

Senyawa Antiinflamasi dari Fraksi Etil Asetat Akar Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Udema Kaki Mencit Terinduksi Karagenan

Diva Feraldy¹, Endah Sayekti¹, Ari Widiyantoro^{1*}

¹Program Studi Kimia, FMIPA Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

Article info	Abstrak
<p>History Submission: 21-09-2022 Review: 24-01-2023 Accepted: 14-02-2023</p> <p>*Email: ari.widiyantoro@chemistry.untan.ac.id</p> <p>DOI: 10.33096/jffi.v10i1.885</p> <p>Kata Kunci: <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.; edema; carrageenan; pandamarilactone</p> <hr/> <p>Keywords: <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.; udema; karagenan; pandamarilakton</p>	<p>Abstrak Inflamasi dapat terjadi karena gigitan serangga, toksin, terbakar dan pukulan keras. Inflamasi dapat disembuhkan menggunakan Obat Antiinflamasi Non-Steroid (OAINS). Akar pandan wangi diduga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi karena mengandung senyawa golongan alkaloid dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dan karakteristik senyawa antiinflamasi dari fraksi etil asetat akar pandan wangi (<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.) terhadap udema kaki mencit terinduksi karagenan. Proses isolasi senyawa dari akar pandan wangi meliputi tahapan maserasi, partisi dan kromatografi. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol memiliki aktivitas yang baik pada dosis 200 mg/kg BB (51,7%), fraksi metanol memiliki aktivitas yang baik pada dosis 200 mg/kg BB (38,2%), fraksi etil asetat memiliki aktivitas yang baik pada dosis 200 mg/kg BB (56,9%), fraksi diklorometana memiliki aktivitas yang baik pada dosis 200 mg/kg BB (59,2%) dan fraksi <i>n</i>-heksana memiliki aktivitas yang baik pada dosis 200 mg/kg BB (37,1%) dan isolat memiliki aktivitas yang baik pada dosis 50 mg/kg BB (35,6%). Isolat K2 dari fraksi etil asetat dikarakterisasi menggunakan ¹H-NMR dengan pelarut DMSO (500 MHz) dan ¹³C-NMR dengan pelarut DMSO (125 MHz). Isolat K2 dari fraksi etil asetat memiliki kemiripan dengan senyawa Pandamarilakton.</p> <hr/> <p>Abstract <i>Inflammation can occur due to insect bites, toxins, burns, and blows. Inflammation can be cured using Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs (NSAID). Root of fragrant pandan is thought to have anti-inflammatory activity because it contains alkaloids and flavonoid compounds. This study aims to determine the activity and characteristics of anti-inflammatory compound from ethyl acetate fraction of root of fragrant pandan (<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.) against foot edema of mice carrageenan-induced. The process of isolation of compound from root of fragrant pandan includes stages such as maceration, partitioning, and chromatography. The results of the study of the methanol extract had good activity at a dose of 200 mg/kg BB (51.7%); the methanol fraction had good activity at a dose of 200 mg/kg BB (38.2%); the ethyl acetate fraction had good activity at a dose of 200 mg/kg BB (56.9%); the dichloromethane fraction had good activity at a dose of 200 mg/kg BB (59.2%); the <i>n</i>-Hexane fraction had good activity at a dose of 200 mg/kg BB (37.1%); and isolates had good activity at a dose of 50 mg/kg BB (35.6%). K2 isolate from the ethyl acetate fraction was characterized using ¹H-NMR with DMSO (500 MHz) and ¹³C-NMR with DMSO (125 MHz). K2 isolate from the ethyl acetate fraction had similarities to Pandamarilactone.</i></p>



I. Pendahuluan

Inflamasi merupakan infeksi pada jaringan rusak yang disebabkan oleh gigitan serangga, toksin, terbakar, atau pukulan keras. Inflamasi dapat bersifat akut atau inflamasi kronik. Tanda-tanda yang terjadi pada inflamasi yaitu panas, kemerahan, bengkak, nyeri, atau kehilangan fungsi. Inflamasi adalah suatu respon sistem imunitas tubuh terhadap rangsangan berbahaya seperti patogen, sel-sel yang rusak, senyawa beracun, atau iradiasi. Proses inflamasi yang terjadi merupakan mekanisme pertahanan yang utama bagi kesehatan dengan membentuk sitokin-sitokin maupun mediator yang bertanggung jawab dalam inflamasi (Bare *et al.*, 2019). Inflamasi berupa peradangan yang disebabkan bukan karena aktivitas mikroorganisme (noninfeksi) dapat diobati dengan obat antiinflamasi (Tinesya *et al.*, 2019).

Obat Antiinflamasi Nonsteroid (OAINS) seperti aspirin, ibuprofen, dan natrium diklofenak dapat mengatasi rasa nyeri akibat peradangan. OAINS sering digunakan karena efektivitasnya yang baik sebagai analgetik, antiinflamasi, dan antipiretik. Efektivitas kerja OAINS diperoleh dari kemampuannya menghambat sintesis prostaglandin melalui penghambatan kerja enzim siklooksigenase. OAINS memiliki efek samping yaitu ulkus peptikum sehingga telah dikembangkan OAINS yang selektif menghambat enzim siklooksigenase-2 dan diyakini lebih aman untuk lambung. Namun berbagai penelitian menunjukkan adanya peningkatan risiko penyakit kardiovaskular pada penggunaan OAINS sehingga penggunaan OAINS saat ini menjadi perhatian terutama bagi pasien yang sejak awal sudah memiliki penyakit kardiovaskular (Zahra & Carolia, 2017). Selain menggunakan OAINS, masyarakat pada umumnya menggunakan rempah-rempah seperti kunyit, jahe dan kayu manis sebagai obat herbal antiinflamasi. Menurut penelitian Meilina & Mukhtar (2019), ekstrak etanol rimpang kunyit mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, antraknon, saponin, tannin dan steroid/triterpenoid dan minyak atsiri yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.

Tanaman lainnya yang digunakan sebagai obat herbal antiinflamasi yaitu pandan wangi. Menurut penelitian Sentat (2016), ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) memiliki aktivitas antiinflamasi karena mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid dan flavonoid yang berperan aktif sebagai senyawa antiinflamasi. Senyawa alkaloid dan flavonoid juga terdapat pada bagian akar pandan wangi. Oleh karena itu akar pandan wangi berpotensi memiliki aktivitas antiinflamasi (Mustofa *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelusuran literatur penelitian tentang akar pandan wangi telah dilakukan baik isolasi senyawa maupun aktivitasnya. Isolasi senyawa yang diperoleh dari ekstrak metanol akar pandan wangi yaitu senyawa

alkaloid lakton dan senyawa tersebut memiliki aktivitas antimalaria (Dila *et al.*, 2020), oleh sebab itu senyawa alkaloid yang terkandung di dalam akar pandan wangi diduga juga dapat berpotensi memiliki aktivitas biologis lainnya seperti antiinflamasi.

Selama ini bagian pandan wangi yang sering digunakan untuk obat antiinflamasi hanya bagian daunnya, sedangkan pada bagian akarnya belum digunakan oleh masyarakat. Akar pandan wangi diduga dapat digunakan sebagai obat antiinflamasi karena kaya akan kandungan senyawa alkaloid yang dapat menghambat pembentukan prostaglandin. Saat ini belum ditemukan publikasi penelitian mengenai sifat antiinflamasi dari fraksi etil asetat akar pandan wangi, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa dari fraksi etil asetat akar pandan wangi. Etil asetat merupakan pelarut semipolar sehingga dapat menarik senyawa bersifat polar maupun nonpolar pada senyawa organik. Senyawa yang ditemukan akan diuji aktivitas antiinflamasi terhadap udema kaki mencit terinduksi karagenan dan uji karakterisasi menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

II. Metode Penelitian

II.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah beker gelas, blender, corong pisah, evaporator, kaca petri, labu ukur, plat KLT, plestimometer, pipet tetes, pipet volume, spatula dan timbangan. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akar pandan wangi, akuades, diklorometana, etil asetat, metanol, *n*-heksana, pereaksi besi (III) klorida, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi Lieberman-Burchard, pereaksi serum (IV) sulfat, plat silika gel 60 F₂₅₄, dan silika gel 60 (70-230 mesh dan 230-400 mesh).

II.2 Preparasi Sampel

Akar pandan wangi diperoleh dari Kecamatan Punggur, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat kemudian dibersihkan dengan menggunakan air bersih, dikeringanginkan sehingga kadar airnya mencapai <10% lalu diblender sampai menjadi serbuk halus dan diayak (Dila *et al.*, 2020).

II.3 Ekstraksi dan Partisi

Sampel akar pandan wangi dimaserasi dengan metanol pada suhu kamar. Kemudian ekstrak disaring dan filtratnya dikumpulkan. Residu dimaserasi kembali dengan cara menambahkan metanol (sampai jernih). Seluruh filtrat dikumpulkan lalu dipekatkan dengan evaporator, setelah itu ditimbang untuk memperoleh rendemennya (Dila *et al.*, 2020).

Ekstrak kasar metanol kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat. Masing-masing fraksi dipekatkan dengan evaporator, setelah itu digunakan

untuk uji antiinflamasi terhadap udem kaki mencit yang terinduksi karagenan (Dila *et al.*, 2020).

II.4 Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan diawali dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mencari eluen terbaik yang digunakan untuk pemisahan secara kromatografi vakum cair (KVC). Fraksi etil asetat diimpregnasi dengan silika gel, dielusi dengan fase gerak bergradien secara berturut-turut *n*-heksana, etil asetat, diklorometana dan metanol. Masing-masing fraksi hasil KVC di KLT kembali untuk menggabungkan fraksi yang mempunyai pola pemisahan yang sama. Fraksi gabungan yang diperoleh kemudian dipilih yang secara kuantitas banyak dan pola pemisahannya bagus untuk dilanjutkan dengan pemisahan secara kromatografi kolom gravitasi (KKG) untuk memperoleh senyawa yang murni.

II.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan terhadap mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karagenan. Mencit diberikan makan dan minum sebelum melakukan percobaan. Hewan coba dibagi dalam delapan kelompok, yaitu kelompok kontrol (CMC 0,5 %), kelompok bahan uji (ekstrak dan fraksi hasil partisi akar pandan wangi dengan dosis 100, 150 dan 200 mg/kg BB serta isolat K2 dengan 50 mg/kg BB), dan kelompok pembanding (natrium diklofenak dengan dosis 150 mg/kg BB) (Meilina & Mukhtar, 2019).

Pada sendi kaki kiri diberi tanda sebagai batas pengukuran volume kaki mencit dan diukur volumenya sebagai volume awal (V_0), kemudian pada masing-masing telapak kaki mencit disuntik secara intraplantar dengan larutan indikator karagenan 1% dengan volume 0,04 mL (Meilina & Mukhtar, 2019).

Pada masing-masing mencit diberikan larutan sesuai dengan kelompoknya. Selanjutnya, volume masing-masing kaki mencit diukur. Pengukuran dilakukan setiap selang waktu. Pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan kaki mencit kedalam alat plestimometer air raksa sampai batas tanda. Perubahan yang terjadi pada air raksa dicatat sebagai udem kaki mencit (Meilina & Mukhtar, 2019).

II.6 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Karakterisasi isolat dari fraksi etil asetat menggunakan spektrometer NMR yaitu $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ untuk mengetahui posisi hidrogen dan karbon pada struktur isolat tersebut.

III. Hasil Dan Pembahasan

III.1 Preparasi Sampel

Sampel akar pandan wangi sebanyak 16 kg diperoleh dari Kecamatan Punggur, Kabupaten

Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat. Sampel dicuci menggunakan air bersih sampai akar tersebut tidak ada kotoran. Setelah itu sampel dikeringanginkan pada ruangan tertutup. Fungsi pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga menghambat pertumbuhan jamur dan mikroorganisme, menghentikan reaksi enzimatis dan mencegah terjadinya perubahan kimiawi (Vania *et al.*, 2019). Sampel yang sudah kering ditimbang dan diperoleh hasil sebesar 2,4 kg. Sampel tersebut dipotong kecil-kecil menggunakan gunting dan diblender sampai halus. Hal ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel agar mempermudah interaksi pelarut kedalam sel tumbuhan (Hainil *et al.*, 2015).

III.2 Ekstraksi dan Partisi

Sampel akar pandan wangi sebanyak 2,4 kg dimaserasi menggunakan metanol pada suhu ruang. Pada maserasi akan terjadi proses plasmolisis yaitu pecahnya dinding sel pada suatu tanaman akibat tekanan dalam dan luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder pada tanaman akan lebih mudah dilarutkan oleh pelarut berupa metanol (Surahmaida & Umarudin, 2019). Selain itu, pelarut metanol diprediksi lebih reaktif dibanding etanol untuk mengekstraksi kandungan metabolit sekunder dalam tumbuhan. Adanya gugus metil memberikan dorongan elektron lebih kecil dibandingkan gugus etil sehingga membuat metanol lebih reaktif (Saputra *et al.*, 2018).

Maserat yang diperoleh disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh disimpan dan residu dimaserasi kembali dengan cara menambahkan metanol (sampai jernih). Seluruh filtrat dikumpulkan lalu dipekatkan dengan evaporator dan diperoleh ekstrak metanol akar pandan wangi sebesar 115,8056 g. Ekstrak kental metanol kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat. Ekstrak metanol diambil 75% sebesar 86,0031 g dilarutkan dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol dimasukan kedalam labu corong pisah dan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dengan perbandingan metanol : *n*-heksana (1:1). Setelah itu, dikocok hingga terbentuk campuran 2 fase. Larutan bagian atas merupakan *n*-heksana dan bagian bawah metanol. Larutan tersebut dipisahkan dan ditampung pada setiap fraksi. Fraksi *n*-heksana dipekatkan menggunakan evaporator lalu ditimbang dan diperoleh sebesar 4,8737 g. Fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana untuk mengambil senyawa nonpolar dan senyawa polar akan tetap pada pelarut metanol (Laksono *et al.*, 2014).

Fraksi metanol difraksinasi lagi dengan pelarut diklorometana dengan perbandingan metanol : diklorometana (1:1). Setelah itu, dikocok hingga terbentuk campuran 2 fase. Larutan bagian atas merupakan metanol dan bagian bawah diklorometana. Larutan tersebut dipisahkan dan

ditampung pada setiap fraksi. Fraksi diklorometana dipekatkan menggunakan evaporator, setelah itu fraksi kental ditimbang dan diperoleh sebesar 15,8242 g. Penggunaan diklorometana untuk memperoleh senyawa nonpolar yang tidak larut dalam pelarut *n*-heksana (Syahbanu *et al.*, 2019).

Fraksi metanol difraksinasi dengan etil asetat dengan perbandingan metanol : etil asetat (1:1). Setelah itu, dikocok hingga terbentuk campuran 2 fase. Larutan bagian atas merupakan metanol dan bagian bawah berupa etil asetat. Larutan tersebut dipisahkan dan ditampung. Fraksi etil asetat dipekatkan menggunakan evaporator kemudian fraksi kental ditimbang dan diperoleh sebesar 7,3996 g.

Fraksi metanol sisa dipekatkan menggunakan evaporator kemudian fraksi kental ditimbang dan diperoleh sebesar 4,1662 g. Penggunaan etil asetat untuk memisahkan senyawa polar yang tingkat kepolarannya lebih rendah dari senyawa yang larut di pelarut metanol. Senyawa dengan tingkat kepolaran yang tinggi akan tetap terikat pada pelarut metanol (Prasetyo *et al.*, 2016).

III.3 Uji Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder yang umumnya terdapat pada tanaman berupa golongan alkaloid, flavanoid, steroid, saponin, terpenoid dan fenolik. Untuk mengetahui kandungan metabolit

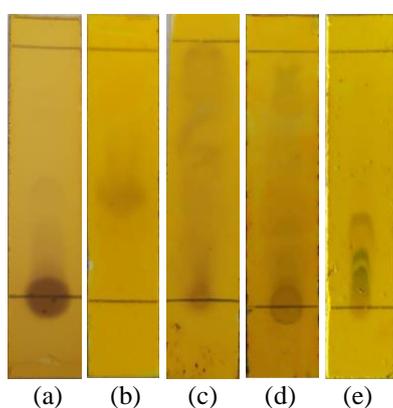
sekunder pada tumbuhan akar pandan wangi dapat diuji menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan dideteksi menggunakan reagen Dragendroff, Liberman Burchard, serium sulfat dan FeCl₃. Reagen Dragendroff untuk menentukan golongan alkaloid, reagen Lieberman Burchard untuk menentukan golongan steroid dan terpenoid, reagen serium sulfat untuk menentukan golongan flavonoid, reagen FeCl₃ untuk menentukan golongan fenolik, dan pada uji saponin menggunakan aquades (Muthmainnah, 2017).

Uji metabolit sekunder diawali dengan uji kromatografi lapis tipis menggunakan plat KLT untuk mencari eluen terbaik pada ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol. Berikut eluen terbaik hasil uji KLT ditunjukkan pada Tabel 1.

Setelah diperoleh eluen terbaik dilanjutkan uji metabolit sekunder untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak dan fraksi. Pada uji alkaloid plat KLT ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol disemprotkan dengan menggunakan reagen Dragendroff dan dipanaskan pada *hotplate* untuk diamati perubahan yang terjadi. Berikut hasil yang diperoleh pada uji alkaloid pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) akar pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

Sampel	Eluen Terbaik
Ekstrak kental metanol	diklorometana : etil asetat (9,5:0,5)
Fraksi metanol	metanol : diklorometana (6,5:3,5)
Fraksi diklorometana	diklorometana : etil asetat (7:3)
Fraksi etil asetat	etil asetat : diklorometana (1:1)
Fraksi <i>n</i> -heksana	<i>n</i> -heksana : diklorometana (5:5)



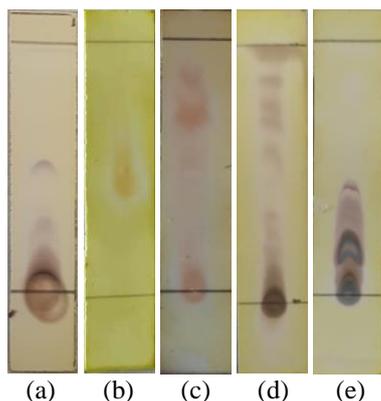
Gambar 1. Uji alkaloid pada (a) Ekstrak metanol (b) fraksi metanol (c) fraksi etil asetat (d) fraksi diklorometana dan (e) fraksi *n*-Heksana

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak kental metanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, fraksi diklorometana dan *n*-heksana menunjukkan positif mengandung senyawa golongan alkaloid karena menurut Wagner & Bladt,

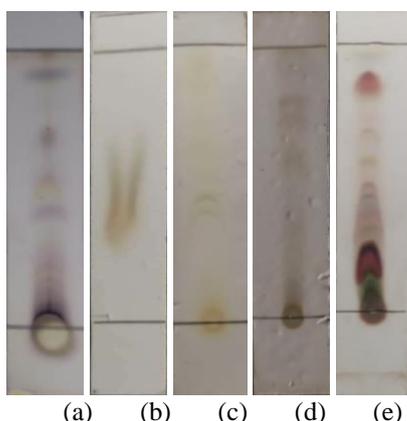
(1996) noda yang ditandai bercak berwarna jingga sampai coklat mengandung senyawa golongan alkaloid. Pada uji flavonoid plat KLT ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol disemprotkan dengan menggunakan reagen serium sulfat dan dipanaskan pada *hotplate* kemudian diamati perubahan yang terjadi. Berikut hasil yang diperoleh pada uji flavonoid di Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak kental metanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, fraksi diklorometana dan fraksi *n*-heksana menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid karena menurut Ningsih *et al.*, (2013) noda yang ditandai bercak berwarna coklat tua mengandung senyawa flavonoid. Pada uji steroid dan terpenoid plat KLT ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol disemprotkan dengan menggunakan reagen Lieberman Burchard dan dipanaskan pada *hotplate* lalu diamati perubahan

yang terjadi. Berikut hasil yang diperoleh untuk uji steroid dan terpenoid pada Gambar 3.

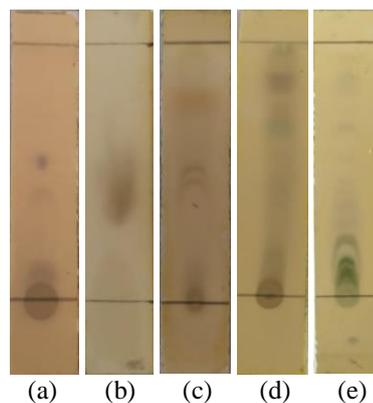


Gambar 2. Uji Flavonoid pada senyawa (a) Ekstrak metanol (b) fraksi metanol (c) fraksi etil asetat (d) fraksi diklorometana dan (e) fraksi *n*-Heksana



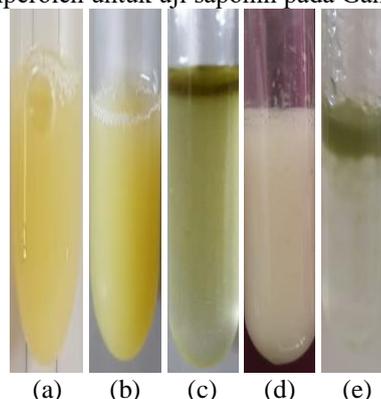
Gambar 3. Uji steroid dan terpenoid pada (a) ekstrak metanol (b) fraksi metanol (c) fraksi etil asetat (d) fraksi diklorometana dan (e) fraksi *n*-heksana

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan bahwa ekstrak kental metanol, fraksi metanol, fraksi diklorometana dan fraksi *n*-heksana menunjukkan positif mengandung senyawa steroid dan terpenoid. Noda yang ditandai bercak berwarna hijau-biru untuk senyawa steroid dan warna merah kecoklatan untuk senyawa terpenoid (Suhaenah & Nuryanti, 2017). Pada uji fenolik plat KLT ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol disemprotkan dengan menggunakan reagen $FeCl_3$ dan dipanaskan pada *hotplate* sehingga diamati perubahan yang terjadi. Berikut hasil yang didapat uji fenolik pada Gambar 4.



Gambar 4. Uji fenolik pada (a) ekstrak metanol (b) fraksi metanol (c) fraksi etil asetat (d) fraksi diklorometana dan (e) fraksi *n*-heksana

Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan bahwa ekstrak kental metanol, fraksi metanol, fraksi diklorometana dan fraksi *n*-heksana menunjukkan positif mengandung senyawa fenolik. Noda yang ditandai bercak hijau, merah ungu, biru, atau hitam yang kuat mengandung senyawa fenolik. Pada uji saponin ekstrak kental metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol dilarutkan menggunakan aquades, dikocok dan diamati perubahan yang terjadi. Berikut hasil yang diperoleh untuk uji saponin pada Gambar 5.



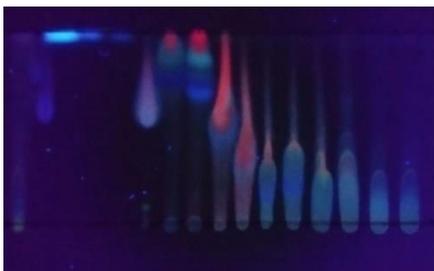
Gambar 5. Uji saponin pada (a) ekstrak metanol (b) fraksi metanol (c) fraksi etil asetat (d) fraksi diklorometana dan (e) fraksi *n*-heksana

Berdasarkan Gambar 5 menunjukan bahwa ekstrak kental metanol, fraksi metanol, dan fraksi diklorometana menunjukkan positif mengandung senyawa saponin. Menurut Novitasari & Putri (2016), larutan yang ditandai adanya busa stabil selama 10 detik maka larutan tersebut mengandung senyawa saponin. Pada fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana diperoleh hasil negatif karena tidak terdapat busa pada saat pengocokan.

III.4 Pemisahan dan Permurnian

Kromatografi Vakum Cair (KVC) merupakan suatu metode untuk memisahkan suatu senyawa menggunakan metode kromatografi disertai vakum untuk membantu pergerakan fase

gerak berupa pelarut/eluen (Syahbanu *et al.*, 2019). Sampel fraksi etil asetat dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat, setelah itu sampel diimpregnasi untuk proses penjenjuran zat secara total menggunakan silika gel (Zamhari *et al.*, 2021). Sampel yang sudah diimpregnasi diletakkan di dalam desikator selama 24 jam untuk menjaga sampel tetap kering dan tidak terkontaminasi oleh bahan lain (Oko & Feri, 2019). Kolom vakum dibersihkan menggunakan pelarut metanol sambil disedot menggunakan vakum. Kolom vakum cair yang sudah bersih dimasukan silika, kertas saring dan sampel yang sudah diimpregnasi. Kolom disedot dengan pompa vakum sampai padat, lalu dialirkan dengan eluen yang pertama pelarut *n*-heksana, kedua pelarut diklorometana, ketiga pelarut etil asetat : diklorometana (5:5), keempat pelarut etil asetat, dan kelima pelarut metanol. Alasan digunakan pelarut nonpolar terlebih dahulu karena senyawa nonpolar akan lebih mudah dielus dengan kromatografi fasa normal (fasa diamnya berupa silika yang bersifat polar) (Mariana *et al.*, 2013). Setiap eluen ditampung ke dalam botol metro yang sudah diukur 30 mL. Semua botol berisi sampel dikeringkan dan ditimbang. Sampel yang sudah kering diuji KLT dengan urutan ganjil untuk memudahkan melihat pola noda yang sama dan menghemat penggunaan plat KLT. Profil noda ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Profil noda hasil elusi KVC dibawah Sinar UV panjang gelombang 366

Berdasarkan hasil analisis KLT pada Gambar 6 dihasilkan 7 fraksi gabungan dengan urutan F1 (1 dan 2), F2 (3), F3 (4, 5, 6, dan 7), F4 (8, 9, dan 10), F5 (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, dan 19), F6 (20, 21, 22, 23, 24, dan 25), F7 (26, 27, 28, dan 29), dan F8 (30, 31, dan 32). Fraksi yang telah digabungkan kemudian ditimbang untuk mengetahui berat massa. Berat masing-masing fraksi gabungan menjadi dasar pemilihan fraksi yang akan dilanjutkan untuk pencarian senyawa murninya. Berat fraksi gabungan KVC yang diperoleh disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Berat fraksi gabungan hasil kromatografi vakum cair (KVC) akar pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

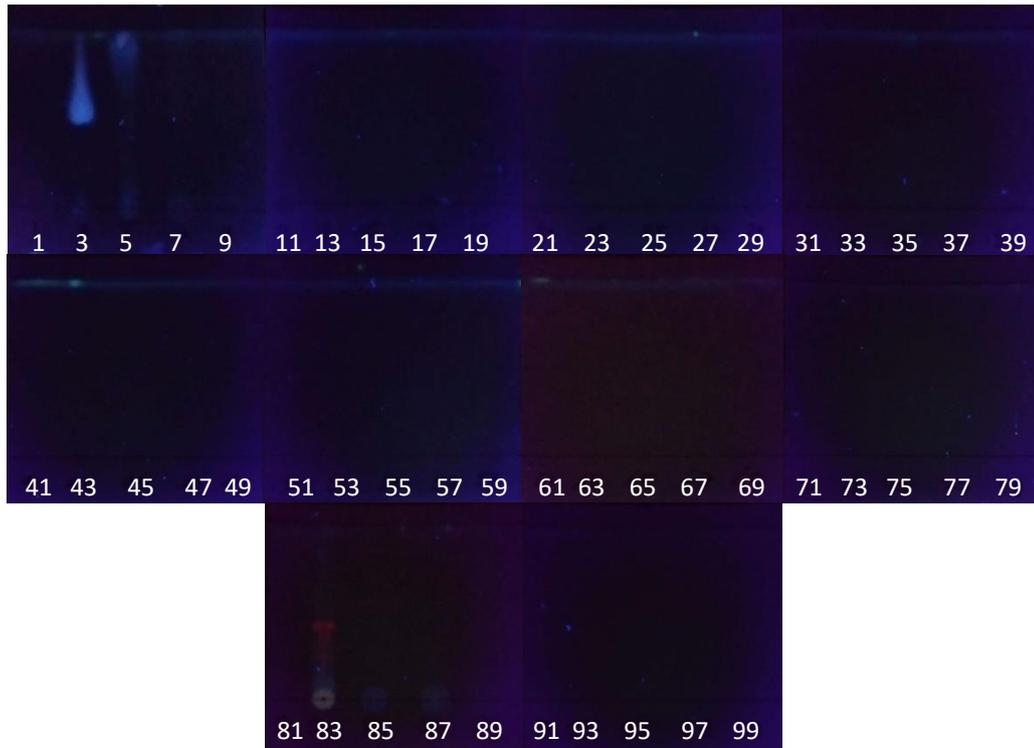
No.	Berat
F1	117,4 mg
F2	3,8 mg
F3	3,8 mg
F4	289,1 mg
F5	1019,5 mg
F6	333,1 mg
F7	79,9 mg
F8	5348,6 mg

Sampel F4 dipilih untuk dilanjutkan pada uji kromatografi kolom gravitasi (KKG), karena sampel F4 memiliki berat sebesar 289,1 mg dan memiliki spot lebih sedikit daripada fraksi yang lain sehingga lebih mudah dipisahkan. Sampel F4 dilanjutkan dengan pemisahan kromatografi kolom gravitasi (KKG) proses pemisahan menggunakan kolom yang dialirkan fase gerak berupa pelarut menggunakan gaya tarik gravitasi (Mamonto *et al.*, 2015). Sampel diimpregnasi dengan silika gel dan dibiarkan selama 24 jam disimpan ke dalam desikator. Sebelum menggunakan kolom kromatografi kolom gravitasi dibersihkan dengan pelarut metanol. Kolom kromatografi gravitasi dimasukan kapas dan silika gel kemudian direndam selama 24 jam dengan eluen terbaik yang telah diperoleh pada uji metabolit sekunder dengan perbandingan etil asetat : diklorometana (4:6). Setelah itu, sampel yang sudah diimpregnasi dimasukkan kedalam kolom yang sudah direndam dengan perbandingan etil asetat : diklorometana (4:6) dan dialirkan eluen tersebut. Setiap eluen ditampung kedalam botol vial yang sudah diukur 5 mL. Semua botol berisi sampel dikeringkan dan ditimbang. Sampel yang sudah kering dilanjutkan dengan uji KLT dengan urutan ganjil dan dilihat spot yang sama. Hasil elusi ditunjukkan pada Gambar 7.

Berdasarkan hasil analisis KLT pada Gambar 7 dihasilkan 7 fraksi gabungan dengan urutan K1 (1 dan 2), K2 (3), K3 (4 dan 5), K4 (6 sampai 82), K5 (83 dan 84), K6 (85, 86, 87, 88, 89, dan 90), dan K7 (91, 91, 93, 94, 95, 96, 97, 98, dan 99). Berat fraksi gabungan KKG yang diperoleh disajikan pada Tabel 3.

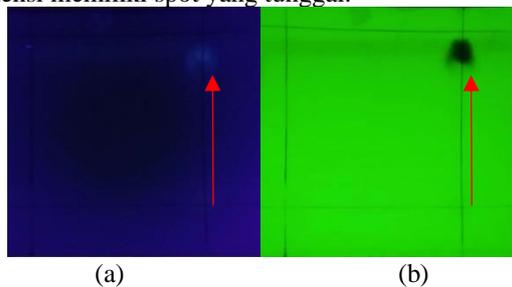
Tabel 3. Berat fraksi gabungan hasil kromatografi kolom gravitasi (KKG) akar pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

No.	Berat
K1	14,6 mg
K2	167,4 mg
K3	119,3 mg
K4	14,6 mg
K5	30,8 mg
K6	4,3 mg
K7	4,8 mg

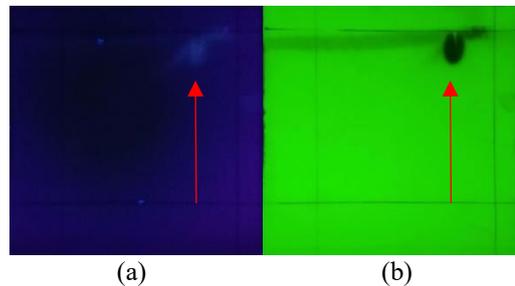


Gambar 7. Hasil KLT fraksi-fraksi KKG dibawah Sinar UV panjang gelombang 366

Sampel fraksi K2 dilanjutkan uji permurnian karena fraksi K2 memiliki berat sebesar 167,4 mg dan memiliki spot tunggal yang berwarna biru pada saat dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm maka fraksi K2 disebut sebagai isolate K2. Isolat K2 diuji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mencari eluen terbaik pada 1 dimensi. Berdasarkan pencarian eluen diperoleh eluen terbaik etil asetat : *n*-heksana (1:1) dan etil asetat : *n*-heksana (7:3). Hasil yang diperoleh pada 1 dimensi dilanjutkan untuk 2 dimensi menggunakan plat KLT 5x5 cm dengan menggunakan eluen ke-1 dengan perbandingan etil asetat : *n*-heksana (1:1) dan eluen ke-2 menggunakan perbandingan etil asetat : *n*-heksana (7:3). Hasil yang diperoleh pada 2 dimensi memiliki spot yang tunggal.



Gambar 8. Hasil uji KLT 2 dimensi dengan eluen etil asetat : *n*-heksana (1:1) (a) $\lambda=366$ nm dan (b) $\lambda= 254$ nm



Gambar 9. Hasil uji KLT 2 dimensi dengan eluen etil asetat : *n*-heksana (7:3) (a) $\lambda= 366$ nm dan (b) $\lambda= 254$ nm

III.5 Pengujian Antiinflamasi

Tahap selanjutnya ekstrak dan fraksi hasil partisi serta isolat K2 dilakukan uji antiinflamasi terhadap mencit terinduksi karagenan. Karagenan sebagai senyawa iritan menginduksi terjadinya cedera sel melalui pelepasan mediator yang mengawali proses terjadinya inflamasi. Pada saat terjadi pelepasan mediator inflamasi terjadi udem maksimal bertahan 6 jam. Inflamasi yang diinduksi oleh karagenan ditandai dengan peningkatan rasa sakit pada pembengkakan (Lallo *et al.*, 2020). Hasil pengujian disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penurunan Volume Radang Akibat Ekstrak, Fraksi dan Isolat

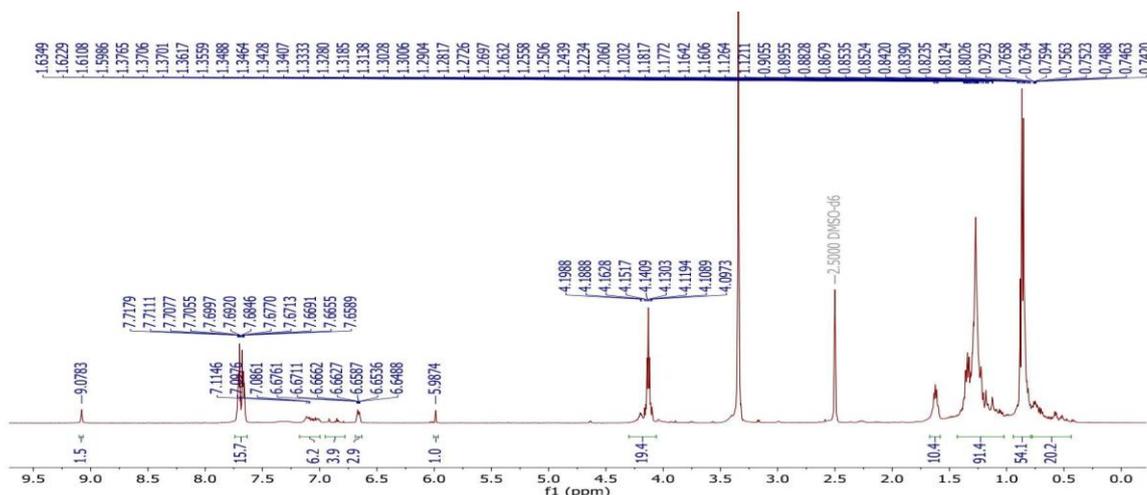
No.	Sampel	Dosis (mg/kg BB)	Penurunan Volume Radang (%)		
			t1	t2	t3
1.	Kontrol Negatif (Natrium CMC)	-	2,3	2,3	2,3
2.	Kontrol Positif (Natrium diklofenak)	150	55,8	68,1	78,2
3.	Ekstrak Metanol	100	28,4	29,6	30,8
		150	31,4	35,8	42,8
		200	41,4	47,5	51,7
4.	Fraksi Metanol	100	22,6	26,9	28,8
		150	27,8	29,8	33,3
		200	31,5	35,2	38,2
5.	Fraksi Etil Asetat	100	29,2	36,3	39,5
		150	31,4	38,8	43,9
		200	37,8	46,7	56,9
6.	Fraksi Diklorometana	100	29,8	37,4	41,3
		150	34,2	39,9	45,2
		200	39,9	47,9	59,2
7.	Fraksi <i>n</i> -Heksana	100	24,2	27,3	29,4
		150	27,1	30,3	34,7
		200	28,6	35,1	37,1
8.	Isolat K2	50	22,2	29,8	35,6

Pada Tabel 4, terlihat ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana dan isolat K2 mampu melakukan penurunan volume radang (%) kaki mencit dengan pembandingan kontrol negatif berupa CMC dan pembandingan kontrol positif berupa natrium diklofenak. Natrium diklofenak merupakan obat analgesik dan antiinflamasi yang banyak digunakan secara oral oleh masyarakat. Namun efek samping natrium diklofenak dapat menyebabkan iritasi lambung, mual, muntah sehingga sediaan yang beredar dibuat dalam bentuk salut enterik. Formulasi salut enterik yang selama ini menggunakan basis pelarut organik yang beresiko terhadap toksisitas dan mudah terbakar (Yunarto, 2014). Pada ekstrak metanol diperoleh penurunan volume radang dosis 200 mg/kg BB pada waktu (t1), (t2) dan (t3) diperoleh 41,4%; 47,5%; dan 51,7%. Fraksi metanol diperoleh penurunan volume radang dosis 200 mg/kg BB pada waktu (t1), (t2), dan (t3) diperoleh 31,5%; 35,2%; dan 38,2%. Fraksi etil asetat diperoleh penurunan volume radang dosis 200 mg/kg BB pada waktu (t1), (t2), dan (t3) diperoleh 37,8%; 46,7%; dan 56,9%. Fraksi diklorometana diperoleh penurunan volume radang dosis 200

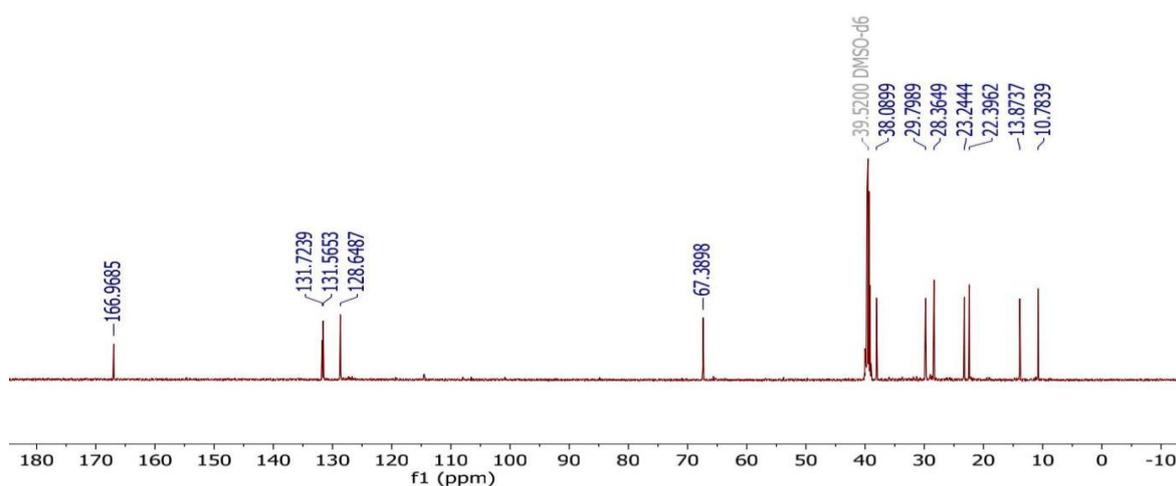
mg/kg BB pada waktu (t1), (t2), dan (t3) diperoleh 39,9%; 47,9%; dan 59,2%. Fraksi *n*-heksana diperoleh penurunan volume radang dosis 200 mg/kg BB pada waktu (t1), (t2), dan (t3) diperoleh 28,6%; 35,1%; dan 37,1%. Pada Isolat K2 diperoleh penurunan volume radang dosis 50 mg/kg BB pada waktu (t1), (t2), dan (t3) diperoleh 22,2%; 29,8%; dan 35,6%.

III.6 Karakterisasi Menggunakan ¹H-NMR dan ¹³C-NMR Isolat K2

Spektrum *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) menjelaskan gambaran tentang jenis atom, jumlah atom dan lingkungan atom hidrogen (¹H NMR) maupun atom karbon (¹³C NMR). Spektrometer NMR didasarkan pada penyerapan gelombang radio oleh inti tertentu dalam molekul organik, ketika molekul tersebut terkena medan magnet yang kuat (Paramita *et al.*, 2020). Dalam penelitian ini sampel K2 dikarakterisasi menggunakan spektrometer ¹H-NMR dengan pelarut DMSO-d₆ (500 MHz) dan ¹³C-NMR dengan pelarut DMSO-d₆ (125 MHz). Spektrum ditunjukkan pada Gambar 10 dan 11.



Gambar 10. Spektrum ¹H-NMR Isolat K2 (DMSO, 500 MHz)



Gambar 11. Spektrum ¹³C-NMR Isolat K2 (DMSO, 125 MHz)

Pada spektrum Gambar 10 dan 11, menunjukkan spektrum ¹H-NMR senyawa isolat K2 memiliki struktur siklik pada pergeseran kimia 6-8 ppm yang menunjukkan kemiripan dengan senyawa Pandamarilakton dan turunannya yang termasuk golongan alkaloid. Isolat K2 diprediksi belum murni karena pada pergeseran yang sama mempunyai

jumlah proton yang banyak. Hal ini terjadi karena isolat berupa campuran dengan struktur yang hampir sama yang diprediksi berupa pandamarilakton dan turunannya. Pada spektrum ¹³C-NMR terlihat memiliki minimal 13 atom karbon. Berikut data hasil perbandingan senyawa Isolat K2 dan Pandamarilakton pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Perbandingan pergeseran kimia ¹H-NMR Isoat K2 dan Pandamarilakton

Isolat K2 (DMSO, 500 MHz)		Pandamarilakton (400MHz, CDCl ₃) (Cheng <i>et al.</i> , 2015; Nonato <i>et al.</i> , 1993)	
Pergeseran Kimia (ppm)	Multiplisitas	Pergeseran Kimia (ppm)	Multiplisitas
7,71	dd	6,98	ddd
7,69	dd	6,68	dd
6,65	dd	5,04	ddd
2,51	dd	2,79	ddd
1,63	dd	2,45	dd
1,62	dd	2,31	ddd
1,61	br s	2,00	br s
1,59	br s	1,86	br s

1,45	m	1,72	m
1,45	m	1.72	m
1,45	m	1.72	m

Tabel 6. Perbandingan pergeseran kimia ¹³C-NMR isolat K2 dan Pandamarilakton

Isolat K2 (DMSO, 125 MHz)	Pandamarilakton (100 MHz, CDCl ₃) (Cheng <i>et al.</i> , 2015; Nonato <i>et al.</i> , 1993)
Pergeseran Kimia (ppm)	Pergeseran Kimia (ppm)
166,9	173,0
166,9	171,0
131,7	149,7
131,5	148,6
131,5	137,6
131,5	131,5
128,6	129,2
128,6	113,7
128,6	101,7
67,3	50,7
67,3	47,2
38,0	36,2
23,4	25,1

Berdasarkan hasil pada Tabel 5 dan 6 spektrum ¹H-NMR isolat K2 dari fraksi etil asetat akar pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) mempunyai kemiripan pada pergeseran kimia, integrasi dan multiplisitas pada senyawa pandamarilakton (¹H-NMR dan ¹³C-NMR). Pada spektrum ¹³C-NMR isolat K2 juga memiliki kemiripan pada senyawa pandamarilakton yaitu memiliki minimal 13 atom karbon. Beberapa sinyal mempunyai pergeseran kimia yang sama. Hal ini terjadi karena isolat belum murni.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antiinflamasi terbaik dibandingkan fraksi lainnya hasil partisi. Isolat K2 merupakan metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi etil asetat akar pandan wangi dan memiliki aktivitas antiinflamasi menurunkan peradangan sebesar 35,6%. Analisis ¹H-NMR dan ¹³C-NMR isolat K2 memiliki kemiripan dengan senyawa Pandamarilakton yang termasuk golongan alkaloid.

Daftar Pustaka

- Bare, Y., Kuki, A. D., Rophi, A. H., Krisnamurti, G. C., Lorenza, M. R. W. G., and Sari, D. R. T. (2019). Prediksi Asam Kuinat sebagai Antiinflamasi terhadap COX-2 secara Virtual. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 4(3), 124-129. <https://doi.org/10.24002/biota.v4i3.2516>
- Cheng, Y. Bin, Tsai, Y. H., Lo, I. W., Haung, C. C., Tsai, Y. C., Beerhues, L., El-Shazly, M., Hou, M. F., Yuan, S. S., Wu, C. C., Chang,

F. R., & Wu, Y. C. (2015). Pandalisines A and B, Novel Indolizidine Alkaloids from the Leaves of *Pandanus utilis*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25(19), 4333–4336.

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.07.041>

- Dila, G., Kahtan I, M., & Widiyantoro, A. (2020). Efektivitas Ekstrak Metanol Akar Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* roxb.) sebagai Antimalaria terhadap Jumlah Parasitemia dan Monosit dalam Darah Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Biomedika*, 12(1). <https://10.23917/biomedika.v12i1.9237>
- Hainil, S., Arbain, D., & Putra, D. P. (2015). Kajian Kimia dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kayu Pahit (*Picrasma javanica* Bl.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2015.2.1.41>
- Laksono, F. B., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2014). Isolasi dan Uji Antibakteri Senyawa Terpenoid Ekstrak *n*-Heksana Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 17(2), 37–42. <https://doi.org/10.14710/jksa.17.2.37-42>
- Lallo, S., Hardianti, B., Umar, H., Trisurani, W., Wahyuni, A., & Latifah, M. (2020). Aktivitas Anti Inflamasi dan Penyembuhan Luka dari Ekstrak Kulit Batang Murbei (*Morus alba* L.). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), 26–36.

- <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14661>
- Mamonto, D., Ramadhan, K., & Rijai, L. (2015). Profil Kromatografi Lapis Tipis Metabolit Sekunder Ekstrak Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Hasil Pemisahan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*, 5–6.
- Mariana, L., Andayani, Y., & Gunawan, R. (2013). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih. *Chemistry Progress*, 6(2), 50–55. <https://doi.org/10.35799/cp.6.2.2013.3494>
- Meilina, R., & Mukhtar, R. (2019). Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) pada Tikus Putih yang Diinduksi Karagenan. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 4(1), 111. <https://doi.org/10.33143/jhtm.v4i1.173>
- Mustofa, D., Kahtan, M. I., Natalia, D., Zakiah, M., & Widiyantoro, A. (2019). Efektivitas Ekstrak Metanol Akar Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai Antimalaria terhadap Jumlah Limfosit dalam Darah Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Intisari Sains Medis*, 10(2). <https://doi.org/10.15562/ism.v10i2.366>
- Muthmainnah. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 549(2), 40–42.
- Ningsih, V., Nugraheni, E. R., & Astirin, O. P. (2013). Uji Toksisitas Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Ginje (*Thevetia peruviana*) dengan Metode *Brine Shrimp Test* dan Profil Kandungan Kimia Fraksi Teraktif. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 11(2), 48–57. <https://doi.org/10.13057/biofar/f110204>
- Nonato, M.G., Garson, M.J., Truscott, R.J.W. & Caver, J.A. (1993). Structural Characterization of Piperidine Alkaloids from *Pandanus amaryllifolius* by Inverse-Detected 2D NMR Techniques, *Phytochemistry*, 34 (4) : 1159-1163
- Novitasari, A. E., & Putri, D. Z. (2016). Isolasi dan Identifikasi Saponin pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*, 6(12), 10–14.
- Oko, S., & Feri, M. (2019). Pengembangan Katalis CaO dari Cangkang Telur Ayam dengan Impregnasi KOH dan Aplikasinya Terhadap Pembuatan Biodiesel dari Minyak Jarak. *Jurnal Teknologi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 11(2), 103–110.
- <https://doi.org/10.24853/jurtek.11.2.103-110>
- Paramita, S., Permata S., M., Vaulina Y.D., E., Nasrokhah, N., & Iswanto, P. (2020). Pemilihan Metode Perhitungan Kimia Komputasi Semi-empiris untuk Pengembangan 1,3,4-Thiadiazole. *Indo. J. Chem. Res.*, 8(1), 51–56. <https://doi.org/10.30598/10.30598/ijcr.2020.8-pon>
- Prasetyo, Y. E., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2016). Penentuan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dari Tepung Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 16(2), 68-72. <https://doi.org/10.35799/jis.16.2.2016.14067>
- Saputra, T. R., Ngatin, A., & Sarungu, Y. T. (2018). Penggunaan Metode Ekstraksi Maserasi dan Partisi pada Tumbuhan Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan Kepolaran Berbeda. *Fullerene Journal of Chemistry*, 3(1), 5-8. <https://doi.org/10.37033/fjc.v3i1.26>
- Sentat, T. (2016). Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). 1–11. *Prosiding Seminar Nasional Akademi Farmasi Samarinda*
- Suhaenah, A., & Nuryanti, S. (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Jamur Kancing (*Agaricus bisporus*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 199–204. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i1.228>
- Surahmaida dan Umarudin. (2019). Studi Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi dan Daun Kumis Menggunakan Pelarut Metanol. *Indonesian Chemistry and Application Journal (ICAJ)*, 3(1), 1–6. <https://doi.org/10.26740/icaj.v3n1.p1-6>
- Syahbanu, I., Anugraeni, A. & Melati, H. A. (2018). Kinetika Degradasi Selulosa Asetat dari Sabut Pinang. *Indo. J. Pure App. Chem*, 1(1), 23–29. <http://dx.doi.org/10.26418/indonesian.v1i1.26040>
- Tinesya, D., Andhita, N., & Vidmar, R. (2019). Eksplorasi Potensi Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana*) sebagai Agen Antiinflamasi. *LENSA (Lentera Sains): Jurnal Pendidikan IPA*, 9(2), 52–56. <https://doi.org/10.24929/lensa.v9i2.66>
- Vania I, Nofianti T, & R. N. (2019). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Sebagai Hair Tonic Pada Kelinci Jantan Galur Lokal. *Pharmacoscript*, 2(1), 55-76. <https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v2i1.148>

- Wagner, H. & Bladt, S. 1996. *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd Edition. Springer-Verlag, Berlin, Hiedelberg, New York
- Yunarto, N. (2014). Optimasi Formula Tablet Salut Enterik Natrium Diklofenak dengan Bahan Penyalut Kollicoat 30 D. *Jurnal Kefarmaasian Indonesia*, 4(2), 65–74.
- Zahra, A. P., & Carolia, N. (2017). Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotosik Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs): Gastroprotective vs Cardiotoxic. *Medical Journal of Lampung University*, 6 (3), 153–158.
- Zamhari, M., Junaidi, R., Rachmatika, N., Oktarina, A., Srijaya, J., Bukit, N., Palembang, B., & Selatan, S. (2021). Pembuatan Katalis Berbasis Karbon Aktif dari Tempurung Kelapa (*Cocos nucifera*) Diimpregnasi KOH pada Reaksi Transesterifikasi Sintesis Biodiesel. *Jurnal Kinetika*, 12(1), 23–31.