

TESIS

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTI-DENGUE SERTA TOKSISITAS
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER dari SIDAGURI
(*Sida rhombifolia* L)**



ERLINDA RHOHMATUL LAILI

082014253013

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTI-DENGUE SERTA TOKSISITAS
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER dari SIDAGURI
(*Sida rhombifolia* L)**



ERLINDA RHOHMATUL LAILI

082014253013

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTI-DENGUE SERTA TOKSISITAS
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER dari SIDAGURI
(*Sida rhombifolia* L)**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Magister Kimia**

pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Oleh :

Erlinda Rhoematul Laili

NIM. 082014253013

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

HALAMAN PENGESAHAN NASKAH TESIS

TESIS

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTI-DENGUE SERTA TOKSISITAS
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER dari SIDAGURI
(*Sida rhombifolia* L)

Disusun Oleh :

Erlinda Rhohmatul Laili

NIM. 082014253013

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji dan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelas Magister Kimia
Pada Tanggal 24 Mei 2022

Disetujui oleh:

Pembimbing I,


Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si.
NIP. 196705141991022001

Pembimbing II,


Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA
NIP. 196711151991022001

Mengetahui

Ketua Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi


Mochammada Zaki Fahmi, M.Si., Ph.D.
NIP. 198307022009121005

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis mampu melaksanakan penelitian dan menyelesaikan naskah tesis yang berjudul **“Isolasi dan Uji Aktivitas Anti-Dengue Serta Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder dari Sidaguri (*Sida rhombifolia* L)”**. Naskah tesis ini disusun sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh mahasiswa untuk mencapai gelar Magister pada program Studi Magister (S2) Kimia di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang ikut berperan dalam penyusunan naskah tesis ini, khususnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si. sebagai dosen pembimbing I atas arahan, bimbingan, dan bantuan selama penyusunan tesis ini.
2. Ibu Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA sebagai dosen pembimbing II atas motivasi, nasehat, dan bimbingan selama penyusunan tesis ini.
3. Bapak Mochamad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D. selaku Ketua Departemen Kimia dan Bapak Yanuardi Raharjo, M. Sc., Ph. D. selaku dosen pembimbing akademik pascasarjana Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
4. Bapak Rico Ramadhan, S.Si., M.P., Ph.D. yang selalu membimbing dan memberi saran dalam pengerjaan naskah tesis.
5. Bapak Dr. Ali Rohman, M.Si. dan Bapak Satya Candra Wibawa Sakti, M.Sc., Ph.D. yang telah memberikan saran dan arahan dalam penulisan naskah tesis.
6. Bapak dan Ibu dosen Program Studi Magister (S2) Kimia yang telah memberikan ilmu, nasihat dan pengalaman selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi Magister (S2) Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknolgi, Universitas Airlangga.

7. Orang tua penulis beserta keluarga besar penulis yang selalu memberikan dukungan, cinta kasih dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah tesis dan terus mendukung penulis dalam menempuh pendidikan di Program Studi Magister (S2) Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
8. Teman-teman satu bimbingan yang selalu memberikan inspirasi, bantuan, arahan dan semangat kepada penulis selama pengerjaan penelitian dan penulisan naskah.
9. Teman-teman Magister (S2) Kimia angkatan 2019-2021 Universitas Airlangga yang selalu membantu dan mendukung saya dalam hal apapun.
10. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan yang telah memberikan do'a, motivasi, dukungan, arahan, semangat dan saran dalam pembuatan naskah tesis ini hingga akhir.

Penulis menyadari bahwa tulisan penyusunan tesis ini masih banyak kekurangan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan tesis ini.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Surabaya, 24 Mei 2022

Penulis,

Erlinda Rhohmatul Laili

Rhohmatul L, Erlinda, 2022, Isolasi dan Uji Aktivitas Anti-Dengue Serta Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder dari Sidaguri (*Sida rhombifolia* L). Tesis dibawah bimbingan Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si. dan Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

ABSTRAK

Tanaman sidaguri (*Sida rhombifolia* L) merupakan spesies dari genus *Sida* dan famili Malvaceae yang berpotensi sebagai sumber senyawa kimia bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari tanaman *Sida rhombifolia* L dan menentukan potensi aktivitas anti-dengue serta toksisitasnya dengan MTT Assay. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana (NH), etil asetat (EA) dan metanol (MeOH) yang kemudian masing-masing ekstrak diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak NH dan EA yang diperoleh dipisahkan dan dimurnikan dengan menggunakan teknik kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG). Senyawa metabolit sekunder murni yang diperoleh ditetapkan strukturnya berdasarkan data spektroskopi UV-Vis, FTIR, 1D, dan 2D NMR. Lima senyawa murni telah berhasil diisolasi, tiga buah diantaranya dari ekstrak EA yaitu 20-hydroxyecdysone (1), 7-oxo- β -sitosterol (2) dan β -sitosterol (3). Dua buah senyawa dari ekstrak NH adalah stigmasterol (4) dan sitostenon (5). Hasil uji aktivitas anti-dengue terhadap ekstrak NH, EA, dan 20-hydroxyecdysone (1) terhadap virus DENV-2 memberikan nilai IC_{50} sebesar 70,02; 85,89; dan 155,0 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga sampel tersebut tidak aktif sebagai anti-dengue karena nilai $IC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$. Uji toksisitas dengan metode MTT pada ekstrak NH, EA dan 20-hydroxyecdysone (1) memberikan nilai CC_{50} sebesar 97,01; 127,9 dan 103,7 $\mu\text{g/mL}$ yang berarti ketiga sampel tersebut tidak toksik karena nilai $CC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$.

Kata kunci : Sida rhombifolia L, 20-hydroxyecdysone, 7-oxo- β -sitosterol, β -sitosterol, stigmasterol, sitostenon, anti-dengue, toksisitas

Rhohmatul L, Erlinda, 2022, Isolation of Secondary Metabolite Compounds from Sidaguri (*Sida rhombifolia* L) and Assessment Of Anti-Dengue Activity & Toxicity. The thesis was under guidance of Prof. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si. and Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga.

ABSTRACT

Sidaguri plant (*Sida rhombifolia* L) is a species of the genus *Sida* and the family Malvaceae that has the potential as a source of bioactive chemical compounds. This study aimed to isolate secondary metabolites from *Sida rhombifolia* L and determine the potential anti-dengue activity and toxicity using MTT Assay. The extraction method used is the multilevel maceration method using n-hexane (NH), ethyl acetate (EA), and methanol (MeOH) solvents, then each extract is evaporated with a rotary vacuum evaporator to become a thick extract. The obtained NH and EA extracts were separated and purified using vacuum liquid chromatography (KCV) and gravity column chromatography (KKG) techniques. The pure secondary metabolites obtained were structurally determined based on UV-Vis, FTIR, 1D, and 2D NMR spectroscopy data. Five pure compounds have been isolated, three of them from EA extract, namely 20-hydroxyecdysone (1), 7-oxo- β -sitosterol (2), and β -sitosterol (3). Two compounds from the NH extract were stigmasterol (4) and sitostenone (5). The results of the anti-dengue activity test against NH extract, EA, and 20-hydroxyecdysone (1) against the DENV-2 virus gave an IC₅₀ value of 70.02; 85.89; and 155.0 $\mu\text{g/mL}$. This shows that the three samples are not active as anti-dengue because the IC₅₀ value is $> 50 \mu\text{g/mL}$. Toxicity test using the MTT method on NH, EA, and 20-hydroxyecdysone (1) extracts gave CC₅₀ values of 97.01; 127.9, and 103.7 $\mu\text{g/mL}$, which means the three samples are not toxic because the CC₅₀ value is $> 50 \mu\text{g/mL}$.

Keyword : Sida rhombifolia L, 20-hydroxyecdysone, 7-oxo- β -sitosterol, β sitosterol, stigmasterol, sitostenon, anti-dengue, toxicity

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Erlinda Rhohmatul Laili
NIM : 082014253013
Program Study : S2 Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenjang : Magister (S2)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penelitian tesis saya yang berjudul :

Isolasi dan Uji Aktivitas Anti-Dengue Serta Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder dari Sidaguri (*Sida rhombifolia* L).

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah diterapkan.

Demikian surat pernyataan ini yang saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 26 Mei 2022



Erlinda Rhohmatul Laili
NIM 082014253013

DAFTAR ISI

LEMBAR COVER.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PRASYARAT MAGISTER.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH TESIS	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan.....	5
1.4 Manfaat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Genus <i>Sida</i>	6
2.2 <i>Sida rhombifolia</i> L.....	6
2.3 Fitokimia Tumbuhan <i>Sida</i>	8
2.3.1 Alkaloid pada <i>Sida</i>	9
2.3.2 Flavonoid pada <i>Sida</i>	10
2.3.3 Kumarin dan steroid pada <i>Sida</i>	12
2.3.4 Triterpen dan tocopherol pada <i>Sida</i>	12
2.3.5 Senyawa lain-lain pada <i>Sida</i>	13
2.4 Bioaktivitas Genus <i>Sida</i>	15

2.5 Metode Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	16
2.6 Analisis Spektroskopi	17
2.7 <i>Dengue</i>	19
2.8 Uji Aktivitas dan Uji Toksisitas	20
2.8.1 Uji aktivitas anti- <i>dengue</i>	20
2.8.2 Uji toksisitas	21
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	24
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	24
3.2 Skema Kerangka Konseptual Penelitian	28
3.3 Hipotesis Penelitian	29
BAB IV METODE PENELITIAN	30
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	30
4.2 Sampel, Bahan dan Peralatan Penelitian	30
4.2.1 Sampel penelitian	30
4.2.2 Bahan penelitian	30
4.2.3 Peralatan penelitian	31
4.3 Prosedur Penelitian	32
4.3.1 Ekstraksi, pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder	32
4.3.2 Penentuan struktur senyawa metabolit sekunder	33
4.3.2.1 Analisis spektroskopi UV-Vis	34
4.3.2.2 Analisis FTIR	34
4.3.2.3 Analisis sampel dengan spektroskopi NMR	34
4.4 Uji Aktivitas dan toksisitas	34
4.4.1 Uji aktivitas anti- <i>dengue</i>	34
4.4.2 Uji toksisitas	36
4.5 Diagram Alir Penelitian	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	41
5.1 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	41
5.2 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi	52
5.2.1 Senyawa 20-hydroxyecdysone	52

5.2.2 Senyawa 7-oxo- β -sitosterol.....	59
5.2.3 Senyawa β -sitosterol	65
5.2.4 Senyawa Stigmasterol	72
5.2.5 Senyawa Sitostenon	79
5.3 Uji Aktivitas Anti- <i>dengue</i> dan Toksisitas MTT <i>Assay</i>	85
5.3.1 Hasil Uji Aktivitas Anti- <i>dengue</i>	86
5.3.2 Hasil Uji Toksisitas MTT <i>Assay</i>	88
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	93
6.1 Kesimpulan.....	93
6.2 Saran	94
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN	105

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Distribusi senyawa metabolit sekunder genus <i>Sida</i>	8
2.2	Berbagai macam bioaktivitas yang dimiliki oleh genus <i>Sida</i>	15
2.3	Spektrum ^1H dan ^{13}C NMR untuk senyawa cryptolepinone (500 MHz dalam pelarut DMSO-d6)	18
5.1	LC-MS ketiga ekstrak tanaman sidaguri	42
5.2	Korelasi sinyal proton dan karbon pada senyawa 1 hasil isolasi pada spektrum HMBC	56
5.3	Spektrum NMR senyawa 20-hydroxyecdysone hasil isolasi dengan pembanding	58
5.4	Korelasi sinyal proton dan karbon pada senyawa 2 hasil isolasi pada spektrum HMBC	63
5.5	Spektrum NMR senyawa 7-keto- β -sitosterol hasil isolasi dengan pembanding	64
5.6	Korelasi sinyal proton dan karbon pada senyawa 3 hasil isolasi pada spektrum HMBC	68
5.7	Spektrum NMR senyawa β -sitosterol hasil isolasi dengan pembanding	71
5.8	Korelasi sinyal proton dan karbon pada senyawa 4 hasil isolasi pada spektrum HMBC	76
5.9	Spektrum NMR senyawa stigmasterol hasil isolasi dengan pembanding	78
5.10	Korelasi sinyal proton dan karbon pada senyawa 5 hasil isolasi pada spektrum HMBC	82
5.11	Spektrum NMR senyawa sitostenon hasil isolasi dengan pembanding	84

5.12	Uji aktivitas anti- <i>dengue</i> ekstrak <i>n</i> -heksana, ekstrak etil asetat, dan senyawa 1 hasil isolasi terhadap virus DENV-2	87
5.13	Uji toksisitas ekstrak <i>n</i> -heksana, ekstrak etil asetat, dan senyawa 1 hasil isolasi dengan metode MTT <i>Assay</i>	89
5.14	Hasil dari SI uji aktivitas anti- <i>dengue</i> dan toksisitas ekstrak <i>n</i> -heksana, ekstrak etil asetat dan senyawa 1 hasil isolasi	91

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Tumbuhan <i>S. rhombifolia</i> L (Sidaguri)	7
2.2	Alkaloid dari genus <i>Sida</i>	10
2.3	Flavonoid dari genus <i>Sida</i>	11
2.4	Kumarin dari genus <i>Sida</i>	12
2.5	Steroid dari genus <i>Sida</i>	12
2.6	Triterpen dari genus <i>Sida</i>	13
2.7	Tocopherol dari genus <i>Sida</i>	13
2.8	Senyawa lain-lain dari genus <i>Sida</i>	14
2.9	Senyawa cryptolepinone	18
2.10	Reaksi Reduksi MTT	22
4.1	Diagram alir penelitian	39
5.1	Fraksi B (merah), C (kuning), D (biru) dan E (orens)	45
5.2	Subfraksi E23 _f	45
5.3	Uji kemurnian analisis KLT tiga sistem eluen Senyawa 1	46
5.4	Subfraksi E3 ₇	46
5.5	Uji kemurnian analisis KLT tiga sistem eluen Senyawa 2	47
5.6	Subfraksi B4	48
5.7	Uji kemurnian analisis KLT tiga sistem eluen Senyawa 3	48
5.8	Fraksi 2 (merah) dan 8 (kuning)	49
5.9	Subfraksi 2.9	49
5.10	Uji kemurnian analisis KLT tiga sistem eluen Senyawa 4	50
5.11	Subfraksi 8.5	51
5.12	Subfraksi 8.5 ₅	51
5.13	Uji kemurnian analisis KLT tiga sistem eluen Senyawa 5	51
5.14	Struktur senyawa 20-hydroxyecdysone dan makisteron C	54
5.15	Korelasi HMBC senyawa 1	55
5.16	Struktur senyawa 20-hydroxyecdysone	57

5.17	COSY senyawa 20-hydroxyecdysone	57
5.18	Kerangka struktur senyawa 2	60
5.19	Korelasi HMBC senyawa 2	62
5.20	Struktur senyawa 7-keto- β -sitosterol	62
5.21	COSY senyawa 7-keto- β -sitosterol	64
5.22	Kerangka struktur senyawa 3	67
5.23	Korelasi HMBC senyawa 3	70
5.24	Struktur senyawa β -sitosterol	70
5.25	COSY senyawa β -sitosterol	70
5.26	Kerangka struktur senyawa 4	74
5.27	Korelasi HMBC senyawa 4	75
5.28	Struktur senyawa stigmasterol	77
5.29	COSY senyawa stigmasterol	77
5.30	Kerangka struktur senyawa 5	80
5.31	Korelasi HMBC senyawa 5	83
5.32	Struktur senyawa sitostenon	83
5.33	COSY senyawa sitostenon	84

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Lampiran
Lampiran-1	Kromatogram LC-MS
Lampiran-2	Spektrum UV senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-3	Spektrum FT-IR senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-4	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-5	Spektrum ^1H -NMR senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-6	Spektrum HSQC senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-7	Spektrum HMBC senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-8	Spektrum COSY senyawa 20-hydroxyecdysone
Lampiran-9	Spektrum UV senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-10	Spektrum FT-IR senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-11	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-12	Spektrum ^1H -NMR senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-13	Spektrum HSQC senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-14	Spektrum HMBC senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-15	Spektrum COSY senyawa 7-oxo- β -sitosterol
Lampiran-16	Spektrum UV senyawa β -sitosterol
Lampiran-17	Spektrum FT-IR senyawa β -sitosterol
Lampiran-18	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa β -sitosterol
Lampiran-19	Spektrum ^1H -NMR senyawa β -sitosterol
Lampiran-20	Spektrum HSQC senyawa β -sitosterol
Lampiran-21	Spektrum HMBC senyawa β -sitosterol
Lampiran-22	Spektrum COSY senyawa β -sitosterol
Lampiran-23	Spektrum UV senyawa stigmasterol
Lampiran-24	Spektrum FT-IR senyawa stigmasterol
Lampiran-25	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa stigmasterol
Lampiran-26	Spektrum ^1H -NMR senyawa stigmasterol
Lampiran-27	Spektrum HSQC senyawa stigmasterol

Lampiran-28	Spektrum HMBC senyawa stigmasterol
Lampiran-29	Spektrum COSY senyawa stigmasterol
Lampiran-30	Spektrum UV senyawa stigmastenon
Lampiran-31	Spektrum FT-IR senyawa stigmastenon
Lampiran-32	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa stigmastenon
Lampiran-33	Spektrum ^1H -NMR senyawa stigmastenon
Lampiran-34	Spektrum HSQC senyawa stigmastenon
Lampiran-35	Spektrum HMBC senyawa stigmastenon
Lampiran-36	Spektrum COSY senyawa stigmastenon
Lampiran-37	Uji aktivitas anti- <i>dengue</i>
Lampiran-38	Uji toksisitas
Lampiran-39	Perhitungan rendemen