

**PENELUSURAN METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK
ASETON ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.) DAN
POTENSI EKSTRAK SEBAGAI ANTIVIRUS *DENGUE***

THE INVESTIGATION OF SECONDARY METABOLITES
ACETONE EXTRACT OF ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*
L.) AND EXTRACT POTENT AS ANTIVIRAL *DENGUE*

FELYCITAE EKALAYA APPA



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

**PENELUSURAN METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ASETON
ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.) DAN POTENSI EKSTRAK
SEBAGAI ANTIVIRUS *DENGUE***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Kimia

Disusun dan diajukan oleh:

FELYCITAE EKALAYA APPA

Kepada

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

TESIS

**PENELUSURAN METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ASETON ROSEMARY
(*Rosmarinus Officinalis* L.) DAN POTENSI EKSTRAK SEBAGAI
ANTIVIRUS *DENGUE***

Disusun dan diajukan oleh :

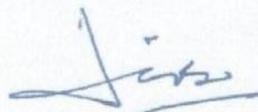
**FELYCITAE EKALAYA APPA
Nomor Pokok : H012181015**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
Pada Tanggal 28 Desember 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Komisi Penasehat

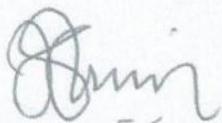


Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS
Ketua



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 : Felycitae Ekalaya Appa
Nomor Mahasiswa : H012181015
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, 04 Januari 2021
Yang menyatakan



Felycitae Ekalaya Appa

PRAKATA

Syalom.....

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, karunia dan kasih setiaNya yang sangat besar sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul “**Penelusuran Metabolit Sekunder Ekstrak Aseton Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Dan Potensi Ekstrak Sebagai Antivirus *Dengue***” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar magister pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin Makassar.

Limpahan rasa hormat panulis persembahkan kepada orang tua tercinta (**Bartholomeus Appa** dan **Rosalina Ruruk**) yang senantiasa mendukung dalam doa, memberikan kasih sayang, selalu sabar, serta selalu memberikan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian ini. Buat adik terkasih **Zimeone Dwisanggalaya Appa** terima kasih atas kehangatan, kepedulian, serta kasih sayang yang selalu terjalin antara kita berdua.

Ungkapan terimna kasih dan penghargaan yang sebesar-besarya kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS** selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik, serta bapak **Dr. Firdaus, M.S** selaku pembimbing pertama yang telah memberikan saran serta solusi yang sangat berharga dalam menyusun hasil penelitian ini. Terima kasih pula telah bersabar serta meluangkan waktu dalam membimbing penulis.

Penulis meminta maaf atas segala perilaku serta ucapan yang tidak berkenan selama penelitian hingga penyusunan laporan hasil penelitian ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc, Dr. Paulina Taba, M.Phil dan Dr. Seniwati Dali, M.Si, selaku komisi penilai, terima kasih atas masukan yang telah diberikan demi penyempurnaan penulisan tesis,
2. Dr. Hasnah Natsir, M.S, selaku ketua program studi ilmu kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin terima kasih atas motivasi dan bantuannya,
3. Dekan Fakultas MIPA, Ketua Jurusan Kimia FMIPA dan seluruh dosen Kimia pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah membagi ilmunya serta seluruh staf Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya,
4. Kepala Laboratorium dan seluruh Staff Laboratorium Kimia Analitik, Kimia Anorganik, Kimia Fisika, Biokimia, Kimia Organik dan IPA Terpadu FMIPA Universitas Hasanuddin. Laboratorium Kimia Analitik, Laboratorium kimia terpadu FMIPA Universitas Hasanuddin, Laboratorium Science Building Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala bantuan fasilitas yang telah diberikan selama proses penelitian,
5. Prof. Yana Maolana Syah, MS, Ph.D selaku penasehat penelitian, kepala dan seluruh staff Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam,

Laboratorium Spektroskopi Massa dan NMR Fakultas MIPA Institut Teknologi Bandung, serta kepala dan seluruh staff Laboratorium *Dengue* Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga atas segala bantuan fasilitas yang telah diberikan selama proses penelitian,

6. Fernando Magnis Gara, rekan terkasih yang selalu membantu dalam pengerjaan gambar, memberi semangat dan doa,
7. Rekan-rekan kelompok penelitian kimia organik, terkhususnya tim panel penelitian Septaria Yolana Kalalinggi dan Nur Awaliah atas segala bantuan, dukungan, masukan, saran, doa dan semangatnya.
8. Teman-teman yang termasuk dalam Himpunan Mahasiswa Pasca Sarjana Kimia Unhas dan teman-teman seperjuangan Kimia Pascasarjana angkatan 2018: Surya Pranowo, Nur Afni, Asriani, Yusriadi, Rafsanjani R., Adji Permatasari, Andi Fiqrah P., Musrifah T., Hera, Sulfitri, Marinda, Mifta Nurjannah dan Nada Pertiwi, terima kasih atas bantuan dan semangatnya.
9. Saudara-saudara PA: kak Yanti Sunaidi (kakak PA), Septaria Yolana KL, dan Dwi Niche yang saling menguatkan dalam segala persoalan melalui doa, sharing bersama, serta bertumbuh bersama dalam iman.
10. Rekan-rekan Kimia **H3120ES** dan sahabatku (Septaria Yolana KL, Yenni Oktaviani, Agustina Lopang, Annisa Nur Khaeruni, Sumarni Sarah, Yinvelia Pratiwi, Novianti) yang tak pernah lelah memberi semangat dan motivasinya serta selalu membantu dan membagi ilmu serta cerita selama penelitian.

11. Seluruh saudara seiman dalam GMKI Kom. FMIPA Unhas dan PMKO
Filadelfia MIPA-Farmasi Unhas.

12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu semoga
Tuhan senantiasa membalas dengan berkat yang berlipat ganda

Penulis menyadari bahwa apa yang disajikan dalam tesis ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhirnya, penulis berharap semoga laporan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada para peneliti selanjutnya dalam bidang Kimia Organik, khususnya bidang isolasi.

Terima kasih.

Makassar, Desember 2020

Penulis

Felycitae Ekalaya Appa

ABSTRAK

FELYCITAE EKALAYA APPA: Penelusuran Metabolit Sekunder Ekstrak Aseton Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Dan Potensi Ekstrak Sebagai Antivirus *Dengue*.

(Dibimbing oleh: Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS dan Dr. Firdaus, M.S)

Rosmarinus officinalis L. (rosemary) merupakan *medicinal and aromatic plants* (MAPs) yang mulai di budidayakan di Indonesia sebagai bahan makanan (rempah-rempah) dan bahan obat. Penelitian mengenai aktivitas ekstrak rosemary sebagai antivirus HIV-1, MV, hSRV, HSV-1 dan HSV-2 telah dilaporkan, sehingga tujuan penelitian ini adalah mengisolasi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak aseton rosemary serta menganalisis potensi ekstrak sebagai antivirus *dengue*. Metode yang digunakan di antaranya evaporasi, fraksinasi, pemurnian, identifikasi, dan karakterisasi senyawa menggunakan NMR 1D dan 2D. Pengujian Antivirus *dengue* dilakukan dengan analisis daya hambat (IC_{50}) menggunakan metode Viral ToxGlo, efek sitopatik sel (CC_{50}), dan selektivitas Index (SI). Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak diperoleh golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi adalah apigenin 7,4'-dimetileter dengan jalur biogenesis shikimat. Carnosol, betulin, dan asam betulinik dengan jalur biogenesis mevalonat. Sementara itu, hasil uji bioaktivitas ekstrak aseton terhadap virus *dengue* adalah $IC_{50} < 0,5 \mu\text{g/mL}$, $CC_{50} 69,65 \mu\text{g/mL}$, dan SI 183,7 7. Berdasarkan nilai hasil uji tersebut maka dapat dinyatakan bahwa ekstrak aseton rosemary yang diperoleh sangat berpotensi sebagai antivirus *dengue* serta dapat dikembangkan sebagai obat Demam Berdarah Dengue (DBD).

Kata kunci: *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary), Ekstrak Aseton, Antivirus *dengue*.

ABSTRACT

FELYCITAE EKALAYA APPA: *The Investigation Of Secondary Metabolites Acetone Extract Of Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) And Extract Potent As Antiviral Dengue*

(Guided by: Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS dan Dr. Firdaus, M.S)

Rosmarinus officinalis L. (rosemary) is a medicinal and aromatic plants (MAPs) which is being cultivated in Indonesia as a food ingredient (spices) and medicinal ingredients. Research on rosemary extract activity as antiviral HIV-1, MV, hSRV, HSV-1 and HSV-2 has been reported, so the aim of this study was to isolate the active compound contained in rosemary acetone extract and to analyze the extracts potential as a dengue antiviral. The methods used include evaporation, fractionation, purification, identification, and characterization of compounds using 1D and 2D NMR. Dengue antiviral testing was carried out by analyzed inhibition (IC_{50}) using the Viral ToxGlo method, cell cytopathic effect (CC_{50}), and selectivity index (SI). The results of the phytochemical test on the extracts obtained the alkaloid, flavonoid, phenolic, steroid, and terpenoid compound groups. Secondary metabolite compounds that have been isolated are apigenin 7,4'-dimethyleter with the biogenesis pathway of shikimate. Carnosol, botulin, and betulinic acid with mevalonic biogenesis pathway. Meanwhile, the results of the acetone extract bioactivity test against dengue virus were $IC_{50} < 0.5 \mu\text{g/mL}$, $CC_{50} 69.65 \mu\text{g/mL}$, and SI 183.77. Based on the value of the test results, it can be stated that the acetone extract of rosemary obtained is very potential as a dengue antiviral and can be developed as a Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) drug.

Keywords: Rosmarinus officinalis L. (rosemary), Acetone Extract, Antiviral dengue.

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tumbuhan <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	8
B. Etnobotani Tumbuhan <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	10
C. Kemotaksonomi Tumbuhan <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	12

D. Bioaktivitas Senyawa dan Ekstrak Rosemary	23
E. Uji Toksisitas	28
F. <i>Dengue Hemorrhagic Fever</i> (DHF)	29
G. Kerangka Konseptual	32
H. Hipotesis	34
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	35
A. Waktu Dan Lokasi Penelitian	35
B. Alat dan bahan	35
C. Prosedur penelitian	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	44
A. Hasil Penelitian	44
B. Pembahasan	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	99
A. Kesimpulan	99
B. Saran	100
DAFTAR PUSTAKA	101
LAMPIRAN	112

DAFTAR TABEL

nomor	halaman
1. Senyawa isolat rosemary beserta bioaktivitasnya sebagai antivirus	27
2. Hasil uji fitokimia ekstrak aseton <i>Rosmarinus officinalis</i> L.(rosemary)	44
3. Data spektrum NMR apigenin 7,4'-dimetil eter (1) dalam pelarut CDCl ₃	58
4. Data spektrum NMR carnosol (2) dalam pelarut CDCl ₃	67
5. Data spektrum NMR betulin (3) dalam pelarut CDCl ₃	76
6. Data spektrum NMR asam betulinik (4) dalam pelarut CDCl ₃	88
7. Data hasil uji toksisitas ekstrak aseton rosemary	90
8. Data hasil analisis IC ₅₀ ekstrak aseton rosemary terhadap virus <i>dengue</i>	92
9. Data hasil analisis CC ₅₀ ekstrak aseton rosemary terhadap virus dengue	93

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	2
2. Struktur virus <i>dengue</i>	30
3. Diagram alir kerangka teori penelitian	33
4. Spektrum FTIR ekstrak aseton rosemary	46
5. Kromatogram ekstrak aseton hasil fraksinasi KVC (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	47
6. Kromatogram F_9 hasil fraksinasi KVC (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Dibawah UV <i>long wave</i> (c) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	48
7. Kromatogram F_{9-9} hasil analisis KLT (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	49
8. Kromatogram F_{9-9} hasil kromatotron (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	50
9. Kromatogram F_{9-1011} hasil kromatotron (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	51
10. Kromatogram F_{11} hasil fraksinasi KVC (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	52
11. Kromatogram $F_{11-1213}$ hasil kromatotron (a) Dibawah UV <i>short wave</i> (b) Setelah disemprot penampak noda $Ce(SO_4)_2$	53
12. Spektrum IR senyawa (1)	55

13. Spektrum ^{13}C NMR senyawa (1)	56
14. Spektrum ^1H NMR senyawa (1)	57
15. Struktur molekul senyawa (1)	57
16. Spektrum IR senyawa (2)	59
17. Spektrum ^{13}C NMR senyawa (2)	60
18. Spektrum ^1H NMR senyawa (2)	61
19. Spektrum HSQC senyawa (2)	62
20. Spektrum HMBC senyawa (2)	64
21. Spektrum COSY senyawa (2)	65
22. Spektrum TOCSY senyawa (2)	66
23. Struktur molekul senyawa (2)	67
24. Spektrum IR senyawa (3)	68
25. Spektrum ^{13}C NMR senyawa (3)	69
26. Spektrum ^1H NMR senyawa (3)	71
27. Spektrum HSQC senyawa (3)	72
28. Spektrum HMBC senyawa (3)	74
29. Struktur molekul senyawa (3)	75
30. Spektrum IR senyawa (4)	77
31. Spektrum ^{13}C NMR senyawa (4)	79
32. Spektrum ^1H NMR senyawa (4)	80
33. Spektrum HSQC senyawa (4)	82
34. Spektrum HMBC senyawa (4)	84
35. Spektrum ROESY senyawa (2)	86

36. Struktur molekul senyawa (4)	87
37. Jalur biogenesis senyawa (1)	95
38. Jalur biogenesis senyawa (2)	97
39. Jalur biogenesis senyawa (3) dan (4)	98

DAFTAR LAMPIRAN

nomor	halaman
1. Bagan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak aseton <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (rosemary)	112
2. Skema kerja uji toksisitas (BSLT)	113
3. Bagan uji fitokimia	115
4. Bagan uji antivirus <i>dengue</i>	116
5. Perhitungan rendamen ekstrak aseton rosemary	120
6. Perhitungan pada pengujian BSLT	121
7. Perhitungan pada pengujian antivirus	126
8. Dokumentasi Penelitian	132

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

BSLT	= <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
IC ₅₀	= <i>Inhibitor Concentration 50%</i>
LC ₅₀	= <i>Lethal Concentration 50%</i>
CC ₅₀	= <i>Cytotoxic Concentration 50%</i>
FTIR	= <i>Fourier Transform Infrared</i>
¹ H-NMR	= <i>Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance</i>
¹³ C-NMR	= <i>Carbon Nuclear Magnetic Resonance</i>
HSQC	= <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
HMBC	= <i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
COSY	= <i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>
TOSCY	= <i>Total Correlation Spectroscopy</i>
ROESY	= <i>Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy</i>
DMEM	= <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
MEM	= <i>Minimum Essential Medium</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
PBS	= <i>Phosphate Buffered Saline</i>
UV	= <i>Ultraviolet</i>
KKV	= <i>Kromatografi Kolom Vakum</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Minat manusia dalam menggunakan tanaman obat dan aromatik (MAPs) dalam pengobatan tradisional semakin meningkat setiap tahun akibat tersebar luasnya pengetahuan etnofarmakologis. Hal ini menginspirasi para peneliti untuk mengkaji lebih lanjut penemuan obat dengan menggunakan tanaman aromatik. MAPs mampu menghasilkan metabolit sekunder yang berperan dalam pertahanan diri, memberi aroma, dan berkhasiat sebagai obat (Andrade, dkk., 2018), adapun jenis tumbuhan yang tergolong dalam MAPs adalah rempah-rempah.

Rempah-rempah memiliki banyak kegunaan yaitu sebagai pisa, pewarna, dan pengawet. Penyebaran rempah-rempah sangat luas meliputi seluruh benua. Benua Asia merupakan salah satu benua terbesar di dunia dengan 60% populasi penduduk. Negara-negara yang tergolong dalam benua ini merupakan negara penghasil rempah-rempah terbesar di dunia (Handa, dkk., 2006). Negara-negara Asia yang telah berabad-abad lamanya memanfaatkan rempah-rempah dalam sektor kesehatan adalah Mesir, India, dan Cina (Chan, 2003).

Indonesia merupakan negara Asia yang memiliki penyebaran rempah-rempah yang luas yaitu sekitar 20.000 spesies. Selain itu, Indonesia juga menjadi pusat keanekaragaman hayati terbesar kedua setelah Brazil dan merupakan rumah bagi sekitar 90% spesies tanaman

obat di Asia. Ada 8.632 obat herbal terdaftar di Indonesia, dan ada lebih dari 40 juta orang Indonesia bergantung langsung pada keanekaragaman hayati ini (Handa, dkk., 2006). Salah satu famili obat herbal yang terkenal adalah famili Lamiaceae (alt. Labiatae), atau yang dikenal dengan famili *mint* (Mamadalieva, dkk., 2017).

Lamiaceae merupakan golongan MAPs yang banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai jenis penyakit. Tanaman ini terdiri atas 236 genus dan 6.900-7.200 spesies (Raja, 2012). Salah satu spesies yang tergolong dalam famili Lamiaceae adalah *Rosmarinus officinalis* L. yang dikenal di Indonesia sebagai rosemary. Rosemary merupakan salah satu tanaman aromatik yang mulai dikembangkan di Indonesia karena memiliki khasiat dan nilai ekonomis yang tinggi. Pada umumnya bunga tanaman ini berwarna ungu serta dapat hidup pada daerah panas maupun dingin (Christman, 1999).

Hasil penelusuran senyawa metabolit sekunder pada rosemary yang telah dilaporkan di antaranya adalah senyawa golongan flavonoid yaitu hespiridin dan luteolin beserta turunannya (Okumura, dkk., 1994), turunan scutellarein (Perez-Fons, dkk., 2010), cirismaritin dan hispidulin (Prez-Sanchez, dkk., 2017), dan turunan diosmetin (Hostetler, dkk., 2017). Senyawa golongan terpenoid, yaitu epirosmanol beserta turunannya, isorosmanol, rosmadial yang diisolasi oleh Nakatani dan Inatani (1984), dan senyawa turunan rosmanol diisolasi oleh Inatani, dkk. (1982). Rofficerone dan rosmaquinon diisolasi oleh Wu, dkk. (1981), turunan rosmaquinon diisolasi oleh Houlihan, dkk. (1984). Offisinoterpenosides A₁,

A₂, B, C, dan D diisolasi oleh Zhang, dkk. (2014), asam oleanolik, asam mikromerik beserta turunannya diisolasi oleh Altinier, dkk. (2007), dan asam karnosik diisolasi oleh Richheimer, dkk. (1996). Senyawa golongan Fenolik yaitu asam kafeik, asam klorogenik, asam neoklorogenik, asam labiatik, berhasil diisolasi oleh Fiume, dkk. (2018). Rosmadifenol diisolasi oleh Houlihan, dkk. (1983), 1-*O*-feruloil- β -*D*-glukopiranose, dan 1-*O*-(4-hidroksibenzoil)- β -*D*-glukopiranose diisolasi oleh Bai, dkk. (2010).

Isolasi senyawa metabolit sekunder tidak terlepas dari pengaruh pelarut organik yang digunakan. Berdasarkan literatur diperoleh bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada rosemary tergolong dalam senyawa-senyawa polar sehingga pelarut yang mampu meralutkan senyawa tersebut adalah pelarut polar atau disebut dengan *like dissolve like*. Pelarut polar yang sering digunakan dalam ekstraksi bahan alam adalah metanol, etanol, n-butanol, aseton. Aseton merupakan pelarut polar yang baik karena memiliki momen dipol 2,91 Debye sehingga mampu mengekstraksi senyawa lebih banyak (Al-Ash'ary, dkk., 2010).

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman rosemary, diyakini berasal dari berbagai jalur biogenesis. Jalur biogenesis yang umum terdapat pada tanaman yaitu jalur shikimat, mevalonat, asetat-malonat, dan sinamat (Usman, 2012). Selain itu, senyawa-senyawa kimia yang telah diisolasi tersebut memiliki bioaktivitas yang berbeda-beda sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam menyembuhkan berbagai penyakit.

Salah satu penyakit endemik di negara-negara tropis khususnya Indonesia yang penularannya sangat cepat adalah *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) yang dikenal sebagai penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD). Penyakit ini disebabkan oleh virus *dengue* yang penyebarannya dilakukan oleh nyamuk *aedes* betina (Khetarpal dan Khanna, 2016). Virus merupakan parasit intrasel yang sangat berbahaya karena virus ini menggunakan sel inang sebagai media replika.

Hasil observasi World Health Organization pada tahun 2019 menyatakan bahwa negara-negara asia merupakan negara yang memiliki kasus *dengue* terbesar. Malaysia 46.607 kasus, Filipina 72.076 kasus, Singapura 3.233 kasus, Vietnam 59.959 kasus (WHO, 2019). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melaporkan bahwa hingga juli 2020 kasus penderita DBD di Indonesia sebanyak 71.633 kasus, di mana provinsi Sulawesi Selatan memiliki 2.100 kasus (Kemenkes, 2020). Tingkat penderita DBD di Indonesia semakin meningkat tiap tahunnya, saat ini sekitar 80% kabupaten telah terinfeksi. Hal ini disebabkan oleh curah hujan yang mengalami peningkatan dan suhu maupun iklim yang tidak menentu setiap tahunnya (Haryanto, 2018). Angka ini tampak sangat besar, sehingga perlu adanya upaya yang dilakukan untuk meminimalisir penderita DBD salah satunya adalah mencari hasil isolasi bahan alam khususnya tanaman aromatik yang berpotensi sebagai antivirus *dengue*.

Beberapa hasil penelitian mengenai bioaktivitas ekstrak serta senyawa isolat rosemary sebagai antivirus telah dilaporkan di antaranya adalah ekstrak rosemary memiliki aktivitas antivirus terhadap virus

campak/*Meales Virus* (MV), di mana hasil uji sitotoksik menggunakan sel vero memperlihatkan bahwa ekstrak pada konsentrasi 50 dan 100 µg/mL menghambat virus MV dengan nilai EC_{50} 14,74 dan 23,96 µg/mL (Fraihat, dkk., 2015). Selain itu, Al-Megin, dkk. (2020) melaporkan bahwa ekstrak rosemary mampu menghambat 55% plak HSV-1 pada konsentrasi 30 µg/mL, menghambat 65% plak HSV-2 pada konsentrasi 40 µg/mL, serta mampu menghambat 100% kedua virus tersebut pada konsentrasi 50 µg/mL. Senyawa isolat yang diyakini sebagai antivirus adalah asam rosmanilat yang menjadi agen anti HIV-1 protease dengan IC_{50} 0,08 µg/mL dan anti hSRV tipe A maupun B dengan IC_{50} 20,19 µg/mL. Rosmanol, 7-O-metilrosmanol, dan 7-O-etilrosmano sebagai anti HIV-1 protease dengan IC_{50} masing-masing 0,6; 1,5; dan 1,7 µg/mL (Paris, dkk., 1993).

Penjelasan di atas memberikan gambaran bahwa ekstrak maupun senyawa isolat dari rosemary beragam, serta memiliki berbagai bioaktivitas salah satunya berpotensi sebagai antivirus. Berdasarkan alasan tersebut, sehingga dilakukan penelitian mengenai penelusuran metabolit sekunder ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) dan potensi ekstrak sebagai antivirus *dengue*.

B. Rumusan Masalah

Adapun masalah yang dapat dirumuskan pada penelitian ini:

1. Bagaimana toksisitas ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) terhadap larva *Artemia salina* L.?
2. Golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)?
3. Jenis metabolit sekunder apa yang dapat diisolasi dari ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) dan bagaimana strukturnya?
4. Bagaimana jalur biogenesis dari golongan senyawa yang diisolasi dari ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)?
5. Bagaimana aktivitas antivirus *dengue* ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Menganalisis toksisitas ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) terhadap larva *A. salina* L.
2. Menentukan golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).
3. Mengisolasi, mengidentifikasi, dan menentukan struktur senyawa isolat ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).
4. Mengidentifikasi jalur biogenesis senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).
5. Menganalisis aktivitas antivirus *dengue* ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah berupa informasi kandungan kimia, struktur, dan jalur biogenesis senyawa metabolit sekunder hasil isolasi ekstrak aseton rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Memberikan gambaran toksisitas ekstrak terhadap *A. salina* L. serta bioaktivitas ekstrak terhadap virus *dengue* secara in vitro.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan *Rosmarinus officinalis L.*

Pada dasarnya, manusia sangat bergantung pada lingkungan karena sejak awal manusia menggunakan bahan-bahan yang berasal dari lingkungan untuk digunakan sebagai bahan makanan serta obat-obatan (Jamshidi-Kia, dkk., 2018). Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat dilakukan sejak sekitar 60.000 tahun yang lalu. Hal ini membuktikan bahwa sejak dahulu kala manusia secara naluriah menggunakan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit mereka (Stojanoski, 1999). Sejarah mencatat bahwa masyarakat Mesir kuno dan Cina menggunakan tumbuhan sebagai obat sejak lebih dari 27 abad sebelum masehi (Schippmann, dkk., 2006).

Tanaman obat dan aromatik (MAPs) adalah media alternatif penyembuhan penyakit yang mampu dijangkau oleh semua kalangan masyarakat, serta proses budidaya yang tergolong mudah. Sekitar 80% populasi negara Asia menggunakan MAPs sebagai media pengobatan yang utama (Handa, dkk., 2006). Salah satu ciri tanaman yang tergolong dalam MAPs adalah memiliki bau khas aromatik. Jenis MAPs yang minat penelitiannya sangat besar adalah rempah-rempah (Chan, 2003). Sejak zaman dahulu rempah-rempah telah digunakan sebagai bahan makanan, pengobatan berbagai penyakit, zat pewarna, pengawet, serta penyedap makanan. Banyak rempah-rempah yang telah diakui memiliki khasiat obat

serta berdampak baik bagi kesehatan misalnya dapat menstimulasi pencernaan, sebagai obat diet, serta mampu menangkal radikal bebas (Wodjlo, dkk., 2007).

Jenis rempah-rempah dapur yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, dan antimutagenik yaitu kunyit, jamur, jahe, bawang merah, dan bawang putih (Sachan, dkk., 2018). *Rosmarinus officinalis* L. atau dikenal dengan sebutan rosemary merupakan salah satu rempah dapur yang pembudidayaannya tergolong mudah. Rosemary termasuk dalam famili Lamiaceae yang tumbuh di berbagai negara dan menjadi tanaman khas dari wilayah Mediterania (Kokkini, 2003). Rosemary banyak dikonsumsi sebagai bumbu masakan dan juga digunakan dalam pengobatan tradisional, sehingga banyak ilmuwan yang meneliti tanaman ini (Camargo dan Herrero, 2017). Rosemary memiliki ciri-ciri di antaranya sisi atas daun berwarna hijau tua; bercabang; terlihat seperti semak; memiliki bunga berwarna biru, putih, ataupun ungu; ketinggian tanaman mencapai 1 m; dan memiliki bau aromatik yang khas (Al-Seiriti, dkk., 1999).

Klasifikasi tumbuhan *Rosmarinus officinalis* L. menurut United States Department of Agriculture (USDA, 2020):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivision : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida



Gambar 1. *Rosmarinus officinalis* L.

Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Family	: Lamiaceae/Labiatae
Genus	: <i>Rosmarinus</i> L.
Spesies	: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.

B. Etnobotani Tumbuhan *Rosmarinus Officinalis*

Pendekatan etnobotani merupakan pendekatan yang didasarkan pada survei etnofarmakologis yang dikaitkan dengan kebiasaan masyarakat memanfaatkan tumbuhan sebagai obat dalam pengobatan berbagai penyakit secara tradisional.

Minyak atsiri yang terkandung dalam rosemary digunakan sebagai minyak esensial dan *lotion* untuk mengobati penyakit seperti asam urat (rematik), nyeri otot, dan peradangan pada sendi. Selain itu, rosemary juga dapat digunakan untuk mencegah kebotakan dengan cara menggosokkan ke rambut untuk meningkatkan pertumbuhan umbi rambut (Begum, dkk., 2013). Penduduk Maroko Tengah tepatnya dipegunungan Atlas menggunakan rosemary sebagai pengobatan penyakit gangguan pencernaan (Yazir/azir), meredakan sakit kepala, dan meningkatkan aktivitas otak (Midaoui, dkk., 2011).

Penggunaan rosemary sebagai obat di wilayah timur Libya mencapai 7,8 %. Pada wilayah tersebut rosemary digunakan sebagai obat sakit kepala, tumor rahim, obat pelangsing, penyakit hati, dan *menopause* (El-Mokasabi, dkk., 2018). Salah satu daerah di Pampa Brazil yakni Santa

Maria memanfaatkan bagian daun dan batang rosemary untuk menyembuhkan penyakit yang berkaitan dengan sistem pencernaan (Teixeira, dkk., 2015).

Pemakaian MAPs sebagai bumbu masakan dan pengobatan tradisional khususnya spesies Lamiaceae banyak digunakan di daerah Lebanon. Salah satunya adalah rosemary yang diyakini masyarakat setempat dapat menyembuhkan penyakit asma dan liver. Hal ini dilakukan dengan cara meminum air rebusan 30 g/L tiga kali sehari selama proses penyembuhan (Khoury, dkk., 2016). Girones Barat (Catalonia, Semenanjung Liberia) menggunakan rosemary sebagai pengobatan luka lebam, peradangan selaput lendir, serta depresi. Pengolahan tumbuhan ini tergolong sangat unik, yaitu dijadikan sebagai tisane (teh herbal), *lotion*, salep, dan *medicinal wine* atau minuman beralkohol yang dicampur dengan tanaman obat (Gras, dkk., 2019).

Di negara Spanyol rosemary menjadi salah satu bahan *phytotherapy* dan diyakini sebagai obat mujarab untuk menyembuhkan disfungsi seksual (Santayana dan Heinrich., 2006). Wilayah Sardinia (Italia) rosemary diyakini dapat mengobati penyakit gatal-gatal di seluruh tubuh, obat penenang, dan obat sakit kepala (Loi, dkk., 2008). Negara Nigeria memanfaatkan rosemary sebagai obat hipertensi dan asma dengan cara direbus daunnya dan diminum dua kali sehari. Selain itu, rosemary digunakan juga sebagai obat diabetes dengan cara merebus bunganya kemudian diminum dua kali sehari (Sagunawan, 2009).

Negara Rusia dan Asia Tengah memakai minyak esensial yang diekstrak dari tumbuhan rosemary sebagai pengobatan pioderma (infeksi kulit akibat kuman/bakteri) (Mamedov, dkk., 2005). Rosemary juga digunakan sebagai antiseptik di Pakistan, tepatnya di distrik Swat (Ali, dkk., 2018). Rosemary merupakan salah satu dari 40 tanaman penghasil minyak atsiri yang diproduksi di Indonesia. Pada umumnya tanaman ini dimanfaatkan dalam bidang farmasi (Kemendag, 2011). Indonesia menggunakan minyak esensial dari rosemary sebagai obat dalam membantu meningkatkan daya ingat (jangka pendek) terhadap lansia, dan dijadikan sebagai aromaterapi (Sulung dan Aulia, 2018).

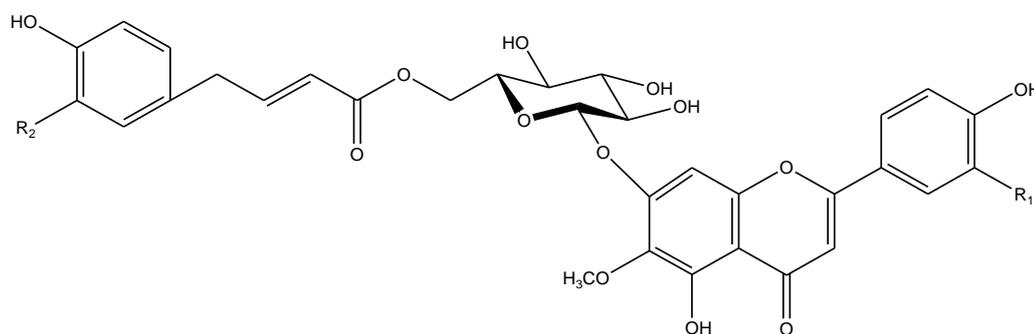
C. Kemotaksonomi Tumbuhan *Rosmarinus Officinalis* L.

Metabolit sekunder merupakan senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme. Metabolit sekunder berguna untuk imunitas dan kekebalan diri dari predator lingkungan maupun ancaman dari serangan organisme lain. Mayoritas golongan senyawa yang terdapat pada famili Lamaceae (rosemary) yaitu terpen, flavonoid, dan senyawa fenolik (Naghibi, dkk., 2005).

1. Flavonoid

Beberapa senyawa golongan flavonoid berhasil diisolasi dari rosemary di antaranya 6''-O-(E)-Feruloilhomoplantagin (1), 6''-O-(E)-Feruloilnepitrin (2), 6''-O-(E)-p-Coumaroilnepitirin (3), genkwanin (4), kaempferol (5), dan ladanein (6) diisolasi oleh Bai, dkk. (2010). Hesperidin

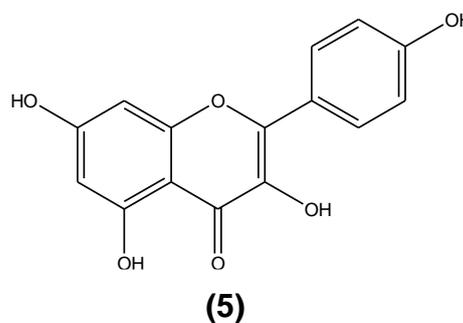
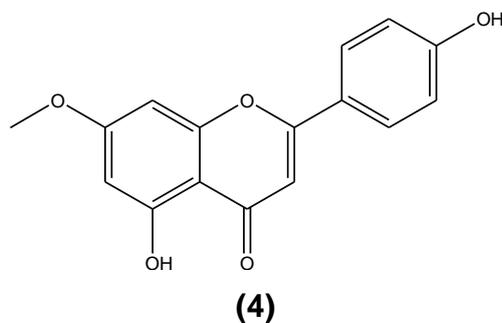
(7), Luteolin (8) beserta turunannya luteolin 3'-O- β -D-glukuronid (9), luteolin 3'-O-(4''-O-asetil)- β -D-glukuronid (10), dan luteolin 3'-O-(3''-O-asetil)- β -D-glucuronid (11) berhasil diisolasi oleh Okumura, dkk. (1994). Luteolin 3'-(3''-O-asetil)-O-glucuronid (12), luteolin 3'-(4''-O-asetil)-O-glucuronid (13), isoscutellarein-7-O-glucuronid (13), scutellarein-7-O-glucuronid (14), 6-OH-luteolin-7-O-glucuronid (15), dan cirsimaritin (16) diisolasi oleh Perez-Fons, dkk. (2010). Eriositrin (17), diosmin (18), hispidulin 7-O-glukosid (19) berhasil diisolasi oleh Bano, dkk. (2004). Perez-Sanchez, dkk. (2017) berhasil mengisolasi cirsimaritin (20), hispidulin (21), dan diosmetin (22). Selain itu diosmetin 7-O-ramnosilglukosid (23) diisolasi oleh Hostetler, dkk. 2017.

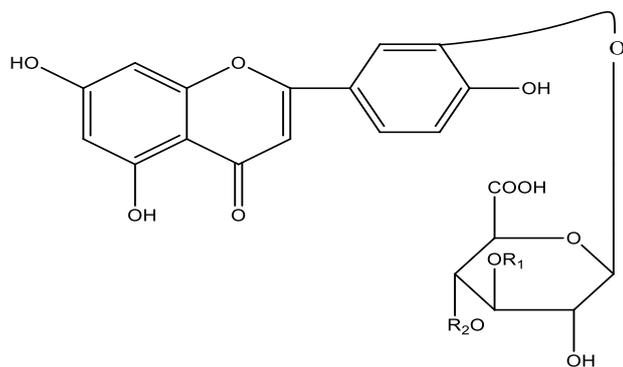
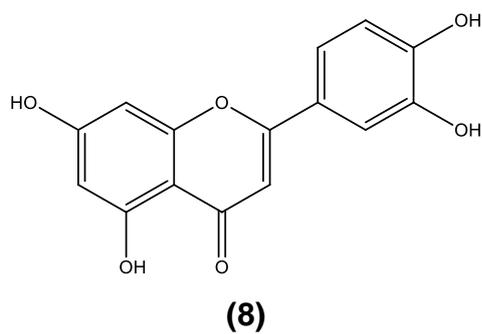
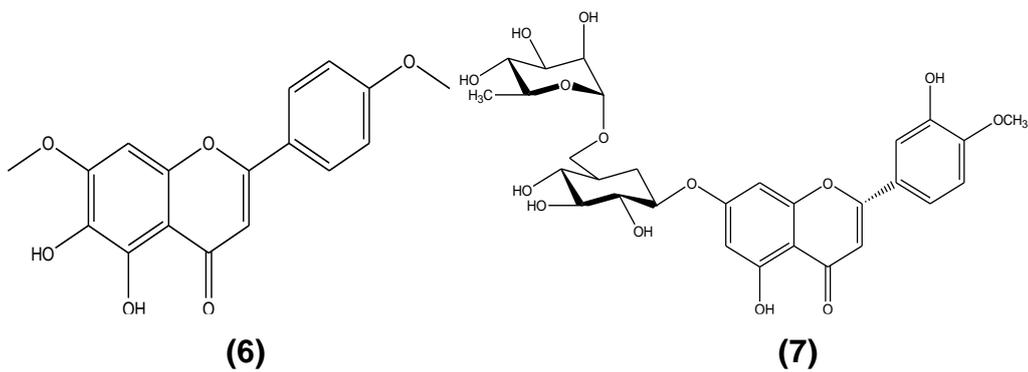


(1) $R_1 = H, R_2 = OMe$

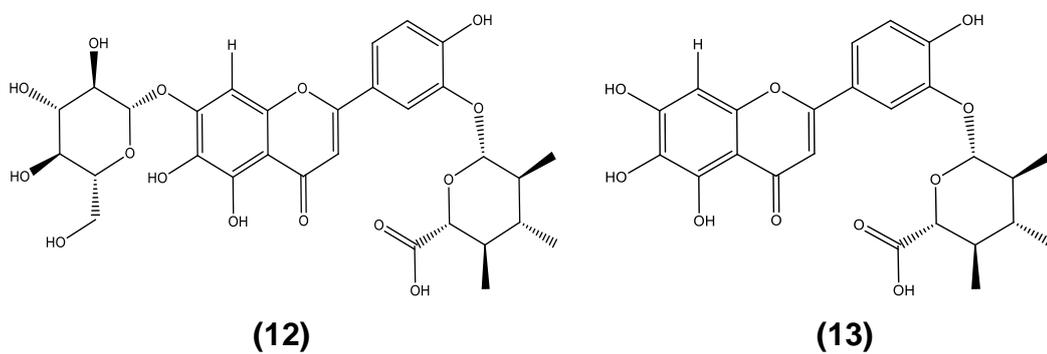
(2) $R_1 = OH, R_2 = Ome$

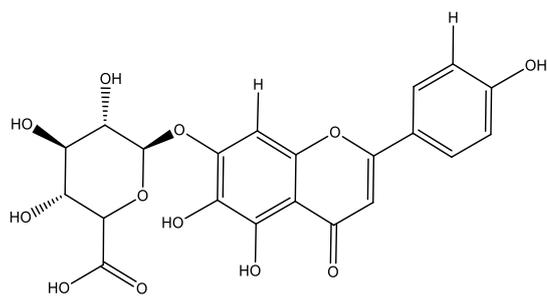
(3) $R_1 = OH, R_2 = H$



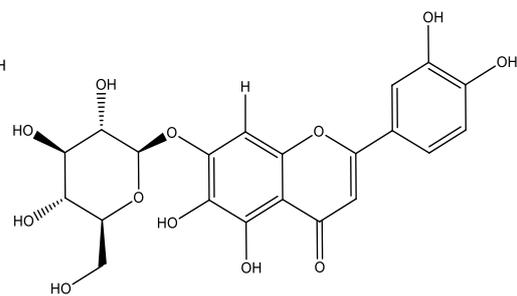


	R_1	R_2
(9)	H	H
(10)	H	Ac
(11)	Ac	H

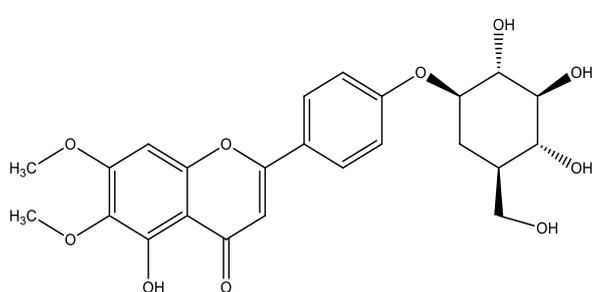




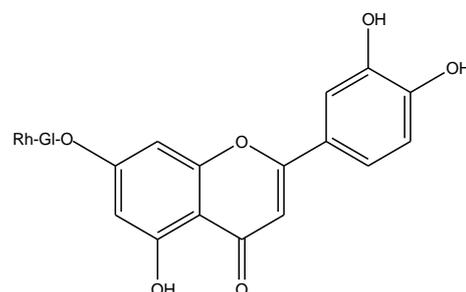
(14)



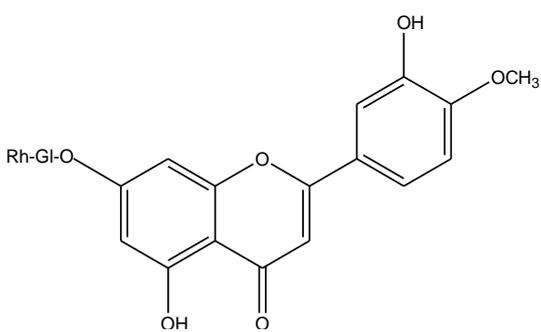
(15)



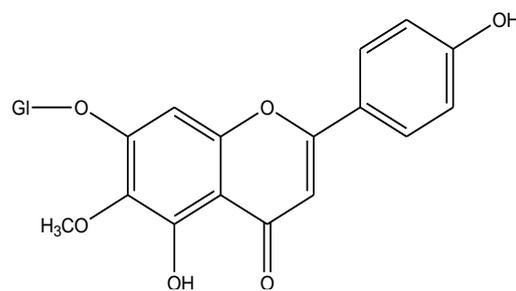
(16)



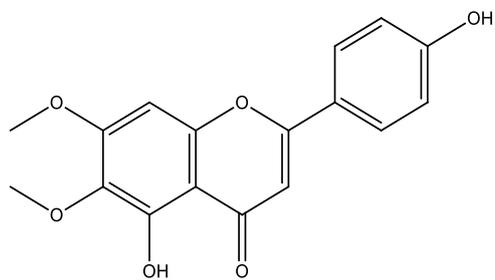
(17)



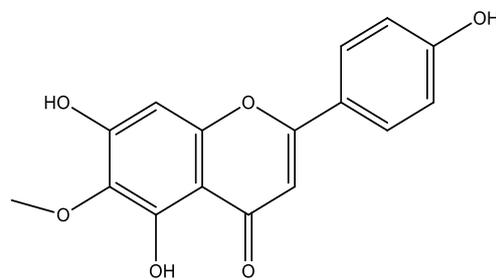
(18)



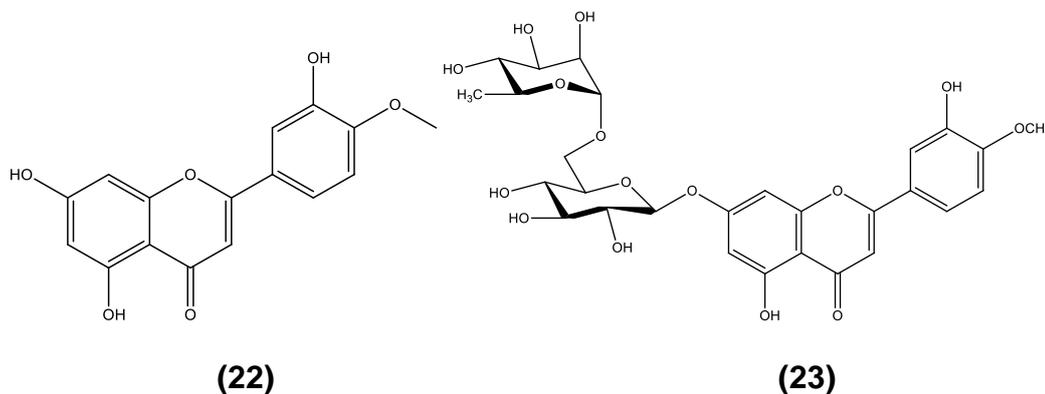
(19)



(20)



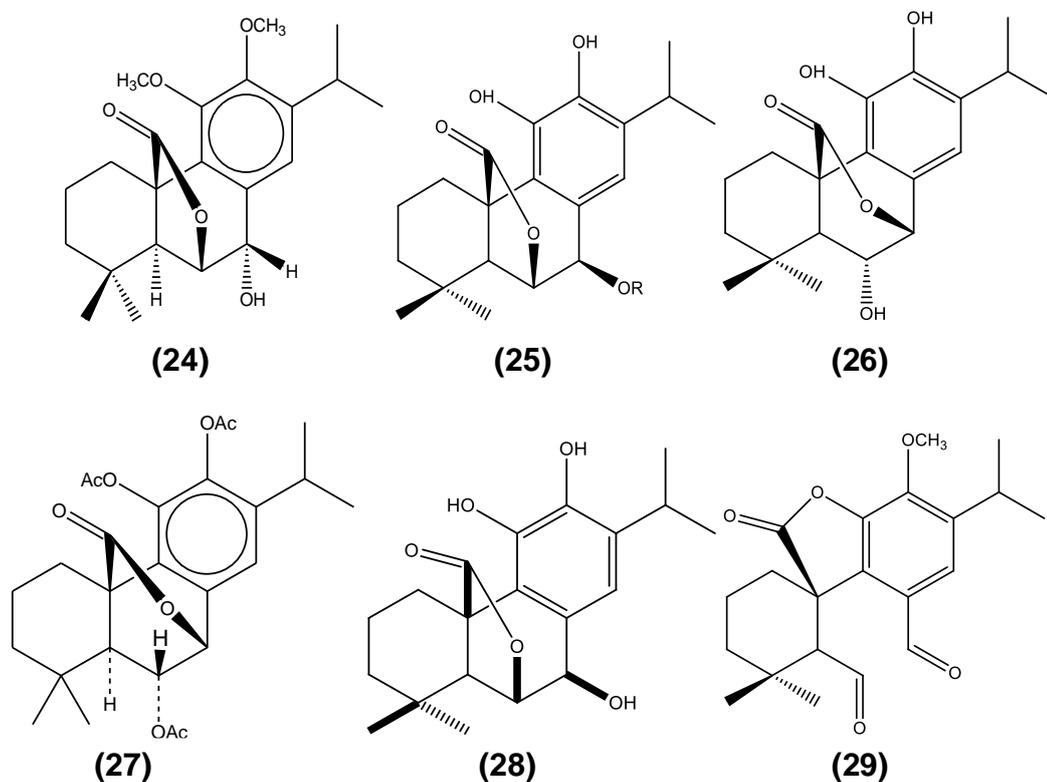
(21)

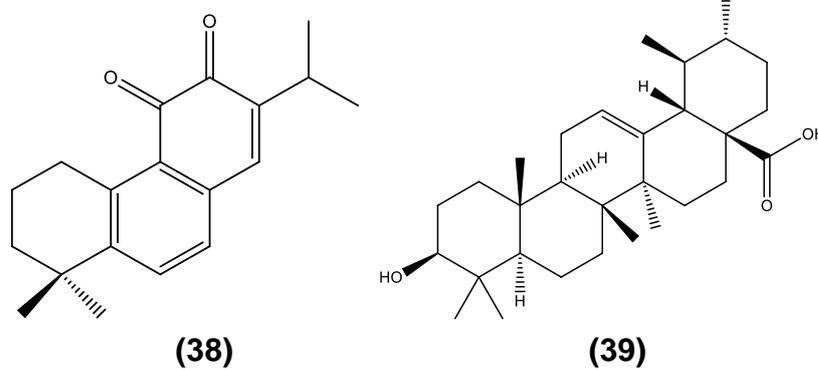
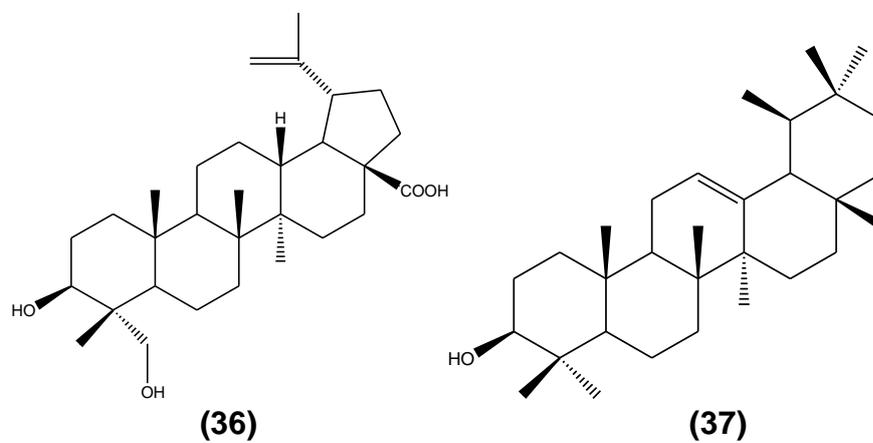
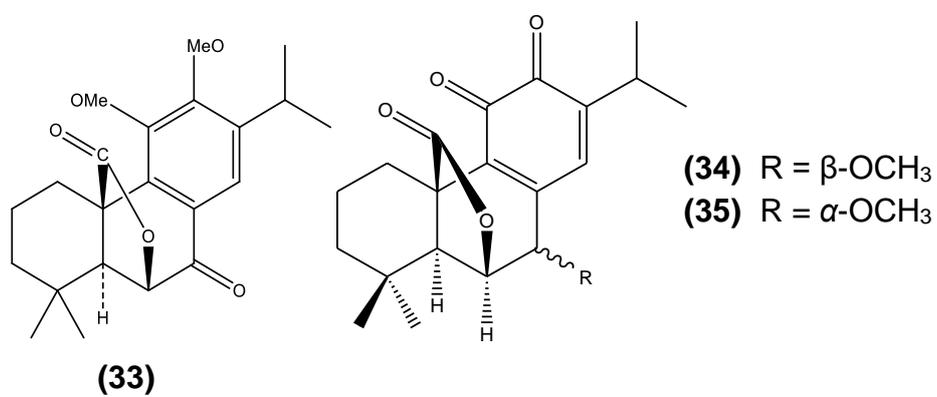
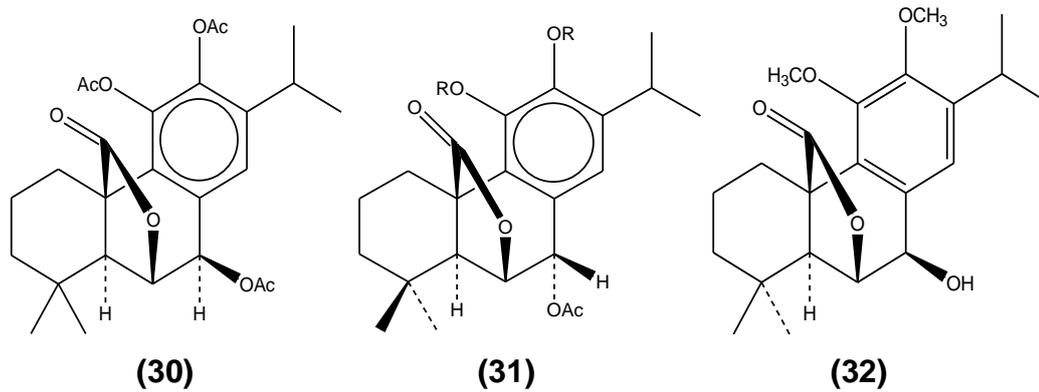


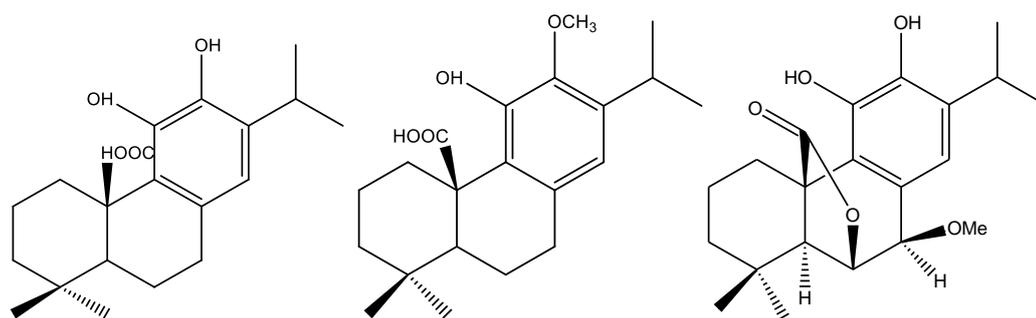
2. Terpenoid

Senyawa golongan terpenoid yang berhasil diisolasi dari rosemary adalah 7 α -hidroksi rosmanol **(24)**, epirosmanol **(25)**, isorosmanol **(26)**, triasetil isorosmanol **(27)**, dimetil epirosmanol **(28)**, rosmadial **(29)**, dan triasetil epirosmanol **(30)** diisolasi oleh Nakatani dan Inatani (1984). Triasetil rosmanol **(31)**, dimetil rosmanol **(32)**, dan oksidasi dimetil rosmanol **(33)** berhasil diisolasi oleh Inatani, dkk. (1982). Mahmoud, dkk. (2005) berhasil mengisolasi rosmaquinone A **(34)**, rosmaquinone B **(35)**, dan 23-hidroksibetulinik **(36)**. Ganeva, dkk. (1992) berhasil mengisolasi rofficerone **(37)**, rosmaquinone **(38)** berhasil diisolasi Houlihan, dkk. (1984). Asam ursolik **(39)** telah berhasil diisolasi oleh Wu, dkk. (1981). Asam karnosik **(40)**, asam 12-metoksi karnosik **(41)**, dan 7-metoksi epirosmanol **(42)** diisolasi oleh Richheimer, dkk. (1996). Perez-Fons, dkk. (2010) berhasil mengisolasi epiisosmanol **(43)**. Seco-Hinokol **(44)**, metilasi dari seco-hinokol **(45)**, dan metilasi asam karnosik **(46)** diisolasi oleh Cantrell, dkk. (2005).

Offisinoterpenosides A₁ **(47)**, Offisinoterpenosides A₂ **(48)**, Offisinoterpenosides B **(49)**, Offisinoterpenosides C **(50)**, dan Offisinoterpenosides D **(51)**, 7-metoksi rosmanol **(52)** asteriunnanosid B **(53)**, niga-ichigosid F₁ **(54)**, glucosyl tormantate **(55)** berhasil diisolasi oleh Zhang, dkk. (2014). Asam oleanolik **(56)**, Asam Mikromerik **(57)** beserta turunannya yakni metil ester asam mikromerik **(58)**, diisolasi oleh Altinier, dkk. (2007). asam karnosik **(59)** (Reichheimer, dkk., 1996). 7-metoksi rosmanol **(60)**, dan 7-etoksi rosmanol **(61)** diisolasi oleh Arisawa, dkk. (1987). Mahmoud, dkk (2005) berhasil mengisolasi asam royleanonik **(62)**. Multipolon **(63)**, hinokion **(64)**, asam agustic **(65)**, anemosapogenin **(66)**, asam bentamik **(67)** diisolasi oleh Perez-Sanchez, dkk. (2017). α -Amirin **(68)** dan β -amirin **(69)** diidentifikasi oleh Fiume, dkk. (2018).



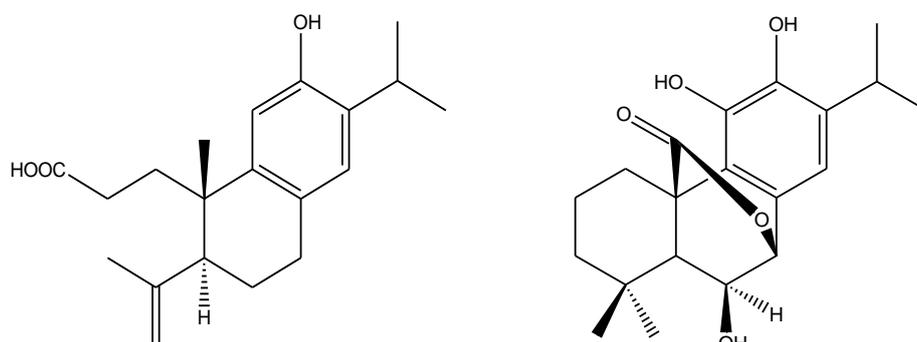




(40)

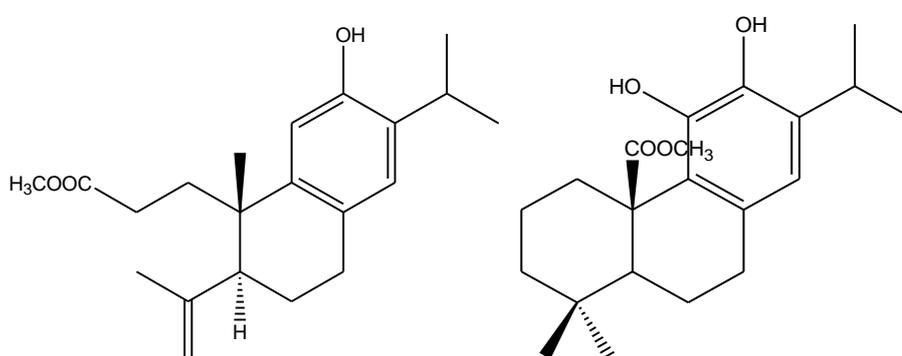
(41)

(42)



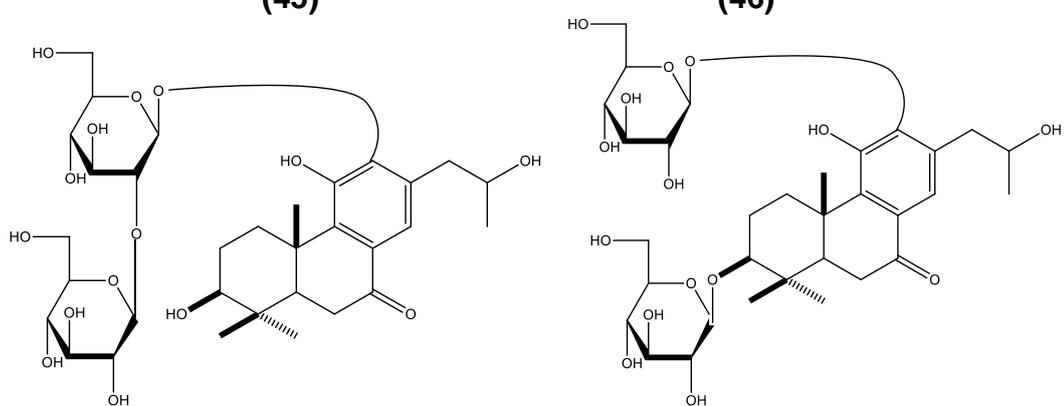
(43)

(44)



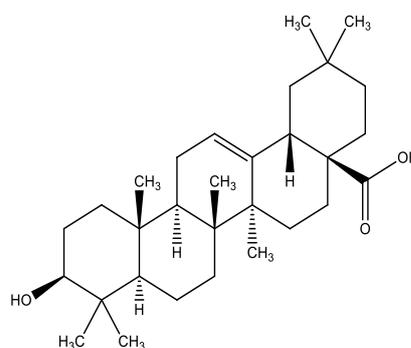
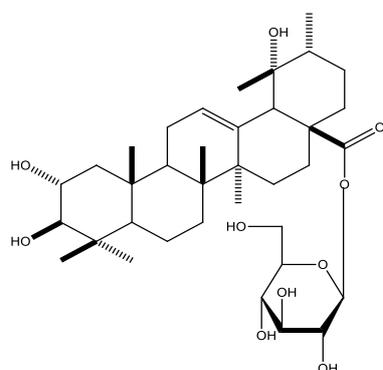
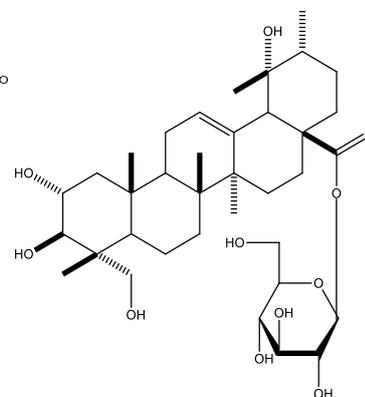
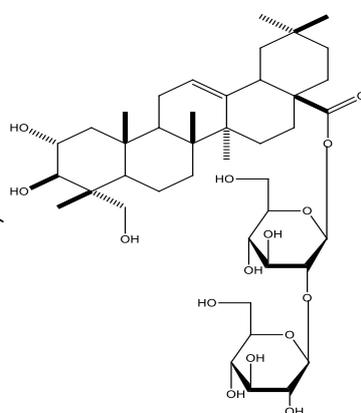
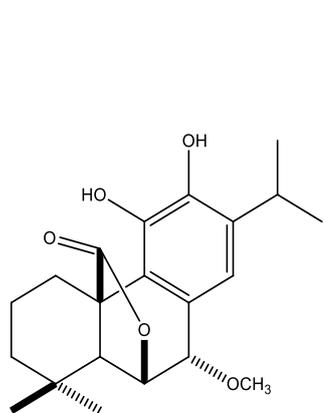
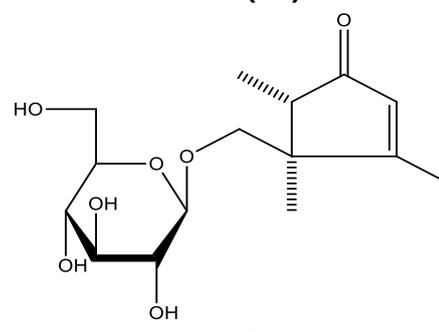
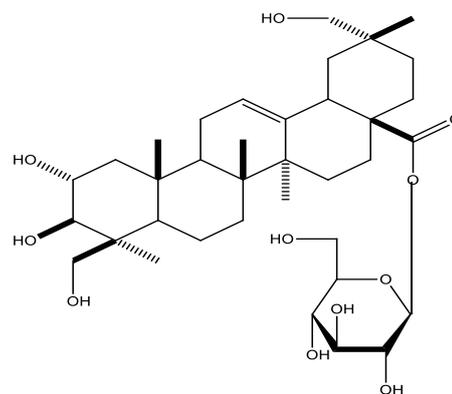
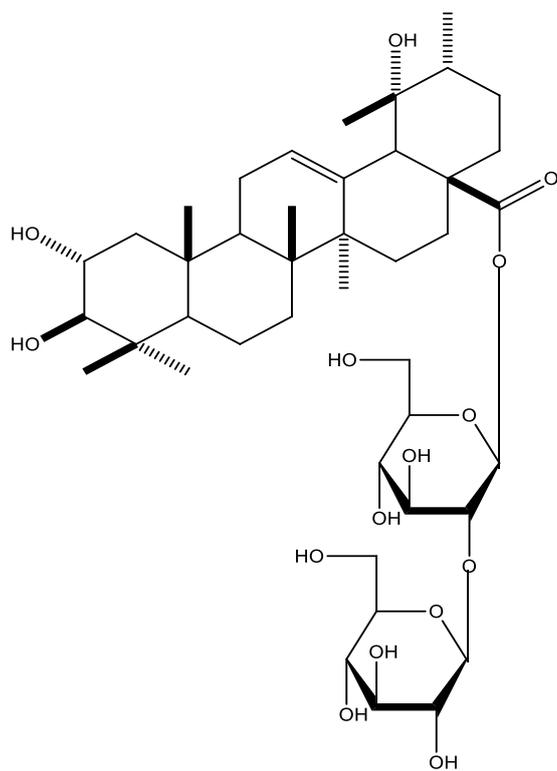
(45)

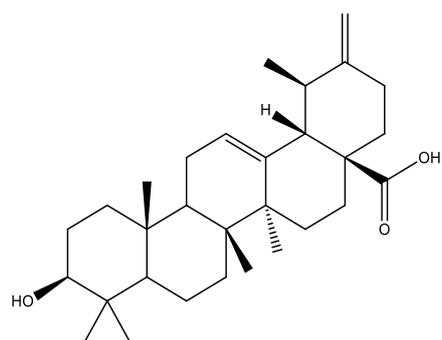
(46)



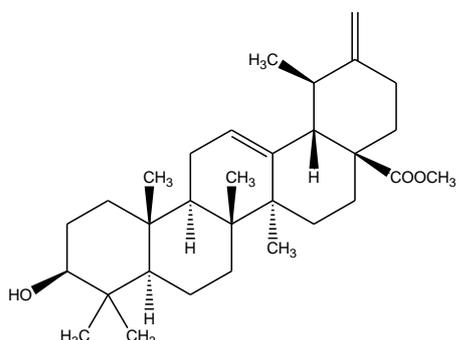
(47)

(48)

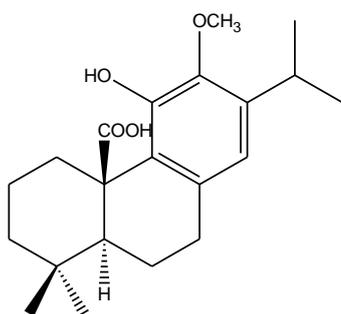




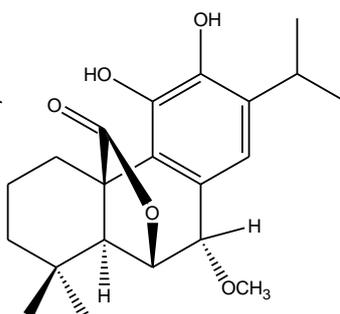
(57)



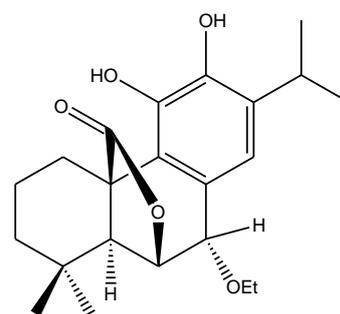
(58)



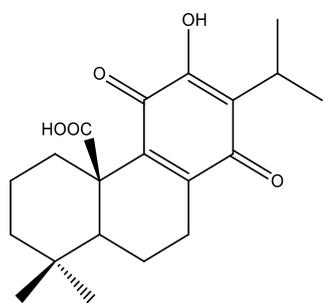
(59)



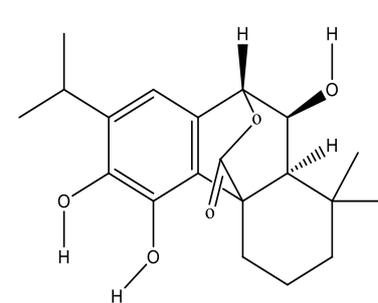
(60)



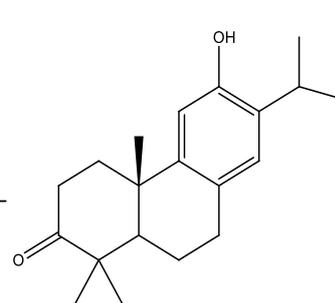
(61)



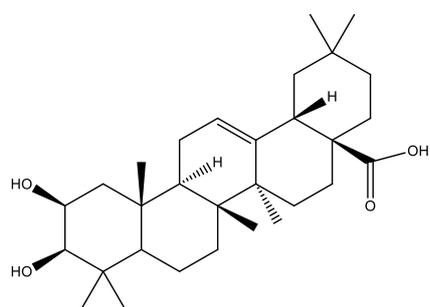
(62)



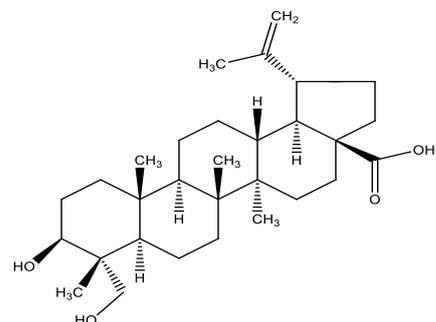
(63)



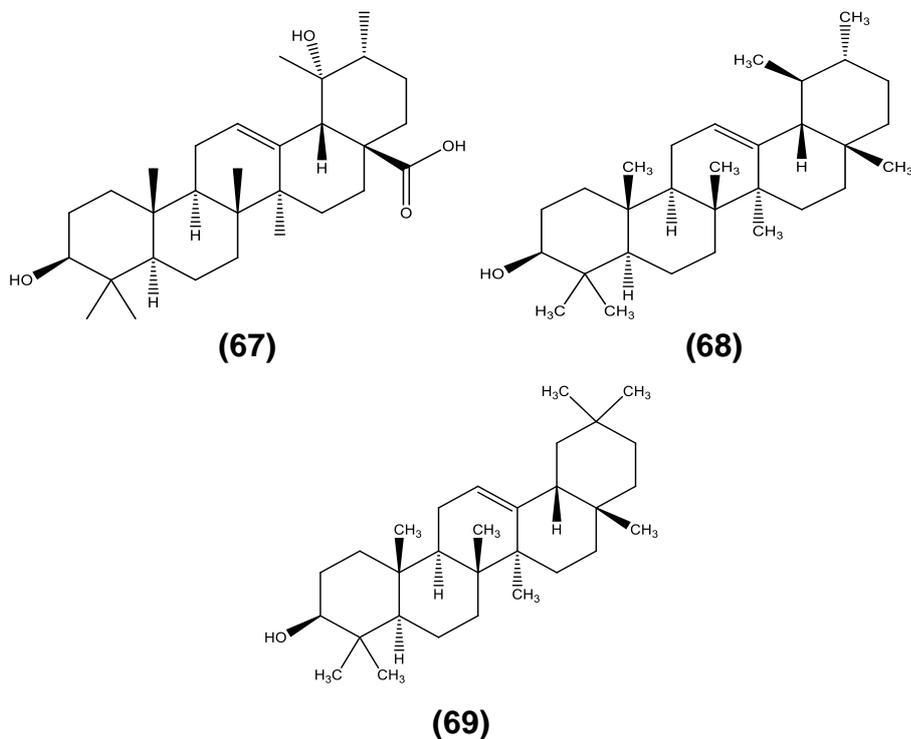
(64)



(65)

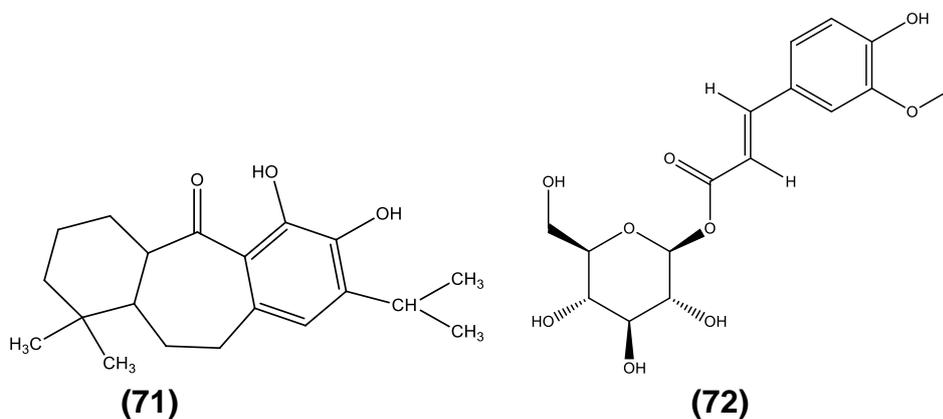


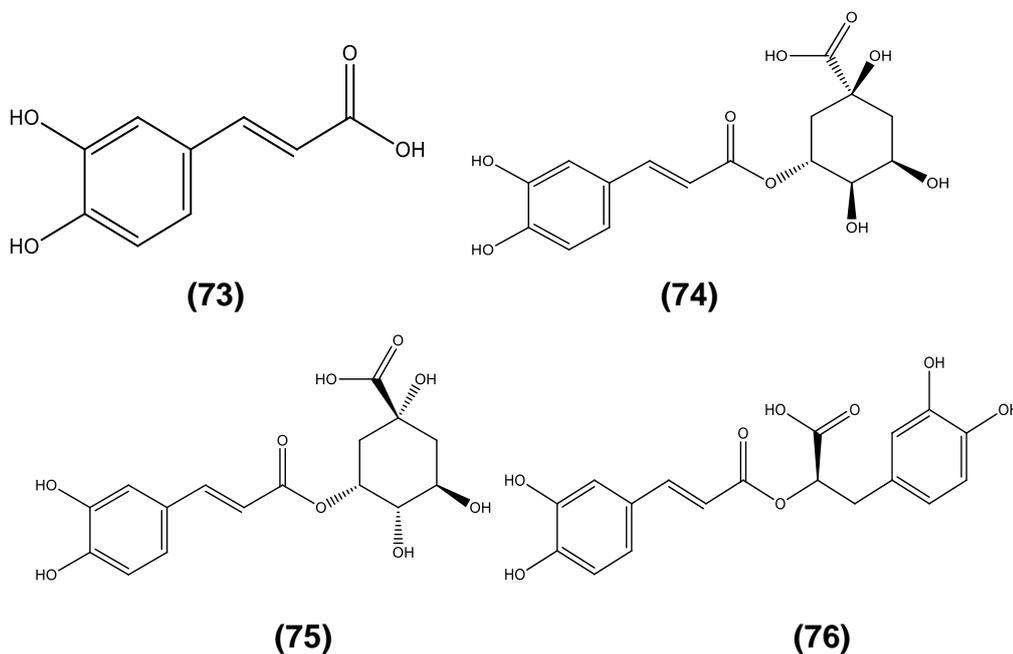
(66)



3. Fenolik

Senyawa golongan fenolik yang telah berhasil diisolasi dari rosemary di antaranya rosmadifenol **(70)** oleh Houlihan, dkk. (1983), 1-O-feruloil- β -D-glukopiranosose **(71)**, dan 1-O-(4-hidroksibenzoil)- β -D-glukopiranosose **(72)** diisolasi oleh Bai, dkk. (2010). Asam kafeik **(73)**, asam klorogenik **(74)**, asam neoklorogenik **(75)**, dan asam labiatik **(76)** diidentifikasi oleh Fiume, dkk. (2018).





D. Bioaktivitas Senyawa dan Ekstrak Rosemary

Beberapa aktivitas ekstrak rosemary telah dilaporkan, di antaranya aktivitas antioksidan ekstrak yang disebabkan oleh senyawa golongan fenol, diterpen, dan asam fenolik. Senyawa carnosol diyakini sebagai senyawa golongan diterpen yang memiliki sifat antioksidan yang paling kuat karena kemampuannya dalam melindungi membran terhadap kerusakan akibat radikal bebas (Perez-Fons, dkk., 2010).

Ekstrak metanol rosemary mampu menghambat bakteri *S. saprophyticus* dan *A. baumannii* dengan nilai MIC keduanya 12,5 mg/mL dan besar zona hambat masing-masing 25 mm dan 40 mm (Tawfeeq, dkk., 2018). Aktivitas antimikroba ekstrak rosemary telah dilaporkan oleh Klancnik, dkk. (2009) bahwa ekstrak tersebut aktif dalam menghambat bakteri patogen *B. cereus* pada konsentrasi

0,078-5,00 mg/mL, dan *Salmonella* pada konsentrasi 5-10 mg/mL. Selain itu golongan diterpen yaitu asam karnosat dan carnosol aktif menghambat bakteri patogen *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari pasien dermatitis atopik pada konsentrasi $<5 \mu\text{M}$ (Nakagawa, dkk., 2020).

Ekstrak etanol rosemary memiliki aktivitas antidiabetes pada kelinci alloxan-diabetes yaitu pemberian dosis 200 mg/kg yang secara signifikan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan produksi insulin pada kelinci tersebut, selain itu pemberian secara terus-menerus pada dosis 100 dan 200 mg/kg memperlihatkan antihyperglisamik serta dapat menghambat peroksidasi lipid (Bakirel, dkk., 2008).

Penelitian secara *in vivo* mengenai efek hidroalkohol ekstrak rosemary pada tikus jantan dengan dosis 130 dan 150 mg/kg terbukti dapat meningkatkan memori jangka pendek maupun jangka panjang serta meningkatkan proses belajar tikus dalam menghindari hambatan yang diberikan (Zanella, dkk., 2012). Ekstrak rosemary dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan demensia, karena hasil penelitian menunjukkan ekstrak tersebut mampu menghambat aktivitas asetilkolinesterase (AChE) dan menstimulasi efek butirilkolinesterase (BuChE) pada otak tikus sehingga meningkatkan memori jangka panjang (Ozawrowski, dkk., 2013). Minyak atsiri dari ekstrak rosemary juga memberikan efek antidepresan, peningkatan kognitif, dan mampu menghilangkan stres otak yang disebabkan oleh skopolamin (Capatina, dkk., 2020). Selain itu, senyawa golongan diterpen rosemary

menunjukkan aktivitas dalam menghambat kematian sel saraf baik secara *in vivo* maupun *in vitro*, serta bermanfaat untuk terapi penyakit alzheimer (Habtemariam, 2011).

BPOM Amerika Serikat dan Keamanan Eropa mengemukakan bahwa ekstrak rosemary terbukti aman bagi kesehatan manusia dan dapat digunakan sebagai aditif antioksidan dalam makanan (Bozormenyi, dkk., 2020). Aktivitas lain dari rosemary adalah antiobesitas dengan membatasi penyerapan lipid di usus melalui penghambatan enzim lipase (Ibarra, 2011). Selain itu, asam karnosik mampu menekan adiposit sehingga dapat mendorong penurunan berat badan (Gaya, dkk., 2013).

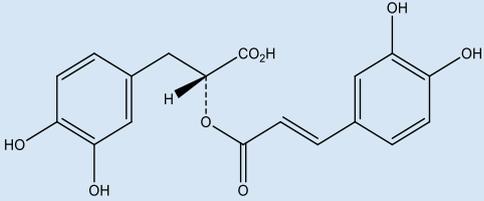
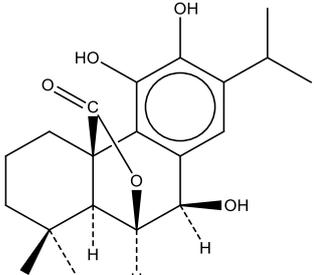
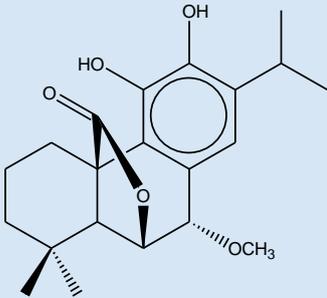
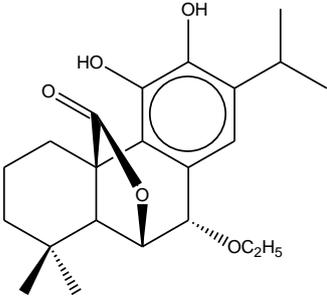
Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa rosemary memiliki aktivitas antitumor baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Poeckel, dkk. (2008) melaporkan bahwa senyawa golongan diterpen fenolik berperan dalam regulasi gen dan pengaktifan *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR γ). Senyawa tersebut juga mampu menekan pembentukan leukotrien proinflamasi pada manusia yang polimorfonuklear leukositnya utuh dengan nilai IC₅₀ 15-20 mM [CA] dan 7 mM [CS] serta menghambat aktivitas 5-lipoksigenase dengan nilai IC₅₀ 1 mM [CA] dan 0,1 mM [CS].

Asam rosmarinik (RA) adalah flavonoid yang berperan sebagai antigen karbohidrat spesifik pada fibroblast kulit manusia yaitu dengan menghambat antigen Tn, T dan bentuk sialilasinya, antigen berfososilasi, dinaklaktosamin dan mannose. Pada dosis 25 dan 50 μ M RA mampu

menurunkan inti β 1-3galaktosiltransferase serta menghambat GalNAc α 2-6-sialiltransferase mRNA (Iwona dan Katarzyna, 2019). Asam rosmanirik menunjukkan penurunan transaminase (AST dan ALT) dan LDH terhadap tikus Wistar jantan yaitu pada dosis 25 mg/kg dimenit ke 30. Selain itu, pada menit ke 5 ketika dimasukkan dosis 25 mg/kg terjadi disfungsi multiorgan pada hati, ginjal, dan paru-paru (Rocha, dkk., 2015). Cedera kelenjar parotis akibat radiasi sangat mengganggu sistem metabolisme tubuh. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan zang, dkk. (2020) mengemukakan bahwa senyawa asam rosmanirik yang diisolasi dari rosemary memberikan efek radioprotektif yaitu pada dosis 60 mg/kg pada tikus.

Polifenol rosemary yang diperoleh dari hasil ekstraksi rosemary memiliki aktivitas antiproliferaik yaitu mampu mengerahkan efek kemopreventif diferensial dalam sel leukimia K562 dan K562/R (Valdes, dkk., 2012). Ekstrak rosemary menunjukkan aktivitas antiproliferatif terhadap kanker prostat (LNCaP) dengan nilai IC_{50} 14,14-15,04 μ g/mL (Bourhia, dkk., 2019). Sel T-leukemia/limfoma dewasa (ATL) adalah sel yang paling ganas yang disebabkan oleh virus T-limfotropik. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ishida, dkk. (2013) menemukan bahwa salah satu senyawa metabolit sekunder dari rosemary yaitu carnosol menunjukkan kemampuan reduktase sel tersebut serta mampu menurunkan glutathion dalam sel.

Tabel 1. Senyawa Isolat Rosemary Beserta Bioaktivitasnya Sebagai Antivirus

Struktur Senyawa	Bioaktivitas
 <p style="text-align: center;">(77)</p>	<p>Asam rosmarinik memiliki aktivitas HIV-1 protease dengan IC_{50} 0,08 $\mu\text{g/mL}$ (Paris, dkk.1993), serta mampu menekan replika virus hRSV tipe A maupun B dengan IC_{50} 20,19 μM (Shin, dkk., 2013).</p>
 <p style="text-align: center;">(78)</p>	<p>Rosmanol memiliki aktivitas HIV-1 protease dengan IC_{50} 0.6 $\mu\text{g/mL}$ (Paris, dkk.1993).</p>
 <p style="text-align: center;">(79)</p>	<p>7-O-metilrosmanol memiliki ativitas HIV-1 protease dengan IC_{50} 1,5 $\mu\text{g/mL}$ (Paris, dkk.1993).</p>
 <p style="text-align: center;">(80)</p>	<p>7-O-etilrosmanol memiliki aktivitas HIV-1 protease dengan IC_{50} 1,7 $\mu\text{g/mL}$ (Paris, dkk.1993)</p>

Ekstrak rosemary memiliki aktivitas antikanker di antaranya mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MDA-MB-231 (TN) dengan IC_{50} 28,86 $\mu\text{g/mL}$ (Janglainan, dkk., 2020) dan sel MCF-7 dengan IC_{50} 20,42 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak juga aktif terhadap sel kanker paru-paru yaitu NCI-H82 dengan IC_{50} 8,82 $\mu\text{g/mL}$ (yesli-celiktas, dkk., 2010) dan A549 dengan IC_{50} 15,9 $\mu\text{g/mL}$ (Moore, dkk., 2016).

Persentase penghambatan ekstrak rosemary terhadap virus HSV-1 yaitu 18,9% (Nars-Eldin, dkk., 2017). Senyawa golongan fenolik yang diekstraksi dari ekstrak rosemary diuji aktivitas replikasi antivirus HSV-1 dalam sel Vero, dengan menunjukkan pengurangan virus sebesar 82% (Mancini, dkk., 2009). Selain itu senyawa isolat dari rosemary yang dilaporkan memiliki aktivitas antivirus yang dapat dilihat pada Tabel 1.

E. Uji Toksisitas

Menurut Siswandoyo dan Soekjarjo (2000) senyawa penuntun yang dapat digunakan dalam membuat obat dilakukan dengan penelusuran senyawa isolat dari bahan alam maupun hewan laut melalui metode isolasi, penentuan struktur, serta uji biologis baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Uji biologis secara *in vitro* yang sering dilakukan adalah uji toksisitas. Pengujian ini merupakan pengujian primer yang lebih menguntungkan dibanding pengujian dengan cara *in vivo*. Menurut Mayer, dkk. (1982) pengujian toksisitas yang banyak dilakukan oleh peneliti

adalah BSLT (*Brine Shrimp Letality Test*). Metode BSLT merupakan metode yang cepat, prosedurnya sederhana, tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Metode ini digunakan untuk skrining toksisitas ekstrak, fraksi, maupun senyawa isolat dari tanaman dan hewan laut dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (Alam, 2002).

Ekstrak maupun fraksi yang tergolong aktif terhadap *A. salina* L. memiliki nilai $LC_{50} < 1.000 \mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak maupun fraksi yang tergolong tidak aktif terhadap *A. salina* L. memiliki nilai $LC_{50} > 1.000 \mu\text{g/mL}$. Pengukuran mortalitas larva *A. salina* L. dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Meyer, dkk., 1982):

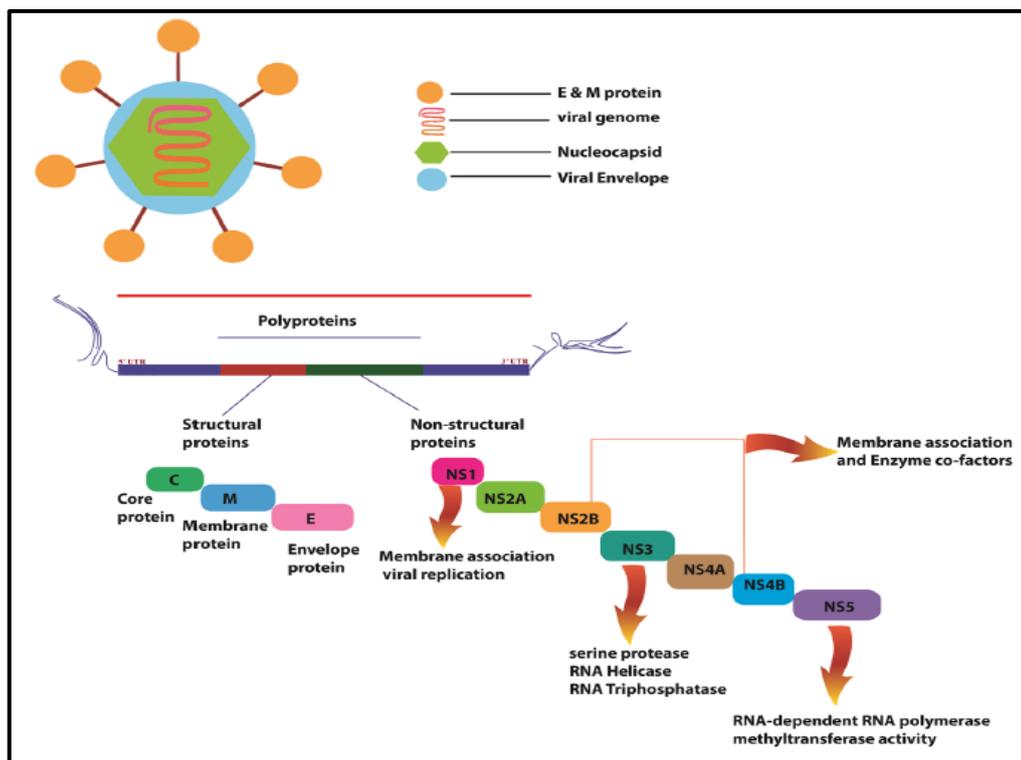
$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah total larva}} \times 100\%$$

Selain itu, untuk memperoleh nilai LC_{50} dapat menggunakan regresi linear $y = a + bx$, dimana log konsentrasi sebagai sumbu x dan % mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} yang diperoleh menyatakan konsentrasi larutan uji yang dapat menyebabkan kematian pada 50% *A. salina* L. (Meyer, dkk., 1982).

F. Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) yang dikenal di Indonesia sebagai Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan penyakit endemik di negara-negara tropis yang penularannya kepada manusia sangat cepat. Penyebaran virus ini dilakukan oleh nyamuk *Aedes* betina (Khetarpal dan Khanna, 2016). Virus *dengue* merupakan virus RNA dengan 10,7 kb untai tunggal RNA dan memiliki selubung virus kurang lebih 50 nm. Untaian

tunggal ini kemudian diubah menjadi poliprotein tunggal yang mengalami pembelahan kotranslasi menjadi sepuluh protein dewasa. Kesepuluh protein dewasa ini terdiri atas tiga protein struktural seperti nukleokapsid (protein C), glikoprotein beramplop (protein E), protein membran prekursor (prM) dan tujuh protein non struktural (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 yang dapat dilihat pada gambar 35 (Qamar, dkk., 2019).



Gambar 2. Struktur virus *dengue*

Protein non struktural memiliki fungsi yang sangat penting dalam perakitan virus, replikasi genom, serta menghindari respon imun bawaan. Diantara ketujuh protein non struktural terdapat tiga protein yang sangat penting dalam membentuk partikel virus selama siklus infeksi yaitu NS1, NS3 dan NS5 (Qamar, dkk., 2019). Genome virus *dengue* terdiri atas *large reading frame* encodes sebuah poliprotein yang merupakan

gabungan 300 asam amino sebagai prekursor (Nugraheni dan Sulistyowati, 2016). Virus ini terdiri dari berbagai serotip di antaranya DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4 (Fried, dkk., 2010). Semua serotip dapat menyebabkan berbagai gejala, mulai dari infeksi ringan seperti demam ringan pada diri sendiri *Dengue Fever* (DF) sampai pada tahap lanjutan yaitu *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) yang dikenal dengan sebutan DBD dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS) yang mengakibatkan banyak orang meninggal yaitu kurang lebih 50 juta kematian di seluruh dunia (Murphy, dkk., 2011). Angka kematian ini tergolong tinggi, oleh sebab itu perlu dilakukan uji in vitro agar dapat menekan peningkatan kasus tersebut.

Parameter yang harus digunakan untuk menilai keefektifan antivirus suatu senyawa maupun ekstrak secara in vitro yaitu menghitung nilai IC_{50} (daya hambat) dan didukung dengan nilai CC_{50} (efek sitopatik). Pengujian efek sitopatik wajib dilakukan karena pada pengujian antivirus dilakukan pengkulturan sel (Bekut, dkk., 2018). Sel vero (*African green monkey kidney*) bisa digunakan sebagai media dalam mengevaluasi aktivitas anti *dengue* serta pengembangan vaksin *dengue*. Sel ini digunakan untuk uji antivirus dalam penelitian karena berasal dari sel monyet yang hubungannya lebih dekat dengan manusia (Huang, dkk., 2013).

Suatu sampel uji (ekstrak) dapat digunakan sebagai obat apabila telah di uji selektifitas indeksinya (SI). Menurut Cos, dkk., (2006) nilai SI

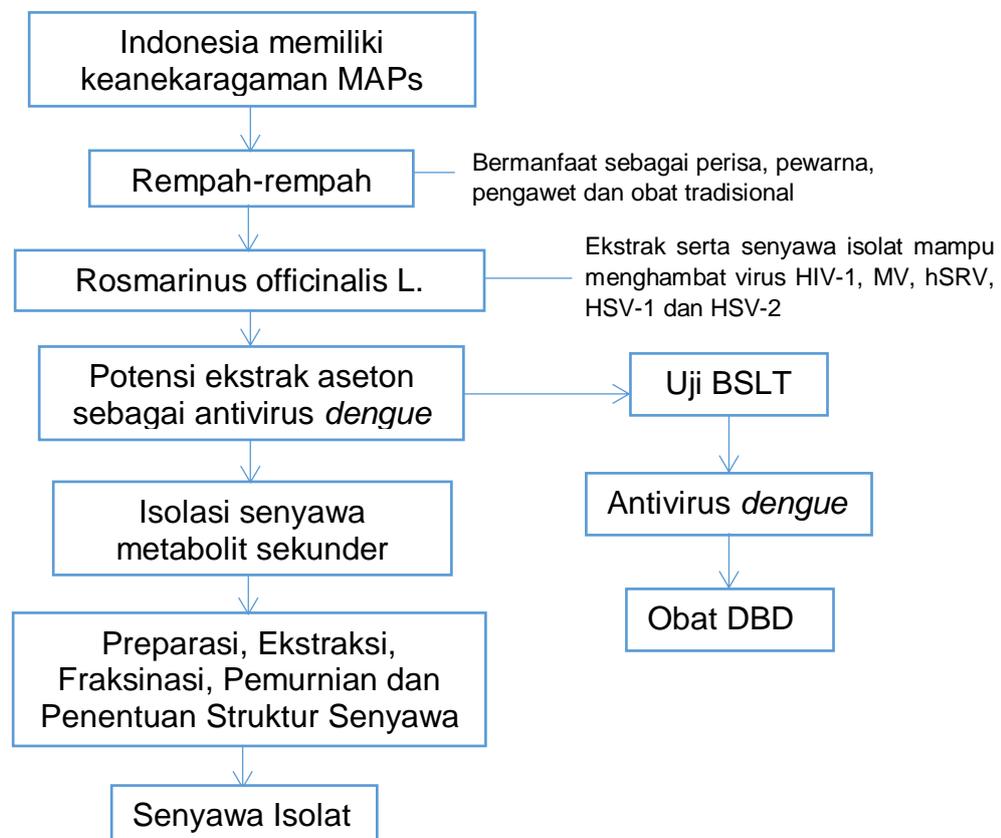
mengacu pada konsentrasi maksimum ekstrak yang menyebabkan 50% penghambatan pertumbuhan sel normal (CC_{50}) dibagi dengan konsentrasi minimum 50% virus dihambat (IC_{50}). Apabila nilai SI suatu ekstrak > 4 dianggap sesuai dan dapat digunakan sebagai obat (Bekut, dkk., 2018).

G. Kerangka Konseptual

Indonesia memiliki sumber bahan alam yang melimpah sehingga menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara yang berpotensi dalam mengembangkan tanaman obat dan atomatik (MAPs). Jenis MAPs yang banyak dibudidayakan serta menarik minat peneliti adalah rempah-rempah. Kegunaan rempah-rempah tidak hanya sebagai perisa, pewarna serta pengawet makanan melainkan sebagai obat tradisional yang telah teruji secara klinis maupun secara etnobotani. Rosemary merupakan rempah-rempah yang berasal dari famili Lamiaceae yang pembudidayaannya mulai berkembang dengan pesat di Indonesia.

Berbagai penelitian melaporkan bahwa ekstrak maupun senyawa isolat dari rosemary mampu menghambat replikasi virus HIV-1, MV, hSRV, HSV-1 dan HSV-2 maka dapat diasumsikan bahwa ekstrak/isolat rosemary memiliki aktivitas sebagai antivirus. Penyakit DBD yang diakibatkan oleh virus *dengue* merupakan salah satu masalah utama dalam bidang kesehatan di Indonesia khususnya Sulawesi Selatan sehingga penelitian untuk menemukan obat dari ekstrak atau senyawa aktif perlu dilakukan.

Pengujian awal antivirus *dengue* yang dilakukan terhadap ekstrak aseton rosemary yaitu uji BSLT yang memiliki korelasi positif dengan uji antivirus, selanjutnya pengujian secara *in vitro* menggunakan virus DENV-2 dengan cara menganalisis nilai IC_{50} , CC_{50} dan SI untuk mengetahui potensi ekstrak sebagai obat antivirus *dengue*. Penentuan senyawa aktif dari ekstrak rosemary dapat melalui beberapa tahapan di antaranya preparasi tanaman, ekstraksi menggunakan pelarut aseton, fraksinasi menggunakan berbagai alat kromatografi, pemurnian senyawa isolat, dan penentuan struktur senyawa isolat. Berdasarkan pemaparan tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai penelusuran metabolit sekunder ekstrak aseton rosemary dan potensi ekstrak sebagai antivirus *dengue*.



Gambar 3. Diagram alir kerangka teori penelitian

H. Hipotesis

Berdasarkan pemaparan kerangka pemikiran dan beberapa penelitian terkait mengenai potensi antivirus ekstrak maupun senyawa isolat *Rosmarinus officinalis* L./rosemary, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak aseton rosemary berpotensi sebagai antivirus *dengue*.