0,15 mM untuk HBsAg, dan nilai IC <sub>50</sub> 0,16; 0,11; dan 0,14 untuk HBeAg. Senyawa <b>(1)</b> memiliki aktivitas penghambatan HBV yang luar biasa terhadap sekresi antigen permukaan virus hepatitis B (HBsAg) dan antigen e virus hepatitis B (HBeAg) dengan nilai Indeks Selektivitas (SI) masing-masing sebesar 15,7 dan 16,8. (Jiang, dkk., 2013). |
| <i>Piper nigrum</i><br>(buah, kloroform)            | Senyawa piperin <b>(1)</b>   | Menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker hela dengan nilai IC <sub>50</sub> sebesar 61.94 ± 0.054 µg/mL (Paarakh, dkk., 2015).   |
| <i>Piper clausenianum</i><br>(Miq.) C. DC<br>(Daun) | Senyawa Linolool   | Menunjukkan aktivitas sangat kuat terhadap ADV-2 (Adeno-viruses) dengan nilai EC <sub>50</sub> = 16,9 mg/L; SI = 10,5 (Chiang, dkk., 2005; Marques, dkk., 2017)  |

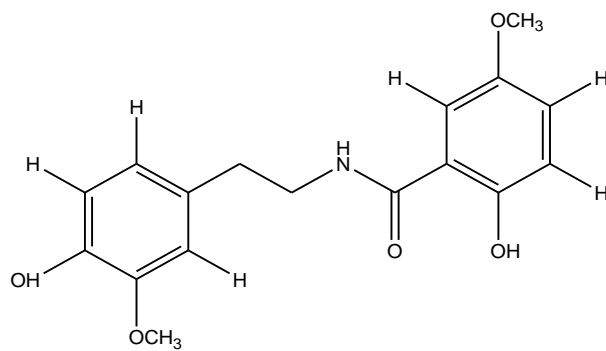
## 2. Fitokimia

Berdasarkan penelusuran literatur terhadap fitokimia tanaman dari genus *Piper*, metabolit sekunder yang terkandung dalam sirih ini adalah alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, dan fenilpropanoid.

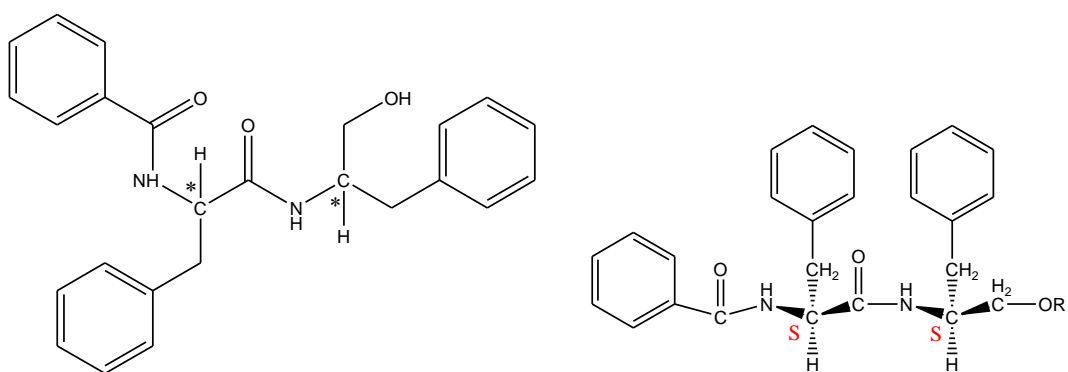
### a. Alkaloid

Senyawa alkaloid yang telah diisolasi dari genus *Piper* adalah piperin **(1)** dari sirih hitam *P. nigrum* (Ee, dkk., 2008; (Roy, dkk., 2018). Senyawa amida yang telah diisolasi dari ekstrak metilen klorida daun sirih *P. aduncum* L. adalah aduncamida **(2)** (Orjala, dkk., 1993) dan senyawa aurantiamida atau *N*-(*N'*-benzoil-*S*-fenil alaninil)-*S*-fenil alaninol **(3)** dari ekstrak petroleum *P. aurantiacum* (Banerji dan Ray, 1981). Dua senyawa amida yang lain telah diisolasi oleh Banerji dan Das (1989) dari ekstrak petroleum *P. brachystachyum* yaitu brachystamida A atau *N*-isobutil-15 (3',4' metilene dioksifenil) 2*E*,4*E*-pentadekadienamida **(4)**, serta tiga senyawa amida yaitu brachystamida C **(5)**, brachystamida D **(6)**, dan brachystamida E **(7)** juga telah diisolasi oleh Banerji dkk (2002) dari ekstrak petroleum *P. brachystachyum* Wall. Senyawa *N*-isobutil-(2*E*,4*E*,14*Z*)-eikosatrienamida **(8)** telah diisolasi dari ekstrak metanol batang *P. caninum* (Salleh, dkk., 2015).

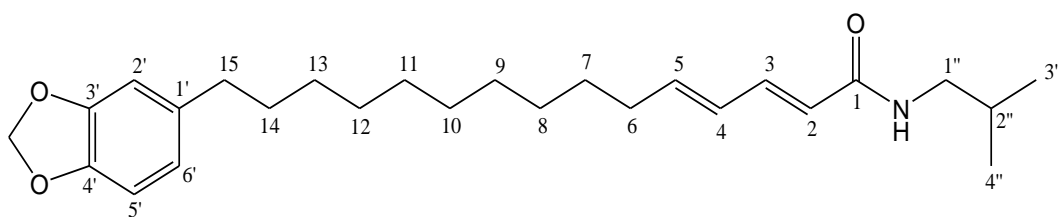




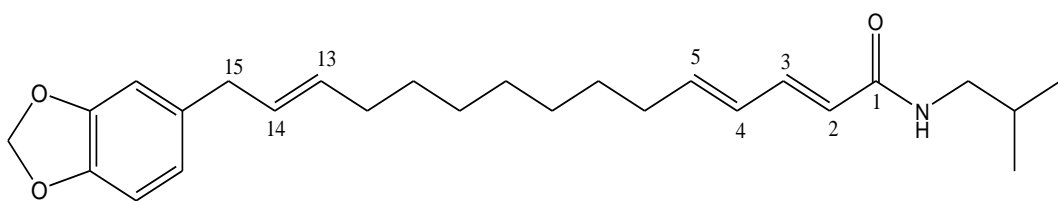
(2)



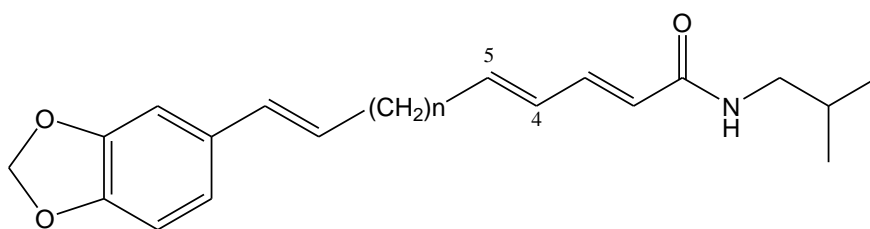
(3)



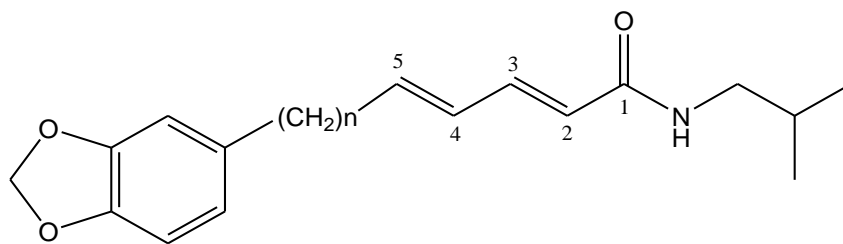
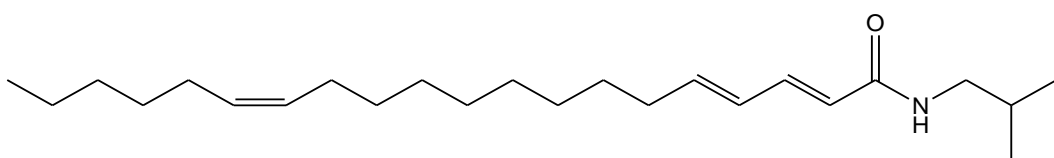
(4)



(5)

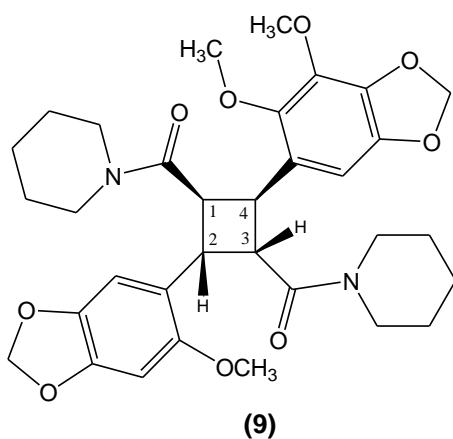
(6)  $n = 9$



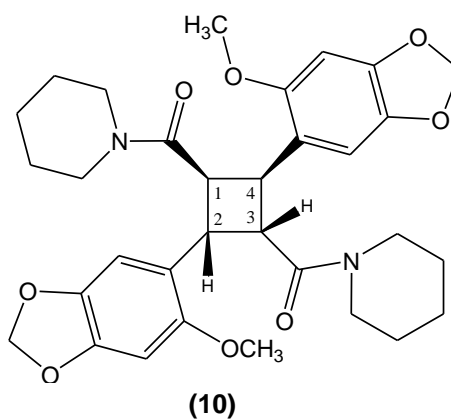
(7)  $n = 11$ 

(8)

Dua senyawa baru dimer piperidinamida telah diisolasi dari ekstrak petroleum daun *P. peepuloides*, yaitu siklobutana-2-(1,3-benzodioxol-5-metoksi-6-il)-4-(1,3-benzodioxol-4,5-dimetoksi-6-il)-1,3-dikarboksapiperidida **(9)** dan siklobutana-2,4-bis-(1,3-benzodioxol-5-metoksi-6-il)-1,3-dikarboksapiperidida **(10)** (Sharma, dkk., 1998).



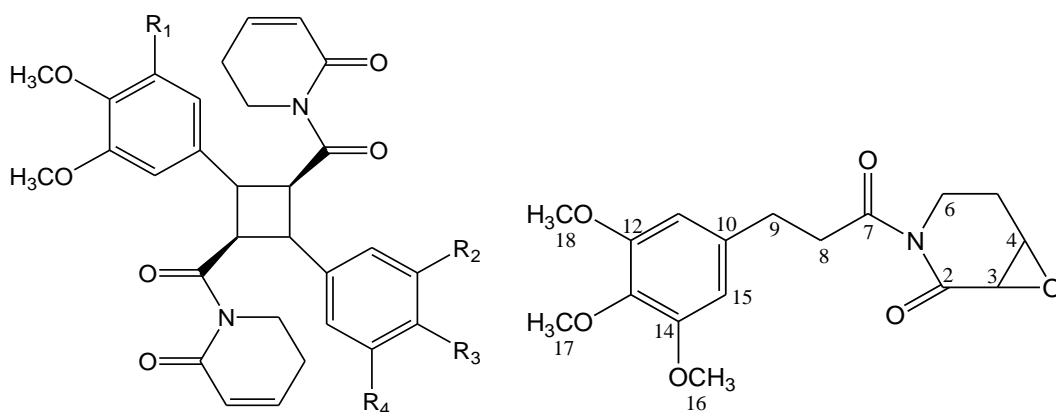
(9)



(10)

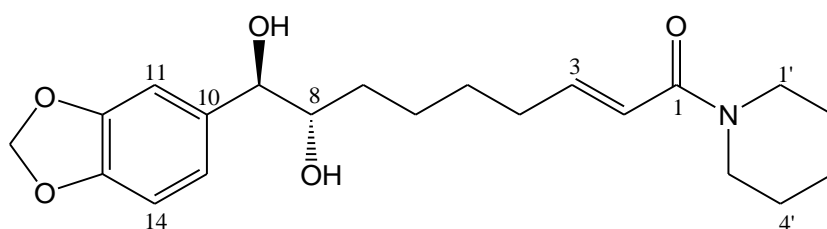
Tiga senyawa amida siklobutanoid telah diisolasi dari ekstrak metanol batang *P. arborescens*, yaitu piperarborenine C **(11)**, piperarborenine D **(12)**, dan piperarborenine E **(13)** (Tsai, dkk., 2005). Senyawa alkaloid amida telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksan daun dan ranting *P. verrucosum* adalah 3,4-epoksi-8,9-dihidropiplartin **(14)** (Seeram,

dkk., 1996). Dua senyawa alkaloid amida telah diisolasi dari ekstrak etanol buah *P. longum*, yaitu *eritro*-1-[1-okso-9(3,4-metilen dioksifenil)-8,9-dihidroksi-2*E*-nonenil]-piperidin **(15)** dan *treo*-1-[1-okso-9(3,4-metilen dioksifenil)-8,9-dihidroksi-2*E*-nonenil]-piperidin **(16)** (Jiang, dkk., 2013). Senyawa cepharudione A **(17)** dan cepharudione B **(18)** telah diisolasi dari ekstrak diklorometan batang *P. wightii* (Boll, dkk., 1996).

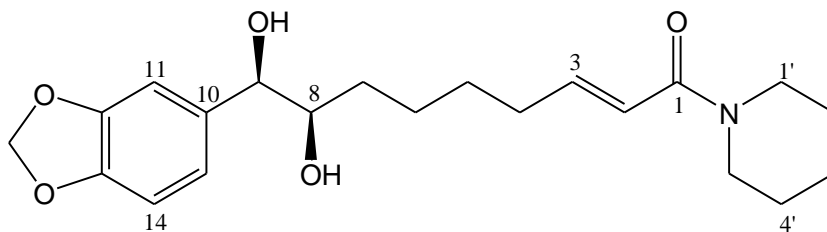


- (11)  $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$   
 (12)  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$ ,  $R_4 = \text{H}$   
 (13)  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$

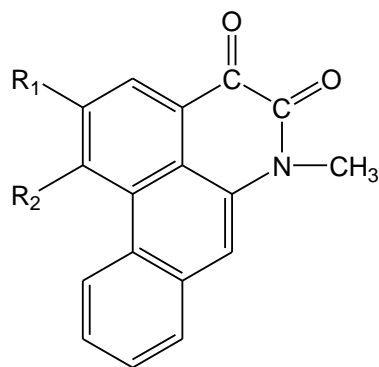
**(14)**



*eritro*-1-[1-okso-9-(3,4-metilendioksifenil)-8,9-dihidroksi-2*E*-nonenil]piperidin **(15)**



**(16)**

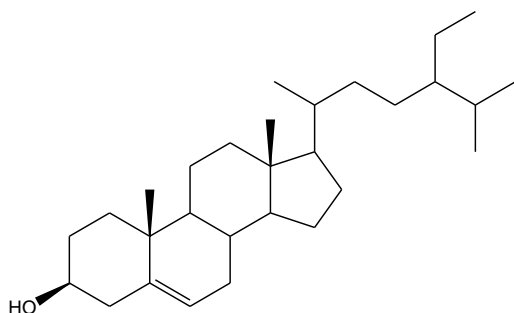


(17)  $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$

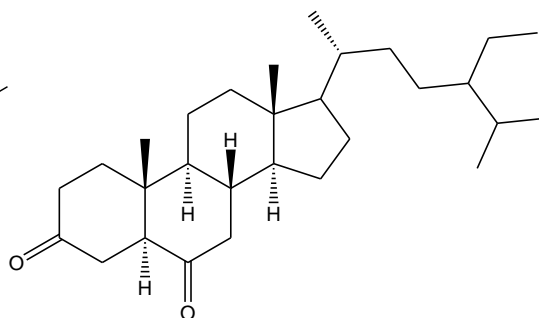
(18)  $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

## b. Steroid

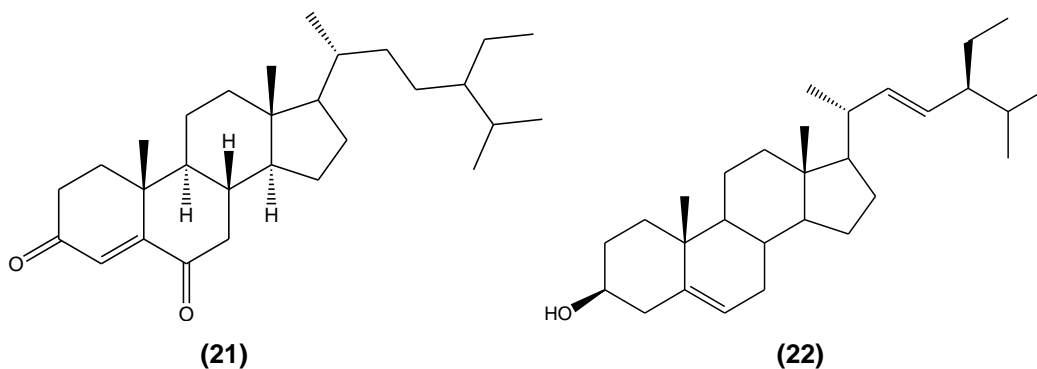
Senyawa steroid yang telah berhasil diisolasi oleh Emrizal dkk. (2014) dari ekstrak *n*-heksan sirih merah *P. crocatum* adalah  $\beta$ -sitosterol (19). Dua senyawa fitosterol yaitu stigmastan-3,6-dion (20) dan stigmast-4-en-3,6-dion (21) telah diisolasi oleh Wei, dkk. (2004) dari ekstrak metanol akar *P. nigrum* yang berasal dari Hainan, China. Senyawa diketosteroid (20) juga telah diisolasi oleh Ghosh dan Bhattacharya (2005) dari ekstrak petroleum eter *P. betle*. Stigmasterol (22) telah diisolasi dari ekstrak diklorometan akar *P. dilatatum* Rich (Santos, dkk., 2013).



(19)



(20)

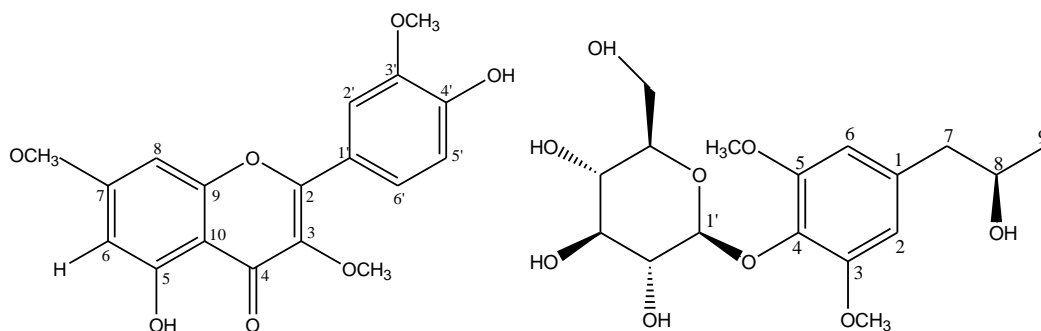
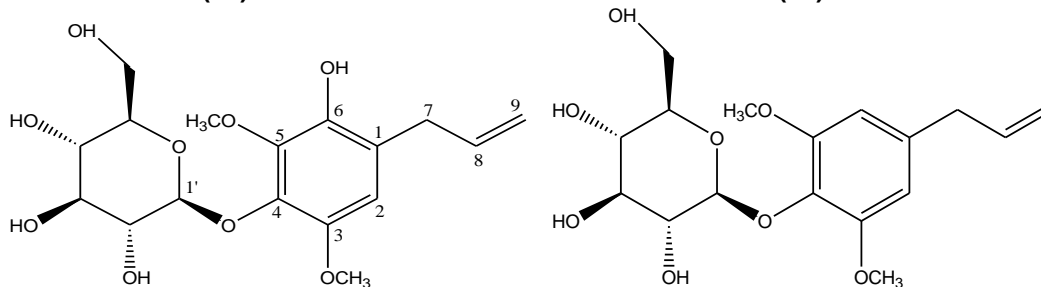
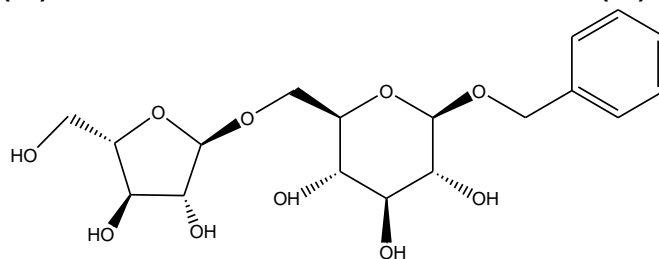
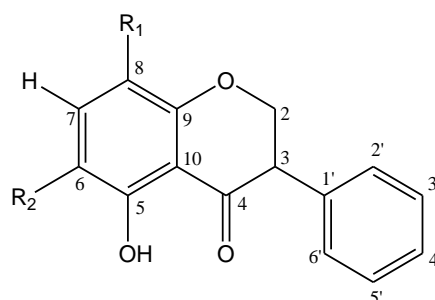


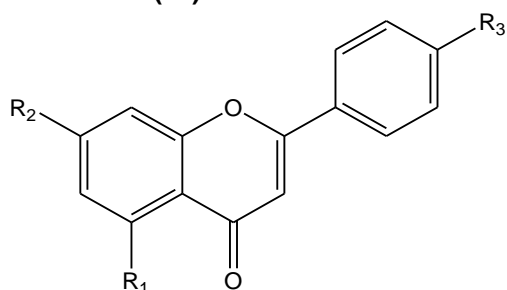
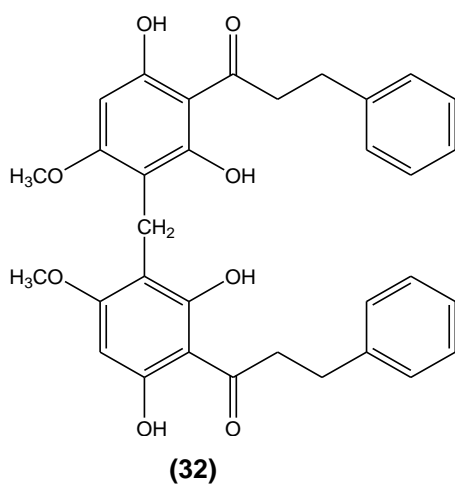
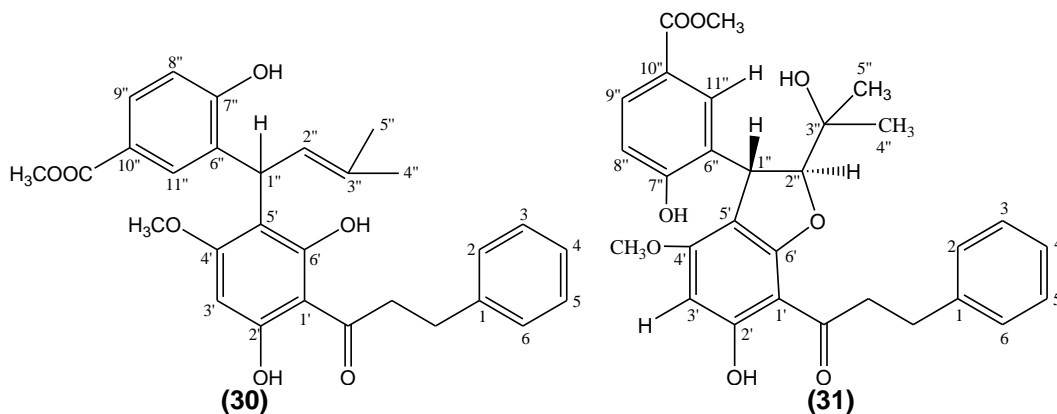
### c. Flavonoid

Metabolit sekunder golongan flavon yang telah diisolasi oleh Arbain dkk. (2018) dari ekstrak etil asetat daun sirih merah *P. crocatum* Ruiz & Pav adalah 4',5-dihidroksi-3,3',7-trimetoksiflavin (pachypodol) **(23)**. Dua senyawa baru glukosida fenol telah diisolasi oleh Li, dkk. (2019) dari ekstrak metanol daun *P. crocatum*, yaitu pipericroside A **(24)** dan B **(25)**, serta senyawa erigeside (II) **(26)** dan fenil metil 6-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosil- $\beta$ -D-glukopiranosida **(27)**. Dua senyawa isoflavan-4-on baru (28, 29) telah diisolasi dari ekstrak etanol batang *P. chaba* Hunter, yaitu 5, 8-dihidroksi-6, 7-dimetil isoflavan-4-on **(28)** dan 5, 6-dihidroksi-7, 8-dimetil isoflavan-4-on **(29)** (Roy, dkk., 2018).

Tiga senyawa dihidrokalkon baru yang diisolasi dari ekstrak metilen klorida daun *P. aduncum* adalah piperaduncin A atau metil 3- {1-[2,4-dihidroksi-6-metoksi-3-(3-fenilpropanoil)-fenil]-3-metil-2-butenil}-4-hidroksi benzoate **(30)**, piperaduncin B atau metil 4-hidroksi-3-{2,3-dihidro-2-(1-hidroksi-1-metil-etil) -6-hidroksi-4-metoksi-7-(3-fenil propanoil) -benzo {b} furan-3-il}benzoat **(31)**, dan piperaduncin C atau bis- $\{\alpha,\beta$ -dihidro-2',6'-dihidroksi-4'-metoksi-kalkon-5'-il}metana **(32)** (Orjala, dkk., 1994). Enam flavonoid telah diisolasi dari ekstrak metanol batang *P. caninum*, yaitu 5,7

-dimetoksiflavanon (**33**), 5,7-dimetoksiflavin (**34**), 4',5,7-trimetoksiflavin (**35**), 4'-hidroksi-5,7-dimetoksiflavin (**36**), 5-hidroksi-7-metoksiflavin (**37**), 2'-hidroksi-4',6'-dimetoksikalkon (**38**) (Salleh, dkk., 2015). Senyawa (11) dan (16) telah diisolasi juga oleh Wu, dkk. (2002) dari ekstrak air akar *P. methysticum*.

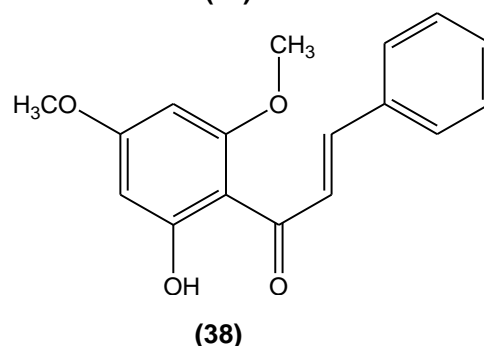
**(23)****(24)****(25)****(26)****(27)****(28)** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>**(29)** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OH



(35)  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$

(36)  $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{OH}$

(37)  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$ ,  $R_3 = \text{H}$



#### d. Fenilpropanoid

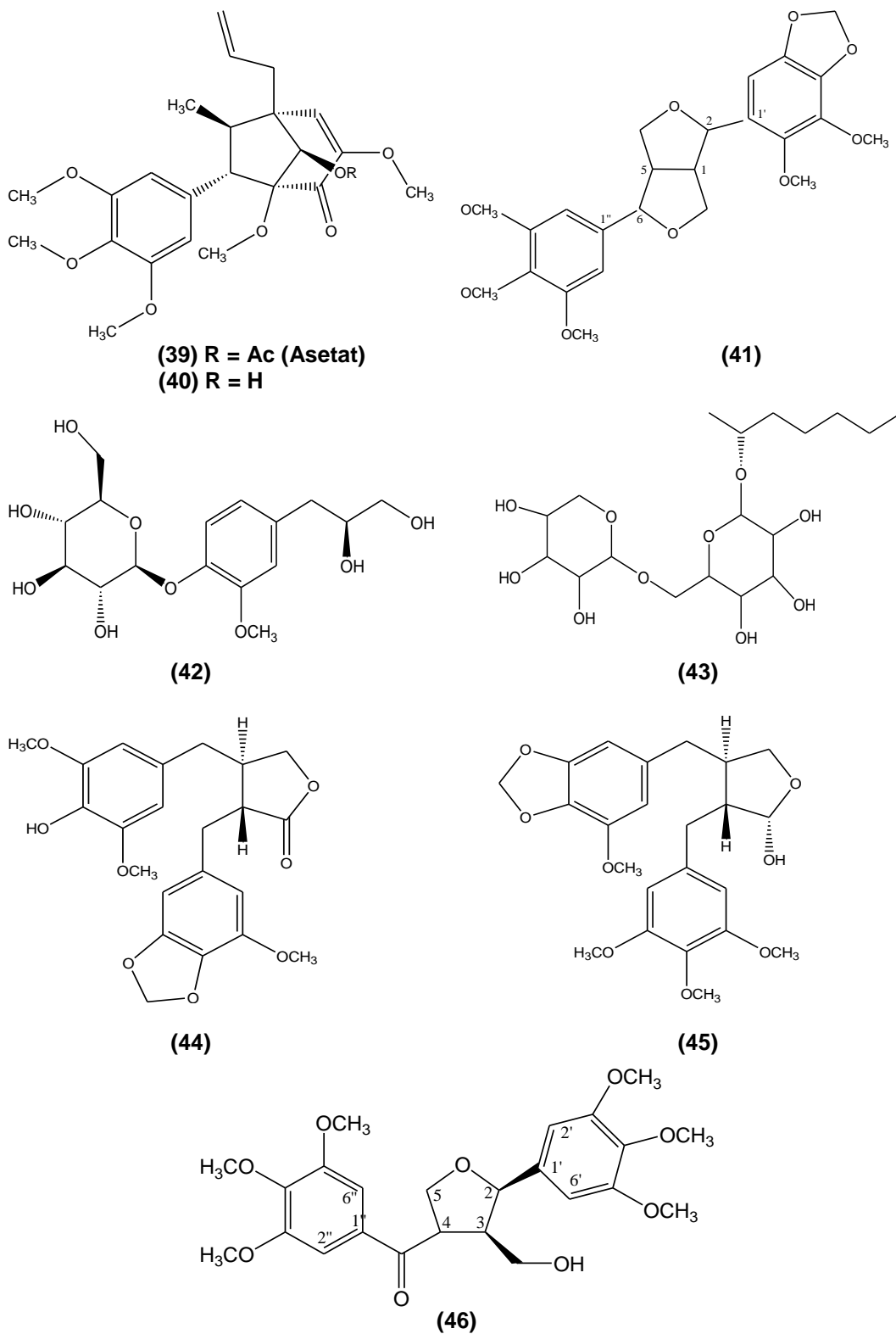
Senyawa neolignan yang telah diisolasi oleh Arbain dkk. (2018) dari ekstrak etil asetat daun sirih merah *P. crocatum* Ruiz & Pav, yaitu (1'*R*,2'*R*,3'*S*,7*S*,8*R*)- $\Delta$ 5',8'-2'-asetoksi-3,4,5,3',5'-pentametoksi-4'-okso-8.1', 7.3'-neolignan (crocatin A) (39), (1'*R*,2'*R*,3'*S*,7*S*,8*R*)- $\Delta$ 5',8'-2'-hidroksi-

3,4,5,3',5'-pentametoksi-4'-okso-8.1',7.3'-neolignan (crocatin B) **(40)**. Senyawa lignan telah diisolasi oleh Emrizal dkk. (2014) dari ekstrak *n*-heksan sirih merah *P. crocatum* adalah 2-(5',6'-dimetoksi-3',4'-metilen dioksi fenil)-6-(3'',4'',5''-trimetoksi fenil)-3,7-dioksa-bisiklo [3,3,0] oktan **(41)**. Senyawa baru fenilpropanoid dan alkil glikosida yang telah diisolasi dari sirih *P. retrofractum* adalah piperoside atau 2(*R*)-3-(4'-*O*- $\beta$ -*D*-glukopiranosil-3'-metoksifenil)propan-1,2-diol **(42)** dan senyawa 2(*S*) isoheptanol 2-*O*- $\beta$ -*D*-xilopiranosil (1-->6)-*O*- $\beta$ -*D*-glukopiranosida **(43)** (Luyen, dkk., 2014).

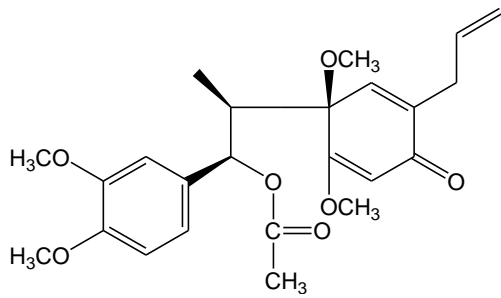
Dua senyawa lignin telah diisolasi oleh Usia, dkk., (2005) dari *P. cubeba*, yaitu (8*R*,8'*R*)-4-hidroksi cubebinon **(44)** and (8*R*,8'*R*,9'*S*)-5-metoksi clusin **(45)**. Senyawa baru furanoid lignin yang telah diisolasi dari ekstrak metanol batang *P. arborescens* adalah arborone **(46)**. Tiga senyawa neolignan telah diisolasi dari ekstrak diklorometan batang *P. wightii*, yaitu (1'*R*, 2'*R*, 4*R*)-4-{2'-asetoksi-2'-(3,4-dimetoksifenil)-1'-metil-etil} -4,5-dimetoksi-2- (2-propenil) sikloheksa-2,5-dien-1-on **(47)**, (2*R*,3*S*, 3*aS*)-2-(3,4-dimetoksifenil)-3, 3*a*-dihidro-5-metoksi-3-metil-3*a*- (2-profenil)-2*H*-benzofuran-6-on **(48)**, dan futokuinol **(49)**, serta satu senyawa neolignan yang diisolasi dari ekstrak metanol buah *P. wightii* adalah (2*R*,3*R*,3*aR*,7*aS*)-2-(1,3-benza dioksol-5-il)-3,3*a*,7,7*a*-tetra hidro-3*a*, 7*a*, dimetoksi-3-metil-5-(2-profenil)-2*H*-benzofuran-6-on **(50)** (Boll, dkk., 1996).

Empat senyawa fenilpropanoid, yaitu  $\gamma$ -asarone atau 1-allil-2,4,5-trimetoksi benzena **(51)**,  $\alpha$ -asarone atau 1-(1-*E*-profenil)-2,4,5 trimetoksi benzena **(52)**, asaricin atau 1-allil-2-metoksi-4,5-metilendioksi benzena **(53)**, dan 1-allil-2,6-dimetoksi-3,4-metilendioksibenzena **(54)** telah diisolasi

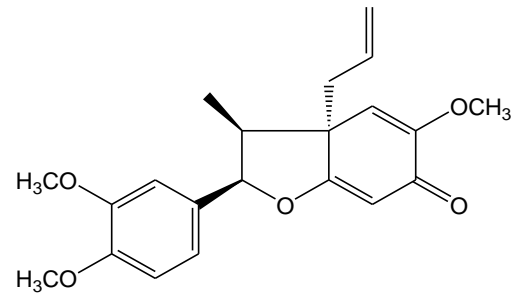
dari ekstrak air daun *P. Sarmentosum* (Masuda, dkk., 1991). Dua neolignan baru telah diisolasi dari ekstrak metanol batang *P. kadsura*, yaitu piperkadsin A (**55**) dan piperkadsin B (**56**) (Lin, dkk., 2006).



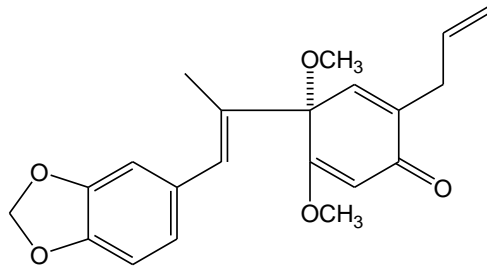




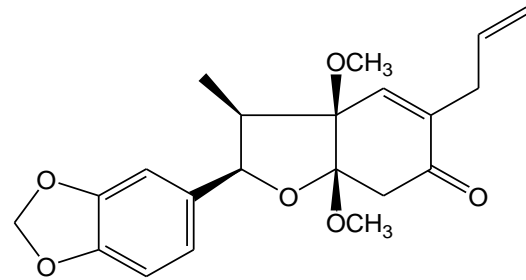
(47)



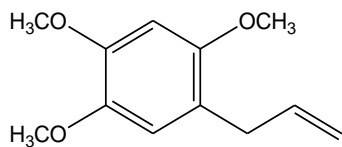
(48)



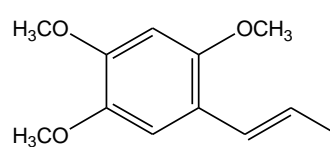
(49)



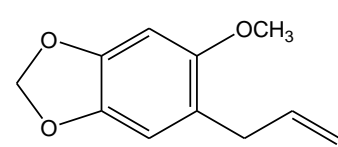
(50)



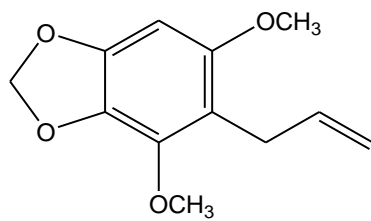
(51)



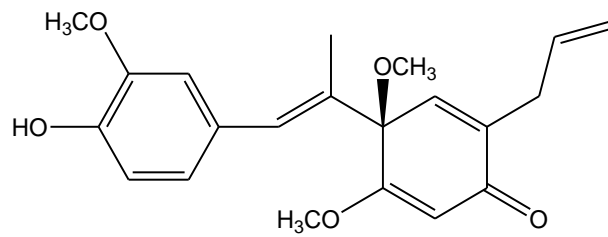
(52)



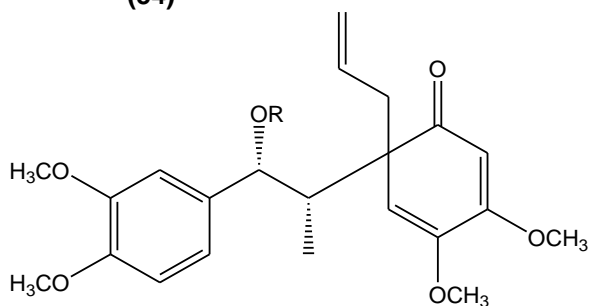
(53)



(54)



(55)



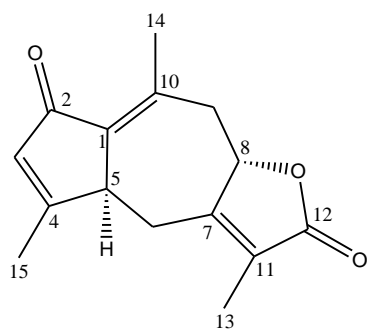
(56) R = asetil

### e. Terpen

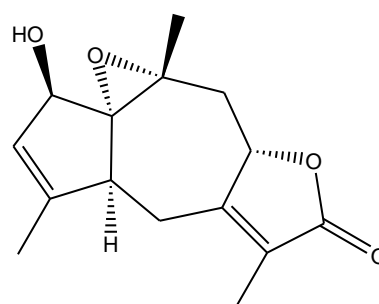
Dua senyawa seskuiterpen telah diisolasi oleh Usia, dkk., (2005) dari ekstrak air *P. cubeba*, yaitu (5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ )-2-okso-1(10),3,7(11)-guaiatrien-

12,8-olide **(57)** dan  $(1\alpha,2\beta,5\alpha,8\alpha,10\alpha)$ -1,10-epoksi-2-hidroksi-3,7(11)-guaadien-12,8-olide **(58)**. Alves dkk. (2017) telah berhasil mengisolasi senyawa monoterpen dihidrokalkon dari ekstrak metanol *P. montealegreanum* Yuncker, diantaranya: claricine atau 2'-metoksi-3'-formil-4',6'-dihidroksi-5'-metil fenil)-[3''-(7''-dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroksi)-siklo heksa-2''-enil]-metil-9-on **(59)** dan maisine atau 2'-metoksi-3'-formil-4',6'-dihidroksi-5'-metilfenil)-[3''-(6'-hidroksi-7''metilpentenil)-7-fenil-(3-hidroksi)-sikloheksa-2''-enil]-metil-9-on **(60)**. Senyawa seskuiterpen guaiane telah diisolasi dari ekstrak metanol *P. kadsura* yakni kadsuguain A atau  $1\alpha,5\beta$ -guai-4(15)-ene-6 $\beta$ ,10 $\beta$ -diol (Kim, dkk., 2011) **(61)**.

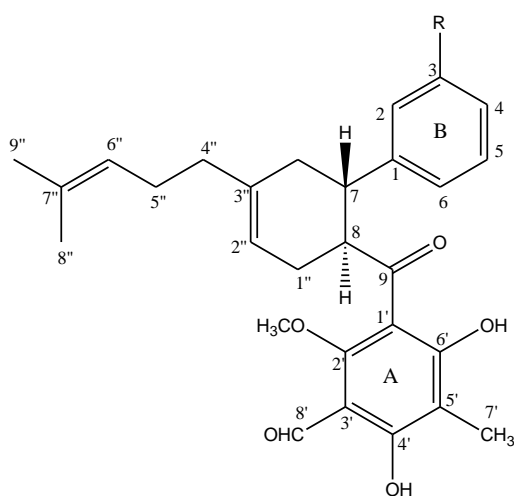
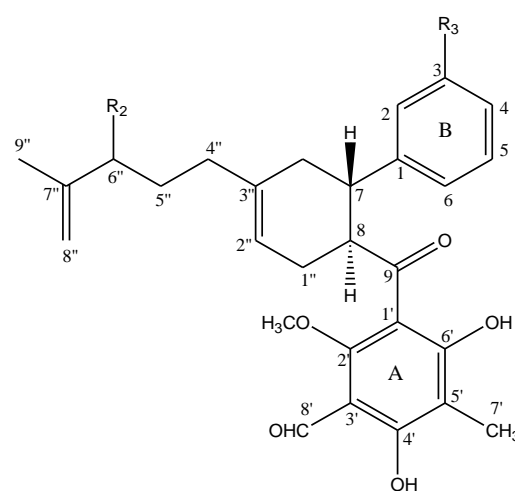
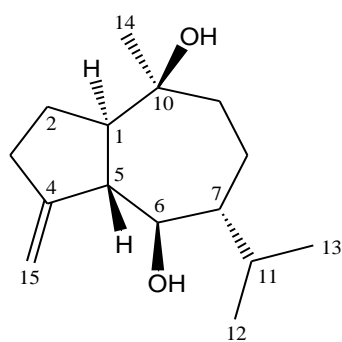
Selanjutnya, Orjala, dkk. (1993) telah berhasil memperoleh seskuiterpen dari ekstrak petroleum daun sirih *P. aduncum* L.. Senyawa tersebut adalah viridiflorol **(62)**, cubebol **(63)**, spathulenol **(64)**, dan caryophyllenol-11 **(65)**. Senyawa monoterpen dan seskuiterpen, yaitu linalool atau 3,7-dimetil-1,6-oktadien-3-ol **(66)** dan nerolidal atau 3,7,11-trimetildodeka-1,6,10-trien-3-ol **(67)** telah diisolasi dari daun *P. clausenianum* (Miq.) C. DC (Marques, dkk., 2017). Facundo dkk. (2012) telah berhasil mengisolasi senyawa diterpen dari ekstrak etanol daun *P. renitens* yakni ent-kauran-16 $\alpha$ ,17-diol **(68)**. Empat senyawa triterpen telah diisolasi oleh Shi, dkk., (2015) dari batang *P. wallichii*, diantaranya: 2-okso-3 $\beta$ ,19 $\alpha$ ,23-trihidroksi-12-en-28-oat atau asam  $\beta$ -D-glukopiranosil ester **(69)**, arjunoglukosida II **(70)**, 2 $\alpha$ -3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -trihidroksil-12-en-28-oat atau asam 28-O- $\beta$ -D-glukopiranosida **(71)**, dan nigaichigosida **(72)**.



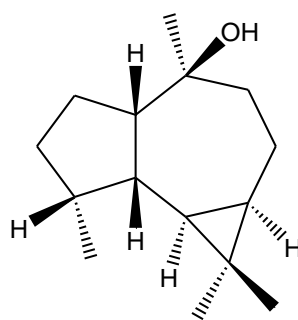
(57)



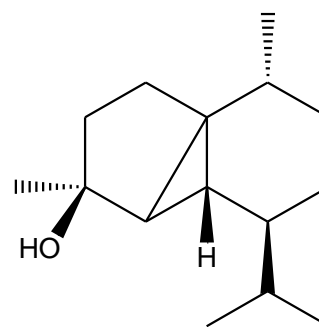
(58)

(59) R = OH  
(59a) R = COOCH<sub>3</sub>(60) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH  
(60a) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = COOCH<sub>3</sub>

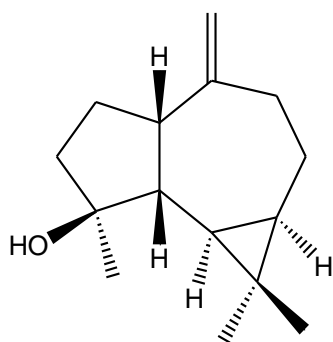
(61)



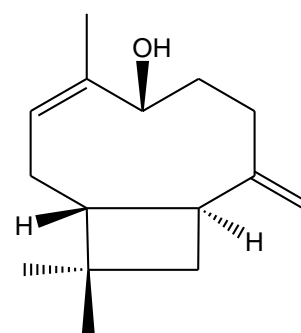
(62)



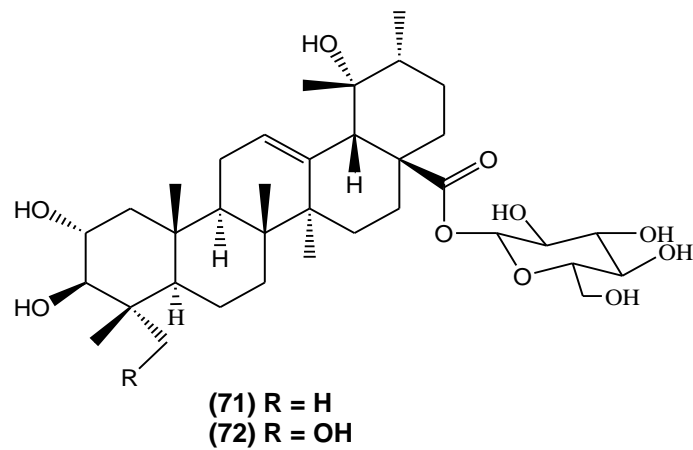
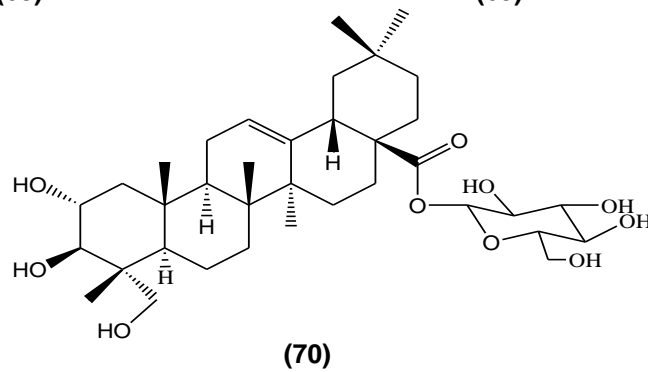
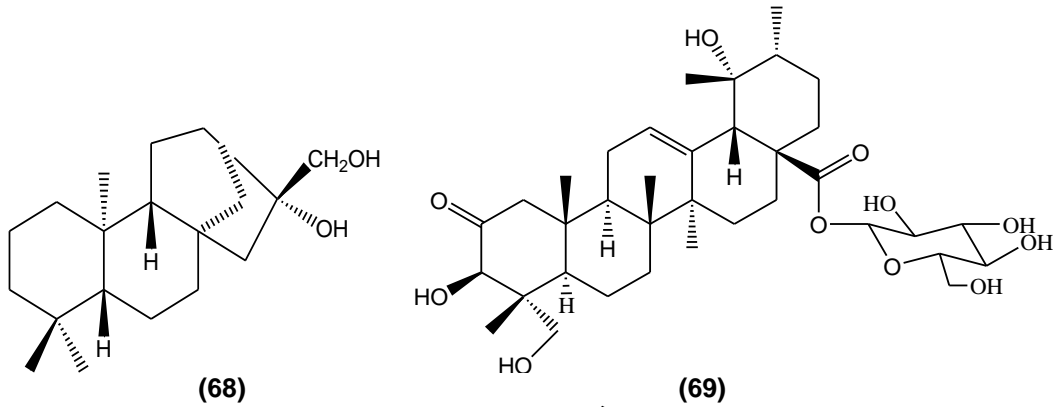
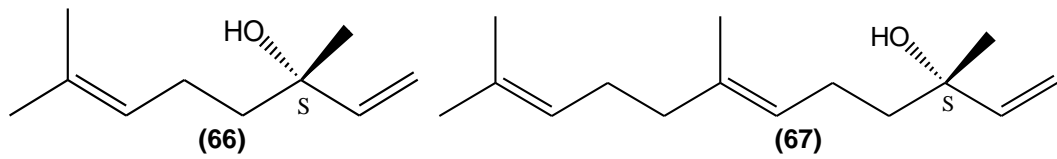
(63)



(64)



(65)



### C. Sirih Merah *Piper crocatum*

#### 1. Taksonomi *P. crocatum*

Sirih merah *Piper crocatum* Ruitz & Pay adalah tumbuhan merambat atau menjalar dengan panjang dapat mencapai sekitar 5-10 m,

batang bulat, hijau merah keunguan, beruas dengan panjang ruas 3-8 cm, pada setiap buku tumbuh satu daun. Daun tunggal, kaku, bentuk daun menjantung-membulat, permukaan helaian daun bagian atas rata agak cembung, mengilat, permukaan helaian daun bagian bawah mencekung dengan pertulangan daun yang menonjol, panjang daun 6,1-14,6 cm, lebar daun 4-9,4 cm, warna dasar daun hijau pada kedua permukaannya, bagian atas hijau dengan garis-garis merah jambu kemerahan, permukaan bagian bawah hijau merah tua keunguan. Tangkai daun hijau merah keunguan dengan panjang 2,1-6,2 cm (Astuti dan Munawaroh, 2011).

Karakter morfologi daun sirih merah *P. crocatum* adalah mempunyai bentuk daun yang cukup bervariasi antara daun muda (fase muda) dan daun pada cabang yang akan menghasilkan alat reproduksi (fase dewasa). Saat muda umumnya mempunyai bentuk daun menjantung-membulat telur dan pada fase dewasa (siap menghasilkan alat reproduksi) terjadi perubahan bentuk daun dari membulat telur-melonjong (Astuti dan Munawaroh, 2011).



**Gambar 1.** Sirih Merah *P. crocatum*

Klasifikasi sirih merah *P. crocatum* (GBIF, 2020) yang menjadi objek penelitian ini adalah sebagai berikut:

|          |                                     |
|----------|-------------------------------------|
| Kerajaan | : Plantae                           |
| Divisi   | : Tracheophyta                      |
| Kelas    | : Magnoliopsida                     |
| Bangsa   | : Piperales                         |
| Famili   | : Piperaceae                        |
| Marga    | : <i>Piper</i> L.                   |
| Spesies  | : <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav. |

## 2. Kemotaksonomi

Pengelompokan kekerabatan dari tanaman sirih didasarkan pada kandungan senyawa kimia yang memiliki kemiripan dalam sirih tersebut. Berdasarkan literatur tentang fitokimia spesies sirih merah *P. Crocatum* memiliki kandungan senyawa alkaloid, terpen, steroid, dan fenilpropanoid. Beberapa senyawa tersebut memiliki bioaktivitas sebagai antikanker, antibakteri, dan toksik terhadap *A. salina* L. Senyawa flavonoid dan polifenolat bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. Sedangkan senyawa alkaloid mempunyai sifat antineoplastik dan juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Fadlilah, 2015).

Tabel 2. Sirih Merah *P. crocatum* dan Bioaktivitasnya

| Bagian tumbuhan, ekstrak              | Senyawa                   | Bioaktivitas  |
|---------------------------------------|---------------------------|---|
| <i>Piper crocatum</i> (daun, metanol) | Erigeside (II) <b>(2)</b> | Menunjukkan aktivitas penghambatan epoksida hidrolase larut (sEH) dengan nilai IC <sub>50</sub> 58,5 µM (Li, H. X., dkk., 2019). sEH telah dianggap sebagai target terapi potensial untuk penyakit vaskular (Bai, M. M., 2015). |
| <i>Piper crocatum</i> (daun, metanol) | Pachypodol <b>(23)</b>    | Menunjukkan aktivitas penghambatan T-00127-HEV1 pada aktivitas PI4KB secara in vitro yang menekan replikasi Polio virus (PV) dengan nilai IC <sub>50</sub> 76 nM (Arita, dkk., 2015; Arban, dkk., 2018).                        |

#### D. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan pengujian senyawa secara umum yang dapat mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Korelasi positif ditemukan antara toksisitas BSLT dan sitotoksitas terhadap 9 kB sel karsinoma nasofaring manusia maupun untuk sel P-388 leukemia secara *in vivo* (Colegate dan Molyneux, 2007). Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach merupakan uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik.

Senyawa murni digolongkan tidak aktif terhadap *A. salina* jika memiliki nilai LC<sub>50</sub> > 200 µg/mL, sedangkan ekstrak > 500 µg/mL. Ekstrak atau senyawa yang tergolong aktif terbagi menjadi dua kategori, yaitu toksisitas tinggi untuk LC<sub>50</sub> < 100 µg/mL dan toksisitas rendah untuk LC<sub>50</sub> > 100 µg/mL (Anderson, dkk., 1991). Selanjutnya, suatu ekstrak aktif

masuk dalam kategori toksik jika memiliki nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ , sedangkan untuk suatu fraksi dan senyawa jika nilai  $LC_{50\text{-nya}} < 30 \mu\text{g/mL}$  (Meyer, dkk., 1982).

Nilai  $LC_{50}$  merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Melalui metode tersebut, pelaksanaan skrining awal suatu senyawa aktif akan berlangsung relatif cepat dengan biaya yang relatif murah. Hal ini terjadi karena nilai  $LC_{50}$  dapat berfungsi seleksi awal sehingga hanya ekstrak atau senyawa yang memiliki aktivitas antikanker menurut metode BSLT tersebut yang selanjutnya diuji efek antikankernya terhadap biakan sel kanker (Millati, 2016). Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa-senyawa yang terkandung dalam selnya yang dapat menghambat daya makan larva (Millati, 2016). Skrining bioaktivitas siri merah *P. crocatum* yang dilakukan oleh (Emrizal, dkk., 2014) terhadap *Artemia salina* Leach melaporkan bahwa ekstrak metanol, *n*-heksan, etil asetat, dan butanol memiliki nilai  $LC_{50}$  secara berturut-turut, yaitu  $27,40 \mu\text{g/mL}$ ;  $2,04 \mu\text{g/mL}$ ;  $1,34 \mu\text{g/mL}$ , dan  $2,08 \mu\text{g/mL}$ .

## E. Bioaktivitas Demam Berdarah

### 1. Defenisi

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) adalah infeksi yang disebabkan oleh virus *dengue*. *Dengue* adalah virus penyakit yang ditularkan dari nyamuk *Aedes* sp, nyamuk yang paling cepat berkembang di dunia ini telah menyebabkan hampir 390 juta orang terinfeksi setiap tahunnya. (Kemenkes RI, 2018).



Beberapa daerah di Indonesia mengalami peningkatan kasus DBD seperti Kabupaten Kuala Kapuas Provinsi Kalimantan Tengah, Manggarai Barat Provinsi NTT, Sulawesi Utara, dan daerah lainnya di Indonesia. Data dari Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, Kementerian Kesehatan (Kemenkes) RI menyebutkan bahwa distribusi penyakit suspek DBD sejak minggu pertama 2018 hingga minggu pertama 2019 tertinggi ada di Jawa Timur dengan jumlah suspek DBD 700 orang, diikuti Jawa Tengah 512 orang, dan Jawa Barat 401 orang (Depkes, 2019).

## **2. Antivirus *Dengue***

Metode yang digunakan dalam pengujian antivirus *dengue* adalah WST-1 Assay (Francoeur dan Assalian, 1996) (Roche, 2007). Hasil  $CC_{50}$  yang diperoleh dapat dilanjutkan dengan menghitung titer virus. Berbagai metode dapat digunakan untuk menghitung titer virus, yaitu 50 % Tissue Culture Dose ( $TCID_{50}$ ), Flow Cytometry-Based Assay, Transmission Electron Microscopy (TEM), Fluorescent Focus Assay (FFA), dan Plaque Assay (Labarre, dkk., 2001). Salah satu metode yang digunakan oleh Lambeth, dkk., (2005) adalah metode Plaque Assay, metode yang lebih sensitif dan dapat digunakan untuk menentukan jumlah titer virus yang relatif rendah atau sedikit.

## **F. Kerangka Pikir**

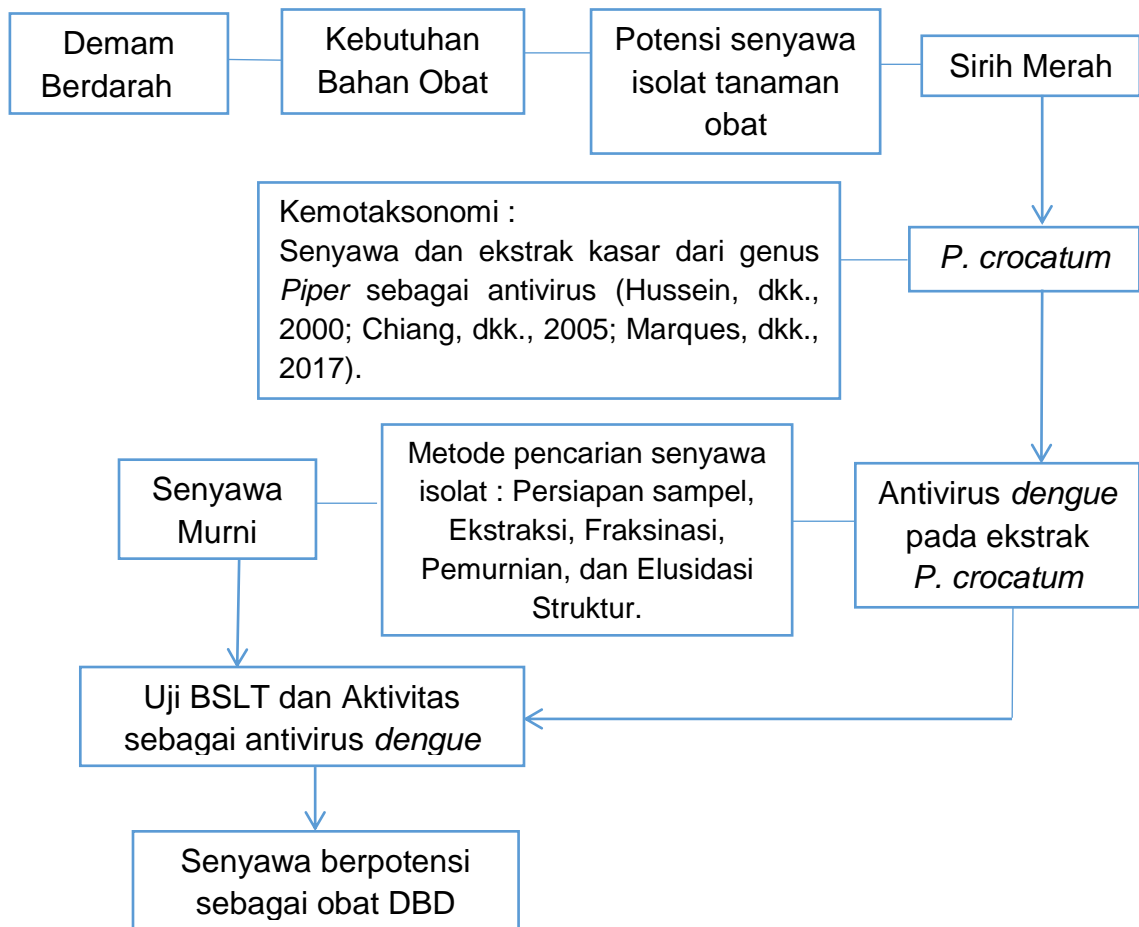
Demam berdarah menjadi penyebab kematian dan rawat inap di negara-negara Asia dan Amerika Latin termasuk Indonesia. Akan tetapi, sampai saat ini belum ada pengobatan spesifik untuk demam berdarah.

Beberapa negara endemik DBD menggunakan vaksin Dengvaxia, namun memiliki resiko dan berbahaya bagi yang belum terjangkit virus DBD. Kondisi ini menyebabkan perlunya dilakukan upaya untuk menangani penyakit demam berdarah dengan mencari senyawa isolat dari bahan alam yang berpotensi sebagai anti *dengue hemorrhagic fever* (DHF).

Salah satu tanaman yang dapat menghasilkan senyawa isolat dengan potensi antivirus adalah sirih. Sirih merah (*Piper crocatum*) adalah spesies sirih yang termasuk ke dalam genus *piper* dan digunakan masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, seperti TBC, diabetes, jantung, sariawan, dan batuk. Sirih merah menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri, antikanker, dan antivirus sehingga ekstrak atau senyawa isolat dari sirih merah *P. crocatum* diharapkan memiliki aktivitas antivirus.

Adapun metode yang digunakan untuk mengisolasi senyawa dari sirih merah, yaitu persiapan sampel, ekstraksi, fraksinasi, pemurnian, dan elusidasi struktur. Elusidasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan melalui analisis data spektroskopi IR dan NMR. Selanjutnya, senyawa isolat dianalisis untuk mengetahui toksisitas terhadap benur udang *A. salina*. Hasil uji toksisitas ekstrak dan senyawa isolat dari sirih merah *P. crocatum* merupakan uji pendahuluan yang berkorelasi positif dengan uji bioaktivitas lainnya seperti antivirus.

Berdasarkan hal yang telah diuraikan, maka dilakukan penelitian terhadap sirih merah *P. crocatum* untuk mendapatkan ekstrak atau senyawa aktif yang berpotensi sebagai antivirus *dengue*. Untuk lebih jelasnya, kerangka pikir penelitian ini dipapar dalam Gambar 2



**Gambar 2.** Diagram Kerangka Pikir

### G. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kajian pustaka yang telah dikemukakan maka dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. senyawa Isolat dari ekstrak aseton daun sirih merah *P. crocatum* memiliki potensi sebagai anti virus *dengue*,
2. senyawa flavonoid dan fenilpropanoid terdapat pada ekstrak aseton daun sirih merah *P. crocatum*.