

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xv</b>
<b>INTISARI.....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Penelitian.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Keaslian Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	7
E. Tujuan Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
A. Telaah Pustaka.....	8
1. Daun Sendok ( <i>Plantago major</i> L.).....	8
2. Asam Ursolat (Au) dan Asam Oleanolat (Ao) pada <i>P.major</i> .....	11
3. Total Fenolik dan Flavonoid pada <i>P.major</i> .....	13
4. Aucubin pada <i>P.major</i> .....	15
5. Uji MTT.....	16
6. Inflamasi.....	16
7. Hubungan Mediator Inflamasi dan Resistensi Insulin.....	19
a. IL-1 $\beta$ dan RI.....	19
b. IL-6 dan RI.....	20
c. TNF- $\alpha$ dan RI.....	20
d. Kemokin dan RI.....	21

8. Nitrit Oksida (NO).....	23
9. Makrofag.....	25
10. <i>Cell line</i> RAW 264.7.....	27
11. Profiling Senyawa Kimia.....	28
12. High Resolution Mass Spectrophotometri.....	29
13. Kemometrik.....	30
B. Landasan Teori.....	31
C. Kerangka Konsep.....	35
D. Hipotesis.....	36
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>37</b>
A. Desain Penelitian.....	37
B. Bahan dan Subyek Penelitian.....	38
1. Bahan Uji.....	38
a. Ektrak daun sendok.....	38
b. Sel RAW 264.7.....	38
2. Bahan Kimia.....	39
a. Penentuan Profil senyawa dalam ekstrak.....	39
b. Proses kultur sel RAW 264.7.....	39
c. Proses uji viabilitas sel.....	39
d. Uji produksi kadar nitrit oksida NO.....	40
e. Proses pengamatan ekspresi sitokin TNF- $\alpha$ , IFN- $\delta$ dan IL-1 $\beta$ .....	40
C. Identifikasi Variabel Penelitian.....	40
1. Variabel Terikat.....	40
2. Variabel Terkontrol.....	40
3. Variabel Bebas.....	41
D. Defenisi Operasional Variabel.....	42
E. Instrumen Penelitian.....	42
1. Profiling kandungan kimia.....	42
2. Kultur sel.....	42

3. Uji viabilitas sel.....	43
4. Uji produksi nitrit oksida (NO).....	43
5. Pengujian ekspresi sitokin TNF- $\alpha$ , IFN- $\delta$ dan IL-1 $\beta$ .....	43
F. Jalannya Penelitian.....	43
1. Profiling kandungan kimia.....	43
2. Kultur sel.....	44
a. Subkultur sel RAW 264.7.....	44
b. Panen Sel.....	45
c. Perhitungan sel.....	45
3. Uji viabilitas.....	45
4. Uji Kadar Penghambatan Nitrit oxide (NO).....	46
5. Pengukuran kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IFN- $\delta$ .....	46
G. Analisis Data.....	48
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	<b>50</b>
A. Penyiapan Ekstrak optimum <i>P. major</i> .....	51
B. Profiling Kimia Ekstrak optimum <i>P. major</i> .....	51
1. Senyawa 1 Terprediksi sebagai Aucubin.....	56
2. Senyawa 2 Terprediksi sebagai Plantamajoside.....	57
3. Senyawa 3 Terprediksi sebagai Plantagin.....	58
4. Senyawa 4 Terprediksi sebagai Baicalein.....	59
5. Senyawa 5 Terprediksi sebagai Verbacoside.....	60
6. Senyawa 6 Terprediksi sebagai Hispidulin.....	61
C. Aktivitas Antiinflamasi ekstrak optimum <i>P. major</i> .....	62
1. Efek ekstrak etanolik herba <i>P.major</i> terhadap viabilitas sel RAW 264.7.....	62
2. Pengaruh ekstrak <i>P. major</i> L terhadap morfologi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS.....	67
3. Pengaruh ekstrak <i>P.major</i> L terhadap Kadar Nitrit Okside (NO).....	70
a. Inkubasi Sel RAW 264.7 selama 24 jam.....	70
b. Inkubasi Sel RAW 264.7 selama 48 jam.....	75

c. Pengaruh waktu inkubasi sel terhadap presentasi penurunan produksi NO.....	79
4. Pengaruh perlakuan ekstrak <i>P.major</i> L terhadap ekspresi sitokin TNF- $\alpha$ IL-1 $\beta$ , dan IFN- $\delta$ .....	82
a. Ekspresi sitokin TNF- $\alpha$ .....	82
b. Ekspresi sitokin IL-1 $\beta$ .....	85
c. Ekspresi sitokin IFN- $\delta$ .....	88
5. Hubungan antara Profil Kandungan Kimia ekstrak <i>P.major</i> L terhadap produksi NO ekspresi sitokin TNF- $\alpha$ IL-1 $\beta$ , IFN- $\delta$ berdasarkan analisis kemometrika.....	91
a. Analisis multivariat PCA.....	91
b. Analisis Korelasi.....	98
c. Penelusuran mekanisme aksi antiinflamasi <i>P.major</i> terhadap produksi NO ekspresi sitokin TNF- $\alpha$ IL-1 $\beta$ , IFN- $\delta$ dan hubunganya terhadap profil kandungan kimia.....	99
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>108</b>
A. Kesimpulan.....	108
B. Saran.....	109
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>110</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>120</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Daun Sendok ( <i>P. major</i> ).....	9
Gambar 2. Struktur kimia (a) Asam Ursolat dan (b) Asam Oleanolat.....	12
Gambar 3. Struktur aucubin .....	15
Gambar 4. Jalur Signaling Inflamasi pada DMT2 dengan Obesitas.....	22
Gambar 5. Mekanisme Aksi Inflamasi pada Sel Makrofag yang diinduksi oleh LPS.....	24
Gambar 6. Jalur Pensinyalan Makrofag pada Proses Inflamasi .....	26
Gambar 7. Kerangka Konsep Penelitian .....	35
Gambar 8. Skema jalannya penelitian.....	48
Gambar 9. Kandungan senyawa kimia utama dalam ekstrak <i>P. major</i> .....	52
Gambar 10. Total kandungan senyawa kimia utama dalam ekstrak <i>P. major</i> .....	55
Gambar 11. Kromatogram HRMS Aucubin .....	56
Gambar 12. Kromatogram HRMS Plantamajoside.....	57
Gambar 13. Kromatogram HRMS Plantaginidin.....	58
Gambar 14. Kromatogram HRMS Baicelin.....	59
Gambar 15. Kromatogram HRMS Verbacoside .....	60
Gambar 16. Kromatogram HRMS Hispidulin .....	61
Gambar 17. MTT Assay pada sel macrophage yang diberi perlakuan konsentrasi gula yang tinggi dan paparan ekstrak <i>P. major</i> .....	62
Gambar 18. Pengaruh konsentrasi ekstrak <i>P. major</i> terhadap viabilitas sel RAW 264.7.....	66
Gambar 19. Pengamatan morfologi sel RAW 264.7 menggunakan mikroskop inverted dengan skala 50 dan 100 $\mu$ m dan pembesaran 10x.....	68
Gambar 20. Pengamatan morfologi sel RAW 264.7 menggunakan mikroskop inverted dengan skala 50 $\mu$ m dan pembesaran 10x.....	69
Gambar 21. Pengaruh konsentrasi ekstrak <i>P. major</i> terhadap produksi NO pada sel RAW 264.7 yang diinkubasi selama 24 jam.....	75
Gambar 22. Pengaruh konsentrasi ekstrak <i>P. major</i> terhadap produksi NO pada sel RAW 264.7 yang diinkubasi selama 48 jam.....	77
Gambar 23. Pengaruh Waktu Inkubasi Sel Terhadap Persentase penurunan Produksi NO terhadap kontrol LPS.....	80
Gambar 24. Pengaruh konsentrasi ekstrak <i>P. major</i> terhadap produksi TNF- $\alpha$ pada sel RAW 264.7.....	84
Gambar 25. Pengaruh konsentrasi ekstrak <i>P. major</i> terhadap produksi IL-1 $\beta$ pada sel RAW 264.7.....	87
Gambar 26. Pengaruh konsentrasi ekstrak <i>P. major</i> terhadap produksi IFN- $\delta$ pada sel RAW 264.7.....	89
Gambar 27. Luaran <i>scree plot</i> dari Graph Prism 10 untuk melihat hubungan profiling kimia dan uji anti inflamasi pada <i>P. major</i> .....	93

Gambar 28. Luaran <i>loading plots</i> dari Graph Prism 10 untuk melihat hubungan profiling kimia dan uji anti inflamasi pada <i>P. major</i> .....	94
Gambar 29. Luaran <i>score plots</i> dari Graph Prism 10 untuk pengelompokan pada ekstrak <i>P. major</i> .....	95
Gambar 30. Luaran <i>biplots</i> dari Graph Prism 10 untuk melihat hubungan profiling kimia dan uji anti inflamasi terhadap ekstrak <i>P. major</i> .....	96
Gambar 31. <i>Biplot-Multivariate Analysis Data</i> Ekstrak NM, NU, DM, dan DU terhadap profil kandungan kimia <i>P. major</i> Vs aktivitas antiinflamasi menggunakan software Graphid Prism 10.....	96
Gambar 32. <i>Biplot-Multivariate Analysis Data</i> Ekstrak NM, NU, DM, dan DU terhadap profil kandungan kimia <i>P.major</i> L Vs aktivitas antiinflamasi menggunakan software SIMCA.....	97
Gambar 33. Grafik korelasi <i>pearson r</i> untuk melihat hubungan profiling kimia dan uji anti inflamasi pada <i>P. major</i> .....	98
Gambar 34. Mekanisme Aksi Inflamasi pada Luka Diabetes.....	101
Gambar 35. Target Aksi Senyawa Aktif <i>P. major</i> Pada Inflamasi .....	103

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Referensi yang Bersinggungan dengan Penelitian.....	5
Tabel 2. Referensi aktivitas antiinflamasi pada <i>P. major</i> .....	11
Tabel 3. Sub Kelas Flavonoid, Struktur, dan Tipe .....	14
Tabel 4. Hasil HRMS targetid <i>P. major</i> .....	53
Tabel 5. Luaran <i>eigen analysis</i> dari Graph Prism 10 untuk melihat hubungan profiling kimia dan uji anti inflamasi pada <i>P. major</i> .....	91

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penyiapan Ekstrak Etanolik Herba <i>Plantago major</i> L. ( <i>P. major</i> ).	120
Lampiran 2. Klirens Etik.....	123
Lampiran 3. Profiling Kimia Ekstrak Etanolik Herba <i>P. major</i> . ....	124
Lampiran 4. Efek Ekstrak Etanolik Herba <i>P. major</i> Terhadap Viabilitas Sel RAW 264.7.....	125
Lampiran 5. Efek Ekstrak Etanolik Herba <i>P. major</i> Terhadap Produksi Nitrit Oksida pada Sel RAW 264.7 Inkubasi 24 Jam.....	131
Lampiran 6. Efek Ekstrak Etanolik Herba <i>P. major</i> Terhadap Produksi Nitrit Oksida pada Sel RAW 264.7 Inkubasi 48 Jam.....	141
Lampiran 7. Efek Ekstrak Etanolik Herba <i>P. major</i> Terhadap Produksi Sitokin TNF- $\alpha$ , IFN- $\delta$ DAN IL-1 $\beta$ .....	152
Lampiran 8. Analisis multivariat dan Kemometrika.....	177