

KARAMUNTING

(Rhodomyrtus Tomentosa)

Tanaman Endemik Lahan Basah

Ekplorasi Kandungan Daun Sebagai Anti Inflamasi

Penulis

Fujiati - Haryati - Joharman - Annisa - Sabrina Wahda Utami

Penerbit :

 **SARI MULIA** *Indah*

KARAMUNTING

(Rhodomyrtus Tomentosa)

Tanaman Endemik Lahan Basah

Ekplorasi Kandungan Daun Sebagai Anti Inflamasi

Copyright @2022

Penulis : Fujiati - Haryati - Joharman - Annisa - Sabrina Wahda Utami

Layout & Cover : Wawan Wicaksono

Cetakan Pertama, Desember 2022

Ukuran : 16 x 23 cm ; II + 98 hlm

ISBN : 978-623-93475-9-8

Diterbitkan oleh :

CV SARI MULIA INDAH

Jl. Pramuka No 2 Km 6 Banjarmasin

Telp. (0511) 6742822 | 0821 3644 7888

Hak cipta dilindungi oleh undang-undang. Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh buku ini dalam bentuk apapun, juga tanpa izin tertulis dari penerbit

***Sanksi Pelanggaran Pasal 72
Undang Undang Nomor 19 Tahun 2002***

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000.000,00 (satu juta), atau pidana penjara paling lama 7 (Tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wr.wb. Puji syukur kepada Allah SWT. Dzat Yang Maha Mengetahui dan Maha Menyehatkan, yang ilmuNya melingkupi jagat raya dan seisinya. Salam dan shalawat semoga tercurah kepada Baginda Rasulullah Muhammad SAW., yang telah memberi teladan terbaik dalam urusan ilmu dan sehat.

Buku ini berjudul **Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) tanaman endemik lahan basah**, yang berisi penjelasan tentang metabolit skunder dalam daun karamunting dapat menyembuhkan radang atau inflamasi.

Dengan membaca buku ini, diharapkan pembaca dapat memahami potensi daun karamunting. Topik yang dikemas dalam buku ini memaparkan mekanisme senyawa metabolit skunder ekstrak etanol daun karamunting sebagai anti-inflamasi. Topik ini memberikan kesempatan pembaca dari bidang kedokteran, biologi molekuler dan peminat lain yang berhubungan dengan eksplorasi fitokimia tanaman.

Akhir kata semoga buku ini dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sarana untuk membantu pembaca memahami komponen tanaman yang dapat digunakan sebagai penyembuhan radang. Penulis mengharapkan masukan dan saran dari seluruh pembaca agar dapat menjadi kesempurnaan bagi buku ini.

Banjarmasin, Desember 2022

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam penyelesaian dan penerbitan buku ini, terutama kepada Universitas Lambung Mangkurat-Dosen Wajib Meneliti (PDWM) yang telah memberikan Hibah Penelitian tahun 2022.

DAFTAR ISI

	Hlm
1. Pendahuluan	1
2. Karamunting (<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>)	3
3. Peranan NF- κ B pada Inflamasi	9
4. Metabolit Profiling Subfraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Etanol Daun Karamunting	22
5. Terpenoid Sebagai Agen Anti-inflamasi	34
6. Flavonoid dan Aktivitas Anti-inflamasi	44
7. Potensi Alkaloid dalam Menghambat Inflamasi	53
8. Manfaat Fenolik sebagai Anti-inflamasi	60
9. Aktivitas Anti-inflamasi Daun Karamunting terhadap Stabilitas Membran Eritrosit	68
10. Penutup	77
Daftar Pustaka	80



PENDAHULUAN

Berbagai tumbuhan digunakan dalam pengobatan tradisional telah dikenal sejak bertahun-tahun lalu. Banyak penelitian menunjukkan efek terapeutik dari obat-obatan herbal, termasuk antioksidan, anti-inflamasi, antikanker, antimikroba dan imunomodulator (Das *et al.*, 2020). Salah satu tanaman yang digunakan secara turun temurun sejak dulu sebagai obat adalah karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*).

Tanaman ini termasuk keanekaragaman hayati yang ada di lahan basah Kalimantan Selatan. Berdasarkan hasil penelitian aktivitas farmakologis karamunting menunjukkan berbagai potensi terapeutik termasuk aktivitas antibakteri, antitumor, anti-inflamasi dan antioksidan baik *in vivo* maupun *in vitro* (Jeong *et.al.*, 2013). Ekstrak etanol daun tanaman ini sebagai anti-radang dengan menurunkan sel radang pada cairan bronchoalveoler hewan asma yang dipajan debu batubara (Fujiati & Hayati, 2022).

Tanaman karamunting mempercepat penyembuhan penyakit dengan memasok senyawa-senyawa yang diperlukan dalam proses regenerasi jaringan dan menekan atau mengatur produksi senyawa-senyawa yang berperan dalam inflamasi. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam karamunting seperti triterpenoid, flavonoid, fenol, tanin, dan meroterpenoid (Zhao *et al.*, 2020). Bagian daun *R. tomentosa* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid (Kusuma dkk, 2017). Daun tanaman *R. tomentosa* dapat digunakan sebagai alternatif anti-inflamasi pada pengobatan berbagai penyakit.



KARAMUNTING (*RHODOMYRTUS TOMENTOSA*)

Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) adalah tumbuhan berbunga family *Myrtaceae*, merupakan tumbuhan asli Asia selatan dan tenggara, dari India, China timur sampai selatan, Hong Kong, Taiwan dan Filipina, dan selatan hingga Malaysia dan Indonesia. Tumbuhan ini tumbuh di pesisir, hutan rimba alamiah, lahan basah, hutan rimba lembap dan basah, pinggiran rawa, hingga tinggi 2400 m permukaan laut.

Nama daerah karamunting berbeda-beda seperti Keumiki (Bahasa Aceh), karamunting (Bahasa Banjar dan bahasa di Kalimantan secara umumnya, termasuk Sabah dan Sarawak). Di daerah Minangkabau diberi nama karamuntiang, kalimuntiong (Riau), harimonting (Bahasa Batak), harendong sabrang (Bahasa Sunda). Kernuduk atau keraduduk di daerah Bangka Belitung.

Penggunaan karamunting sebagai salah satu etnomedicine di suku dayak ngaju Kalimantan Tengah (AlMukaramah, 2021). Di Kalimantan Selatan tanaman karamunting termasuk adalah salah satu keanekaragaman hayati lahan basah dan merupakan tanaman endemik Kalimantan Selatan. Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi tanaman ini. Secara ilmiah sudah dibuktikan manfaat tanaman tersebut, ekstrak etanol daunnya sebagai anti-inflamasi dan anti-remodeling pada hewan coba asma dan dipajan debu batubara (Fujiati & Hayati, 2022).

Analisis fitokimia *R. tomentosa* menunjukkan adanya senyawa golongan jenis utama adalah triterpenoid, flavonoid, fenol dan meroterpenoid.

Triterpenoid

R. tomentosa mengandung banyak triterpenoid. Sampai saat ini, 24 senyawa triterpenoid telah diisolasi dari *R. tomentosa*. Di antaranya sebagian besar adalah senyawa

triterpenoid pentasiklik sapogenin. β -sitostenone dan β -stigmasterol adalah lanostane jenis tetrasiklik triterpenoid sapogenins, dan laevigata noside A adalah pentasiklik saponin triterpenoid. Kerangka dasar sapogenin triterpenoid pentasiklik dapat dibagi menjadi tiga jenis seperti ursane, oleanane dan lupane (Zhang *et al.*, 2017).

Flavonoid

Kandungan flavonoid dalam karamunting sangat banyak. Strukturnya terutama mengandung kerangka myricetin yang ditandai dengan 3', 4', 5'-trihidroksil gugus pada cincin C dari flavonoid. Turunan antosianin, sejenis senyawa flavonoid bermuatan positif, sering dianggap sebagai pigmen alami yang berharga pada tumbuhan. Analoginya kaempferol, quercetin juga telah diisolasi dari *R. tomentosa*. Selain itu telah diidentifikasi dari *R. Tomentosa*, jenis flavonoid lainnya termasuk laricitrin, vitexin, naringenin dan blumeatin A (Zhao *et al.*, 2018).

Polifenol

Karamunting banyak mengandung senyawa fenol. Sekitar 34 jenis fenol telah diisolasi dari *R. tomentosa*. Diantaranya, fenol sederhana dan dapat ditemukan adalah fenol asam. Contohnya seperti progallin A, asam galat, metil galat, resveratrol dan analognya, piceatannol, astringin dan seterusnya. Selain itu, tanin terhidrolisis dengan unit asam galat dalam struktur fenol juga telah diisolasi dari *R. tomentosa*.

Rhodomyrtonone adalah senyawa khas dengan beberapa bioaktivitas yang diisolasi dari tanaman ini, dapat dianggap sebagai turunan dari phloroglucinol. Beberapa sifat bioaktif senyawa ini telah banyak dilaporkan termasuk antimikroba (Saising *et al.*, 2018), antitumor (Chorachoo *et al.*, 2016) dan anti-inflamasi (Naphatthalung *et al.*, 2018b). Bioaktivitas yang menguntungkan terkait erat dengan struktur diastereomer senyawa ini, yaitu terdapat beberapa karbon kiral (C2, C4 dan C9). Selain itu, rhodomyrtonone dan

turunannya dapat diperoleh dengan sintesis organik melalui serangkaian reaksi kondensasi dengan bantuan katalis asimetris (Tan *et al.*, 2017), dengan phloroglucinol sebagai bahan awal, menunjukkan kemungkinan produksi skala industri untuk floroglucinol.

Analisis spektroskopi dan perbandingan dengan senyawa terkait telah diidentifikasi senyawa asylphloroglucinol bernama rhodomyrtosones A-C dan turunan lepstospermone bernama rhodomyrtosone D yang diisolasi dari ekstrak aseton daun *R.tomentosa* (Aiton) Hassk (Hirannat *et al.*, 2008).

Meroterpenoid

Meroterpenoid adalah produk alami hibrida yang sebagian berasal dari jalur terpenoid (Geris dan Simpson, 2009). Kerangka dari meroterpenoid ini terdiri dari dua bagian, unit asam syncarpic teralkilasi dengan bagian terpenoid (Zhang *et al.*, 2016). Keragaman struktural mono atau seskuiterpen bagian struktur dari meroterpenoid ini. Senyawa ini juga terdapat dari famili

Myrtaceae termasuk *Eucalyptus tereticornis* (Liu *et al.*, 2018), *Leptospermum brachyandrum* (Zou *et al.*, 2018) dan *Callistemon rigidus* (Cao *et al.*, 2018). Pada struktur meroterpenoid dari *R. tomentosa* terdapat karbon kiral dan gugus isobutil.

Hasil analisis spektroskopi (IR, UV, NMR, ECD, dan HRESIMS) telah diidentifikasi seskuiterpen baru, turunan β -triketon. Senyawa tersebut menunjukkan efek penghambatan yang lemah pada sel HeLa, dan aktivitas anti-inflamasi yang lemah (Luo *et al.*, 2019).



PERANAN NF- κ B PADA INFLAMASI

Pendahuluan

Necrosis faktor κ B (NF- κ B) membentuk sejumlah faktor transkripsi yang memainkan peran penting dalam berbagai proses fisiologis dan patologis. Ada dua jalur NF- κ B yang berbeda, jalur NF- κ B kanonik dan non-kanonik, dengan mekanisme pengaktifan yang berbeda (Schuliga, 2015).

NF- κ B kanonik diaktifkan untuk merespons keragaman rangsangan eksternal yang terlibat dalam inflamasi, respons imun, proliferasi sel, diferensiasi, dan kelangsungan hidup. Tahap penting aktivasi NF- κ B kanonik adalah aktivasi kompleks IKKs (I κ B kinases) yang bergantung pada fosforilasi. Akibatnya, protein penghambat I κ B terfosforilasi dan target pada ubiquitination-dependent.

Di sisi lain, NF- κ B non-kanonik diaktifkan melalui reseptor TNF. Hal ini menunjukkan bahwa fungsi biologis cabang jalur ini lebih spesifik. NIK (NF- κ B-inducing kinase), kinase kunci di jalur ini, tetap di bawah level yang dapat dideteksi dalam kondisi stabil karena TRAF3 (faktor terkait TNFR 3) yang bergantung pada degradasi yang dimediasi di mana-mana. Setelah stimulasi, TRAF3 terdegradasi oleh E3 ubiquitin ligase cIAP (inhibitor seluler apoptosis), yang menyebabkan akumulasi NIK. NIK, bersama dengan IKK α , memfosforilasi p100, yang diproses lebih lanjut menjadi p52, melepaskan dimer RelBp52 untuk ditranslokasi ke nukleus dan selanjutnya mengaktifkan gen target.

Jalur NF- κ B non-kanonik bertanggung jawab untuk degradasi oleh proteasome, membebaskan faktor transkripsi κ B untuk translokasi ke nukleus dan mengaktifkan gen target. Aktivasinya cepat tetapi sementara, karena NF- κ B juga menginduksi ekspresi regulator negatif seperti I κ B α , A20, dan p105, membentuk mekanisme umpan balik negatif

pengembangan sel-sel imun dalam beberapa lapisan. Misalnya, jalur ini diperlukan untuk pematangan dan fungsi TEC (sel epitel timus), yang penting untuk perkembangan sel T di timus. Jalur ini juga sebagai pengatur penting dalam pengembangan SLO (organ limfoid sekunder). Sementara penelitian ini juga menjelaskan pentingnya jalur ini dalam pengembangan penyakit inflamasi kronis.

Aktivasi jalur kanonik NF- κ B

NF- κ B family terdiri dari p65 (RelA), RelB, c-Rel, p105/p50, dan p100/p52, yang semuanya berbagi domain homologi amino terminal yang sama REL, RHD. Jalur NF- κ B kanonik teraktivasi maka heterodimer RelA dan p50 berperan untuk transkripsi gen target, sedangkan RelB dan p52 membentuk heterodimer dalam jalur NF- κ B non-kanonik.

Pada gambar 3.1 menunjukkan Aktivasi dan regulasi jalur NF- κ B kanonik.

a. Ligasi TNFR mengarah pada perekrutan TRADD (TNF-R-associated death domain) dan interaksi E3 ligase ubiquitin cIAP1/2 (*cellular inhibitor of apoptosis 1 and 2*), TRAF2 (TNF-R-associated factor 2) dengan protein kinase RIP1 (*receptor-interacting protein 1*). Kemudian RIP1 dan K63 direkrut ke NEMO (NF- κ B *essential modulator*), menghasilkan kompleks TAK1-IKK. TAK1 (TGF- β -activated protein kinase 1) memfosforilasi dan mengaktifkan IKK β (*inhibitor of κ B(I κ B) kinase β*) yang pada gilirannya menginduksi fosforilasi dan degradasi I κ B α , memungkinkan dimer NF- κ B untuk translokasi ke nukleus dan mendorong transkripsi gen target (Herath *et al.*, 2020).

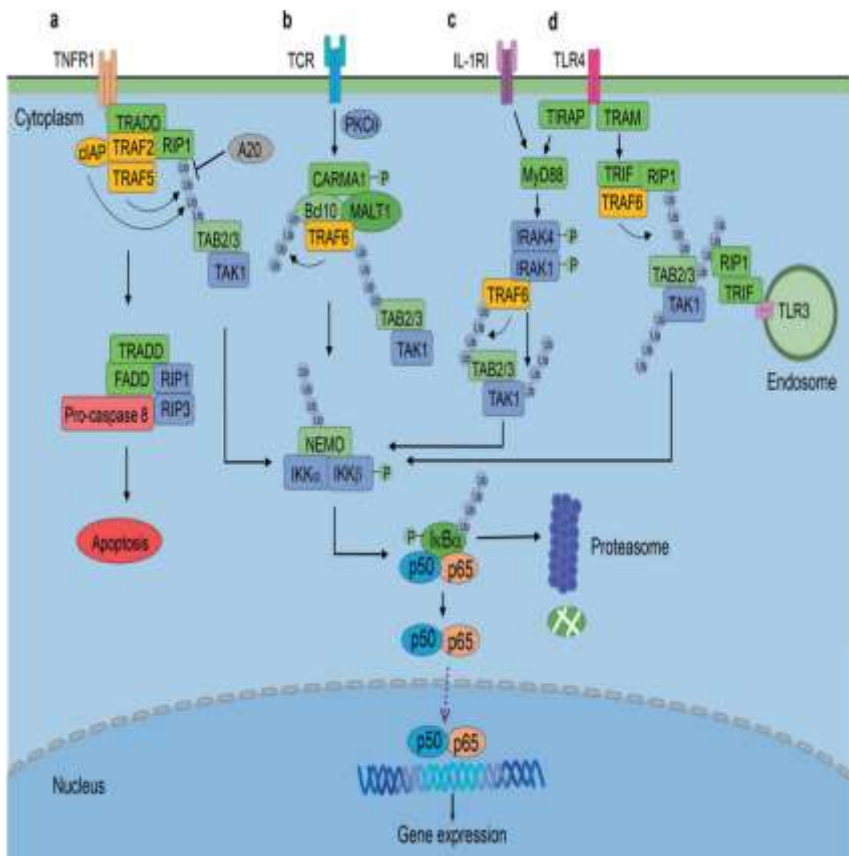
b. Stimulasi TCR (T cell receptor) menginduksi NF- κ B kanonik aktivasi melalui kompleks CARD11/Bcl10/MALT1 (CBM). Setelah stimulasi, CARD11 (CARMA1) direkrut dan difosforilasi oleh PKC- θ , yang mengarah ke perekrutan Bcl10 dan MALT1 untuk membentuk kompleks CBM. MALT1 kemudian merekrut TRAF6, yang memediasi ubiquitination K63 dari dirinya sendiri dan

Bcl10, diikuti oleh aktivasi TAK1 dan aktivasi NF- κ B kanonik yang dimediasi IKK.

c, d TLR dan IL-1RI memediasi transduksi sinyal melalui MyD88 (*myeloid differentiation primary response gene 88*). TLR4 merekrut TIRAP (*Toll/IL-1 receptor adaptor protein*) dan TRAM (*TRIF-related adaptor molecule*), yang masing-masing merekrut MyD88 dan TRIF, dan IL-1RI merekrut MyD88 secara langsung. MyD88 menginduksi perekrutan IRAK1 dan IRAK4, yang selanjutnya merekrut TRAF6 untuk mengaktifkan kompleks TAK dan jalur pensinyalan hilir. Aktivitas NF- κ B kanonik diatur pada berbagai tingkatan. Ekspresi A20 diaktifkan oleh NF- κ B, yang mengubiquitinasi RIP1, TRAF6 dan NEMO untuk merusak kompleks IKK.

NF- κ B kanonik diaktifkan dengan cepat, menginduksi banyak mediator dan molekul proinflamasi yang mengarah pada inflamasi respon serta aktivasi dan diferensiasi sel imun. Namun, aktivasi NF- κ B yang menyimpang menyebabkan inflamasi kronis, onkogenesis dan penyakit autoimun. Dengan demikian, NF- κ B diatur

dengan ketat untuk mempertahankan homeostasis (Corneiro et al., 2019).



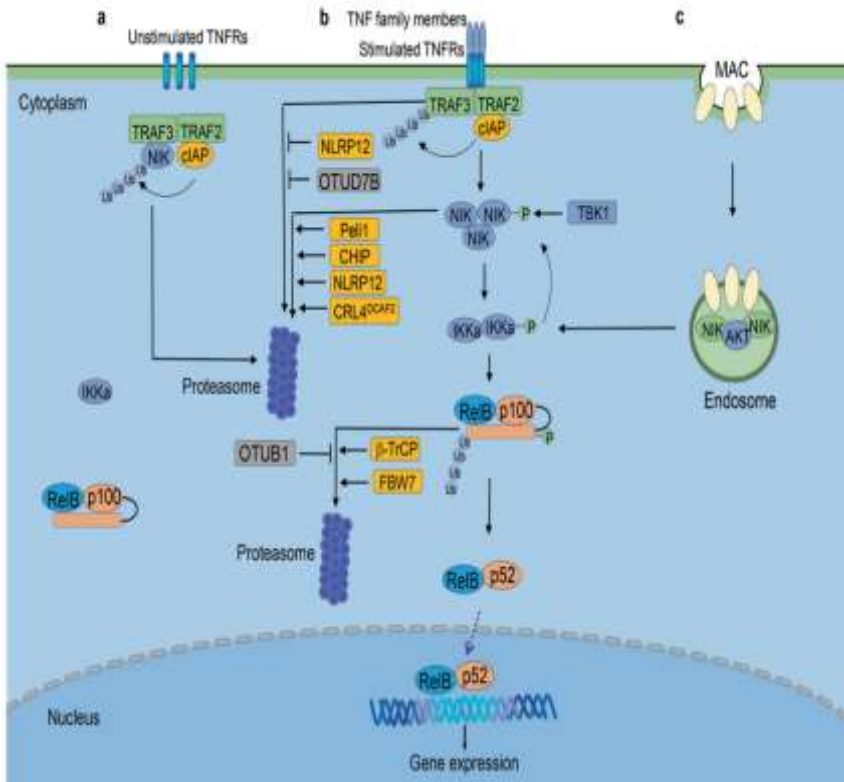
Gambar 3.1 Aktivasi dan regulasi jalur NF- κ B kanonik (Yu et al., 2020)

Aktivasi NF- κ B kanonik berhubungan dengan respon inflamasi terhadap infeksi dan cedera, yang merupakan

bagian dari pertahanan tubuh. Respon inflamasi yang diatur dengan baik sangat penting untuk homeostasis host. Aktivasi NF- κ B dan faktor transkripsi lain seperti STAT3 dan AP1 (protein aktivator 1) menginduksi ekspresi kemokin yang merekrut lebih banyak sel imun, termasuk makrofag, DC, sel mast, neutrofil, dan sel T dan B, yang selanjutnya memperburuk respons inflamasi.

Aktivasi jalur non-kanonik NF- κ B

Faktor transkripsi jalur NF- κ B non-kanonik adalah heterodimer RelB/p52. Prekursor p52 adalah p100 berfungsi sebagai protein mirip-I κ B akan memblokir translokasi RelB ke nukleus. Proses proteolitik p100 menghasilkan p52 dan membebaskan RelB, kemudian terbentuk dimer RelB/p52 yang translokasi ke nukleus. Jadi, pemrosesan p100 adalah jalur utama sinyal NF- κ B non-kanonik, yang diatur oleh NIK-IKKa (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 Regulasi aktivasi jalur non-kanonik NF- κ B (Yu et al., 2020)

Berdasarkan gambar 3.2. regulasi dan aktivasi jalur non-kanonik NF- κ B sebagai berikut:

- a. Kondisi tidak aktif, NIK yang baru disintesis sebagai target degradasi tergantung-ubiquitin yang diperantarai oleh kompleks enzim cIAP-TRAF2-TRAF3

E3 ubiquitin ligase, untuk mencegah akumulasi NIK dan NF- κ B non-kanonik.

- b. Ligasi anggota superfamili TNFR spesifik oleh ligannya (anggota keluarga TNF) menginduksi perekrutan TRAF3-TRAF2-cIAP ke kompleks reseptor, diikuti oleh degradasi tergantung-ubiquitination diikuti ubiquitinasi K48 dan TRAF3, menghasilkan stabilisasi dan akumulasi NIK. NIK, bersama dengan IKK α , memediasi fosforilasi p100 dan proses yang bergantung pada ubiquitin, untuk menghasilkan p52 dan memungkinkan heterodimer p52-RelB untuk memasuki nukleus untuk transkripsi gen target.
- c. Aktivasi NF- κ B non-kanonik oleh MAC melibatkan pembentukan kompleks pensinyalan berbasis endosom yang mengandung NIK, AKT dan MAC. AKT memperantarai stabilisasi NIK dan fosforilasi IKK α dan mengaktifkan NF- κ B non-kanonik hilir. NF- κ B non-kanonik diatur secara negatif melalui deubiquitinasi TRAF3 yang dimediasi oleh OTUD7B dan degradasi NIK yang dimediasi oleh IKK α , TBK1, CHIP, NLRP12, Peli1 dan CRL4.

Penelitian Fujiati & Haryati (2021) menunjukkan adanya interaksi antara senyawa bioaktif dari ekstrak etanol daun karamunting dengan NF- κ B. Metabolit skunder seperti trans- β -ionon-5,6-epoxide, Trans-caryophyllene dan nerol.

Energi ikatan interaksi trans- β -ionon-5,6-epoxide-NF- κ B, Trans-caryophyllene dan nerol tertera dan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Energi ikatan antara ligan dengan NF- κ B

Ligan TRANS- .BETA. -IONON-5,6-EPOXIDE			
Protein	Delta G (kcal/mol)	Ikatan H	Residu AA dengan Ikatan hidrofob
NF- κ B	-6,485	--	Arg23, Gly31, Met32, Phe34, Arg35, Gly44, Ser45, Pro47
Ligan Trans (β)-Caryophyllene			
NF- κ B	-6,089	--	Met32, Arg33, Phe34, Arg35, Ala43, Gly44, Ser45, Pro47, Gly117
Ligan Nerol			

NF- κ B	-6.440	Asp185	Tyr36, Val121, Lys122, Lys123, Leu154, Arg187, Ala 188, Pro189,
Ligan Salbutamol			
NF- κ B	7.529	Arg30 (2 ikatan)	Lys28, Gln29, Glu193, Glu 279, Leu280, Ser281

Energi bebas ikatan/afinitas ikatan merupakan aspek penting dalam menilai interaksi ligan dan protein. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan menunjukkan bahwa semakin sedikit energi yang dibutuhkan untuk melakukan pengikatan atau interaksi suatu ligan dengan protein. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi afinitas ikatan antara ligan dan protein. Interaksi elektrostatik, van der Waals, interaksi hidrofobik adalah faktor penting disamping faktor-faktor lainnya seperti entropi, desolvasi, fleksibilitas struktur protein, dan struktur molekul air pada situs ikatan (Suparman dkk., 2021). Energi ikatan trans- β -ionon-5,6-epoxide-NF- κ B (-6,485 kcal/mol) lebih tinggi dari nerol-NF- κ B (-6.440 kcal/mol) dan trans-(β)-caryophyllene-NF- κ B (-6,089

kcal/mol). Sedangkan energi ikatan salbutamol-NF- κ B (7,529 kcal/mol).

Formasi docking dengan afinitas terbaik antara nerol-NF- κ B membentuk satu ikatan hidrogen dengan asam amino Asp185 dengan jarak maksimum 3Å. Meskipun berbeda dengan posisi ikatan hidrogen dengan obat standar salbutamol yang berada pada Arg30, keberadaan ikatan hidrogen ini memiliki peran penting terhadap afinitas antara ligan dan protein target karena membentuk interaksi elektrostatik (donor dan akseptor hidrogen).

Docking ligan trans-(β)-caryophyllene pada NF- κ B memperlihatkan afinitas yang lebih rendah dibandingkan interaksi nerol dan NF- κ B. Ikatan ligan ini diperkuat dengan ikatan hidrofobik. Ikatan hidrofobik yang dominan pada interaksi ligan dan protein ini melibatkan kontak antara bagian non polar molekul. Posisi ikatan hidrofobik pada sisi non polar ini menguntungkan karena menghasilkan entropi sehingga ikatan ini juga penting

dalam interaksi ligan dan protein. Pengamatan secara umum dari interaksi 2 ligan (trans- β -ionon-5,6-epoxide dan trans-(β)-caryophyllene) dan protein NF- κ B memperlihatkan bahwa asam amino yang sering terlibat dalam interaksi adalah Met32, Phe34, Arg35, Gly44, Ser45, Pro47.



METABOLIT PROFILING SUBFRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN KARAMUNTING

Pendahuluan

Obat tradisional di Indonesia sangat besar peranannya dalam pelayanan kesehatan masyarakat di Indonesia dan sangat potensial untuk dikembangkan. Negara ini memang kaya akan tanaman obat-obatan, tapi sayang kekayaan alam tersebut tampaknya masih belum dimanfaatkan secara optimal untuk kesehatan. Apalagi saat ini, daya beli masyarakat terhadap obat-obatan modern semakin menurun sebagai akibat dari pandemi Covid - 19 yang berdampak secara tidak langsung terhadap perekonomian masyarakat.

Indonesia diketahui memiliki keragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Dari berbagai penelitian menyebutkan, dari sekitar 30.000 spesies tumbuhan di Indonesia sebanyak 6.000 jenis berhasial obat. Sumber lain menyebutkan, tumbuhan di Indonesia diperkirakan

mencapai lebih dari 7.000 jenis, sekitar 1.000 jenis digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit. Indonesia termasuk 25 negara yang telah memiliki dan menerapkan kebijakan obat bahan alam.

Selama ini perkembangan pelayanan kesehatan tradisional dan alternative tampak semakin pesat, sekitar 32 % masyarakat kita memakai pengobatan dan obat tradisional ketika sakit. Perkembangan ini telah mendorong usaha dibidang obat tradisional, mulai dari budidaya tanaman obat, industri obat, dan distribusi. (Depkes 2022).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman karamunting. Zhao *et al*, (2020) menuliskan ekstrak metanol daun karamunting positif mengandung senyawa utama triterpenoid, flavonoid, fenolik, dan meroterpenoid (Zhao *et al.*, 2020). Sampai saat ini, penelitian-penelitian yang telah dilakukan banyak membahas mengenai golongan senyawa dan kemungkinan adanya efek farmakologi tertentu. Oleh sebab itu, perlu diketahui senyawa apa yang

terkandung dalam subfraksi dari ekstrak etanol daun karamunting sehingga dapat digunakan sebagai acuan dasar untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

Untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam daun karamunting maka diperlukan suatu teknik analisis kandungan metabolitnya. Salah satu teknik analisis yang dapat digunakan adalah analisis metabolite profiling. Metabolite profiling adalah pendekatan analitik presisi tinggi untuk memperoleh informasi terperinci tentang varietas metabolit yang diproduksi dalam sistem biologis, termasuk dalam tanaman. Profil metabolit memiliki potensi tidak hanya dapat memberikan wawasan lebih dalam proses regulasi yang kompleks, tetapi juga dapat menentukan fenotipe secara langsung (Oyedeji *et al.*, 2021).

Profil matabolit dari suatu tanaman dapat diketahui dengan bantuan instrumen UPLC-MS (Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometer). Analisis profil metabolit menggunakan UPLC-MS dapat

menghasilkan data kuantitatif dan kualitatif. Data kualitatif diperoleh dari penemuan senyawa pada setiap puncak kromatogram dan data kuantitatif diperoleh dari persentase kadar setiap senyawa berdasarkan luas area puncak kromatogram. UPLC-MS merupakan salah satu teknik analisis perkembangan dari teknik LC-MS yang dapat digunakan untuk menganalisis profil metabolit dari suatu sampel. Teknik analisis ini memberikan beberapa kelebihan yaitu hasil kromatogram dengan resolusi tinggi, kuat, dapat diandalkan, pengukuran massa dan informasi struktural yang akurat, serta memungkinkan deteksi metabolit yang luas dari sampel tanaman (Hakim *et al.*, 2018).

Profiling metabolit subfraksi etil asetat ekstrak etanol daun *R. Tomentosa*

Analisis profil metabolit subfraksi etil asetat (SFEA 1,2,3) ekstrak etanol daun *R. Tomentosa* pada penelitian ini menggunakan UPLC-MS. UPLC merupakan salah satu teknik perkembangan kromatografi cair yang digunakan untuk segregasi komponen yang berbeda pada suatu

campuran dengan tingkat molekuler mencapai dua mikron partikel analit.

Berdasarkan data hasil interpretasi analisis kandungan senyawa menggunakan UPLC-QToFMS tersebut diketahui terdapat perbedaan profil metabolit SFEA 1, 2 dan 3 ditandai dengan adanya perbedaan jenis senyawa yang terkandung pada masing-masing subfraksi, namun juga ditemukan metabolit yang sama. Berdasarkan hasil interpretasi data yang telah diperoleh dapat diketahui beberapa senyawa mayor, yaitu senyawa yang memiliki persentase area lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa yang lain. Senyawa mayor pada SFEA 1,2,3 tertera pada tabel 2,3, dan 4. Spektra masing-masing senyawa subfraksi 1,2,3 dilihat pada gambar 4.1-gambar 4.3.

Tabel 4.1. Lima Senyawa yang terdapat pada subfraksi etil asetat 1 (SFEA 1)

%	Peak	m/z	RM	Prediksi 1	Prediksi 2
25.46	16.81	387.2895	C21H34N6O	N-Cyclopropyl-1'- {{2-(di methylamino)-5- pyrimi dinyl)methyl}-1,4'- bipi peridine-3- carboxamide	N- Cyclopropyl -1'-[4- (isopropyl amino)-2- pyrimi dinyl]-1,4'- bipi peridine-3- carbo xamide
14.94	18.88	455.3526	C30H46O3	Oleanonic acid	Ursonic acid
11.40	17.47	455.3526	C30H46O3	Oleanonic acid	Ursonic acid
7.63	17.75	455.3526	C30H46O3	Oleanonic acid	Ursonic acid
7.22	13.82	329.2049	C20H28N2S	1-[1-(Adamantan-1- yl) ethyl]-3- benzylthiourea	-

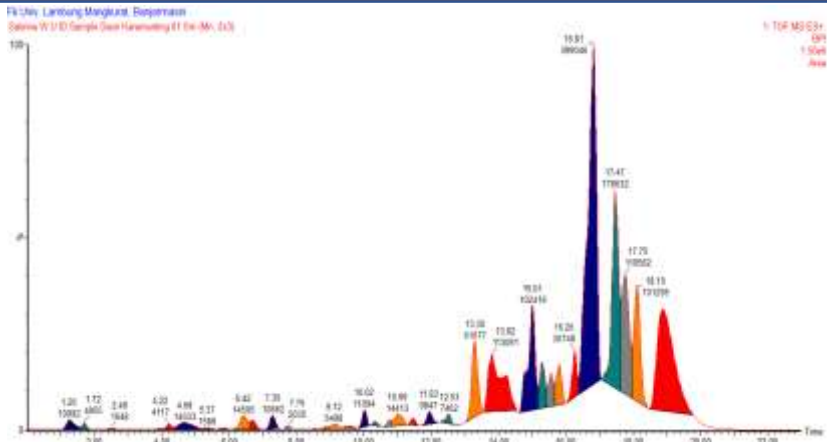
Tabel 4.2. Lima Senyawa yang terdapat pada subfraksi etil asetat 2 (SFEA 2)

%	Peak	m/z	RM	Prediksi 1	Prediksi 2
21.75	6.42	450.2701	C17H35N7O7	-	-
17.75	13.84	329.2049	C20H28N2S	1-[1-(Adamantan-1-yl)ethyl]-3-benzylthiourea	-
12.22	10.31	375.1076	C15H14N6O6	2'-Deoxy-1-(5nitro-2-pyridinyl)inosine	Methyl 4-(2-azido-3-nitrophenyl)-2,6-dimethyl-5-nitro-1,4-dihydro-3-pyridine carboxylate
8.77	18.44	792.5620	C41H73N7O8	1,1-Dimethylethyl 4-[11-[[[(2S)-5-(1,1-dimethylethoxy)-2-[4-[5-[[[(1,1-dimethylethoxy) carbonyl]amino]pentyl]-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-1,5-dioxo	-

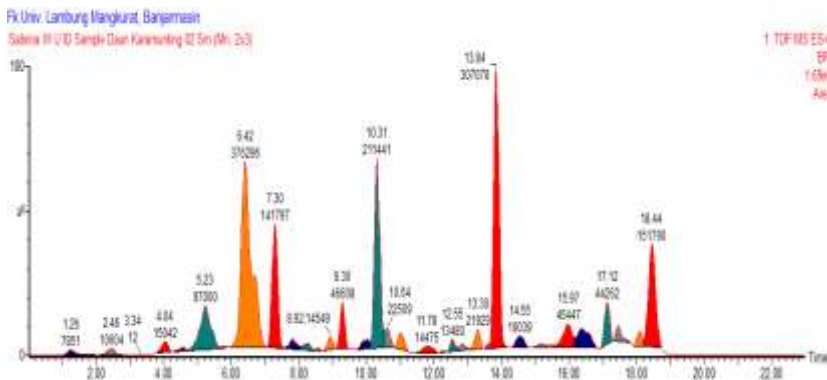
				pentyl]amino]-1-oxoundecyl]-1-piperazine carboxylate	
8.19	7.30	139.1119	C9H14O	isophorone	2,6-Nona dienal

Tabel 4.3. Lima Senyawa yang terdapat pada subfraksi etil asetat 3 (SFEA 3)

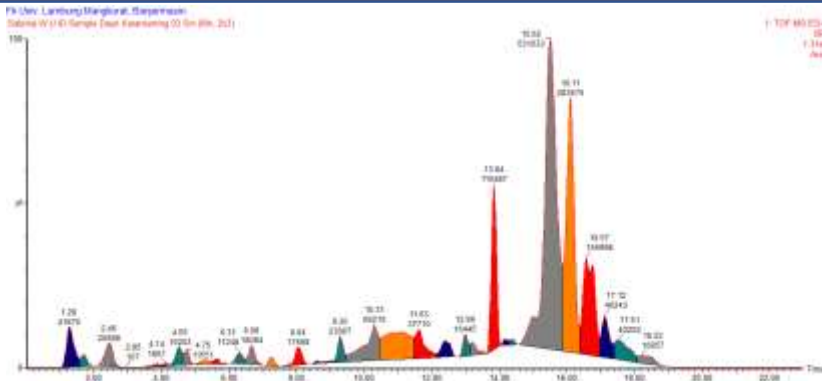
%	Peak	m/z	RM	Prediksi 1	Prediksi 2	Prediksi 3
32.07	15.52	455.3522	C30H46O3	Oleanonic acid	Ursonic acid	-
17.13	16.11	705.5089	C41H64N6O4	-	-	-
9.42	16.57	531.4083	C30H58O5S	Didodecyl 3,3'-sulfinyl dipropoate	-	-
6.97	13.84	329.2050	C20H28N2S	1-[1-(Adaman tan-1-yl)ethyl] -3-benzylthio urea	-	-
6.13	11.15	455.3521	C26H42N6O	3-Butyl-1-sec-butyl-1-[[5-(4-ethyl-1-pipera zinyl)-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]methyl]urea	3-Butyl-1-[[5-(4-ethyl-1-pipera zinyl)-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]methyl }-1-isobutyl urea	1-[[5-(4-Ethyl-1-piperaziny) -3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]methyl}-1-isobutyl-3-(2-methyl-2-propanyl) urea



Gambar 4.1. Kromatogram UPLC-MS Subfraksi etil asetat 1 ekstrak etanol daun *R. Tomentosa*



Gambar 4.2. Kromatogram UPLC-MS Subfraksi etil asetat 2 ekstrak etanol daun *R. Tomentosa*



Gambar 4.3. Kromatogram UPLC-MS Subfraksi etil asetat 3 ekstrak etanol daun *R. Tomentosa*

Analisis UPLC-MS/MS menunjukkan senyawa mayor yang dapat diprediksi pada SFEA 1 adalah (1) N-Cyclopropyl-1'--[2- (dimethylamino)-5- pyrimidinyl] methyl]- 1,4'-bipiperidine -3- carboxamide sebesar 25,46%. Senyawa mayor pada SFEA2 diprediksi ada 3 yaitu (1). 2'-Ddeoxy-1-(5-nitro-2-pyridinyl) inosine sebesar 12, 22%, (2).1,1-dimethylethyl 4-[11-[[[(2S)-5-(1,1-dimethylethoxy)-2-[4-[5-[[[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl] amino]pentyl]-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-1,5-dioxopentyl]amino]-1-oxoundecyl]-1-piperazine carboxylate sebesar 8,77%, dan (3) isophorone sebesar 8,19%. Pada SFEA 3 diprediksi senyawa mayor yaitu (1) Oleanonic acid 32,07%, (2)

didodecyl 3,3'-sulfinyldipropoate sebesar 9,42%, dan (3).3-Butyl-1-sec-butyl-1-[[5-(4-ethyl-1-piperazinyl)-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl] methyl} urea sebesar 6,13%. Kemudian senyawa mayor yang sama dari 3 subfraksi ekstrak etanol daun *R.tomentosa* adalah Oleanonic acid, urosonic acid dan 1-[1-(Adamantan-1-yl) ethyl]-3-benzylthiourea dan besarnya berbeda-beda untuk ketiga subfraksi.

Subfraksi etil asetat 1,2,3 mengandung oleanonic acid (sinonim 3-oxooleanolic acid) merupakan triterpenoid pentasiklik yang berpotensi sebagai antiinflamasi. Metabolit ini dapat secara negatif menurunkan regulasi berbagai molekul target ekstraseluler dan intraseluler yang terkait dengan perkembangan penyakit. Asam oleanonat yang dimodifikasi menghambat hemolisis yang diinduksi larutan hipotonik (Nkeh-Chungag *et al.*, 2015). Mekanisme kerja antiinflamasi asam oleanonat utama adalah dengan menghambat aktivasi jalur NF, STAT3/6 dan Akt/mTOR (Kashyap *et al.*, 2016). Efek lain dari pemberian asam oleanolat dilakukan dengan menggunakan

model edema pada kaki tikus dapat dikurangi dengan pemberian asam oleanolat IC₅₀ 17 M. Asam oleanolat yang mempunyai keton pada C3 berpengaruh pada peningkatan efek penghambatan pada model yang terkait aktivitas 5-lipoksigenase dan mengurangi produksi bradikinin dan fosfolipase A₂, leukotrien B₄ dari peritoneum tikus (Giner-Larza *et al.*, 2001).

Mekanisme anti-inflamasi terutama menurunkan pelepasan histamin dalam sel mast, menekan aktivitas lipoksigenase, siklooksigenase dan fosfolipase, dan mengurangi produksi oksida nitrat dan spesies oksigen reaktif, menghalangi aktivasi jalur sinyal, menurunkan regulasi ekspresi faktor inflamasi, dan menghambat aktivitas elastase dan komplemen (Luan *et al.*, 2022).

Prediksi kedua subfraksi etil asetat ekstrak etanol daun karamunting adalah asam ursonat. Metabolit ini secara alami terdapat di berbagai tanaman. Aktivitas biologis asam ursonat antara lain menghambat biosintesis prostaglandin dan menghambat siklooksigenase 2/siklooksigenase 1. Aktivitas lain dari asam ursonat

adalah mengurangi kelangsungan hidup dan proliferasi berbagai jenis sel kanker. Selain itu juga dapat menghambat parasit protozoa yang menyebabkan beberapa penyakit tropis. Asam ursonat mempunyai aktivitas antihiperqlikemik, antiinflamasi, antivirus dan antioksidan (Son & Lee, 2020). Hasil penelitian oleh Zhang *et al* (2017) menunjukkan bahwa asam ursonat menghambat produksi nitrat oksida pada sel RAW264.7 yang diinduksi LPS. Nitrat oksida adalah molekul yang sangat terkait dengan imunitas dan inflamasi (Zhang *et al.*, 2017).



TERPENOID SEBAGAI AGEN ANTI-INFLAMASI

Pendahuluan

Terpenoid merupakan kelas utama dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman. Metabolit sekunder ini menunjukkan aktivitas pertahanan terhadap tekanan dan stres lingkungan, digunakan untuk menyembuhkan luka. Tanaman obat kaya akan monoterpenoid, diterpenoid, seskuiterpen, triterpen, tetraterpen, dan ceramide. Sejumlah aplikasi terapeutik senyawa terpenoid telah diidentifikasi sebagai antibakteri, antimikroba, antitumor, aktivitas anti-inflamasi.

Senyawa terpenoid daun karamunting

Karamunting mengandung banyak triterpenoid. Sampai saat ini, 24 senyawa triterpenoid telah diisolasi dari karamunting (1-24). Di antara mereka, sebagian besar

senyawa adalah triterpenoid pentasiklik sapogenin kecuali untuk senyawa 15, 22 dan 23. -sitostenone (15) dan -stigmasterol (23) adalah lanostane jenis tetrasiklik triterpenoid sapogenins, dan laevigatanoside A (22) adalah pentasiklik saponin triterpenoid. Kerangka dasar sapogenin triterpenoid pentasiklik dapat dibagi menjadi tiga jenis seperti ursane, oleanane dan lupane. Kandungan triterpenoid ditunjukkan pada tabel 5.1 (Zhao *et al.*, 2020)

Tabel 5.1 Senyawa terpenoid karamunting

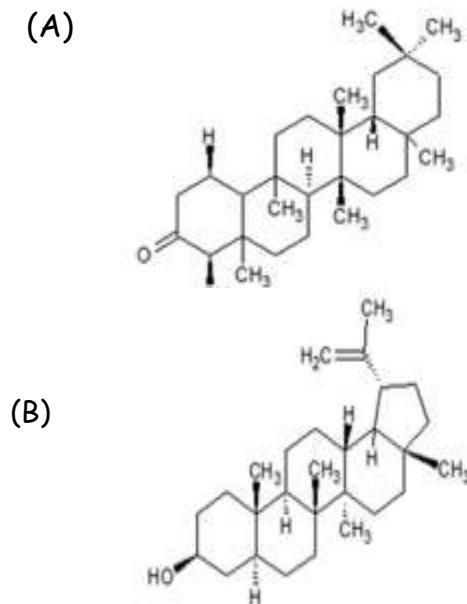
No	Nama	No	Nama
1	Taraxerol	13	3-Acetoxy-oleanolic acid
2	Betulin	14	Oleanolic acid
3	Lupeol	15	β -Sitostenone
4	β -amyrin	16	3-p-(E)-Coumaroyl oleanolic acid
5	Friedelin	17	Maslinic acid
6	Viminalol	18	(2 α ,3 β ,4 α)-2,23-Dihydroxy-3-[[[(2E)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxo-2-propen-1-yl]oxy]olean12-en-28-oic acid
7	Betulin monoacetate	19	(2 α ,3 β ,4 α)-2,3-Dihydroxy-23-[[[(2E)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxo-2-propen-1-yl]oxy] olean]12-en-28-oic acid

8	β -amyrenol	20	(2 α ,3 β ,4 α)-2,23-Dihydroxy-3-[[[(2Z)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxo-2-propen-1-yl]oxy]olean]12-en-28-oic acid
9	(3 β -21 β)-A'-Neogammacer-22(30)-ene-3,29-diol	21	23-Hydroxytormentonic acid
10	3 β -Acetoxy-11 α ,12 α – epoxyoleanan-13 β , 28-olide; 3 β -O-Acetyl-11 α ,12 α – epoxyolean 28, 13-olide	22	Laevigatanoside A
11	Oleanan-28-oic acid, 3 β ,12 α , 13 β -trihydroxy-, γ -lactone, 3- acetate	23	β -Stigmasterol
12	Urjinolic acid	24	Hederagenin

Beberapa triterpenoid dari daun karamunting termasuk lupeol, β -amyrin, β -amyrenonol, dan botulin yang memiliki aktivitas penghambatan potensial terhadap oksido skualen siklase manusia (Hui *et.al* 2019).

Penelitian lain menunjukkan triterpenoid baru dari ekstrak bensin karamunting yaitu 3 β -hidroksi-21 α -hop-22(29)-en-30-al, rhodomentones A dan B, tomentosenol A, 4S-focifolidione, 4R-focifolidione, tomentodione E,

rhodomyrtals A dan B, tomentodiones A-D, tomentodiones E-G, dan tomentodiones H-M



Gambar 5.1. (A) Struktur senyawa friedelin (B) lupeol
(Vo & Ngo 2019; Zhao *et al.*, 2020).

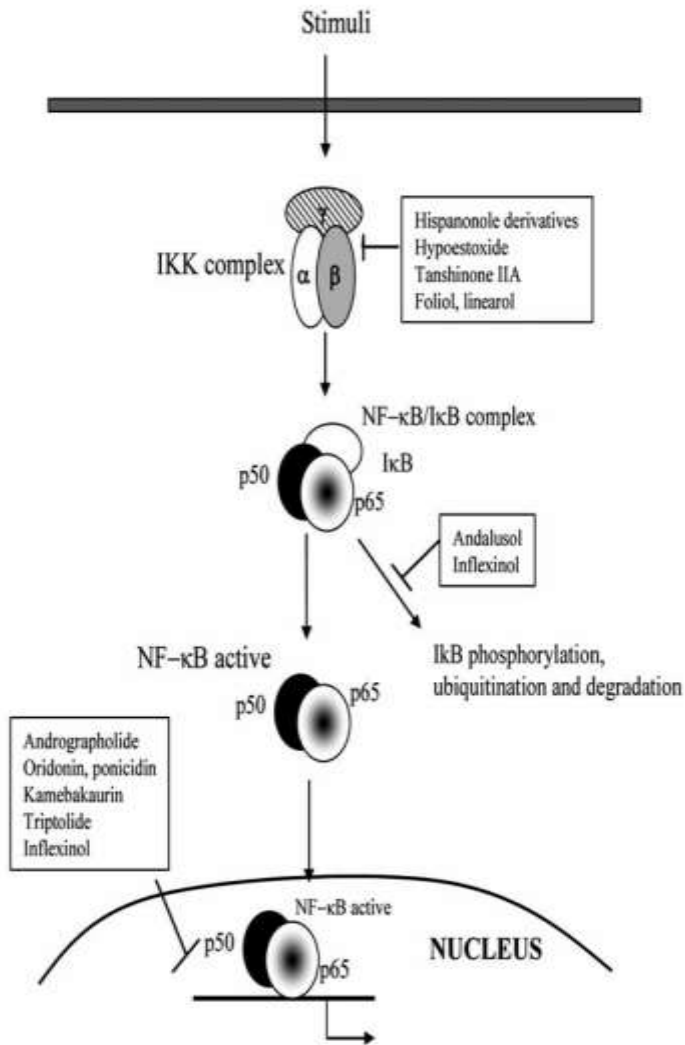
Lanostane jenis tetrasiklik triterpenoid sapogenin contohnya adalah β -sitostenone dan β -stigmasterol. Pentasiklik saponin triterpenoid antara lain laevigatosenoside A. Kerangka dasar sapogenin triterpenoid

pentasiklik dapat dibagi menjadi tiga jenis seperti ursane, oleanane dan lupane (Zhang *et al.*, 2017).

Mekanisme anti-inflamasi senyawa terpenoid

Terpenoid mempunyai daya anti-inflamasi dengan cara menghambat aktivitas NF- κ B. Kaskade molekuler sinyal yang terlibat dalam aktivasi NF- κ B yaitu (Gambar 5.2):

- (a) menghambat aktivasi kompleks IKK,
- (b) menargetkan degradasi proteasomal atau
- (c) mengganggu translokasi NF- κ B ke nukleus, atau pengikatan NF- κ B ke DNA.

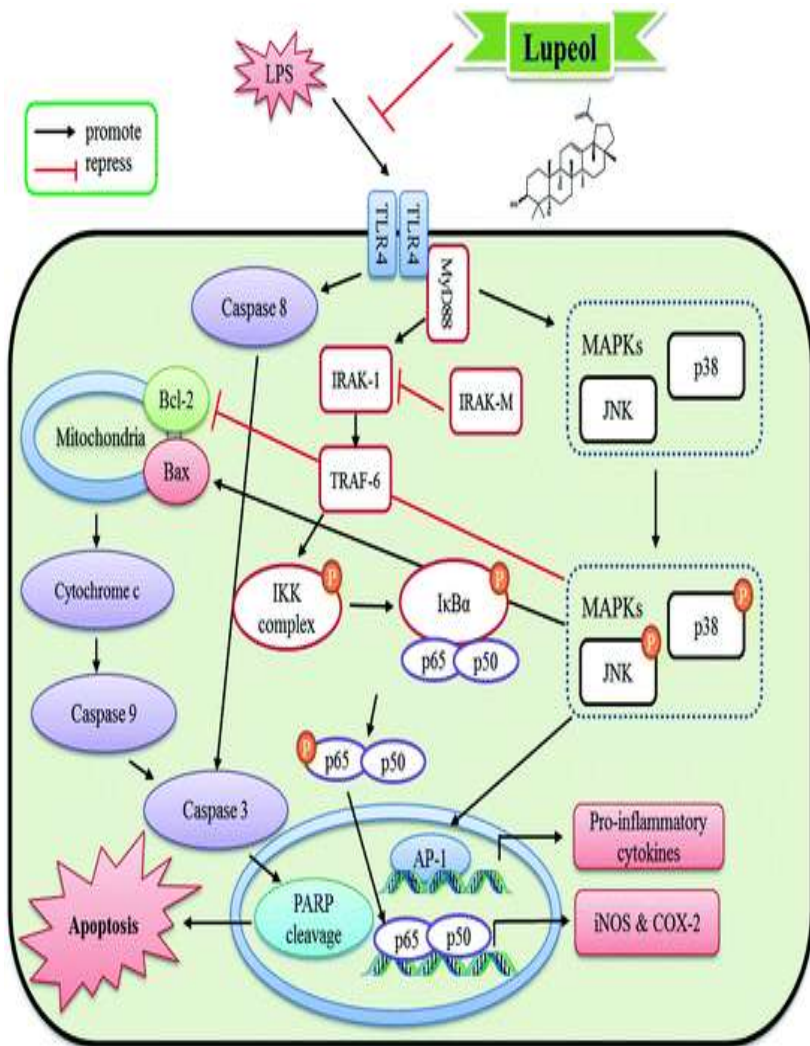


Gambar 5.2 Jalur sinyal utama penghambatan NF-κB oleh diterpenoid (Hortelano, 2009)

Beberapa produk alami seperti seskuiterpen lakton (helenalin), struktur relatif flavonoid (asam caffeic phenethyl ester), sesterterpen (cyclolinteinone), ent-kaurane diterpenes (oridonin dan ponigidin) dan prostaglandin (15-deoksi-prostaglandin J2), telah terbukti menghambat translokasi nuklir p65 atau pengikatan NF- κ B ke DNA.

Lupeol adalah agen multi-target yang memiliki potensi farmakologis beragam dengan protein target potensial seperti α -glukosidase, α -amilase, protein tirosin fosfatase 1B (PTP 1B) dan enzim siklus TCA dan target jalur seperti IL-1 reseptor-associated kinase-mediated toll-like receptor 4 (IRAK-TLR4), family Bcl-2, NF- κ B, phosphatidylinositol-3-kinase (PI3-K)/Akt dan Wnt/ β -jalur sinyal catenin (Tsai *et al.*, 2016).

Lupeol secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan respon menggeliat pada dosis 12,5 mg/kg, 25,0 mg/kg dan 50,0 mg/kg sesuai dengan persentase penghambatan masing-masing 83,60%, 83,63% dan 80,02%. Hasil ini lebih tinggi dari piroxicam, obat standar (73,8%), pada 10 mg/kg.



Gambar 5.3 Aktivitas biologik lupeol sebagai inhibitor radang dan apoptosis (Tsai et al., 2016)

Senyawa tersebut juga mampu secara signifikan ($p < 0,05$) mengurangi respon nosiseptif di kedua fase tes formalin, dan ada pengurangan edema pada jam kedua, ketiga dan keempat. Median LD50 senyawa diperkirakan lebih besar dari 5000 mg/kg (Jega *et al.*, 2020).

Penelitian Rathinavel *et al.*, (2020) mengungkapkan aktivitas anti-inflamasi akut dan kronis terpenoid *in vivo*. Penelitian menggunakan model edema kaki tikus yang diinduksi karagenan dan model granuloma yang diinduksi pelet kapas. LF (100 mg/kg, rute oral) dari *Crateva adansonii* memberikan persentase tertinggi penghambatan inflamasi (masing-masing 50 dan 33,96%) di kedua *in vivo* akut dan model peradangan kronis di antara semua sampel yang diuji (ME dan CE 200 mg dan 400 mg/kg, rute oral) termasuk kontrol standar positif (10 mg/kg, rute oral) indometasin. Hewan percobaan yang diinduksi karagenan adalah disaring untuk satu enzim penanda inflamasi myeloperoksidase (MPO), produk inflamasi seperti Prostaglandrin E2 (PGE2), dan delapan penanda sitokin yang berbeda (TNF α , IL-6, IFN, IL-1 α , IL-1 β , MCP-1, Rantes, dan MIP) yang terkait dengan

peradangan mengungkapkan bahwa LF (100 mg/kg, rute oral) dari *Crateva adansonii* menunjukkan aktivitas anti-inflamasi daripada indometasin (10 mg / kg, rute oral) di atas semua biologis ini parameter yang diuji. Uji analgesik in vivo seperti uji pelat panas dan uji menggeliat yang diinduksi asam asetat mengungkapkan bahwa LF (100 mg/kg, rute oral) memiliki aktivitas analgesik yang signifikan (11,60 detik dan 69,05%) bila dibandingkan dengan obat standar pentazocine (10 mg/kg, rute oral). studi in silico lupeol terhadap analgesik (nAChR) dan protein target anti-inflamasi (COX-2) mengungkapkan bahwa lupeol memiliki afinitas pengikatan tertinggi dengan protein target nAChR dan COX-2 (- 8,5 dan 9,0 Kkal/mol) di atas obat standar pentazocine dan indometasin (-7.0 dan 8.4 Kkal/mol) (Rathinavel *et al.*, 2021).



FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTI-INFLAMASI

Pendahuluan

Flavonoid adalah zat alami yang terkandung pada tanaman (fitonutrien) yang bersifat antioksidan untuk menangkal radikal bebas dalam tubuh. Flavonoid umumnya merupakan pigmen (zat pemberi warna) pada bunga, tetapi juga ditemukan pada bagian lain tumbuhan. Akumulasi flavonoid sering terjadi pada tanaman yang mengalami cekaman abiotik, termasuk adaptasi tanaman terhadap lingkungan dan dalam mengatasi kondisi cekaman tersebut. Metabolit ini juga berlimpah di dalam tanaman karamunting.

Karakteristik struktur flavonoid adalah mempunyai dua cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik yang mengandung oksigen (C). Flavonoid dapat dibagi menjadi subkelas yang berbeda tergantung

pada hubungan antara cincin B dan C, struktur cincin B dan pola hidroksilasi dan glikosilasi dari ketiga cincin tersebut (Wang *et al.*, 2018). Subkelasnya meliputi: flavanol, flavanon, flavon, isoflavon, flavonol, dan antosianidin (Kumar & Pandey, 2013).

Flavonoid dapat digunakan sebagai obat untuk mengurangi risiko penyakit jantung, mencegah kanker, menurunkan risiko terkena diabetes, mencegah penyakit Alzheimer dan Parkinson, memperlambat penuaan dini (Fan *et al.*, 2022), membantu mencegah risiko peradangan karena alergi.

Flavonoid dalam karamunting

Flavonoid telah diisolasi dari karamunting (tabel 6.1). Struktur senyawa ini terutama mengandung kerangka myricetin (25-28, 39, 42, 44 dan 47), yang dicirikan dalam gugus 3',4',5'-trihidroksil pada cincin C dari flavonoid. Turunan dari antosianin (31-36), sejenis flavonoid bermuatan positif, sering dianggap sebagai pigmen alami yang berharga pada tumbuhan. Analoginya

kaempferol (29, 38 dan 40), quercetin (30 dan 43) juga telah diisolasi dari karamunting. Selain itu, jenis flavonoid lain termasuk laricitrin (37), vitexin (41), naringenin (45) dan blumeatin A (46) juga telah dipisahkan dan diidentifikasi dari karamunting (tabel 6.1) (Zhao *et al.*, 2020).

Tabel 6.1 Flavonoid yang terdapat dalam karamunting

No	Nama	No	Nama
1	Myricitrin	13	Laricitrin
2	Isomyricitrin	14	Kaempferol 3-arabinoside
3	Betmidin	15	Myricetin
4	Combretol	16	Kaempferol
5	Leucoside	17	Vitexin
6	Quercetin	18	Dihydromyricetin
7	Delphinidin-3-O-glucoside	19	Quercetin 7,4'-diglucoside
8	Petunidin-3-O-glucoside	20	Myricetin-3,7,3'-trimethyl ether-5'-O- β -glucopyranoside
9	Malvidin-3-O-glucoside	21	Naringenin
10	Pelargonidin-3-glucoside	22	Blumeatin A
11	Cyanidin-3-O-glucoside	23	Myricetin-3,7,3'-trimethyl ether
12	Peonidin 3- β -D-glucoside		

Tabel 6.2 Daftar flavonoid dan mekanisme anti-inflamasi

Flavonoid	Mekanisme anti-inflamasi
Quercetin	Menekan IgE menurunkan histamin menurunkan stres oksidatif
Kaemferol	Menghambat produksi kemokin
Balcelein	Aktivasi sel T regulator
Chrysin	Menghambat fungsi platelet
Chrysin-konyogasi ruthenium	Menghambat pembentukan trombus dan fungsi platelet
Genistein	Menghambat sitokin pro-inflamasi
Puerarin	Menurunkan respon inflamasi Menurunkan aktivitas NF-kb
Isoflavone	Mensupresi ekspresi CD83 dan CD80
Epichatechin	Efek antialergi
Cyanidin	Melemahkan inflamasi dalam sel T
anthocyanidin	Menurunkan adhesi antara monosit dan sel endotel
Luteolin	Menurunkan pelepasan prostaglandin dan histamin

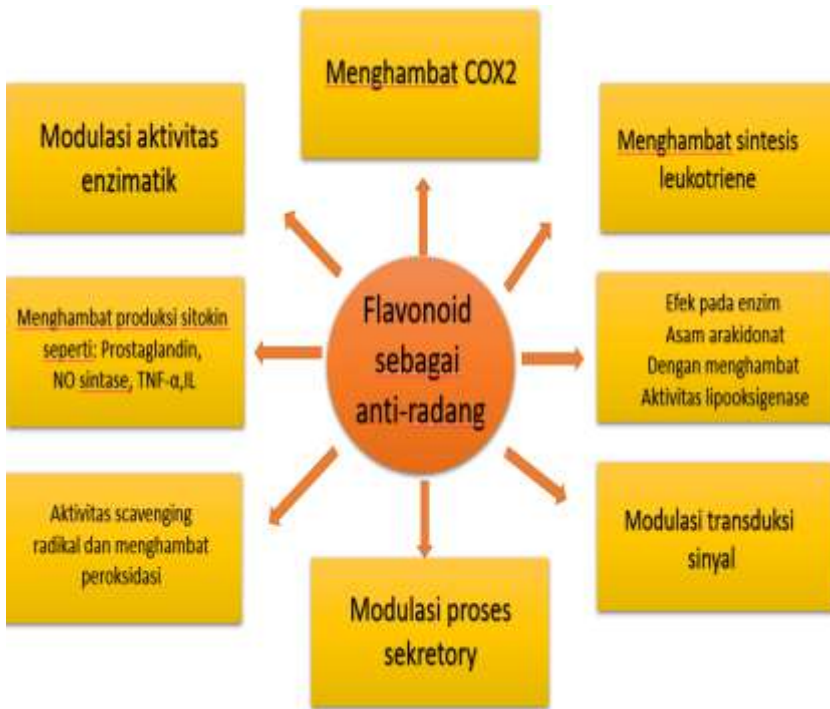
Mekanisme Flavonoid sebagai anti-inflamasi

Flavonoid memiliki sifat anti-inflamasi melalui mekanisme sebagai berikut:

- a) Penghambatan faktor transkripsi dan enzim pengatur yang memiliki peran penting dalam kontrol mediator

yang terlibat dalam inflamasi. Faktor transkripsi NF- κ B mengatur beberapa sitokin, kemokin dan molekul adhesi sel yang terlibat dalam inflamasi. I κ B bertindak sebagai molekul penghambat NF- κ B, namun, selama inflamasi, I κ B terfosforilasi dan terdegradasi. Akibatnya, NF- κ B ditranslokasi dari sitoplasma ke nukleus dan menginduksi ekspresi gen proinflamasi yang berbeda. Flavonoid telah dilaporkan mengatur aktivitas I κ B dan NF- κ B, dengan dampak langsung pada aktivasi sel (Peng *et al.*, 2018).

b) Scavenging ROS dan meningkatkan mekanisme kekebalan dan sel. Flavonoid memiliki dampak mendalam pada beberapa sel imun dan mekanisme imun yang penting dalam proses inflamasi. Cedera jaringan selama inflamasi menghasilkan radikal bebas seperti radikal yang diturunkan oksigen (atau spesies oksigen reaktif, ROS), radikal turunan nitrogen (atau spesies nitrogen reaktif, RNS) yang memiliki efek merugikan pada fungsi sel (Mittal *et al.*, 2014). Radikal bebas memiliki elektron tidak berpasangan yang membuatnya sangat reaktif dan merusak lipid, protein, dan DNA.



Gambar 6.1 Mekanisme anti-inflamasi flavonoid
(Baker, 2022)

Radikal bebas berdampak pada membran sel melalui peroksidasi lipid dan pada protein dan asam nukleat melalui kerusakan oksidatif. Produksi radikal bebas yang tinggi bersama dengan penyerapan ion logam transisi yang rendah dan aktivitas penangkapan radikal bebas yang rendah menghasilkan stres

oksidatif (Nimse & Pal, 2015). Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan karena efek penghambatannya pada produksi radikal bebas dan aktivitas scavenging mereka untuk ROS, RNS, dan spesies reaktif lainnya. Sifat antioksidan flavonoid berasal dari struktur kimianya, pola substitusi spesifik dalam struktur dan hidrogen fenolik yang memungkinkan mereka untuk bertindak sebagai molekul pendonor hidrogen (Li *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019).

- c) Modulasi proses sekretori,
- d) Efeknya pada enzim asam arakidonat dengan menghambat aktivitas lipoksigenase. Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim fosfolipase A₂ (PLA₂). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti siklooksigenase (COX) dan lipoxygenase (LOX), untuk menghasilkan prostaglandin, tromboksan, leukotrien dan mediator inflamasi lainnya (Hanakova *et al.*, 2017).
- e) Modulasi transduksi sinyal. Flavonoid mengatur faktor transkripsi pengatur utama untuk sitokin CD4⁺ T

helper 2 (Th2) seperti *GATA-3*, dan transduser sinyal dan aktivator transkripsi 6 (*STAT-6*) (Gao et al., 2012; Li et al., 2016).

f) Penghambatan sintesis leukotrien. Flavonoid memiliki potensi untuk menghambat enzim yang terlibat dalam metabolisme asam arakidonat dengan menurunkan pelepasan mediator inflamasi yang berasal dari jalur ini. Misalnya, flavonoid dapat menghambat biosintesis prostaglandin, tromboksan, leukotrien dengan menghambat enzim *PLA.2*, *COX* atau *LOX* (Hanakova et al., 2017). Sifat dan aktivitas yang berbeda dari flavonoid berdampak pada aktivasi sel, pematangan, transduksi sinyal, produksi sitokin, atau proses sekretori pada beberapa sel imun. Misalnya, flavonoid telah terbukti menghambat pematangan sel dendritik (DC) dengan menekan penanda pematangan seperti *CD80*, *CD86*, yang merupakan molekul penting untuk aktivasi sel *CD4+* T dan mereka diregulasi selama pematangan DC. Ini akan diterjemahkan ke dalam efek penghambatan dalam sekresi sitokin dan respons proliferasi sel T *CD4+*.

g) Penghambatan produksi sitokin (Prostaglandin, No synthase, IL, TNF-alpha). Flavonoid juga memiliki pengaruh pada respon inflamasi DC melalui modulasi metabolisme besi (Galleggiante *et al.*, 2017). Beberapa penelitian telah menemukan bahwa flavonoid tertentu dapat menurunkan pelepasan histamin atau prostaglandin dari sel mast atau menghambat produksi sitokin atau kemokin pro-inflamasi dalam sel mast, neutrofil dan sel imun lainnya (Weng *et al.*, 2015). Dampak flavonoid dalam pensinyalan sel didukung oleh penelitian yang menunjukkan bahwa mereka dapat mengikat reseptor sitokin seperti subunit IL-17RA dari reseptor IL-17, menyebabkan pelemahan dalam pensinyalannya.

h) Modulasi aktivitas enzimatik.

i) Menghambat COX2



POTENSI ALKALOID DALAM MENGHAMBAT INFLAMASI

Pendahuluan

Alkaloid merupakan senyawa organik yang di dalamnya terdapat nitrogen. Senyawa ini dapat memiliki efek fisiologis yang beragam pada manusia. Alkaloid dapat ditemukan pada banyak jenis tumbuhan termasuk ditemukan dalam tanaman karamunting.

Alkaloid adalah kelas senyawa kimia yang biasanya bersifat basa dan memiliki setidaknya satu atom nitrogen dalam cincin heterosiklik. Menurut struktur kimianya, alkaloid dapat dibagi menjadi beberapa kelompok, antara lain alkaloid piperidin, alkaloid isoquinolin, alkaloid indol, alkaloid terpenoid, alkaloid steroid, dan alkaloid kuinolin (Souto *et al.*, 2010; Ti *et al.*, 2021).

Menurut jalur biosintetik, alkaloid dapat diklasifikasikan menjadi, (1) alkaloid sejati yang berasal dari asam amino dan mengandung heterosiklik berbasis nitrogen cincin; (2) proto-alkaloid yang juga berasal dari asam amino, tetapi tidak mengandung bagian nitrogen dalam sistem heterosiklik; (3) pseudoalkaloid yang tidak berasal dari asam amino. Saat ini, lebih dari 8000 senyawa alami diklasifikasikan sebagai alkaloid (Aniszewski *et al.*, 2015; Desgagné-Penix, 2021; Kishimoto *et al.*, 2016).

Sebagai salah satu metabolit sekunder dari tanaman, alkaloid memiliki beberapa aktivitas fisiologis dan farmakologis, seperti analgesik, anti-inflamasi, anti oksidan, anti-tumor, dan antibakteri (Souto *et al.*, 2010; Ti *et al.*, 2021).

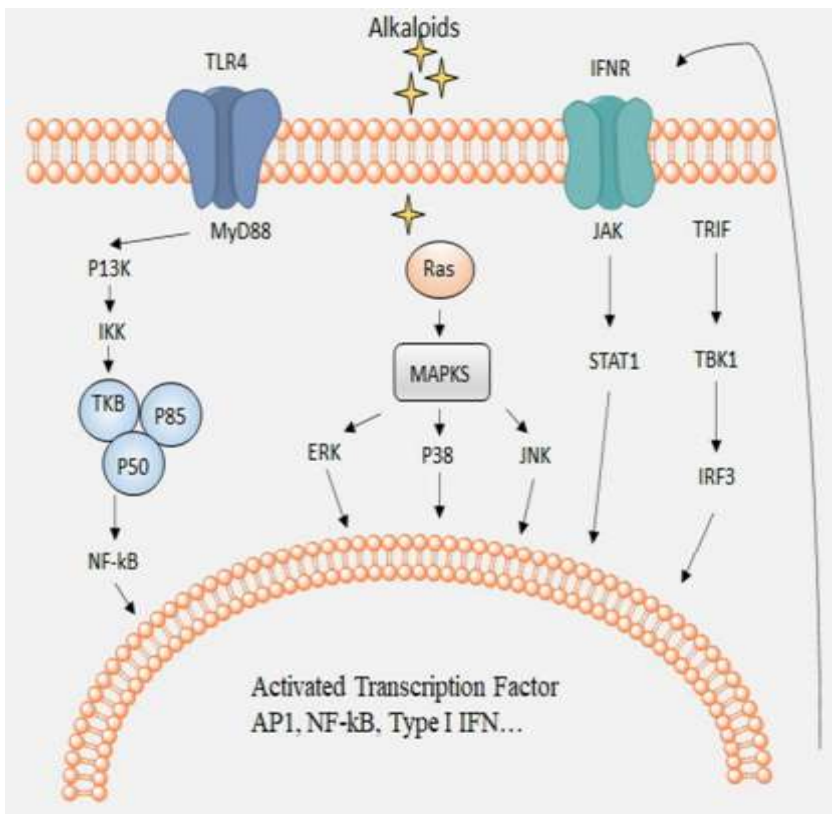
Mekanisme anti-inflamasi alkaloid

Banyak alkaloid alami telah terbukti mengatur jalur pensinyalan NF- κ B. Peinflamasi mengubah ekspresi beberapa gen seluler dan jaringan pensinyalan seluler,

termasuk jalur pensinyalan MAPK dan JAK-STAT, terjadi selama peinflamasi (Gambar 7.1) (Ti *et al.*, 2021).

Alkaloid menekan antigen dan proliferasi limfosit yang diinduksi mitogen, sitotoksitas sel Natural Killer, pelepasan histamin oleh sel mast, sekresi interleukin-1 (IL-1) oleh monosit manusia dan aksi PAF pada trombosit.

Edema pedal yang diinduksi karagenan adalah model yang paling banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas anti-inflamasi (Barbosa-Filho, *et al.*, 2006) (Van Kiem P *et al.*, 2017).



Gambar 7.1 Mekanisme anti-inflamasi senyawa alkaloid

Alkaloid dalam ekstrak madu menunjukkan kapasitas untuk menurunkan kadar NO dalam sel mirip makrofag murine yang distimulasi lipopolisakarida (RAW 264.7) hingga 40% pada konsentrasi 0,25 mg/mL (Moreira et al., 2020)

Penelitian menggunakan sel Raw264.7 yang diinduksi LPS, kemudian diberikan diterpenoid alkaloid dari ekstrak tanaman *Delphinium forrestii* var. *vride*. Hasilnya menunjukkan forrestline F menekan sitokin inflamasi, termasuk interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), dan interleukin-6 (IL-6). Selain itu, forrestline F dapat menurunkan regulasi ekspresi nitrat oksida sintase (iNOS) dan siklooksigenase-2 (COX-2) yang diinduksi LPS dengan uji western blotting. Jenis alkaloid ini juga menghambat ekspresi fosforilasi MAPK (termasuk p-p38, p-ERK dan p-JNK), dan NF- κ B p65, dan menurunkan akumulasi ROS dengan meningkatkan ekspresi HO-1 melalui translokasi nuklir Nrf2. Alkaloid menunjukkan efek anti-inflamasi

dengan menghambat jalur pensinyalan NF- κ B/MAPK dan Nrf2/HO-1 (Song *et al.*, 2021).

Berikut contoh peranan beberapa jenis alkaloid sebagai anti-inflamasi:

- (1) **Berberin** memiliki berbagai efek farmakologi, seperti menghambat edema telinga tikus yang diinduksi TPA, mengindikasikan alkaloid ini mungkin memiliki aktifitas melawan inflamasi kronik.
- (2) **Warifteine**, isolat bisbonzyliroquimoline dari *Cissampelos sympodialis* menghambat rekrutmen eosinofil, eotaksin dan menghasilkan cysteinyl leukotriene di cavitas pleura dan paru dari tikus yang alergi, seperti menghambat produksi mediator NO.
- (3) **Isoquinoline** alkaloid lain seperti berbamine, palmatine, dan columbamine juga menunjukkan aktifitas penghambat edema yang diinduksi serotonin yang diberikan secara oral maupun topical. Secara oral dapat menghambat permeabilitas vasculer yang diinduksi asam asetat (Souto *et al.*, 2010).

(4) **Tetrandrine**, alkaloid bisbenzylisoquinoline yang diekstraksi dari akar tanaman merambat *Stephania tetrandra* S. Moore (Menispermaceae) telah terbukti menghambat fungsi neutrofil dan monosit, termasuk perlekatan, penggerak dan pembentukan superoksida. Tanaman ini telah digunakan untuk pengobatan penyakit rematik, silikosis dan penyakit inflamasi kronis lainnya. Tetrandin dan analog alaminya, berbamin menghambat pembentukan prostaglandin dan leukotrien oleh monosit manusia dan neutrofil dengan cara yang bergantung pada dosis.



MANFAAT FENOLIK SEBAGAI ANTI-INFLAMASI

Pendahuluan

Fenolik adalah kelompok senyawa heterogen yang berasal dari metabolisme sekunder tumbuhan. Secara struktural, senyawa fenolik memiliki setidaknya satu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih hidroksil kelompok terikat pada struktur aromatik atau alifatik. Senyawa fenolik dapat dikelompokkan menjadi flavonoid dan non-flavonoid. (1) Flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan melalui heterosiklik oksigen. Tergantung pada derajat hidrogenasi dan penggantian heterosiklus, mereka dapat dapat disubklasifikasikan sebagai flavonol, flavon, isoflavon, antosianin, flavanol, flavanon, dll. Flavonoid biasanya terdapat di alam sebagai glikosida. (2) Non-flavonoid. asam benzoat dan sinamat adalah dua senyawa yang

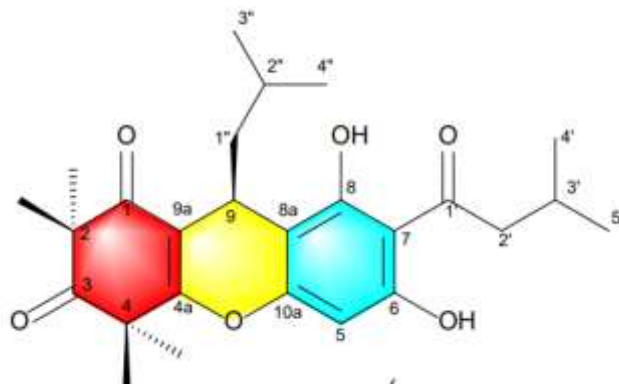
paling representatif dari jenis ini, dan umumnya dikenal sebagai asam fenolik. Beberapa umum lainnya asam fenolik adalah stilben, tanin, dan lignin

Karamunting banyak mengandung senyawa fenol. Sekitar 34 jenis fenol telah diisolasi dari *R. tomentosa* secara total. Diantaranya, fenol sederhana dan dapat ditemukan fenol asam, seperti progallin A, asam galat, metil galat, resveratrol dan analognya, piceatannol, astringin dan seterusnya. Selain itu, tanin terhidrolisis dengan unit asam galat dalam struktur fenol juga telah diisolasi dari *R.tomentosa*.

Rhodomyrtonone adalah senyawa khas yang diisolasi dari tanaman ini dengan beberapa bioaktivitas, dapat dianggap sebagai turunan dari phloroglucinol. Beberapa sifat bioaktif senyawa ini telah banyak dilaporkan termasuk antimikroba (Gambar 8.1) (Saising *et al.*, 2018), antitumor (Chorachoo *et al.*, 2016) dan penyembuhan inflamasi (Na-Phatthalung *et al.*, 2018b). Bioaktivitas yang menguntungkan terkait erat dengan struktur diastereomer senyawa ini, yaitu adanya beberapa karbon

kiral C2, C4 dan C9). Selain itu, rhodomyrtonone dan turunannya dapat diperoleh dengan sintesis organik melalui serangkaian reaksi kondensasi dengan bantuan katalis asimetris (Tan *et al.*, 2017), dengan phloroglucinol sebagai bahan awal, menunjukkan kemungkinan produksi skala industri untuk phloroglucinol.

Analisis spektroskopi dan perbandingan dengan senyawa terkait telah diidentifikasi senyawa asylphloroglucinol bernama rhodomyrtonones A-C dan turunan lepstospermone bernama rhodomyrtonone D yang diisolasi dari ekstrak aseton daun *R.tomentosa* (Aiton) Hassk (Hirannat *et al.*, 2008).



Gambar 8.1 Struktur dari rhodomyrtonone (Zhao *et al.*, 2020)

Mekanisme kerja penyembuhan inflamasi dari fenolik

Senyawa fenolik mempercepat penyembuhan inflamasi yang dihubungkan dengan strukturnya yaitu:

- (1) Aktivitas molekul flavonoid ditentukan oleh sistem cincin planar
- (2) Ketidakjenuhan pada cincin C sebagai karbonil ketonik pada ikatan rangkap C4 dan/atau C2-C3.
- (3) Gugus hidroksil pada cincin B dan pada C5 dan C7 dari cincin A
- (4) Jumlah dan posisi gugus hidroksil sebagai gugus katekol pada cincin B
- (5) Aktivitas Flavon dan flavonol ditentukan oleh ada dan tidaknya gugus hidroksil pada posisi 4' cincin B
- (6) Metilasi gugus hidroksil pada posisi 3, 5, atau 4' meningkatkan aktivitas.
- (7) Metilasi gugus 3-hidroksil mengurangi sitotoksisitas

(8) Flavon menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi daripada isoflavon, flavonol, dan flavanon.

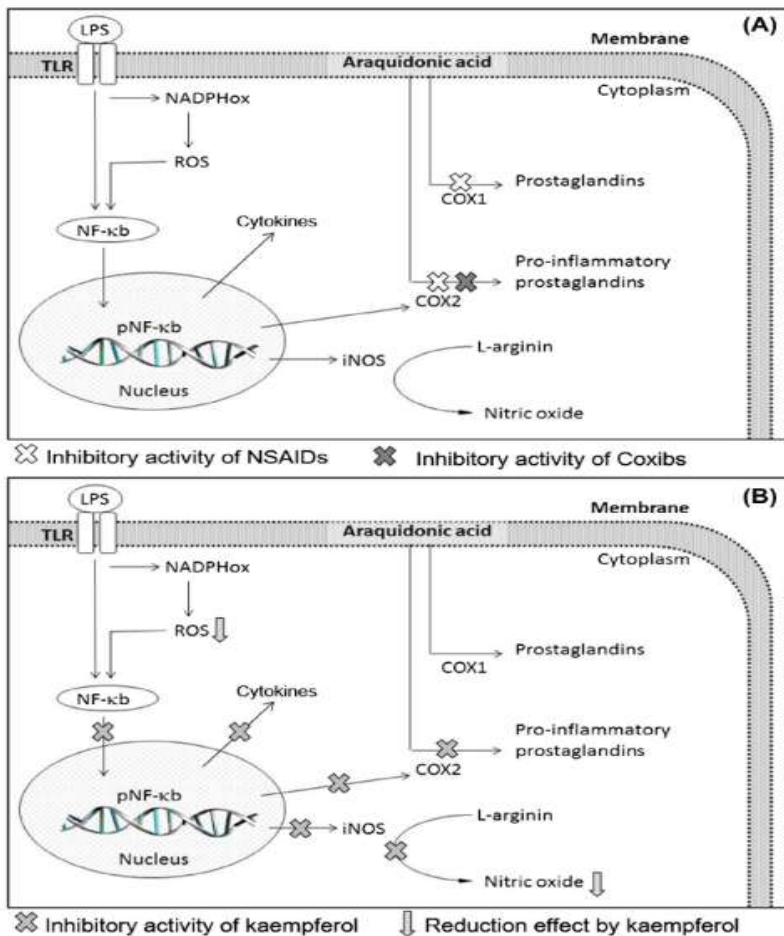
(9) Molekul non-glikosilasi, aglikon memiliki efek yang lebih besar daripada glikosida.

Senyawa fenolik bekerja dengan cara yang sama seperti NSAID, selain itu beberapa di antaranya menghambat mediator pro-inflamasi yang lain selain COX dengan menghambat aktivitas atau ekspresi gen mereka. Di samping itu, beberapa senyawa fenolik dapat menaikkan/menurunkan faktor transkripsi, seperti NF- κ B atau Nrf-2, dalam jalur peinflamasian dan antioksidan.

Gugus katekol pada cincin B membantu dalam oksidasi enzimatik, menginduksi pembentukan spesies elektrofilik yang memungkinkan penambahan nukleofilik. Akhirnya, ligan senyawa fenolik berpartisipasi dalam pembentukan ikatan kovalen antara flavonoid dan makromolekul (Lago *et al.*, 2014).

Beberapa flavonoid makanan telah terbukti memodulasi mediator peinflamasian seperti IL-6. Di dalam flavonol

kakao dan teh, sejenis flavonoid, telah terbukti mempengaruhi konsentrasi IL-6 dalam plasma darah tergantung dosis (Stote *et al.*, 2012).



Gambar 8.2. Model mekanisme kerja anti-inflamasi.
 Model anti-inflamasi NSAID dan coxib. (B) Model hipotetis aktivitas anti-inflamasi kaempferol (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016)

Mekanisme kerja fenolik dilakukan sebagai penyembuhan inflamasi dengan cara menghambat mediator proinflamasi dan/atau ekspresi gen yang berkaitan dengan proses inflamasi. Senyawa fenolik tunggal atau campuran mempunyai daya anti-inflamasi melalui berbagai jalur, sedangkan obat anti-inflamasi sintetik bekerja dalam satu cara (Gambar 8.2). Mekanisme kerja kaempferol flavonol dengan menghambat aktivasi NF- κ B yang diinduksi LPS, ekspresi iNOS dan produksi NO, ekspresi COX-2 dan produksi PGE₂, pensinyalan aldosteron dan ekspresi gen yang diinduksi aldosteron (penghambatan sitokin tidak langsung) (Liu, *et al.*, 2013), Rhodomyrtone bekerja sebagai imunostimulan dan anti-inflamasi pada makrofag ikan. *R. tomentosa* dan rhodomyrtone menginduksi perubahan ekspresi gen sitokin proinflamasi (*il1 β* , *il8*, dan *tnfa*), sitokin anti-inflamasi (*il10* dan *tgfb*), enzim yang dapat diinduksi (*inos*, *cox2*, dan *arginase*). Paparan bersama rhodomyrtone dengan LPS menyebabkan penurunan

regulasi gen terkait peradangan (*il1 β* , *inos*, *saa*, dan *hepcidin*) (Na-Phatthalung et al., 2018).

Potensi rhodomyrtone untuk mengurangi inflamasi yang distimulasi oleh TNF/IL-17A. Senyawa ini bekerja dengan memodulasi jalur pensinyalan MAP kinase dan NF- κ B, rhodomyrtone menghambat ERK yang diinduksi TNF, JNK, p38, dan fosforilasi NF- κ Bp65 (Chorachoo et al., 2018).



AKTIVITAS ANTI-INFLAMASI DAUN KARAMUNTING TERHADAP STABILITAS MEMBRAN ERITROSIT

Pendahuluan

Bahan alami yang berpotensi sebagai penghambat inflamasi memberikan pengaruh melalui berbagai mekanisme termasuk menjaga stabilisasi membran eritrosit (SME). Paparan sel eritrosit terhadap zat berbahaya seperti medium hipotonik, panas, metil salisilat atau fenilhidrazin menyebabkan lisis membran, disertai dengan hemolisis dan oksidasi hemoglobin. Membran sel eritrosit mirip dengan komponen membran lisosom. Pencegahan pengaruh hipotonisitas terhadap lisis membran sel eritrosit digunakan sebagai salah satu parameter mekanisme aktivitas anti inflamasi ekstrak tanaman (Lala *et al.*, 2020). Lisis sel eritrosit oleh larutan hipotonik berhubungan masuknya cairan yang berlebihan ke dalam sel yang mengakibatkan pecahnya

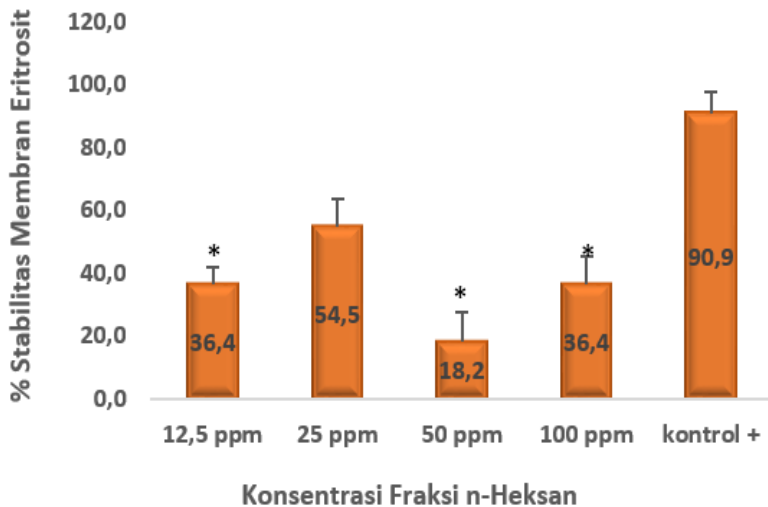
membran. Cedera pada membran sel eritrosit akan membuat sel lebih rentan terhadap kerusakan sekunder melalui radikal bebas yang diinduksi peroksidasi lipid (Bukhari *et al.*, 2013). Stabilisasi membran mengarah pada pencegahan kebocoran protein serum dan cairan ke dalam jaringan selama periode peningkatan permeabilitas yang disebabkan oleh mediator inflamasi. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antiinflamasi alami adalah daun karamunting.

Hasil penelitian Fujiati & Haryati (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun karamunting dapat bekerja sebagai anti-inflamasi dengan menurunkan rekrutmen sel inflamasi pada model hewan asma dan pajanan debu batubara (Fujiati & Haryati, 2022).

Fraksi n-heksan ekstrak etanol daun karamunting

Fraksi n-heksan ekstrak etanol daun karamunting sebagai anti inflamasi pada stabilitas membran eritrosit tergantung konsentrasi tertera pada gambar 8.1:

Bab 9. Aktivitas anti-inflamasi daun karamunting terhadap stabilitas membran eritrosit 70



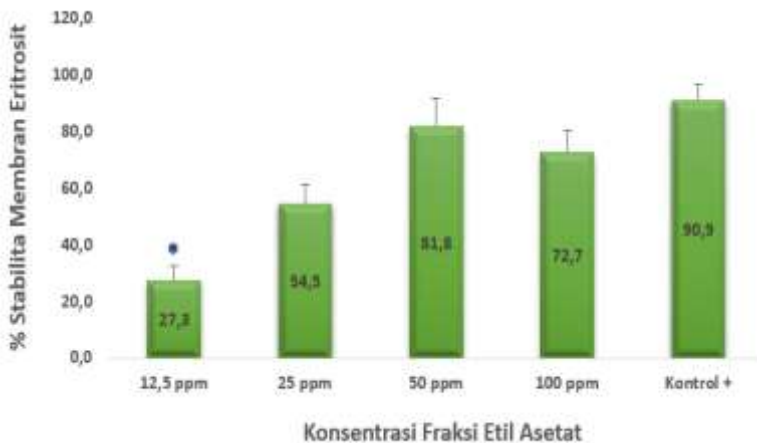
Gambar 8.1 Pengaruh konsentrasi fraksi n-heksan terhadap stabilitas membran eritrosit. Keterangan: * berbeda signifikan dengan kontrol + (standar anti inflamasi nonsteroid natrium diklorofenak)

Fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun karamunting menstabilkan membran sel eritrosit dengan menghalangi pelepasan enzim litik dan mediator inflamasi aktif lainnya. Konsentrasi fraksi n-heksan 25 ppm menunjukkan presentase stabilitas membran eritrosit sebesar 54,5%. Dari analisis statistik ANOVA

dilanjutkan posthoc LSD tidak berbeda signifikan dengan standar natrium diklorofenak. Hal ini menjelaskan bahwa fraksi n-heksan mempunyai potensi sebagai anti inflamasi seperti antiinflamasi standar Na-diklorofenak. Pelarut n-heksan yang bersifat non polar akan menarik senyawa metabolit dari ekstrak etanol daun karamunting yang bersifat non polar. Senyawa metabolit skunder golongan triterpenoid/steroid termasuk senyawa yang larut pada pelarut non polar.

Penelitian lain menjelaskan komponen terpenoid dari *Plectranthus hadiensis* terbukti memiliki aktivitas anti inflamasi seperti menghambat denaturasi bovine serum albumin (BSA), stabilisasi membran sel darah merah dan penghambatan agregasi trombosit *in vitro* (Menon *et al.*, 2014). Ekstrak hidroetanol *Macrosiphonia longiflora* efektif menghambat (p-0,05) edema kaki yang diinduksi dekstran karagenan (Da Silva *et al.*, 2014).

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun karamunting



Gambar 8.2 Pengaruh konsentrasi fraksi etil asetat terhadap stabilitas membran eritrosit. Keterangan: *berbeda signifikan dengan kontrol+ (standar anti inflamasi nonsteroid natrium diklorofenak)

Berdasarkan hasil pengamatan diatas, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun karamunting dapat mengandung senyawa semi polar yang cenderung sama dengan aktivitas antiinflamasi kontrol +. Hasil analisis statistik terhadap persentase stabilitas membran sel eritrosit antara berbagai konsentrasi fraksi etil asetat dengan

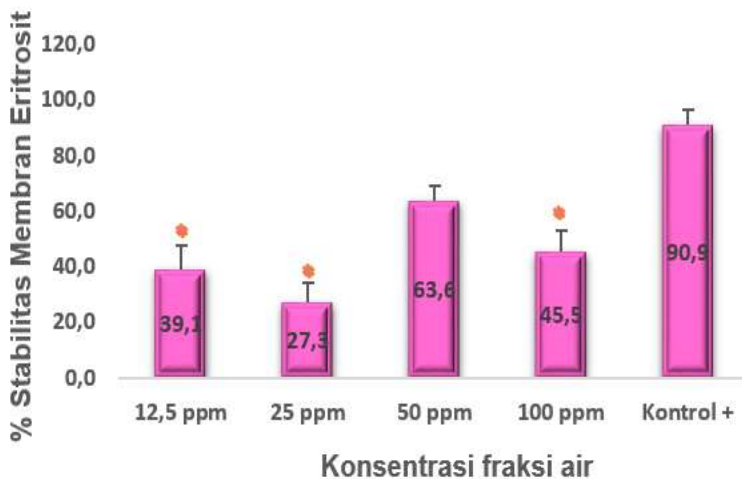
Bab 9. Aktivitas anti-inflamasi daun karamunting terhadap stabilitas membran eritrosit 73

kontrol positif menunjukkan konsentrasi 12,5 ppm tidak berbeda bermakna. Namun konsentrasi 25, 50 dan 100 ppm tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif ($p > 0,05$). Dari hasil analisis disimpulkan bahwa fraksi etil asetat konsentrasi 25,50,100 ppm memiliki aktivitas antiinflamasi yang hampir sama dengan kontrol positif Na diklorofenak. Menurut Putri *et al* (2015), senyawa flavonoid terdapat pada fraksi etil asetat dari daun karamunting. Kandungan senyawa flavonoid dari tanaman lain telah terbukti dapat melindungi lisis membran eritrosit (Rosero *et al.*, 2022).

Fraksi air akan menarik metabolit skunder polar dari ekstrak etanol daun karamunting. Aktivitas anti-inflamasi fraksi air dievaluasi dengan uji stabilitas membran eritrosit (SME). Fraksi air diuji pada konsentrasi 12,5, 25, 50, dan 100 ppm. Standar natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif. Gambar 8.3 menunjukkan hasil dari aktivitas anti-inflamasi fraksi air dengan uji SME. Nilai kontrol positif (Na diklofenak) sebesar 90,9% perlindungan lisis SME. fraksi air pada 50

Bab 9. Aktivitas anti-inflamasi daun karamunting terhadap stabilitas membran eritrosit 74

ppm menyajikan nilai yang mendekati kontrol positif. Selain itu, % stabilitas SME fraksi air 50 ppm sebesar 63% . Hanya fraksi air pada 50 ppm yang menunjukkan statistik tidak ada perbedaan bermakna dibandingkan



Gambar 8.3 Pengaruh konsentrasi fraksi air terhadap stabilitas membran eritrosit. Keterangan: *berbeda signifikan dengan kontrol + (standar anti inflamasi nonsteroid natrium diklorofenak)

dengan kontrol positif setelah analisis ANOVA satu arah pada $p > 0,05$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa fraksi air ekstrak etanol daun karamunting konsentrasi 50 ppm mempunyai aktivitas untuk menghambat lisis membran

Bab 9. Aktivitas anti-inflamasi daun karamunting terhadap stabilitas membran eritrosit 75

eritrosit tidak berbeda dengan anti inflamasi standar Na diklorofenak.

Mariani dkk. (2021) telah menjelaskan kandungan fenolik dari ekstrak etanol daun karamunting. *Salvia verbenaca* yang mengandung senyawa fenolik terbukti menghambat hemolisis yang diinduksi larutan hipotonik dan panas dan juga mengurangi 50% dari edema telinga yang diinduksi xylene pada 600 mg/kg bb (Righi et al., 2021)

Membran sel eritrosit mengandung lipid yang kaya akan asam lemak tak jenuh. Sel eritrosit lebih sering terpapar oksigen daripada jaringan tubuh lainnya dengan demikian, lebih rentan terhadap kerusakan oksidatif. Invasi membran sel eritrosit oleh peroksidan dapat menyebabkan hemolisis sel. Selain itu, hemoglobin dalam sel darah merah adalah katalis kuat yang dapat memulai peroksidasi lipid.

Selain peroksidasi lipid, oksidan mempengaruhi gugus-SH. Protein dengan gugus-SH sangat rentan dan mungkin target selama stres oksidatif. Berkurangnya kadar

Bab 9. Aktivitas anti-inflamasi daun karamunting terhadap stabilitas membran eritrosit 76

glutathione menyebabkan penurunan gugus-SH. Glutathione langsung melindungi protein membran dan mempertahankan stabilitasnya. Berkurang kadar glutathione menghasilkan oksidasi Gugus -SH membran dan hilangnya stabilitas membran.

Metabolit skunder yang terdapat pada fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun karamunting dapat menghambat lisis membran eritrosit. Metabolit skunder bersifat non polar, semi polar dan polar semuanya mempunyai aktivitas anti-inflamasi dengan melindungi stabilitas membran eritrosit.



PENUTUP

Tumbuhan karamunting yang dijadikan bahan kajian adalah daunnya. Daun karamunting yang telah dibuat ekstrak terbukti mengandung metabolit sekunder yang bersifat anti-radang.

Metabolit sekunder yang telah diidentifikasi dan dijelaskan dalam buku ini adalah terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan fenolik. Senyawa senyawa tersebut terbukti dapat mengurangi radang pada berbagai penelitian *in vitro* dan *in vivo*.

Mekanisme anti-radang dihubungkan dengan struktur metabolit tersebut. Salah satu pengatur sistem kekebalan yang paling penting dan respon radang adalah NF- κ B. Aktivasi faktor transkripsi tersebut dapat menginduksi sintesis berbagai sitokin proradang dan enzim yang berkaitan dengan radang. Produk tersebut termasuk sitokin TNF- α , IL-1, COX-2, iNOS, protease

(MMPs), dan reseptor yang terlibat dalam adhesi dan migrasi leukosit.

Terpenoid dapat menghambat aktivasi NF- κ B dengan (a) menghambat aktivasi kompleks IKK, (b) menargetkan degradasi proteasomal atau (c) mengganggu translokasi NF- κ B ke nukleus, atau pengikatan NF- κ B ke DNA. Senyawa yang tergolong terpenoid antara lain lupeol, betulin, dan β -amyrrin.

Flavonoid berperan dalam inhibisi faktor transkripsi dan enzim pengatur yang memiliki peran penting dalam kontrol mediator yang terlibat dalam peradangan. Fungsi lain adalah menghambat sintesis leukotrien, COX2, dan sitokin proradang.

Alkaloid mengatur jalur pensinyalan NF- κ B. Peradangan mengubah ekspresi beberapa gen seluler dan jaringan pensinyalan seluler, termasuk jalur pensinyalan MAPK dan JAK-STAT, terjadi selama peradangan.

Senyawa fenolik bekerja dengan cara yang sama seperti NSAID, selain itu beberapa di antaranya menghambat mediator pro-inflamasi yang lain selain COX dengan

menghambat aktivitas atau ekspresi gen mereka. Di samping itu, beberapa senyawa fenolik dapat menaikkan/menurunkan faktor transkripsi, seperti NF- κ B atau Nrf-2, dalam jalur inflamasi dan antioksidan.

Fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun karamunting dapat meningkatkan stabilitas membran eritrosit yang diinduksi larutan hipotonik. Salah satu metode untuk pengujian anti-radang dari suatu tanaman. Metabolit skunder fraksi etil asetat yang dapat bersifat anti-radang adalah asam oleanonat dan asam ursonat.

DAFTAR PUSTAKA

- Alharbi, K.S., Fuloria, N.K., Fuloria, S., Rahman, S.B., Al-Malki, W.H., Shaikh, M.A.J.,... & Gupta, G. (2021). Nuclear factor-kappa B and its role in inflammatory lung disease. *Chemico-biological interactions*, 345, 109568.
- Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131412.
- Almukaromah, f. (2021). Uji aktivitas penghambatan a-glukosidase dari beberapa tumbuhan obat yang digunakan oleh suku dayak ngaju di desa tangkiling kalimantan tengah.
- Aniszewski, T. (2015). *Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands,; ISBN 0444594620
- Cao, J. Q., Wu, Y., Zhong, Y. L., Li, N. P., Chen, M., Li, M. M., Ye, W. C., & Wang, L. (2018). Antiviral triketone-phloroglucinol-monoterpene adducts from *Callistemon rigidus*. *Chemistry & Biodiversity*, 15(7), e1800172-e1800192
- Chen D., Xu F., Zhang P., Deng J., Sun H., Wen X., Liu J. (2017). Practical synthesis of α -amyrin, β -amyrin, and lupeol: The potential natural inhibitors of human oxidosqualene cyclase. *Arch. Pharm.*

- (Weinheim);350:1700178.doi:10.1002/ardp.201700178
- Chen, L., Teng, H., Jia, Z., Battino, M., Miron, A., Yu, Z., ... Xiao, J. (2017). intraseluler jalur sinyal inflamasi yang dimodulasi oleh flavonoid makanan: Bukti terbaru. *Ulasan Kritis dalam Ilmu Pangan dan Gizi*, 1-17.
- Chen, G. L., Fan, M. X., Wu, J. L., Li, N., & Guo, M. Q. (2019). Antioxidant and antiinflammatory properties of flavonoids from lotus plumule. *Food Chemistry*, 277, 706-712.
- Chorachoo, J., Saeloh, D., Srichana, T., Amnuakit, T., Musthafa, K. S., Sretrirutchai, S., & Voravuthi kunchai, S. P. (2016). Rhodomyrtone as a potential anti-proliferative and apoptosis inducing agent in HaCaT keratinocyte cells. *European Journal of Pharmacology*, 772, 144-151.
- Chorachoo, J., Lambert, S., Furnholm, T., Roberts, L., Reingold, L., Auepemkiate, S.,... & Johnston, A. (2018). The small molecule rhodomyrtone suppresses TNF- α and IL-17A-induced keratinocyte inflammatory responses: A potential new therapeutic for psoriasis. *PloS one*, 13(10), e0205340.
- Cieniewicz, B., Kirillov, V., Daher, I., Li, X., Oldenburg, D. G., Dong, Q., ... & Krug, L. T. (2022). IKK α -Mediated Noncanonical NF- κ B Signaling Is Required To Support Murine Gamma herpes virus 68 Latency In Vivo. *Journal of Virology*, 96(10), e00027-22.
- Da Silva AO, Damaceno Alves A, Almeida DA, Balogun SO, de Oliveira RG, Aires Aguiar A, et al. Evaluation

- of anti-inflammatory and mechanism of action of extract of *Macrosiphonia longiflora* (Desf.) Müll. *Arg. J Ethnopharmacol* 2014, 154:319-29.
- Depkes. Integrasi Pengobatan Tradisional Dalam Sistem Kesehatan Nasional. Retrieved from Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: www.depkes.go.id. 2011, November 02
- Geris, R., & Simpson, T. J. (2009). Meroterpenoids produced by fungi. *Natural Product Reports*, 26(8), 1063-1094.
- Desgagné-Penix, I. (2021). Biosynthesis of alkaloids in Amaryllidaceae plants: A review. *Phytochemistry Reviews*, 20(2), 409-431.
- Fan, X., Fan, Z., Yang, Z., Huang, T., Tong, Y., Yang, D., ... & Yang, M. (2022). Flavonoids-Natural gifts to promote health and longevity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2176.
- Fujiati, F., & Haryati, H., (2021). Interaksi molekuler trans- β -ionon-5,6-epoxide terhadap NF- κ B pada model kombinasi asma dan debu batubara in silico. Disampaikan pada Seminar Nasional HMSC 1st, 2 Nopember 2021, FK ULM Banjarbaru.
- Fujiati, F., & Haryati, H. (2022). Anti-Inflammatory and Anti-Remodelling Potential of Ethanol Extract *Rhodomyrtus Tomentosa* in Combination of Asthma and Coal Dust Models. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 10(4), 686.
- Fujiati, F., Haryati, H., Joharman, J., Sabrina WU. profile metabolites and anti-inflammatory activities *R.tomentosa* leaf ethanol extract subfraction on the membrane of erythrocytes in vitro. *RBMJ*, 2022 (on process)

- Galleggiante, V., De Santis, S., Cavalcanti, E., Scarano, A., De Benedictis, M., Serino, G., ... Chieppa, M. (2017). Dendritic cells modulate iron homeostasis and inflammatory abilities following quercetin exposure. *Current Pharmaceutical Design*, 23, 2139-2146.
- Gao, F., Wei, D., Bian, T., Xie, P., Zou, J., Mu, H., ... Zhou, X. (2012). Genistein attenuated allergic airway inflammation by modulating the transcription factors T-bet, GATA-3 and STAT-6 in a murine model of asthma. *Pharmacology*, 89, 229-236.
- Gilroy, D. W., & Bishop-Bailey, D. (2019). Lipid mediators in immune regulation and resolution. *British journal of pharmacology*, 176(8), 1009-1023.
- Giner-Larza, E. M., Máñez, S., Recio, M. C., Giner, R. M., Prieto, J. M., Cerdá-Nicolás, M., & Ríos, J. L. (2001). Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from Pistacia, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *European journal of pharmacology*, 428(1), 137-143.
- Hanáková, Z., Hošek, J., Kutil, Z., Temml, V., Landa, P., Vaněk, T., ... Šmejkal, K. (2017). Anti-inflammatory activity of natural geranylated flavonoids: Cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitory properties and proteomic analysis. *Journal of natural products*, 80, 999-1006.
- Hirannat, A., & Mahabusarakam, W. (2008). New acylphloro glucinols from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Tetrahedron*, 64(49), 11193-11197

- Hortelano, S., González-Cofrade, L., Cuadrado, I., & de Las Heras, B. (2020). Current status of terpenoids as inflammasome inhibitors. *Biochemical Pharmacology*, 172, 113739.
- Hortelano, S. (2009). Molecular basis of the anti-inflammatory effects of terpenoids. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy) (Discontinued)*, 8(1), 28-39.
- Hua, F., Shi, L., & Zhou, P. (2020). Phytochemicals as potential IKK- β inhibitor for the treatment of cardiovascular diseases in plant preservation: terpenoids, alkaloids, and quinones. *Inflammo pharmacology*, 28(1), 83-93.
- Jega, A. Y., Abdullahi, M. I., Umar, A. M., & Musa, F. (2020). Effect of lupeol from *Vernonia glaberrima* (Asteraceae) on pain and inflammation. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 4(1), 1-5.
- Kashyap, D., Sharma, A., S Tuli, H., Punia, S., & K Sharma, A. (2016). Ursolic acid and oleanolic acid: pentacyclic terpenoids with promising anti-inflammatory activities. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*, 10(1), 21-33.)
- Kim, M., Lim, S. J., Kang, S. W., Um, B. H., & Nho, C. W. (2014). *Aceriphyllum rossii* extract and its active compounds, quercetin and kaempferol inhibit IgE-mediated mast cell activation and passive cutaneous anaphylaxis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 3750-3758.

- Kishimoto, S., Sato, M., Tsunematsu, Y., Watanabe, K. (2016). Evaluation of Biosynthetic Pathway and Engineered Biosynthesis of Alkaloids. *Molecules*, 21, 1078.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal* 162750.
- Lala, Mousikha, et al. Potent bioactive methanolic extract of wild orange (*Citrus macroptera* Mont.) shows antioxidative, anti-inflammatory, and anti-microbial properties in in vitro, in vivo, and in silico studies. *Bulletin of the national research centre*, 2020, 44.1: 1-15.
- Lago, J. H., Toledo-Arruda, A. C., Mernak, M., Barrosa, K.H., Martins, M. A., Tibério, I. F., & Prado, C. M. (2014). Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. *Molecules*, 19, 3570-3595.
- Lai TNH, Herent M, Quetin-Leclercq J, Nguyen BT, Rogez H, Yvan L, Andre CM. Piceatannol, a potent bioactive stilbene, as major phenolic component in *Rhodomyrtus tomentosa*. In: *Food Chemistry 2013*; 138(2): 1421-1430.
- Li, X., Jiang, Q., Wang, T., Liu, J., & Chen, D. (2016). Comparison of the antioxidant effects of quercitrin and isoquercitrin: Understanding the role of the 6"-OH group. *Molecules*, 21.
- Liu H.X., Chen K., Yuan Y., Xu Z.F., Tan H.B., Qiu S.X. (2016). Rhodomentones A and B, novel meroterpenoids with unique NMR characteristics

- from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Org. Biomol. Chem.* 14:7354-7360. doi: 10.1039/C6OB01215A.
- Liu, H., Feng, M. Y., Yu, Q., Yan, H., Zeng, Y., Qin, X. J., He, L., & Liu, H. Y. (2018). Formyl phloroglucinol meroterpenoids from *Eucalyptus tereticornis* and their bioactivities. *Tetrahedron*, 74(13), 1540-1545
- Liu H.X., Zhang W.M., Xu Z.F., Chen Y.C., Tan H.B., Qiu S.X. (2016). Isolation, synthesis, and biological activity of tomentosol A from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *RSC Adv.*6:25882-25886. doi: 10.1039/C6RA01594H.
- Liu J., Song J.G., Su J.C., Huang X.J., Ye W.C., Wang Y. (2018). Tomentodione E, a new sec-pentyl syncarpic acid-based meroterpenoid from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 20:67-74. doi: 10.1080/10286020.2017.1318852.
- Luan, M., Wang, H., Wang, J., Zhang, X., Zhao, F., Liu, Z., & Meng, Q. (2022). Advances in Anti-inflammatory Activity, Mechanism and Therapeutic Application of Ursolic Acid. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 22(3), 422-436.
- Luo, D., Zhang, Y.B., Huang, J., Chen, L.F., He, L.J., Kuang, G. K.,... & Li, Y.L. (2019). One new sesquiterpene from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Chemistry Letters*, 48(1), 55-57.
- Mariani, F., Tammachote, R., Kusuma, I. W., Chavasiri, W., & Prasongsuk, H.P.S. Phenolic content and biological activities of ethanol extracts from

- medicinal plants in East Kalimantan, Indonesia. *Sains Malaysiana*, 2021, 50(8), 2193-2205
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20, 1126-1167.
- Menon DB, Sasikumar JM. Antioxidant and anti-inflammatory properties of terpenoid fraction isolated from the shoot of *Plectranthus hadiensis*. *Int J Pharm Bio Sci* 2014, 5(2):197-205.
- Moreira, R., Fernandes, F., Valentão, P., Pereira, D. M., & Andrade, P. B. (2020). *Echium plantagineum* L. honey: Search of pyrrolizidine alkaloids and polyphenols, anti-inflammatory potential and cytotoxicity. *Food chemistry*, 328, 127169.
- Na-Phatthalung, P., Teles, M., Voravuthikunchai, S. P., Tort, L., & Fierro-Castro, C. (2018b). Immuno modulatory effects of *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract and its derivative compound, rhodomyrtone, on head kidney macrophages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish. Physiology and Biochemistry*, 44(2), 543-555.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 5, 27986-28006.
- Nkeh-Chungag, B.N., Oyedeji, O.O., Oyedeji, A.O., & Ndebia, E.J. (2015). Anti-inflammatory and membrane-stabilizing properties of two semi-synthetic derivatives of oleanolic acid. *Inflammation*, 38(1), 61-69.

- Noureddine, N., Hartling, I., Wawrzyniak, P., Srikanthan, P., Lou, P. H., Lucchinetti, E., ... & Hersberger, M. (2022). Lipid emulsion rich in n-3 polyunsaturated fatty acids elicits a pro-resolution lipid mediator profile in mouse tissues and in human immune cells. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 116(3), 786-797.
- Oyedeji, A. B., Green, E., Adebisi, J. A., Ogundele, O. M., Gbashi, S., Adefisoye, M. A.,... & Adebo, O. A. (2021). Metabolomic approaches for the determination of metabolites from pathogenic microorganisms: A review. *Food Research International*, 140, 110042.
- Panigrahy, D., Gilligan, M. M., Serhan, C. N., & Kashfi, K. (2021). Resolution of inflammation: An organizing principle in biology and medicine. *Pharmacology & therapeutics*, 227, 107879.
- Pei, H., Xue, L., Tang, M., Tang, H., Kuang, S., Wang, L.,... & Chen, L. (2020). Alkaloids from black pepper (*Piper nigrum* L.) exhibit anti-inflammatory activity in murine macrophages by inhibiting activation of NF- κ B pathway. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(8), 2406-2417.
- Peng, H., Huang, W., Cheng, S. and Liou, C., 2018. Fisetin inhibits the generation of inflammatory mediators in interleukin-1 β -induced human lung epithelial cells by suppressing the NF- κ B and ERK1/2 pathways. *International Immunopharmacology*, 60, pp. 202-210.

- Putri, A.L., & Yuliawati, K.M. Pengaruh perbedaan pelarut ekstraksi terhadap kadar senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas analgetik dari ekstrak daun dan buah karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). *Prosiding Farmasi*, 2015, 150-156.
- Rathinavel, T., Ammashi, S., & Shanmugam, G. (2021). Analgesic and anti-inflammatory potential of Lupeol isolated from Indian traditional medicinal plant *Crateva adansonii* screened through in vivo and in silico approaches. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1-14.
- Rakha, A., Umar, N., Rabail, R., Butt, M. S., Kieliszek, M., Hassoun, A., & Aadil, R. M. (2022). Anti-inflammatory and anti-allergic potential of dietary flavonoids: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 156, 113945.
- Righi, N., Boumerfeg, S., Deghima, A., Fernandes, P. A., Coelho, E., Baali, F.,... & Baghiani, A. (2021). Phenolic profile, safety assessment, and anti-inflammatory activity of *Salvia verbenaca* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 272, 113940.
- Rehman, S., & Khan, H. (2017). Advances in antioxidant potential of natural alkaloids. *Current Bioactive Compounds*, 13(2), 101-108.
- Rosero, S., Del Pozo, F., Simbaña, W., Álvarez, M., Quinteros, M. F., Carrillo, W., & Morales, D. Polyphenols and Flavonoids Composition, Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Andean *Baccharis Macrantha* Extracts. *Plants*, 2022, 11(12), 1555.

- Saising, J., Nguyen, M. T., Hartner, T., Ebner, P., Bhuyan, A. A., Berscheid, A.,...& Gotz, F. (2018). Rhodomyrtonone (Rom) is a membrane-active compound. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*, 1860(5), 1114-1124
- Sehnert, B., Burkhardt, H., Dübel, S., & Voll, R. E. (2020). Cell-type targeted NF-kappaB inhibition for the treatment of inflammatory diseases. *Cells*, 9(7), 1627.
- Singh, B., Kumar, A. and Malik, A., 2017. Flavonoids biosynthesis in plants and its further analysis by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 38(6), pp.820-832.
- Son J, & Lee SY., (2020). Therapeutic Potential of Ursolic Acid: Comparison with Ursolic Acid. *Biomolecules*. 2; 10(11): 1505. doi: 10.3390/biom10111505. PMID:33147723; PMCID: PMC769312).
- Song, Z., Gao, C., Jiang, Q., Xu, J., Xiong, L., Liu, K.,... & Chen, L. (2021). Diterpenoid alkaloids from *Delphinium forrestii* var. *viride* and their anti-inflammation activity. *Phytochemistry*, 192, 112971.
- Stote, K., Clevidence, B., Novotny, J., Henderson, T., Radecki, S., & Baer, D. (2012). Effect of cocoa and green tea on biomarkers of glucose regulation, oxidative stress, inflammation and hemostasis in obese adults at risk for insulin resistance European *Journal of Clinical Nutrition*, 66, 1153-1159.
- Souto, A. L., Tavares, J. F., Da Silva, M. S., Diniz, M. D. F. F. M., de Athayde-Filho, P. F., & Filho, J. M. B.

- (2011). Anti-inflammatory activity of alkaloids: an update from 2000 to 2010. *Molecules*, 16(10), 8515-8534.
- Tan, H., Liu, H., Zhao, L., Yuan, Y., Li, B., Jiang, Y., Gong, L., & Qiu, S. (2017). Structure-activity relationships and optimization of acyclic acylphloroglucinol analogues as novel antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 125, 492-499.
- Taylor, B., Adelaja, A., Liu, Y., Luecke, S., & Hoffmann, A. (2020). Identification and physiological significance of temporal NF κ B signaling codewords deployed by macrophages to classify immune threats. bioRxiv.
- Thilakarathna, S. H., & Rupasinghe, H. P. (2013). Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. *Nutrients*, 5, 3367-3387.
- Ti, H., Zhuang, Z., Yu, Q., & Wang, S. (2021). Progress of plant medicine derived extracts and alkaloids on modulating viral infections and inflammation. *Drug design, development and therapy*, 15, 1385.
- Tsai, F. S., Lin, L. W., & Wu, C. R. (2016). Lupeol and its role in chronic diseases. *Drug Discovery from Mother Nature*, 145-175.
- Vo, T.S., & Ngo, D.H. (2019). The Health Beneficial Properties of *Rhodomyrtus tomentosa* as Potential Functional Food. *Biomolecules*, 9(2), 76. <https://doi.org/10.3390/biom9020076>
- Wahlang, B., McClain, C., Barve, S., & Gobejishvili, L. (2018). Role of cAMP and phosphodiesterase

- signaling in liver health and disease. *Cellular Signaling*, 49, 105-115.
- Wang, T., Li, Q. and Bi, K., 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), pp.12-23.
- Weng, Z., Patel, A. B., Panagiotidou, S., & Theoharides, T. C. (2015). The novel flavone tetramethoxyluteolin is a potent inhibitor of human mast cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135, 1044-1052.
- Wu P, Ma G, Li N, Deng Q, Yin Y, Huang R. Investigation of in vitro and in vivo antioxidant activities of flavonoids rich extract from the berries of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. *Food Chem* 2015;173:194-202.
- Zhang, Y. B., Li, W., Zhang, Z. M., Chen, N. H., Zhang, X. Q., Jiang, J. W., Wang, G. C., & Li, Y. L. (2016). Two new triterpenoids from the roots of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Chemistry Letters*, 45(3), 368-370.
- Zhang, Y. L., Zhou, X. W., Wu, L., Wang, X. B., Yang, M. H., Luo, J., Luo, J. G., & Kong, L. Y. (2017). Isolation, structure elucidation, and absolute configuration of syncarpic acid-conjugated terpenoids from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Journal of Natural Products*, 80(4), 989-998
- Zhao, L. Y., Liu, H. X., Wang, L., Xu, Z. F., Tan, H. B., & Qiu, S. X. (2018). Rhodomyrtosone B, a membrane-targeting anti-MRSA natural acylglucinol from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50-57.

- Zhao, Z., Wu, L., Xie, J., Feng, Y., Tian, J., He, X., ... & Zheng, X. (2020). *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton.): A review of phytochemistry, pharmacology and industrial applications research progress. *Food chemistry*, 309, 125715.
- Zou, Z. X., Tan, G. S., Huang, Q., Sun, H. H., Huo, L. Q., Zhong, W. Q., Zhao, L. Y., Liu, H. X., & Tan, H. B. (2018). Brachyanins A-C, pinene-derived meroterpenoids and phloroglucinol derivative from *Leptospermum brachyandrum*. *Fitoterapia*, 130, 184-189

