

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUNG,
BINAHONG, DAN MENIRAN SECARA *IN VITRO* DAN
KARAKTERISASI METABOLIT SEKUNDER
MENGUNAKAN LC-HRMS/MS**

SITI MARTINAH PAJRIAH



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Sembung, Binahong, Dan Meniran Secara *In Vitro* Dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Menggunakan LC-HRMS/MS” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Mei 2026

Siti Martinah Pajriah
G4501222012



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

SITI MARTINAH PAJRIAH. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Sembung, Binahong, Dan Meniran Secara *In Vitro* Dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Menggunakan LC-HRMS/MS. Dibimbing oleh DYAH ISWANTINI, HENNY PURWANINGSIH, dan MIN RAHMINIWATI.

Inflamasi merupakan respons imun terhadap patogen, zat asing, atau kerusakan sel yang melibatkan mediator seperti enzim siklooksigenase-2 (COX-2) serta sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6. Penggunaan obat antiinflamasi sintesis sering menimbulkan efek samping, sehingga diperlukan alternatif berbasis bahan alam. Daun sembung (*Blumea balsamifera*), binahong (*Anredera cordifolia*), dan meniran (*Phyllanthus niruri*) diketahui mengandung flavonoid yang berpotensi sebagai agen antiinflamasi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kandungan flavonoid total dan aktivitas antiinflamasi ekstrak tunggal maupun kombinasi ketiga tanaman tersebut serta mengkaji potensi efek sinergisnya.

Sampel daun diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut air dan etanol 70%, kemudian dianalisis fitokimia untuk mengidentifikasi metabolit sekunder. Kandungan flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri menggunakan kuersetin sebagai standar. Aktivitas antiinflamasi diuji melalui inhibisi denaturasi albumin, inhibisi COX-2 menggunakan metode ELISA, serta pengukuran sitokin TNF- α dan IL-6 pada sel makrofag RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS). Kombinasi ekstrak disiapkan dalam beberapa rasio, sementara identifikasi metabolit dilakukan menggunakan *Liquid Chromatography-High Resolution Tandem Mass Spectrometry* (LC-HRMS/MS), yang berfungsi untuk memisahkan, mendeteksi, dan mengidentifikasi senyawa berdasarkan massa molekul secara akurat. Analisis data dilakukan menggunakan ANOVA untuk menentukan adanya perbedaan signifikan antarkelompok perlakuan, yang kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey untuk mengidentifikasi perlakuan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan secara spesifik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% menghasilkan rendemen dan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air, dengan nilai total flavonoid pada ekstrak tunggal etanolik sembung sebesar 35,27 mg QE/g, sedangkan pada kombinasi S:B:M (1:0:1) meningkat menjadi 40,24 mg QE/g. Uji denaturasi albumin menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak memberikan persentase inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal, dengan nilai inhibisi pada kombinasi S:B:M (1:0:1) sebesar 76,46%, yang mengindikasikan adanya efek sinergis. Selain itu, aktivitas inhibisi COX-2 pada kombinasi ekstrak tergolong sangat kuat, dengan kombinasi S:B:M (1:0:1) menunjukkan nilai IC₅₀ terendah. Analisis LC-HRMS/MS mengidentifikasi berbagai senyawa bioaktif, terutama flavonoid seperti kaempferol, isorhamnetin, rutin, isoquercetin, dan tricetin, serta senyawa fenolik dan terpenoid yang berkontribusi terhadap aktivitas antiinflamasi. Selain itu, uji sitokin menunjukkan bahwa ekstrak, khususnya dalam bentuk kombinasi, mampu menghambat produksi TNF- α dan IL-6 secara signifikan. Mekanisme aksi diduga melalui penghambatan jalur NF- κ B dan modulasi mediator inflamasi.

Secara keseluruhan, kombinasi ekstrak daun sembung, binahong, dan meniran menunjukkan aktivitas antiinflamasi *in vitro* yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal, dengan formulasi S:B:M (1:0:1) sebagai yang paling potensial. Aktivitas ini berkaitan dengan kandungan flavonoid dan metabolit bioaktif lainnya yang bekerja secara sinergis dalam menghambat COX-2 dan sitokin proinflamasi. Temuan ini menunjukkan bahwa formulasi polih herbal memiliki potensi sebagai agen anti-inflamasi alami, meskipun studi lanjutan secara *in vivo* masih diperlukan untuk mengkonfirmasi efektivitas dan keamanannya.

Kata kunci: *Anredera cordifolia*; *Blumea balsamifera*; COX-2; inflamasi; *Phyllanthus niruri*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

SUMMARY

SITI MARTINAH PAJRIAH. Anti-Inflammatory Activity of Sembung, Binahong, and Phyllanthus Leaf Extracts in Vitro and Characterization of Secondary Metabolites Using LC-HRMS/MS. Supervised by DYAH ISWANTINI, HENNY PURWANINGSIH, dan MIN RAHMINIWATI.

Inflammation is an immune response to pathogens, foreign substances, or cellular damage involving mediators such as cyclooxygenase-2 (COX-2) and pro-inflammatory cytokines, including TNF- α and IL-6. The use of synthetic anti-inflammatory drugs is often associated with adverse side effects, thus necessitating the exploration of natural-based alternatives. Leaves of sembung (*Blumea balsamifera*), binahong (*Anredera cordifolia*), and meniran (*Phyllanthus niruri*) are known to contain flavonoids with potential anti-inflammatory properties. Therefore, this study aimed to evaluate the total flavonoid content and anti-inflammatory activity of single and combined extracts of these three plants, as well as to investigate their potential synergistic effects.

The leaf samples were extracted using maceration with water and 70% ethanol as solvents, followed by phytochemical analysis to identify secondary metabolites. Total flavonoid content was determined spectrophotometrically using quercetin as a standard. Anti-inflammatory activity was evaluated through inhibition of albumin denaturation, COX-2 inhibition using an ELISA method, and measurement of TNF- α and IL-6 cytokines in lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW 264.7 macrophage cells. Extract combinations were prepared in various ratios, while metabolite identification was carried out using Liquid Chromatography–High Resolution Tandem Mass Spectrometry (LC-HRMS/MS), which functions to separate, detect, and identify compounds based on accurate molecular mass. Data were analyzed using ANOVA to determine significant differences among treatment groups, followed by Tukey's post hoc test to identify specific group differences.

The results showed that the 70% ethanol extract produced higher yield and flavonoid content compared to the aqueous extract, with the total flavonoid content of the single ethanolic sembung extract being 35.27 mg QE/g, while the combination S:B:M (1:0:1) increased to 40.24 mg QE/g. The albumin denaturation assay demonstrated that extract combinations exhibited higher inhibition percentages than single extracts, with the S:B:M (1:0:1) combination showing an inhibition value of 76.46%, indicating a synergistic effect. Furthermore, COX-2 inhibitory activity of the extract combinations was categorized as very strong, with the S:B:M (1:0:1) combination exhibiting the lowest IC₅₀ value. LC-HRMS/MS analysis identified various bioactive compounds, particularly flavonoids such as kaempferol, isorhamnetin, rutin, isoquercetin, and tricetin, as well as phenolic and terpenoid compounds contributing to anti-inflammatory activity. In addition, cytokine assays revealed that the extracts, especially in combination form, significantly inhibited TNF- α and IL-6 production. The mechanism of action is presumed to involve inhibition of the NF- κ B pathway and modulation of inflammatory mediators.

Overall, the combination of sembung, binahong, and meniran leaf extracts demonstrated higher in vitro anti-inflammatory activity compared to single extracts,

with the S:B:M (1:0:1) formulation being the most potent. This activity is associated with flavonoid content and other bioactive metabolites that act synergistically in inhibiting COX-2 and pro-inflammatory cytokines. These findings suggest that polyherbal formulations have potential as natural anti-inflammatory agents, although further in vivo studies are required to confirm their efficacy and safety.

Kata kunci: *Anredera cordifolia*; *Blumea balsamifera*; COX-2; inflammation; *Phyllanthus niruri*

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUNG,
BINAHONG, DAN MENIRAN SECARA *IN VITRO* DAN
KARAKTERISASI METABOLIT SEKUNDER
MENGUNAKAN LC-HRMS/MS**

SITI MARTINAH PAJRIAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Kimia

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. Novriyandi Hanif, S.Si., M.Si.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Tesis : Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Sembung, Binahong, dan Meniran Secara *In Vitro* dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Menggunakan LC-HRMS/MS
Nama : Siti Martinah Pajriah
NIM : G450122012

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dra. Dyah Iswantini, M. Sc., Agr.

Pembimbing 2:
Dr. Henny Purwaningsih, S.Si., M.Si.

Pembimbing 2:
Prof. Drh. Min Rahminiwati, M.S., Ph.D.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Irmanida Batubara, S.Si., M.Si.
NIP 197508072005012001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP 197807232007011001

Tanggal Ujian: 31 Maret 2026

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah dengan judul “Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Sembung, Binahong, Dan Meniran Secara *In Vitro* Dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Menggunakan LC-HRMS/MS” telah berhasil diselesaikan. Penelitian dan penyusunan tesis ini dilaksanakan mulai dari bulan Maret 2024 sampai November 2025.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Dra. Dyah Iswanti, M. Sc., Agr., Dr. Henny Purwaningsih, S.Si., M.Si., dan Prof. Drh. Min Rahminiwati, M.S., Ph.D, yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada ketua program studi Prof. Dr. Irmanida Batubara, S.Si., M.Si., dan wakil program studi Dr. Wulan Tri Wahyuni, M.Si., Bapak/Ibu dosen beserta staf Laboratorium dan mahasiswa penelitian di Laboratorium Kimia Fisika Departemen Fisika FMIPA IPB, Laboratorium Kimia Universitas Nusa Bangsa, dan Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB dan Laela Wulansari, S.Si., M.Si, Dyah Purnawati, S.Si, Novia Alfiyansyah Putri, S.Si., M.Si, dan Ummahatul Mujahidah, S.Si., M.Si, yang telah membantu selama menyusun draft tesis. Penulis juga menyampaikan apresiasi dan terima kasih kepada *Prime Step Innovation Development Grant Program for IPB University Lecturers Year 2025 (No. 39064/IT.3/HK.07.00/P/T/2025)* atas dukungan pendanaan yang diberikan.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada keluarga tersayang Almarhumah ibu Hj. Djudju, bapak H. Omang Al Rahman, suami tercinta H.M. Indiyawan, S.Hut., putriku Annisa Hummaira Khazanah, putraku Bagas Dwiputra Rimbawan serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya selama saya menempuh studi S2.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Mei 2026

Siti Martinah Pajriah



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
II METODE	5
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	5
2.2 Alat dan Bahan	5
2.3 Prosedur Kerja	5
2.4 Analisis data	10
III HASIL DAN PEMBAHASAN	11
3.1 Ekstrak	11
3.2 Skrining Fitokimia	11
3.3 Total Kandungan Flavonoid	11
3.4 Penghambatan Denaturasi Albumin	13
3.5 Aktivitas anti-inflamasi berdasarkan nilai penghambatan COX-2	15
3.6 Identifikasi metabolit sekunder dalam sampel	17
3.7 Penghambatan ekstrak tunggal dan kombinasi sampel	21
IV SIMPULAN DAN SARAN	26
4.1 Simpulan	26
4.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	33
RIWAYAT HIDUP	35



DAFTAR TABEL

1	Formulasi ekstrak sampel	7
2	Ekstrak daun sembung, binahong, dan meniran	11
3	Analisis fitokimia ekstrak daun sembung, binahong, dan meniran	11
4	Nilai IC ₅₀ dalam individual dan formulasi ekstrak	16
5	Identifikasi metabolit sekunder dan senyawa dalam ekstrak S, B, dan M	17
6	Struktur kimia metabolit sekunder dalam ekstrak S, B, dan M	20
7	Kadar dan persentase penghambatan TNF- α pada berbagai perlakuan ekstrak	23
8	Kadar dan persentase penghambatan IL-6 pada berbagai perlakuan ekstrak	24
9	Penghambatan TNF- α dan IL-6	25

DAFTAR GAMBAR

10	Struktur dasar flavonoid	2
11	Morfologi daun dari (a) sembung, (b) binahong, dan (c) meniran	6
12	Rata-rata kandungan total flavonoid dari setiap ekstrak individu S, B, dan M	12
13	Rata-rata kandungan total flavonoid dari setiap ekstrak formulasi S, M, dan B	13
14	Nilai persentase penghambatan denaturasi albumin dari setiap ekstrak dan formulasi S, M, dan B	14
15	Nilai penghambatan COX-2 dari 70% ekstrak etanol S dan formulasi S, M, dan B. Nilai 25, 50, 100, 150, 300, dan 500 adalah konsentrasi sampel dalam $\mu\text{g/mL}$	15
16	(a) Konsentrasi sitokin TNF- α , (b) % penghambatan sitokin TNF- α	23
17	(a) Konsentrasi sitokin IL-6, (b) % penghambatan sitokin IL-6	24

DAFTAR LAMPIRAN

18	Diagram alir penelitian	34
19	Perhitungan	35