

***METABOLITE PROFILING BERBAGAI EKSTRAK DAUN
Chrysophyllum cainito L. MENGGUNAKAN UPLC-QTOF-MS/MS***

SKRIPSI

Oleh:
REYHAN AMIRUDDIN
NIM. 14670018



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

***METABOLITE PROFILING BERBAGAI EKSTRAK DAUN
Chrysophyllum cainito L. MENGGUNAKAN UPLC-QTOF-MS/MS***

SKRIPSI

Oleh :
REYHAN AMIRUDDIN
NIM. 14670018

**Diajukan kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**METABOLITE PROFILING BERBAGAI EKSTRAK DAUN
Chrysophyllum cainito L. MENGGUNAKAN UPLC-QTOF-MS/MS**

SKRIPSI

Oleh:

REYHAN AMIRUDDIN

14670018

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 22 Oktober 2018

Pembimbing I

Pembimbing II



Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt.
NIP. 19900221 201801 1 001

Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt.
NIP. 19881124 20160801 1 085

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Rohatul Muti'ah, M. Kes. Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

METABOLITE PROFILING BERBAGAI EKSTRAK DAUN
***Chrysophyllum cainito* L. MENGGUNAKAN UPLC-QTOF-MS/MS**

SKRIPSI

Oleh:

REYHAN AMIRUDDIN

14670018

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S. Farm)
Tanggal: 22 Oktober 2018

Ketua Penguji : Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt (.....)

NIP. 19881124 20160801 1 085

Anggota Penguji 1. Burhan Ma'arif Z.A, M. Farm., Apt (.....)

NIP. 19900221 201801 1 001

2. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt (.....)

NIP. 19800203 200912 2 003

3. Ach. Nashichuddin, MA (.....)

NIP. 19730705 200003 1 002

Mengesahkan,

Ketua Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes. Apt

NIP. 19800203 200912 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Reyhan Amiruddin

NIM : 14670018

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : *Metabolite Profiling* Berbagai Ekstrak Daun *Chrysophyllum cainito* L. Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Oktober 2018

Yang membuat pernyataan,



Reyhan Amiruddin

NIM. 14670018

MOTTO

**Kesuksesan merupakan sebuah tujuan yang relatif,
dimana dibutuhkan dukungan dan pengorbanan untuk mencapainya.**

*The things that excited you are not random.
They are connected to your purpose. Follow them*

**Kegagalan bukanlah suatu kegagalan,
Hal itu agar kita dapat beristirahat sejenak,
Sebelum kita dapat melesat lebih jauh lagi.**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Metabolite Profiling Berbagai Ekstrak Daun *Chrysophyllum cainito* L. Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS*” ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang diridhai oleh Allah SWT. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis mengharapkan dengan adanya skripsi ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis, pembaca, maupun peneliti lainnya. Seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Keluarga tercinta Bapak Edy Sunyoto dan Ibu Ninit Isna yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan serta kasih sayangnya yang tak pernah pudar. Tak lupa Adik Elmira Mufliha Camila, Paman Firman Pancariana, Bibi Riyanah dan Bibi Mari Winarsih yang selalu memberikan motivasi dan kepedulian yang manis.
2. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp.BP-RE (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

4. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus selaku dosen penguji utama yang telah memberikan arahan, nasehat dan dorongan kepada penulis.
5. Bapak Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt selaku promotor dan dosen pembimbing utama skripsi, yang senantiasa selalu memberikan bimbingan, pengarahan, dorongan, dan nasehat kepada penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Bapak Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing yang meluangkan waktu untuk memberikan pengarahan dan semangatnya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Bapak Azhar Darlan selaku peneliti di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri Jakarta Timur atas segala bantuan dalam pengolahan sampel penulis selama penelitian skripsi ini.
8. Para Staf dan Dosen Pengajar di Jurusan Farmasi yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmu kepada penulis selama menjadi mahasiswa di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Rekan satu tim proyek *Phytoestrogen*, teman-teman Platinum Farmasi 2014, dan orang-orang yang telah memberikan dukungan moril maupun materil yang tak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Malang, 22 Oktober 2018

Reyhan Amiruddin

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	
MOTTO	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
مستخلص البحث.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tumbuhan dalam Al-Qur'an.....	7
2.1 Tinjauan tentang <i>C. cainito</i>	8
2.2.1 Klasifikasi <i>C. cainito</i>	8
2.2.2 Deskripsi <i>C. cainito</i>	9
2.2.2 Kandungan <i>C. cainito</i>	10
2.2.3 Manfaat <i>C. cainito</i>	11
2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak.....	12
2.2.1 Tinjauan Tentang Ekstraksi	13
2.2.2 Tinjauan Tentang Ekstraksi Ultrasonik	14
2.2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi Fase Padat(SPE).....	15
2.3 Tinjauan Tentang Pelarut	16
2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis.....	18
2.5 Tinjauan Tentang <i>Metabolite Profiling</i>	20
2.6 Tinjauan Tentang UPLC-QToF-MS/MS	21
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	27
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	27
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	28
3.3 Hipotesis.....	29
BAB IV METODE PENELITIAN	30
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	30
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	30
4.3 Populasi dan Sampel.....	30
4.3.1 Populasi	30

4.3.2 Sampel.....	31
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	31
4.4.1 Variabel Penelitian	31
4.4.1.1 Variabel Bebas	31
4.4.1.2 Variabel Terikat	31
4.4.1.3 Variabel Kontrol	31
4.4.2 Definisi Operasional	31
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	32
4.5.1 Alat Penelitian	32
4.5.2 Bahan Penelitian	33
4.6 Prosedur Penelitian	33
4.6.1 Determinasi Tumbuhan.....	33
4.6.2 Pembuatan Simplisia.....	34
4.6.3 Uji Kadar Air.....	34
4.6.4 Pembuatan Ekstrak	34
4.6.5 Skrining KLT	35
4.6.6 <i>Metabolite Profiling</i>	36
4.6.7 Skema Kerja Penelitian.....	37
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
5.1 Determinasi Tumbuhan.....	38
5.2 Preparasi Serbuk Daun <i>C. cainito</i>	38
5.2 Penentuan Kadar Air Serbuk Daun <i>C.cainito</i>	40
5.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>C.cainito</i>	41
5.4 Skrining Fitokimia Menggunakan TLC <i>Visualizer</i>	44
5.5 <i>Metabolite Profiling</i> Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS.....	47
BAB VI PENUTUP.....	95
6.1 Kesimpulan	95
6.2 Saran	95
DAFTAR PUSTAKA.....	96
LAMPIRAN.....	103

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Spesifikasi Instrumen UPLC-QToF-MS/MS.....	32
Tabel 4.2 Perbandingan Eluen dalam Metode Eluasi Gradien	33
Tabel 5.1 Hasil Penentuan Kadar Air Simplisia Daun <i>C.cainito</i>	40
Tabel 5.2 Hasil Ekstraksi Daun <i>C.cainito</i>	44
Tabel 5.3 Rincian Profil KLT Berbagai Ekstrak Daun <i>C.cainito</i>	46
Tabel 5.4 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol 96% Daun <i>C.cainito</i> dengan UPLC-MS.....	53
Tabel 5.5 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak N-heksana Daun <i>C.cainito</i> dengan UPLC-MS.....	61
Tabel 5.6 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Etil asetat Daun <i>C.cainito</i> dengan UPLC-MS.....	67
Tabel 5.4 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Metanol Daun <i>C.cainito</i> dengan UPLC-MS.....	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman <i>C. cainito</i>	8
Gambar 2.2	Skema Pengoperasian UPLC	21
Gambar 2.3	Bagan Instrument Q-ToF-MS/MS.....	24
Gambar 3.1	Bagan Kerangka Konseptual.....	27
Gambar 4.1	Skema Kerja Penelitian.....	37
Gambar 5.1	Daun <i>C.cainito</i>	39
Gambar 5.2	Serbuk Daun <i>C.cainito</i>	39
Gambar 5.3	Berbagai Ekstrak Kering Daun <i>C.cainito</i>	42
Gambar 5.4	Skrining KLT dengan <i>TLC Visualizer</i>	46
Gambar 5.5	Hasil Kromatogram Ekstrak Etanol 96% Daun <i>C.cainito</i>	49
Gambar 5.6	Hasil Kromatogram Ekstrak N-heksana Daun <i>C.cainito</i>	50
Gambar 5.7	Hasil Kromatogram Ekstrak Etil asetat Daun <i>C.cainito</i>	50
Gambar 5.8	Hasil Kromatogram Ekstrak Metanol Daun <i>C.cainito</i>	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Spektra m/z Senyawa Keseluruhan.....	95
Lampiran 2.	Hasil Determinasi Tumbuhan <i>Chrysophyllum cainito</i> L.....	106
Lampiran 3.	Dokumentasi Penelitian.....	107



DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL

°	=	Derajat
>	=	Lebih dari
µm	=	Mikrometer
µl	=	Mikroliter
b/v	=	bobot / volume
C	=	Celcius
Da	=	Dalton
F	=	Fahrenheit
g	=	gram
mm	=	milimeter
mg	=	miligram
ml	=	milliliter
v/v	=	volume / volume
<i>C. cainito</i>	=	<i>Chrysophyllum cainito</i>
DCM	=	Diklorometan
ESI	=	<i>Electro Spray Ionization</i>
GC-MS	=	<i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry</i>
HPLC	=	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
KLT	=	Kromatografi Lapis Tipis
L.	=	Linn.
MS-MS	=	<i>Mass Spectrometry - Mass Spectrometry</i>
Q-ToF	=	<i>Quadrupole - Time of Flight</i>
Rf	=	Faktor Retensi
SPE	=	<i>Solid Phase Extraction</i>
SWT	=	Subhanahu wa ta'ala
TLC	=	<i>Thin Layed Chromatography</i>
UAE	=	<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>
UPLC	=	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
UPT	=	Unit Pelaksana Teknis

ABSTRAK

Amiruddin, Reyhan. 2018. *Metabolite Profiling* Berbagai Ekstrak Daun *Chrysophyllum cainito* L. Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing : (1) Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt.
(2) Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt.

Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) merupakan tumbuhan yang secara empiris digunakan sebagai obat tradisional. Efek farmakologi tersebut disebabkan adanya aktivitas dari berbagai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *C. cainito*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perbedaan profil metabolit ekstrak etanol 96%, ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak metanol dari daun *C. cainito* menggunakan UPLC-QToF-MS/MS.

Serbuk kering daun *C. cainito* diekstraksi menggunakan etanol 96%, kemudian dilakukan ekstraksi bertingkat menggunakan n-heksana, etil asetat, dan metanol dengan UAE. Masing-masing ekstrak dipreparasi dengan metanol dan DCM lalu diinjeksikan masing-masing sebanyak 5 µl kedalam UPLC-QToF-MS/MS kemudian dianalisis dengan software Masslynx 4.1 dan Chemspider.

Hasil yang diperoleh terdapat total 41 senyawa dalam ekstrak etanol 96%, 28 senyawa dalam ekstrak n-heksana, 47 senyawa dalam ekstrak etil asetat, dan 34 senyawa dalam ekstrak metanol. Senyawa mayor yang terdapat pada ekstrak etanol 96% adalah senyawa *2-Methyl-1-[(2-methyl-5-nitrophenyl)sulfonyl]-1H-benzimidazole*, pada ekstrak n-heksana adalah senyawa *Diethyltoluamide*, pada ekstrak etil asetat adalah senyawa *Loliolide*, dan pada ekstrak metanol adalah senyawa *Eplerenone*.

Kata Kunci: *metabolite profiling*, *Chrysophyllum cainito* L., UPLC QToF-MS/MS

ABSTRACT

Amiruddin, Reyhan. 2018. Metabolite Profiling of Various Extract of *Chrysophyllum cainito* L. Leaves Using UPLC-QToF-MS/MS. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang.

Supervisor : (1) Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt.
(2) Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt.

Star Apple (*Chrysophyllum cainito* L.) is a plant which empirically used as traditional medicine. The pharmacological effect is caused by secondary metabolite activity inside *Chrysophyllum cainito*. The aim of this research is to know the metabolites profile differences between 96% ethanol extract, n-hexane extract, ethyl acetate extract, and methanol extract of *Chrysophyllum cainito* leaves using UPLC-QToF-MS/MS.

Dried powder of *Chrysophyllum cainito* leaves was extracted using 96% ethanol, then gradual extraction has done with n-hexane, ethyl acetate, and methanol using UAE. Each extract prepared with methanol and DCM then injected as many as 5 µl into UPLC-QToF-MS/MS then analyzed by softwares, Masslynx 4.1 and Chemspider.

The result showed that there were 41 compounds from 96% ethanol extract with 2-Methyl-1-[(2-methyl-5-nitrophenyl)sulfonyl]-1H-benzimidazole as major compound, 28 compounds from n-hexane extract with Diethyltoluamide as major compound, 47 compounds from ethyl acetate extract with Loliolide as major compound, and 34 compounds from methanol extract with Eplerenone as major compound.

Keywords: metabolite profiling, *Chrysophyllum cainito* L., UPLC QToF-MS/MS

مستخلص البحث

أمير الدين، ريجان. 2018. تنميط المستقبلات في مستخرجات ورقة كريزوفيلوم كينيتو (*Chrysophyllum cainito L.*) بالطريقة UPLC-QToF-MS/MS. البحث الجامعي، قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: برهان معارف، الماجستير. المشرف الثاني: ويكا سييدا بغاوان الماجستير.

الكلمات الرئيسية: تنميط المستقبلات، كريزوفيلوم كينيتو، UPLC-QToF-MS/MS.

كريزوفيلوم كينيتو (*Chrysophyllum cainito L.*) هو نبات استخدم في الطب التقليدي تجريبيا. يرجع التأثير الدوائي إلى نشاط مركبات المستقبلات الثانوية الموجودة فيه. والهدف من هذا البحث هو معرفة الفرق في تنميط المستقبلات من مستخرجة الإيثانول 96%، ومستخرجة ن الهكسان، ومستخرجة خلاات الإيثيل ومستخرجة الميثانول من ورقة كريزوفيلوم كينيتو بالطريقة UPLC-QToF-MS/MS. تم استخراج مسحوق ورقة كريزوفيلوم كينيتو الجاف مع الإيثانول 96%، و ن الهكسان، و خلاات الإيثيل، والميثانول متدرجا باستخدام طريقة الموجة فوق الصوتية (*Ultrasound Assisted Extraction*). وقد ذب كل مستخرجة مع الميثانول وكلوريد الميثيلين (*dichloromethane*) ثم أدخله على كل منها بمقدار 15 µl في UPLC-QToF-MS/MS وبالتالي قام الباحث بتحليلها عن طريق برنامج 4.1 Masslynx وكيم سبايدر. أظهرت نتائج هذا البحث أن 41 مركبة في مستخرجة الايثانول 96% و 28 مركبة في مستخرجة ن الهكسان، 47 مركبة في مستخرجة خلاات الإيثيل، و 34 مركبة في مستخرجة الميثانول. المركبة الرئيسية التي وجدت في مستخرجة الايثانول 96% هي مركبة 2-ميثيل - 1 - [2 - ميثيل - 5 - نيتروفينيل] سلفونيل - 1 ه - بنزيميدازول، وفي مستخرجة ن الهكسان هي مركبة ثنائبي أثيل الطولواميد (*Diethyltoluamide*)، وفي مستخرجة خلاات الإيثيل هي مركبة لوليوليدي (*Loliolide*) وفي مستخرجة الميثانول هي مركبة إبليرينون (*Eplerenone*).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Chrysophyllum cainito L. merupakan salah satu jenis tumbuhan yang termasuk ke dalam family *Sapotaceae* dan banyak ditemukan di daerah tropis maupun subtropis. *C. cainito* di Indonesia dikenal sebagai Kenitu dan banyak dijumpai di daerah Jawa bagian pegunungan rendah dan bagian hilir. Buah kenitu bisa digunakan sebagai bahan pangan karena rasanya yang enak, lembut dan menyegarkan. Akan tetapi, buah tersebut tidak laku dijual di sini bahkan juga di tempat asalnya di Amerika tropis (Heyne, 1987; Hidayat, 2015). Pemanfaatan *C. cainito* tidak hanya sebagai bahan pangan saja, *C. cainito* juga banyak digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Infus daun yang kaya akan tanin dipercaya oleh masyarakat Kuba di Miami sebagai obat kanker. Di berbagai daerah di Amerika (Hawai, Miami, Kuba) dan Afrika (Abidjan-Pantai Gading) buah dan daun *C. cainito* dimanfaatkan sebagai pengobatan diabetes secara empiris (Morton, 1987; Hidayat, 2015).

Manfaat-manfaat tersebut merupakan efek farmakologi dari berbagai senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan kenitu. Metabolit sekunder merupakan bahan kimia hasil dari proses metabolisme tumbuhan yang berguna sebagai sinyal untuk menarik perhatian, dan menjadi pertahanan diri tumbuhan tersebut. Saat ini substansi metabolit sekunder sudah teridentifikasi lebih dari 100.000 senyawa dan penggolongan metabolit sekunder tersebut

didasarkan menurut struktur kimiawi dan karakteristik fungsionalnya seperti terpen, flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol, tanin, antrakuinon, glikosida sianohidrin, dan minyak atsiri (Wink, 2010).

Hasil identifikasi yang telah dilakukan terhadap daun *C. cainito* antara lain senyawa β -amirin asetat (Lopez, 1983; Luo *et al.*, 2002), asam gentisat (Griffiths, 1959), asam galat, β -sitosterol, lupeol, asam ursolat (Shailajan dan Gurjar, 2014), alkaloid, fenol, flavonoid, triterpenoid dan sterol (Koffi, 2008; Koffi, 2009). Beberapa dari golongan senyawa tersebut seperti flavonoid, fenol, sterol termasuk dalam fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang mempunyai struktur mirip estrogen dan mampu berikatan dengan *estrogen reseptor* sehingga mempunyai aktivitas yang sama seperti hormon estrogen (Yildiz, 2006).

Banyak berbagai cara untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, salah satunya dengan UPLC-QToF-MS/MS. *Ultra Performance Liquid Chromatography – Quadrupole Time of Flight - Mass Spectrometry* (UPLC-QToF-MS/MS) merupakan metode pemisahan senyawa dengan menggunakan perbedaan kepolaran dan pemecahan senyawa menjadi fragmen. Instrumen ini memiliki banyak keunggulan, antara lain dapat meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa, mempercepat waktu analisis, mampu memisahkan senyawa yang lebih kecil, mengurangi jumlah sampel yang dibutuhkan (Naushad dan Khan, 2014), pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat, spektra resolusi tinggi untuk konfirmasi senyawa target dan senyawa yang tidak diketahui serta memperoleh hasil yang lebih cepat tanpa menurunkan

kualitas resolusi massa yang tinggi (Zhang *et al.*, 2015).

Penelitian yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa-senyawa yang terdapat dalam tumbuhan tersebut merupakan suatu usaha dalam menemukan obat baru. Hal ini merupakan salah satu contoh implementasi Al-Qur'an dalam kehidupan di bumi. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surat Asy-Syu'ara Ayat 7 yang berbunyi:

لَوْلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. As-Syu'ara': 7)*

Berdasarkan tafsir Kemenag RI (2015) telah dijelaskan bahwa Allah SWT mencela orang-orang kafir yang tidak mau mempergunakan akal dan pikiran untuk memperhatikan bahwa apa yang terjadi di alam ini menunjukkan kekuasaan-Nya. Allah SWT menciptakan segala tumbuhan yang ada di bumi bukanlah menjadi sia-sia tanpa maksud, melainkan terdapat hikmah-hikmah yang dapat diambil untuk suatu kebaikan, banyak tumbuhan yang dapat dikonsumsi oleh makhluk hidup untuk bertahan hidup dan mampu menjadi obat untuk menyembuhkan penyakit atas izin Allah SWT.

Terkait obat yang berasal dari tumbuhan, dibutuhkan suatu penelitian atau percobaan tentang kandungan yang ada agar suatu tumbuhan dapat dijadikan sebagai obat baru atau standarisasi terhadap tumbuhan tersebut. Sebagai contoh, hasil penelitian terhadap buah kenitu yang berasal dari daerah Cuba tersebut dianalisis senyawa volatil nya menggunakan GC-MS. Terdapat 104 komponen

yang diidentifikasi dalam konsentrat aroma dan terdapat 6 senyawa mayor yaitu (*E*)-2-hexenal, 1-hexanol, limonene, linalool, α -copaene dan hexadecanoic acid (Pino, 2002). Pada penelitian tersebut juga mencakup dengan mengidentifikasi berbagai macam komponen dalam suatu tumbuhan beserta kadarnya, sehingga dapat dijadikan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut.

Penentuan profil metabolit pada daun *C. cainito* dengan menggunakan berbagai pelarut, yaitu etanol 96%, n-heksana, etil asetat dan metanol perlu dilakukan untuk membandingkan kandungan senyawa yang terkandung dalam masing-masing pelarut dan senyawa yang termasuk dalam golongan fitoestrogen. Berdasarkan latar belakang diatas dan karena belum adanya penelitian mengenai metabolite profiling dalam berbagai ekstrak daun *C. cainito* menggunakan UPLC-MS, maka perlu dilakukan penelitian mengenai hal tersebut, dan dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun *C. cainito*. sehingga dapat memberikan data-data ilmiah yang dapat dijadikan acuan untuk penelitian lebih lanjut agar bermanfaat pada penggunaannya sebagai tumbuhan obat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Apakah ada perbedaan profil metabolit ekstrak etanol 96%, n-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun *C. cainito* dengan UPLC-QToF-MS/MS?

2. Apakah senyawa mayor yang terkandung dalam ekstrak etanol 96%, n-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun *C. cainito*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui perbedaan profil metabolit ekstrak etanol 96%, n-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun *C. cainito* dengan instrumen UPLC-QToF-MS/MS.
2. Mengetahui senyawa mayor yang terkandung dalam ekstrak etanol 96%, n-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun *C. cainito*

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mendapatkan data tentang kandungan dan struktur kimia metabolit sekunder dalam ekstrak etanol 96%, ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol dari daun *C. cainito* sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut.
2. Meningkatkan pemanfaatan *C. cainito* sebagai obat herbal yang mengandung berbagai macam senyawa.
3. Menambah referensi dan kekayaan intelektual bagi akademisi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim.

1.5 Batasan Masalah

Kenitu atau yang memiliki nama latin *Chrysophyllum cainito* L. merupakan tanaman yang memiliki berbagai golongan senyawa metabolit sekunder, dimana tanaman ini memiliki kandungan senyawa yang termasuk dalam golongan fitoestrogen. Penelitian ini membahas mengenai pendeskripsian senyawa apa saja yang terkandung dalam berbagai ekstrak daun *C. cainito* serta untuk menentukan perbedaan profil metabolit dari berbagai ekstrak daun *C. cainito* menggunakan UPLC-QToF-MS/MS.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan dalam Al-Qur'an

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surat As-Syu'ara' ayat 7-9 yang berbunyi:

لَوْلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾ وَإِنَّ رَبَّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ ﴿٩﴾

Artinya: "dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman. Dan Sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang." (Q.S. As-Syu'ara': 7-9)

Menurut tafsir Ibnu Katsir dalam Ar-Rifa'I (2000) telah dijelaskan bahwa tidaklah sia-sia Allah SWT menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini, termasuk berbagai jenis tumbuhan didalamnya yang dapat memberikan manfaat. Manusia sebagai makhluk yang telah diberi akal oleh Allah SWT hendaknya meneliti mengenai hasil penciptaan Allah SWT di muka bumi serta bertafakkur terhadap tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Terdapat lafadz "زوج كريم" yang berarti tumbuh-tumbuhan yang baik. Hal tersebut dapat diartikan bahwa setiap jenis tumbuhan yang diciptakan dapat memberikan banyak manfaat bagi manusia dan alam, manfaat salah satunya yang telah banyak diteliti oleh manusia yakni terkait kebutuhan nutrisi untuk bertahan hidup serta sebagai obat untuk menyembuhkan suatu penyakit dengan atas izin Allah SWT. Salah satu contoh tumbuhan yang

memiliki manfaat adalah tumbuhan kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) yang sering dikonsumsi dan dijadikan sebagai pengobatan dikarenakan mengandung berbagai senyawa yang bermanfaat (Morton. 1987).

2.2 Tinjauan Tentang *C. cainito*

2.2.1 Klasifikasi *C. cainito*

Menurut USDA (2004), klasifikasi dari tanaman kenitu adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Ebenales

Famili : Sapotaceae

Genus : *Chrysophyllum* L.

Spesies : *Chrysophyllum cainito* L.



Gambar 2.1 Tanaman *C. cainito*

2.2.2 Deskripsi *C. cainito*

C. cainito umum dikenal sebagai *Star Apple* sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama kenitu atau sawo duren. Kenitu merupakan tumbuhan yang berasal dari Amerika Tengah. Kenitu dapat tumbuh baik di daerah tropis Amerika Tengah yaitu Florida Selatan (Morton, 1987).

Chrysophyllum cainito L. umumnya dikenal oleh masyarakat daerah Malang dengan istilah kenitu atau genitu, sedangkan di daerah asalnya (Amerika Tengah) disebut *star apple*. Tanaman ini termasuk dalam family Sapotaceae dan banyak tumbuh didaerah dengan curah hujan tinggi dan lembab yaitu pada ketinggian 5-1000 meter dari permukaan laut. Kenitu merupakan jenis tumbuhan berhabitus pohon yang tingginya berkisar 10-30 meter, berumur menahun (perennial). Termasuk dalam tumbuhan hermafrodit (*self-fertile*) (Heyne, 1987).

Tanaman kenitu merupakan tumbuhan berakar tunggang, batangnya berkayu, bentuk silindris, tegak, permukaan bergaris kasar, kulit batang abu-abu gelap sampai keputihan dengan banyak bagian pohon yang mengeluarkan lateks. Bunga kenitu terletak di ketiak daun, berupa kelompok 5-35 kuntum bunga kecil-kecil bertangkai panjang, kekuningan sampai putih lembayung, harum manis. Kelopak 5 helai, bundar sampai bundar telur, mahkota bentuk tabung bercuping 5, bundar telur, panjang sampai 4 mm (Das *et al.*, 2010).

Pohon kenitu menghasilkan buah setelah berumur 5-6 tahun, dan biasanya musim puncak berbuah di Jawa pada musim kemarau. Buah kenitu berbentuk bulat hingga bulat telur, berdiameter 5-10 cm, dengan kulit buah licin mengkilap, coklat keunguan atau hijau kekuningan sampai keputihan, Kulit agak tebal, banyak

mengandung lateks dan tak dapat dimakan. Daging buah putih atau keunguan, lembut dan banyak mengandung sari buah, manis, membungkus endocarp berwarna putih yang terdiri dari 4-11 ruang yang bentuknya mirip bintang jika dipotong melintang bulat, warna hijau keputih-putihan. Bijinya 3-10 butir, pipih agak bulat telur, panjang sekitar 1 cm berwarna coklat muda sampai hitam keunguan dan keras berkilap (Orwa *et al.*, 2009).

Kenitu memiliki daun tunggal dengan permukaan atas berwarna hijau dan bawah coklat atau coklat keemasan karena ada bulu-bulu halus yang tumbuh terutama di sisi bawah daun dan rerantingan. Umumnya panjang daun kenitu 9-14 cm dan lebar 3-5 cm. Helaian daun kenitu agak tebal, kaku, bentuk lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, dan pertulangan daun menyirip. Duduk daun berseling, memencar, bentuk lonjong sampai bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 cm, dan panjang tangkai daun 0,6-1,7 cm (Koffi *et al.*, 2009).

2.2.3 Kandungan *C. cainito*

Senyawa metabolit sekunder dalam buah kenitu diisolasi dan diidentifikasi mengandung Sembilan konstituen antioksidan yaitu katekin, epikatekin galokatekin, epilogalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, myrisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Sebuah analisis gizi menunjukkan bahwa buah kenitu mengandung protein, karbohidrat, dan serat. Vitamin termasuk karoten, tiamin, riboflavin, niacin, dan asam askorbat juga terdapat dalam buah kenitu. Selain itu, asam amino triptofan, metionin, lisin, kalsium dan fosfor telah ditemukan (Morton, 1987). Senyawa β -amirin asetat, asam gentisat (Luo *et al.*, 2002), asam galat, β -sitosterol, lupeol, asam ursolat (Shailajan dan Gurjar, 2014), alkaloid fenol,

flavonoid, triterpenoid dan sterol (Koffi, 2008; Koffi, 2009) telah diidentifikasi dari daun spesies ini,

2.2.4 Manfaat *C.cainito*

Tanaman kenitu dibiakkan sebagai tanaman hias atau tanaman buah-buahan untuk dikonsumsi. Buah kenitu merupakan buah yang lembut, berair, menyegarkan, dan memiliki rasa enak. Akan tetapi buah tersebut tidak laku dijual di tempat asalnya. Namun, di tempat lain tanaman kenitu bermanfaat dalam pengobatan berbagai penyakit (Morton, 1987).

Kenitu umumnya banyak dikonsumsi langsung sebagai buah segar dan dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan es krim atau serbat. Pohon Kenitu banyak digunakan sebagai tanaman hias dan peneduh di taman atau tepi jalan. Kayunya cukup baik sebagai bahan bangunan, dan cabang-cabangnya yang tua dimanfaatkan untuk menumbuhkan anggrek. (Zulaikhah, 2015).

Di samping itu, banyak bagian pohon kenitu yang berkhasiat menjadi obat misalnya daun, getah, buah, biji dan kulit kayunya. Buah kenitu segar yang dikonsumsi dapat mengurangi peradangan pada tenggorokan dan paru-paru. Di Venezuela buah setengah masak digunakan untuk mengobati gangguan usus, namun bila berlebihan dapat menyebabkan sembelit. Sedangkan infus kulit buah kaya akan zat tannin yang dipercaya oleh masyarakat Kuba di Miami dapat digunakan untuk antikanker, tonik, stimulant, obat diare, disentri, menghentikan pendarahan, radang dan obat gonorrhoe. Biji kenitu yang rasanya pahit dimanfaatkan untuk mengobati abses, sedangkan di tempat lain digunakan sebagai

diuretic, obat penurun panas dan obat untuk disentri (Morton, 1987; Zulaikhah, 2015)

Berdasarkan studi etnofarmasi yang dilakukan pada suku Aboude-Mandeki, Pantai Gading Afrika, kenitu digunakan sebagai obat tradisional untuk diabetes. Ekstrak air daun kenitu juga dapat memberikan efek hipoglikemik serta kandungan tannin yang dipercaya oleh masyarakat Kuba di Miami sebagai obat kanker. (Koffi *et al.*, 2009). Dekok buah kenitu di Nikaragua timur, Garifuna digunakan untuk mengobati diare, demam, dan penyakit kelamin (Coe dan Anderson, 1996).

2.3 Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Faktor yang berpengaruh pada mutu ekstrak adalah: (Depkes RI, 2000).

a. Faktor biologi

Mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat), dipandang secara khusus dari segi biologi yaitu identitas jenis, lokasi tumbuhan asal periode pemanenan, penyimpanan bahan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.

b. Faktor kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat), dipandang secara khusus dari kandungan kimia, yaitu :

- (1) Faktor internal, seperti jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif.
- (2) Faktor eksternal, seperti metode ekstraksi perbandingan ukuran alat ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, ukuran kekerasan, dan kekeringan bahan.

2.3.1 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstraksi suatu tanaman obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat. Dalam proses pembuatan ekstrak ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, di antaranya:

a. Pembuatan serbuk simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah pembuatan serbuk simplisia kering dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak, karena semakin halus serbuk simplisia proses ekstraksi akan semakin efektif dan efisien (Depkes RI, 2000).

b. Cairan Penyari

Cairan penyari dalam proses pembuatan serbuk adalah pelarut yang optimal untuk zat kandungan berkhasiat, dengan demikian zat tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan zat kandungan lainnya serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar zat kandungan yang diinginkan. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah: Selektifitas; Kemudahan kerja dan proses pembuatan dengan cairan tersebut; Ekonomis; Ramah lingkungan; Keamanan (Depkes RI, 2000).

c. Separasi dan pemurnian

Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan (memisahkan) zat yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki. Proses pada tahapan ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tak campur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi serta proses adsorpsi dan penukar ion. (Depkes RI, 2000).

d. Pemekatan atau penguapan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah atau konsentrasi zat terlarut dengan cara menguapkan pelarut sampai menjadi kandungan kering sehingga ekstrak menjadi kental atau pekat (Depkes RI, 2000).

e. Pengeringan ekstrak

Proses pengeringan ekstrak dilakukan dengan menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering dan rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakan. Ada beberapa proses pengeringan ekstrak, yaitu pengeringan evaporasi, vaporasi, sublimasi, konveksi, kontak, radiasi dan pengeringan dielektrik (Depkes RI, 2000).

2.3.2 Tinjauan Tentang Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik dapat dijadikan metode alternatif sebagai pengganti maserasi. Pada reaktor ultrasonik/sonicator, gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi (cavitation bubbles) pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut dan pancaran cairan (liquid jets) yang akan membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan. Cara ekstraksi ini biasanya lebih cepat dan lebih

efisien dibandingkan cara-cara ekstraksi yang terdahulu. Beberapa ekstraksi berbantu ultrasonik menunjukkan bahwa hasil ekstraksi lebih besar dan waktu lebih cepat dibandingkan metode konvensional. (Cintas dan Cravotto, 2005).

Energi dalam ultrasonik merupakan intensitas gelombang ultrasonik yang merambat dan membawa energi pada suatu luas permukaan per satuan waktu. Jika energi gelombang ultrasonik tersebut melalui jaringan, maka akan melepaskan energi kalor sehingga terjadi pemanasan yang mengakibatkan suhu jaringan meningkat dan kemudian menimbulkan efek kavitasi, yaitu pembentukan, pertumbuhan dan pecahnya gelembung didalam sebuah cairan. Ketika gelembung kavitasi akustik pecah mendekati atau pada permukaan solid, maka permukaan solid tersebut memberikan resistensi terhadap aliran cairan. Hal ini menyebabkan cairan microjet mengarah pada permukaan material dengan kecepatan sampai dengan 200m s⁻¹ (Bendicho dan Lavilla, 2000).

2.2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi Fase Padat (SPE)

SPE (*Solid Phase Extraction*) merupakan salah satu variasi dari teknik analisis yang tersedia untuk memperbaiki kesenjangan yang ada antara sampel dengan tahap-tahap analisis. Filtrasi, homogenisasi, presipitasi, reaksi kimia, pertukaran pelarut, konsentrasi, penghapusan matrix, solubilisasi merupakan komponen yang dapat digunakan secara tunggal atau kombinasi untuk mendapatkan sampel dengan bentuk yang kompatibel dengan alat analisis yang diperlukan (Simpson, 2000; Rahmatia, 2017).

SPE memiliki keunggulan jika dibandingkan dengan ekstraksi cair-cair yaitu dengan menggunakan SPE proses ekstraksi menjadi lebih sempurna,

pemisahan analit dari matriks menjadi lebih efisien, mengurangi pelarut organik yang digunakan. SPE merupakan proses pemisahan yang efisien sehingga *recovery* yang tinggi (>99%) lebih mudah dicapai jika dibandingkan dengan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair masih diperlukan ekstraksi beberapa kali untuk memperoleh *recovery* yang tinggi, sedangkan dengan SPE hanya dibutuhkan satu tahap saja (Rohman, 2009).

2.4 Tinjauan Tentang Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011). Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses *bioassay*, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*, 2011).

Etil alkohol atau etanol adalah salah satu turunan dari senyawa hidroksil atau gugus OH, dengan rumus kimia C_2H_5OH . Istilah umum yang sering dipakai untuk senyawa tersebut, adalah alkohol. Etanol mempunyai sifat tidak berwarna,

mudah menguap, mudah larut dalam air, berat molekul 46,1, titik didihnya 78,3°C, membeku pada suhu -117,3°C, kerapatannya 0,789 pada suhu 20°C, nilai kalor 7077 kal/gram, panas latent penguapan 204 kal/gram dan angka oktan 91–105. Etanol memiliki indeks polaritas sebesar 4,3 (Hambali *et al.*, 2008).

Metanol, juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH₃OH dengan bentuk alkohol paling sederhana. Metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol berbentuk cairan tak berwarna dengan titik didih 64,5°C, dapat dicampur dengan air dalam segala perbandingan, tak membentuk campuran *azeotropik* dengan air. Larut dengan air, dengan alkohol, dengan eter, benzena, dan dengan sebagian besar pelarut organik lainnya. Metanol memiliki indeks polaritas sebesar 5,1 (Hani'ah, 2010).

N-heksana adalah senyawa organik yang terbuat dari karbon dan hidrogen yang paling sering diisolasi sebagai produk sampingan dari minyak bumi dan penyempurnaan minyak mentah. N-heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C₆H₁₄. N-heksana merupakan cairan tidak berwarna dan tidak berbau. Senyawa N-heksana stabil pada suhu kamar, dan paling sering terjadi sebagai cairan berwarna. N-heksana memiliki titik leleh sekitar -139,54°F (-95,3°C), titik didih 154,04°F (67,8°C), dan itu massa molar adalah 86,18 gram per mol (g/mol). N-heksana juga merupakan molekul non-polar, yang berarti bahwa tidak larut dalam air dengan indeks polaritas sebesar 0,1 (Hani'ah, 2010).

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $C_4H_8O_2$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat merupakan pelarut polar menengah yang mudah menguap, tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 30% dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi, namun senyawa ini tidak stabil dalam air mengandung basa atau asam. Etil asetat dapat dihidrolisis pada keadaan asam atau basa yang menghasilkan asam asetat dan etanol kembali. Etil asetat memiliki indeks polaritas sebesar 4,4 (Hani'ah, 2010).

2.5 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis

KLT adalah metode yang baik untuk memisahkan campuran senyawa yang berbeda polaritas nya (Caze, 2010). KLT merupakan metode kromatografi cair dimana sampel diberikan berbentuk spot kecil atau garis pada plat penyerap pada kaca, plastik atau plat logam. Fase gerak migrasi melalui fase diam melalui lubang kapiler, kadang dibantu oleh gravitasi tekanan. Fase gerak pada metode KLT dapat terdiri dari pelarut tunggal atau campuran pelarut organik. Saat ini, telah banyak penyerap yang dapat digunakan antara lain silika gel, selulosa, alumina, poliamida, penukar ion dan ikatan kimia yang dilapisi pada kaca atau polyester atau lembaran aluminium (Fried dan Sherma, 1999). KLT juga dapat dikembangkan menjadi fingerprinting kromatografi yang digunakan untuk identifikasi (Caze, 2010) dan kontrol kualitas ekstrak tanaman (Liang *et al.*, 2004).

Pemisahan senyawa pada kromatografi dipengaruhi oleh kombinasi sifat kinetik dan termodinamik. Sifat termodinamik bertanggung jawab atas nilai retensi dan selektifitas. Sedangkan sifat kinetik menentukan pelebaran zona selama pemisahan (Spangenberg *et al.*, 2011). Pada saat pemisahan campuran komponen, setiap senyawa terdistribusi dan berinteraksi pada kedua fase, yakni fase diam dan fase gerak. Interaksi komponen senyawa dengan kedua fase meliputi dua mekanisme yakni adsorpsi dan partisi (Spangenberg *et al.*, 2011).

Adsorpsi merupakan fenomena permukaan. Adsorpsi pada KLT terjadi pada permukaan partikel fase diam yang kontak dengan fase gerak. Dalam mekanisme adsorpsi dapat terjadi ikatan van der Waal's interaksi dipol-dipol dan interaksi ion kompleks seperti ikatan hidrogen. Penerapan pemisahan pada kromatografi, mekanisme adsorpsi harus bersifat reversibel dan hanya interaksi fisika. Sedangkan, pada kromatografi partisi, pemisahan tergantung pada kelarutan senyawa pada dua eluen yang tidak saling larut. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan letak noda adalah R_f , didapatkan dari rasio perbandingan antara jarak migrasi komponen dibagi dengan jarak migrasi fase gerak. Harga R_f mulai dari 0 (solut berada di titik penotolan) sampai 0,999 (solute berada di garis akhir fase gerak) (Spangenberg *et al.*, 2011).

2.6 Tinjauan Tentang *Metabolite profiling*

Pemrofilan metabolit (*metabolite profiling*) merupakan metode analisis senyawa yang merupakan salah satu cabang dalam pendekatan metabolomik yang bertujuan untuk memprofilkan macam-macam senyawa metabolit sekunder dalam

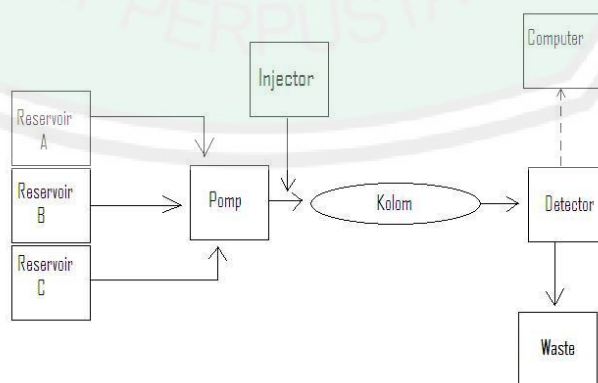
tumbuhan. Metabolomik merupakan salah satu cabang penelitian “omik” yang fokus pada karakterisasi molekul metabolit dalam matriks biologis secara keseluruhan, melalui identifikasi profil metabolit total dalam suatu organisme. Selain itu, metabolomik juga dapat diaplikasikan di bidang kesehatan, diagnostik, industri pangan, maupun mikrobiologi (Krastanov, 2010).

Metabolomik dapat mendeskripsikan tentang jumlah metabolit total. Terdapat beberapa langkah dalam studi metabolomik, yaitu pemrofilan, identifikasi, validasi, dan interpretasi. Pemrofilan dilakukan untuk menemukan semua metabolit yang ada dengan menggunakan variasi statistik pada organisme. Identifikasi dilakukan untuk menentukan nama dan struktur kimia dari metabolit setelah dilakukan pemrofilan. Interpretasi merupakan langkah terakhir dalam studi metabolomik, dilakukan dengan membuat hubungan antara metabolit-metabolit yang telah ditemukan dengan proses biologi atau metabolisme (Krastanov, 2010).

Diagram kerja pemrofilan metabolit meliputi preparasi sampel, akuisisi data, serta pengolahan data. Teknik utama yang banyak digunakan dalam pemrofilan metabolit adalah kromatografi gas - spektrometri massa (GC-MS) dan kromatografi cair - spektrometri massa (LC-MS). Namun, ada beberapa yang menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), *Electron Impact Ionization – Mass Spectrometry* (EI-MS) dan *Electrospray Ionization - Mass Spectrometry* (ESI-MS) dalam melakukan analisis senyawa (Krastanov, 2010).

2.7 Tinjauan Tentang UPLC-QToF-MS/MS

Ultra Performance Liquid Chromatography - Quadrupole Time of Flight – Mass Spectrometry (UPLC-QToF/MS/MS) merupakan teknik analisis kimia yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dalam kromatografi cair dengan kemampuan analisis massa dalam spektrometri massa. UPLC-QToF/MS/MS merupakan teknik ampuh yang digunakan untuk banyak aplikasi yang memiliki sensitivitas dan selektivitas sangat tinggi karena memiliki banyak keunggulan antara lain resolusi yang tinggi sehingga meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa, partikel kolom yang kecil (sub-2 μm) sehingga meningkatkan sensitivitas, *flow rate yang lebih tinggi* sehingga mengurangi waktu analisis yang dibutuhkan, tekanan yang lebih tinggi sehingga mampu memisahkan senyawa yang lebih kecil, mengurangi jumlah sampel yang dibutuhkan (Naushad and Khan, 2014), pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat, spektra resolusi tinggi untuk konfirmasi target dan senyawa yang tidak diketahui serta memperoleh hasil yang lebih cepat tanpa menurunkan resolusi massa (Zhang *et al.*, 2015).



Gambar 2.2 Skema pengoperasian UPLC

Bagian-bagian komponen dalam instrumentasi UPLC terdiri dari : (Naushad dan Khan, 2014)

1. *Reservoir* : *Reservoir* digunakan sebagai wadah untuk menampung fase gerak / eluen yang digunakan.
2. Pompa : Pompa berfungsi untuk memompa fase gerak pada kecepatan konstan dan menekan ke dalam kolom. Tekanan dan laju alir yang stabil dapat dicapai karena terdapat dua piston yang bekerja dalam fase berlawanan, ketika satu piston menekan eluen ke dalam kolom, piston lainnya menyedot eluen dari reservoir. Tekanan yang dicapai berkisar antara 8000-15000 psi (600-1000 bar).
3. *Injector* : *Injector* berfungsi untuk menyuntikkan sampel uji ke dalam fase gerak diantara pompa dan kolom. Volume sampel yang diinjeksikan berkisar antara 2 μ l - 10 μ l. Pada *injector* terdapat *Autosampler* sehingga sampel dapat terinjeksikan dengan pengukuran secara otomatis.
4. Kolom : Kolom diibaratkan seperti “jantung dari kromatografi”. Pada kolom terdapat fase diam yang berfungsi memisahkan komponen senyawa dari sampel dengan berbagai parameter fisik dan kimia. Partikel kecil kolom yang kurang dari 2 μ m (1,7-1,8 μ m) menyebabkan kolom dapat diberikan tekanan yang tinggi dengan *flow rates* yang normal.
5. Detektor : Detektor berfungsi untuk mengidentifikasi senyawa tunggal yang keluar dari dalam kolom dan mengukur jumlah dari senyawa

tersebut sehingga peneliti dapat menganalisis komponen sampel secara kuantitatif. Detektor ini bisa berupa meteran fluoresensi, penyerapan UV, elektrokimia dan spektrometri massa.

6. Komputer : Komputer berfungsi untuk mengoperasikan seluruh sistem dalam instrumentasi serta untuk merekam sinyal dari detektor yang digunakan untuk menentukan waktu retensi, analisis kualitatif, dan analisis kuantitatif.

UPLC memiliki prinsip kerja yang sama dengan HPLC, yakni berlandaskan teori van Deemter yang menjelaskan antara laju alir (*flow rate*) dan tinggi pelat (*plate height*).

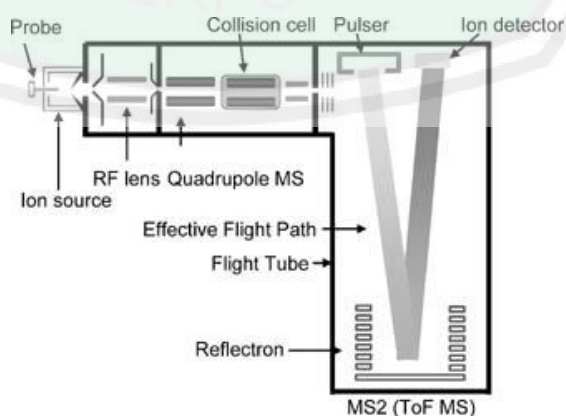
$$H = A + \frac{B}{v} + Cv$$

H menunjukkan tinggi ekuivalensi terhadap *theoretical plate* (HETP). HETP harus diperkecil guna meningkatkan efisiensi kolom. A , B & C merupakan konstanta, dan v merupakan *flow rate* (kecepatan linier) dari gas pembawa. Nilai A melambangkan faktor difusi pusaran yang nilainya tidak bergantung pada *flow rate*. Nilai B melambangkan tendensi dari difusi partikel. Efek nilai B akan semakin kecil pada *flow rate* yang tinggi, oleh karena itu pada rumus persamaan dibagi dengan v . Nilai C melambangkan resistensi kinetik untuk kesetimbangan selama proses pemisahan. Resistensi kinetik merupakan *time lag* yang terlibat pada saat fase gerak melewati fase gerak (Gritter *et al.*, 1985; Chawla dan Ranjan, 2016).

Sistem eluasi dalam UPLC dapat secara isokratik, gradien linier, dan gradien non linier. Pada penelitian ini digunakan eluen berupa campuran 99,9% H_2O + 0,1% asam format, dan 99,9% asetonitril + 0,1% asam format dengan sistem

gradien non linier, karena dengan eluen tersebut mampu memisahkan metabolit secara optimal (Balcke *et al.*, 2012).

Spektrometri Massa (MS) merupakan suatu teknik analisis instrumental yang dapat dipakai untuk identifikasi serta penentuan struktur dari komponen analit dengan cara membuat suatu molekul netral menjadi bermuatan, lalu memisahkan ion tersebut berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan (m/z) sehingga dapat terdeteksi secara kualitatif dan kuantitatif dengan kelimpahan dan m/z masing-masing. Spektra (*mass spectrum*) merupakan hasil representatif dua dimensi dari intensitas sinyal terhadap perbandingan massa terhadap muatan (m/z). Intensitas dari suatu puncak sebagai sinyal biasanya melambangkan kelimpahan molekul ionik dari m/z masing-masing molekul yang sebelumnya berasal dari analit yang telah melewati sumber ion. *Tandem Mass Spectrometry* juga dikenal sebagai MS/MS atau MS² merupakan teknik spektrometri massa yang melibatkan dua langkah seleksi massa dimana terdapat bentuk fragmentasi yang terjadi diantara spektrometri massa tahap 1 (MS1) dan spektrometri massa tahap 2 (MS2) (Gross, 2004).



Gambar 2.3 Bagan Instrument Q-ToF-MS/MS

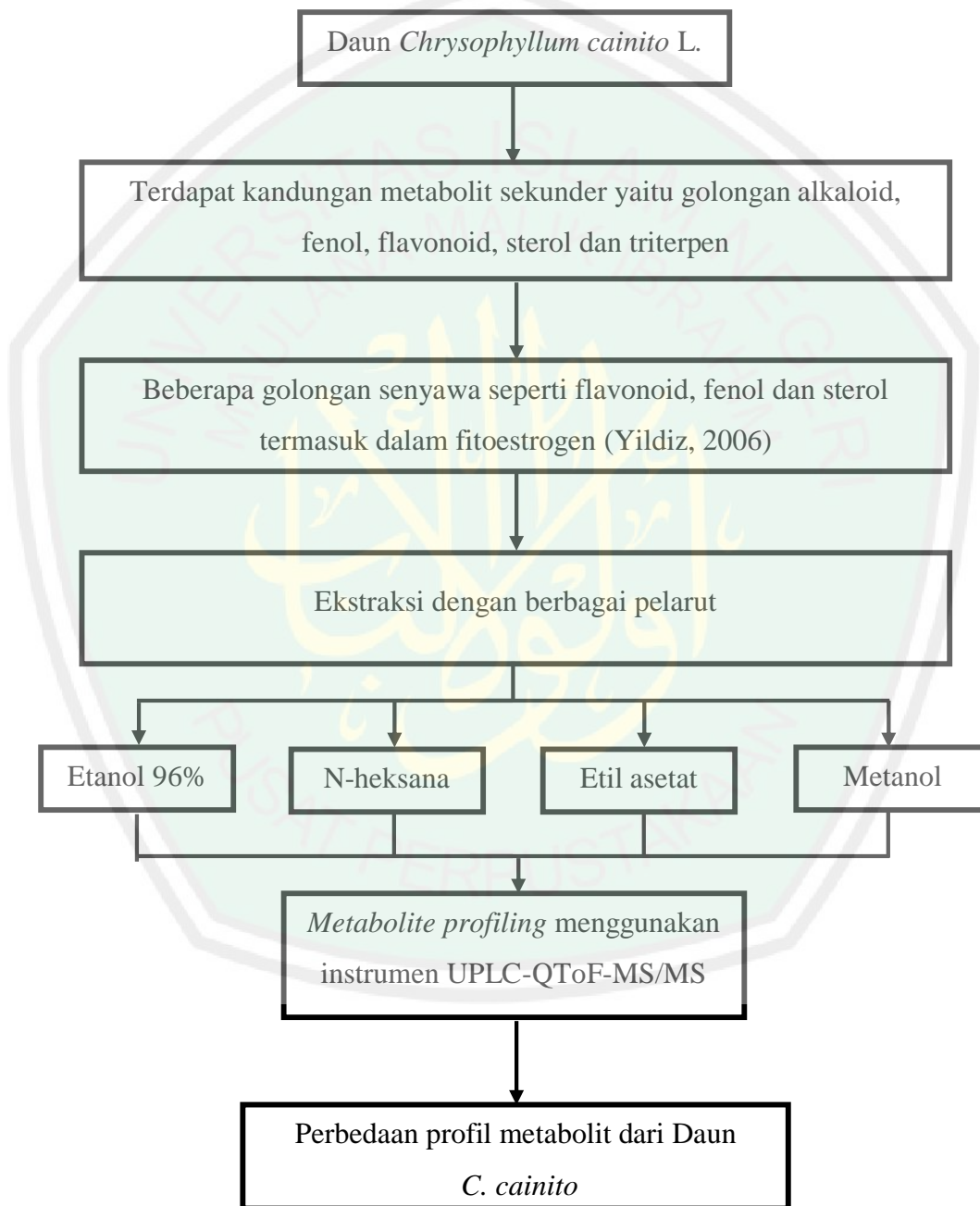
Sebuah spektrometri pada dasarnya terdiri dari 3 bagian utama yaitu sumber ion, analisator massa, dan detektor yang dioperasikan dalam tekanan tinggi. Ada berbagai macam teknik pengionisasi, penggunaannya tergantung pada fase dari sampel (padat, cair, gas) dan efisiensi berbagai mekanisme ionisasi untuk senyawa yang tidak diketahui. Sumber ion adalah bagian dari spektrometri massa yang mengionisasi analit yang akan dianalisis, ion-ion tersebut kemudian diangkut oleh medan magnet atau listrik menuju analisator massa. Teknik untuk ionisasi menjadi kunci untuk menentukan jenis sampel apa yang dapat dianalisis dengan spektrometri massa. Ionisasi elektron dan ionisasi kimia digunakan untuk gas dan uap. Dua teknik yang sering digunakan dalam sampel biologis cair dan padat meliputi *electrospray ionization* (ESI) dan *matriks assisted laser desorption ionization* (MALDI). ESI merupakan teknik ionisasi lunak yang menyelesaikan transfer ion dari fase cair menjadi fase gas. Teknik ini sangat berguna untuk analisis massa yang berukuran besar, senyawa yang kurang volatil, molekul yang dapat diberi muatan seperti protein dan asam polimer nukleat (Gross, 2004). Muatan energi yang tinggi pada permukaan tetesan ditentukan oleh muatan yang diatur pada *electric field*, sehingga terdapat ESI (+) $[M+H]^+$ dan ESI (-) $[M-H]^-$ (Venn, 2008).

Analisisator massa berfungsi untuk menganalisis massa dengan cara memisahkan ion sesuai dengan rasio perbandingan massa terhadap muatan (m/z) masing-masing. Terdapat berbagai macam jenis analisator massa yaitu, *time of flight*, *magnetic sector*, *linear quadrupole*, *three dimensional quadrupole ion traps*, dan *fourier transform cyclotron resonance*. Spektrometri massa tandem menggunakan perpaduan 2 analisator massa, sebagai contoh yaitu Q-TOF yang

merupakan perpaduan antara *Quadrupole* dengan *Time of Flight*. Seleksi massa ion dalam *quadrupole* menggunakan pengaruh arus listrik searah (dc) dan frekuensi radio (rf). Akibat pengaruh dc dan rf, ion-ion di dalam *quadrupole* akan menempuh jalur yang berbentuk gelombang *massive* yang kemudian akan ditangkap oleh detektor. Sedangkan seleksi massa ion dalam *time of flight* menggunakan perbedaan kecepatan ion yang terdispersi dalam waktu selama perjalanan pada *flight path* (Gross, 2004). Keunggulan Q-TOF adalah menghasilkan pola isotop yang konsisten jarak kelimpahan yang luas mulai dari molekul kecil hingga molekul besar sehingga dapat memberikan pengukuran massa monoisotop yang akurat, serta dapat memberikan akuisisi spektra yang cepat dengan transmisi tinggi tanpa menurunkan kualitas resolusi massa yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk konfirmasi senyawa target dan identifikasi senyawa yang belum diketahui (Zhang, 2015)

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Chrysophyllum cainito L. yang biasa dikenal sebagai Kenitu merupakan salah satu jenis tumbuhan yang termasuk ke dalam family *Sapotaceae* dan banyak ditemukan di daerah tropis maupun subtropis.

Hasil identifikasi yang telah dilakukan terhadap daun *C. cainito* antara lain senyawa β -amirin asetat (Lopez, 1983; Luo *et al.*, 2002), asam gentisat (Griffiths, 1959), asam galat, β -sitosterol, lupeol, asam ursolat (Shailajan dan Gurjar, 2014), alkaloid, fenol, flavonoid, triterpenoid dan sterol (Koffi, 2008; Koffi, 2009). Beberapa dari golongan senyawa tersebut seperti flavonoid, fenol, sterol termasuk dalam fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang mempunyai struktur mirip estrogen dan mampu berikatan dengan *estrogen reseptor* sehingga mempunyai aktivitas yang sama seperti hormon estrogen (Yildiz, 2006).

Berbagai macam senyawa dapat ditarik keluar dari sel tumbuhan dengan cara dilakukan proses ekstraksi, yang mana dibutuhkan pelarut untuk mengikat senyawa-senyawa tersebut. Pengikatan senyawa tersebut berdasarkan pada prinsip *like dissolve like*, yakni persamaan tingkat kepolaran antara senyawa dengan pelarut. Senyawa polar berikatan dengan pelarut polar, begitu juga sebaliknya. Etanol 96% bersifat semi polar, n-heksan bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar, dan metanol bersifat polar. Proses identifikasi profil terhadap senyawa-senyawa metabolit yang telah ditarik oleh pelarut dapat dilakukan dengan cara memisahkan antar senyawa terlebih dahulu menggunakan teknik kromatografi dan menganalisisnya menggunakan teknik spektrometri.

Banyak berbagai instrumentasi dalam kromatografi dan spektrometri, salah satunya dengan UPLC-QToF-MS/MS. *Ultra Performance Liquid Chromatography – Quadrupole Time of Flight - Mass Spectrometry* (UPLC-QToF-MS/MS) merupakan metode pemisahan senyawa dengan menggunakan perbedaan kepolaran dan pemecahan senyawa menjadi fragmen. Instrumen ini memiliki banyak keunggulan, antara lain dapat meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa, mempercepat waktu analisis, mampu memisahkan senyawa yang lebih kecil, mengurangi jumlah sampel yang dibutuhkan (Naushad dan Khan, 2014), pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat, spektra resolusi tinggi untuk konfirmasi senyawa target dan senyawa yang tidak diketahui serta memperoleh hasil yang lebih cepat tanpa menurunkan kualitas resolusi massa yang tinggi (Zhang *et al.*, 2015).

Penentuan profil metabolit senyawa yang terkandung dalam daun *C. cainito* dengan menggunakan berbagai pelarut, yaitu etanol 96%, n-heksan, etil asetat, dan metanol perlu dilakukan untuk membandingkan berapa banyak jumlah kandungan senyawa metabolit yang terkandung dalam masing-masing pelarut dengan instrumen UPLC-QToF-MS/MS sehingga dapat diperoleh profil metabolit dari daun *C. cainito*.

3.3 Hipotesis

Terdapat perbedaan profil metabolit pada ekstrak etanol 96%, n-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun *C. cainito*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yakni dengan mengidentifikasi profil metabolit dari berbagai ekstrak daun *Chrysophyllum cainito* L. menggunakan UPLC-QToF-MS/MS.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari 2018 hingga Mei 2018. Pembuatan berbagai ekstrak daun *C. cainito* dilakukan di Laboratorium Fitokimia, Departemen Biologi Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Preparasi sampel dan identifikasi sampel dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Jakarta Timur, Indonesia.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *C. cainito* yang berasal dari UPT. Materia Medica Batu

4.3.2 Sampel

. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *C. cainito* yang diambil dari kebun di UPT. Materia Medica Batu.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak dari berbagai pelarut etanol 96%, n-heksan, etil asetat, dan metanol daun *C.cainito*.
2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah profil metabolit dari daun *C.cainito*.
3. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu rotav 50°C, suhu oven 40°C.

4.4.2 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol 96%: Ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi daun *C.cainito* dengan pelarut etanol 96%.
2. Ekstrak metanol: Ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi daun *C.cainito* dengan pelarut metanol.
3. Ekstrak n-heksana: Ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi daun *C.cainito* dengan pelarut n-heksana.
4. Ekstrak etil asetat: Ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi daun *C.cainito* dengan pelarut etil asetat.
5. UPLC-QToF-MS/MS: Sebuah instrument analisis kimia yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dalam kromatografi cair dengan kemampuan analisis massa dalam spektrometri massa.

6. Profil metabolit ekstrak *C.cainito*: Senyawa-senyawa dalam ekstrak *C.cainito* yang diperoleh dari hasil interpretasi data spektra menggunakan UPLC-QToF-MS/MS dan berhubungan dengan jalur metabolisme.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Alat penelitian terdiri dari satu set alat *Vacuum Rotary Evaporator* (*Heidolph*), seperangkat instrument UPLC-QToF-MS/MS (*Waters*), *Oasis C18 Cartridge* (*Waters*), Sonikator (*Sonica*), Oven (*Binder*), *Moisture Analyzer* (*Mettler Toledo*), seperangkat alat KLT (*Camag*), *TLC Visualizer* (*Camag*), timbangan analitik (*Ohaus*), labu erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, cawan petri, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, corong, aluminium foil, kertas saring, tabung eppendorf, dan komputer.

Tabel 4.1 Spesifikasi Instrument UPLC-QToF-MS/MS

Instrument UPLC	
Alat	ACQUITY UPLC®H-Class System (<i>Waters</i>)
Kolom	ACQUITY UPLC®HSS C18 (1.8 µm 2.1x150 mm) (<i>Waters</i>)
Eluen	99,9% Asetonitril + 0,1% Asam Format (A) dan 99,9% Air + 0,1% Asam Format (B)
<i>Flow Rate</i>	0,2 ml/menit selama 23 menit
Volume Injeksi	5 µl (disaring melalui 0.2 µm <i>syring filter</i> dahulu)
Metode Eluasi	Sistem Gradien
Instrument MS	
Alat	Xevo G2-S QToF (<i>Waters</i>)
Sumber Ion	ESI Positif (+)
Analisa Massa	<i>Quadrupole</i> dan <i>Time-of-Flight</i>
<i>Collision Energy</i>	4 Volt dan 25-70 volt
<i>Mass Analysis Range</i>	30-1200 m/z
<i>Source Temperature</i>	100°C
<i>Desolvation Temperature</i>	350°C

<i>Desolvation Gas Flow</i>	793 L/hr
-----------------------------	----------

Tabel 4.2 Perbandingan Eluen dalam Metode Eluasi Gradien

Waktu (menit)	Eluen A	Eluen B
0,00	95%	5%
2,00	75%	25%
3,00	75%	25%
14,00	0%	100%
15,00	0%	100%
19,00	95%	5%
23,00	95%	5%

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian terdiri dari simplisia serbuk daun *C. cainito* segar yang berasal dari UPT. Materia Medica Batu, aquadest, anisaldehyd asam sulfat, etanol 96% (*Merck*), n-heksana (*Merck*), etil asetat (*Merck*), metanol (*Merck*), diklorometan (*Merck*), asetonitril (*Merck*), asam format (*Merck*).

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Determinasi Tumbuhan

Tanaman kenitu yang digunakan pada penelitian ini dideterminasikan di UPT. Materia Medica Batu guna memastikan keaslian sampel yang diambil adalah benar adanya.

4.6.2 Pembuatan Simplisia

Daun segar yang diperoleh dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan di dalam ruang pengeringan selama kurang lebih 2x24 jam hingga daun tersebut benar-benar kering. Daun yang telah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penggiling. Serbuk daun *C. cainito* dimasukkan

didalam toples dan diberi silica gel untuk mengurangi kelembaban, kemudian disimpan didalam lemari penyimpanan simplisia.

4.6.3 Uji Kadar Air

Pengukuran kandungan air yang berada di dalam serbuk simplisia tanaman *C. cainito* dengan cara menimbang 500 mg serbuk simplisia terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengukuran menggunakan alat *Moisture Analyzer*. Pengukuran dilakukan replikasi sebanyak 3 kali lalu mengambil nilai rata-rata nya.

4.6.4 Pembuatan Ekstrak

Simplisia serbuk daun *C. cainito* ditimbang sebanyak 30 gram dan dimasukkan kedalam labu erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik (>20 kHz) selama 6 menit dengan 3 kali jeda tiap 2 menit, pada tiap jeda pengulangan diaduk menggunakan batang pengaduk. Ekstrak etanol 96% disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diambil filtratnya. Selanjutnya dilakukan ekstraksi kedua menggunakan 150 ml etanol 96% dengan cara yang sama, berikutnya dilakukan ekstraksi ketiga menggunakan 150 ml etanol 96% dengan cara yang sama hingga total pelarut yang telah digunakan sejumlah 500 ml. Selanjutnya dilakukan ekstraksi bertingkat menggunakan simplisia serbuk daun *C. cainito* menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, metanol dengan jumlah dan cara yang sama seperti pada saat ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Masing-masing filtrat diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator dengan suhu 50°C dan putaran 70 rpm hingga ekstrak menjadi kental. Ekstrak kental ditampung kedalam cawan petri, lalu dimasukkan

kedalam oven pada suhu 40°C hingga ekstrak menjadi kering. Ekstrak kering ditimbang sebanyak 10 mg lalu dimasukkan kedalam tabung eppendorf dan dikemas untuk dilakukan analisis.

4.6.5 Skrining KLT

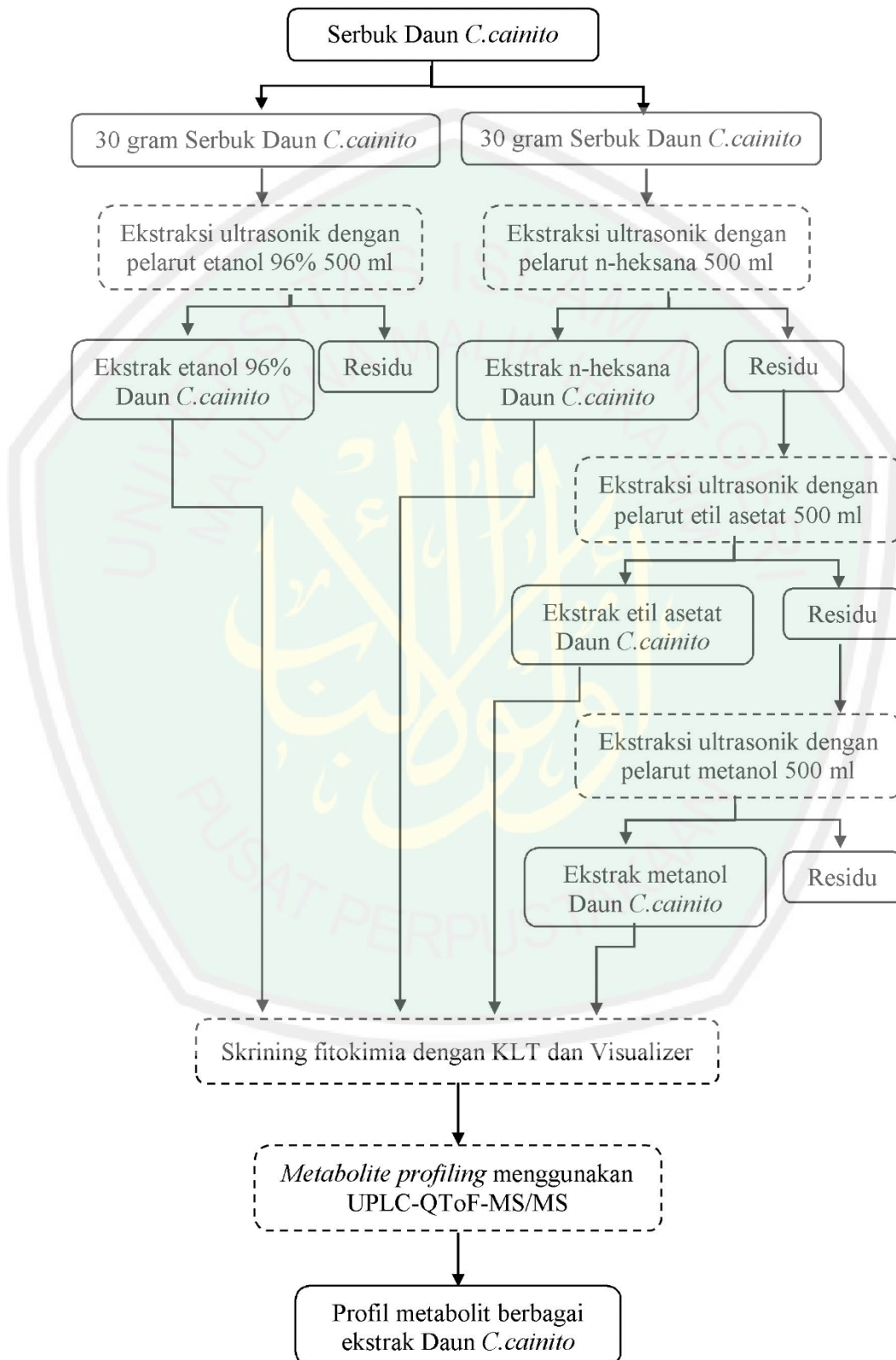
Skrining fitokimia dilakukan dengan menimbang 10 mg masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 1 ml pelarut (etanol 96%, n-heksan, etil asetat dan metanol). Kemudian diambil masing-masing ekstrak sebanyak 2µl menggunakan mikro pipet lalu ditotolkan pada plat KLT yang sudah diukur jarak dan batasnya. Langkah selanjutnya dieluasi dengan 10 ml eluen campuran etil-asetat dan n-heksan (3:7) yang sudah jenuh, lalu ditunggu hingga eluen mencapai tanda batas. Selanjutnya plat KLT disemprot dengan penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan menggunakan TLC *heater* selama 5 menit dengan suhu 105°C. Selanjutnya dilihat R_f dan noda yang tampak pada plat KLT dengan menggunakan instrumen TLC *visualizer*.

4.6.6 Metabolite profiling

Preparasi sampel dilakukan terlebih dahulu sebelum diinjeksikan kedalam instrument UPLC-MS. Metode yang digunakan dalam preparasi sampel ini yaitu *Solid Phase Extraction* (SPE). Ekstrak kering sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 10 ml pelarut lalu dimasukkan ke dalam kolom SPE yang telah dikondisikan. Bahan organik yang tertinggal di kolom tersebut dielusi dengan 10 ml metanol. Filtrat metanol ditampung lalu dilanjutkan dengan dielusi menggunakan 10 ml diklorometan, filtrat diklorometan kemudian ditampung hingga terdapat filtrat metanol dan filtrat diklorometan pada wadah yang terpisah.

Metabolite profiling berbagai ekstrak dilakukan dengan menggunakan instrument UPLC-MS. Sampel yang telah dipreparasi lalu diinjeksikan kedalam instrument UPLC-MS sebanyak 5 μ l menggunakan *micro syringe*. Setelah itu diperoleh data mentah berupa kromatogram dan spektra tiap sampel yang selanjutnya diolah dengan software *Masslynx* untuk didapatkan data luas puncak, waktu retensi, *measured mass*, *calculated mass* dan rumus formula dari tiap-tiap puncak yang terdeteksi. Selanjutnya dilakukan interpretasi data melalui website *Chemspider* dan software *Chemdraw* untuk diperoleh nama dan struktur kimia dari senyawa yang telah ditemukan, sehingga diperoleh profil metabolit dari berbagai ekstrak daun *C. cainito*.

4.7 Skema Penelitian



Gambar 4.1 Skema Kerja Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tumbuhan *C. cainito*

Determinasi tumbuhan *C. cainito* dilakukan di UPT. Materia Medica Batu guna memastikan keaslian sampel daun *C. cainito* yang diperoleh. Hasil kunci determinasi yang diperoleh yakni: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121b-124b-125a-126b-127a. Sampel yang berupa daun tersebut memiliki karakteristik morfologi berupa daun tunggal, warna permukaan atas hijau – bawah cokelat, panjang 9 – 14 cm, lebar 3 - 5 cm, helaian daun agak tebal, kaku, bentuk lonjong (elliptica), ujung runcing (acutus), pangkal meruncing (acuminatus), tepi rata, pertulangan menyirip (pinnate). Lembar determinasi tersebut dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2 Preparasi Serbuk Daun *C. cainito*

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun *C. cainito* yang telah diidentifikasi dan diperoleh dari lahan budidaya tanaman milik UPT. Materia Medica Batu. Daun yang telah dipanen harus dilakukan sortasi basah terlebih dahulu dengan cara mencuci daun tersebut menggunakan air yang mengalir untuk menghilangkan berbagai jenis kotoran yang menempel pada daun tersebut. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan pengeringan dalam kondisi cuaca cerah yang berlangsung selama 2x24 jam dengan suhu berkisar antara 30-40° C. Pengeringan dilakukan didalam ruangan khusus untuk pengeringan yang telah didesain

sedemikian rupa agar pengeringan lebih maksimal dengan bantuan panas matahari. Daun yang telah kering dapat ditandai dengan mudah remuknya daun ketika diremas dengan tangan serta perubahan tekstur yang lebih kaku. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air yang terdapat dalam daun supaya tidak ditumbuhi kapang maupun mikroba serta memutus reaksi enzimatik, sehingga simplisia dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama (Manoi, 2006).



Gambar 5.1 Daun *C. cainito*

Daun yang telah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penggiling. Penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel serta memperlebar luas permukaan agar mempermudah dalam penarikan senyawa ketika dilakukan proses ekstraksi. Serbuk daun *C. cainito* dimasukkan didalam toples dan diberi silica gel untuk mengurangi kelembaban, kemudian disimpan didalam lemari penyimpanan simplisia.



Gambar 5.2 Serbuk Daun *C. cainito*

5.3 Penentuan Kadar Air Serbuk Daun *C. cainito*

Penentuan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui jumlah air yang masih terdapat didalam sampel setelah melalui proses pengeringan. Sampel serbuk daun *C. cainito* diukur nilai kadar airnya dengan menggunakan *Moisture Content Analyzer* merk Mettler Toledo HC103.

Moisture Content Analyzer merupakan instrumen yang bekerja menggunakan prinsip analisa *thermogravimetric*. Prinsip dari *thermogravimetric* ialah menentukan perbedaan berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan dengan menggunakan penyerapan gelombang Inframerah yang berasal dari lampu Halogen. Analisis dengan menggunakan instrumen ini memiliki keunggulan yakni cara pengoperasian yang mudah, tidak memerlukan desikator, meminimalisir terjadinya *human error* saat menimbang sampel, serta dapat memberikan hasil yang akurat dengan waktu yang sangat singkat (Mettler Toledo, 2015).

Penentuan kadar air ini dilakukan dengan cara menimbang simplisia sebanyak 500 mg pada *sample pan* lalu dipanaskan menggunakan halogen dengan suhu 105° C, lalu akan muncul nilai kadar air dalam satuan persentase (%) pada instrumen. Penentuan kadar air tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk mengurangi galat pengukuran. Hasil dari penentuan kadar air disajikan pada tabel 5.1 berikut ini:

Tabel 5.1 Hasil Penentuan Kadar Air Simplisia Daun *C. cainito*

Sampel	Replikasi	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Simplisia daun <i>C. cainito</i>	1	7.83	8.12
	2	8.17	
	3	8.35	

Hasil penentuan kadar air simplisia daun *C. cainito* diperoleh nilai rata-rata sebesar 8,12%. Nilai tersebut masih berada dibawah angka 10%, sehingga simplisia tersebut masih berada dalam kondisi kadar air yang baik. Proses pengeringan merupakan hal yang paling mempengaruhi nilai kadar air dalam simplisia.. Kadar air yang tinggi akan menimbulkan mikroba lebih cepat tumbuh serta terjadinya perubahan parameter organoleptis sehingga simplisia lebih cepat rusak. Menurut Depkes RI (1985) kadar air yang baik pada simplisia yakni kurang dari 10%. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya reaksi enzimatik serta untuk mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh mikroba, sehingga simplisia tersebut dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama.

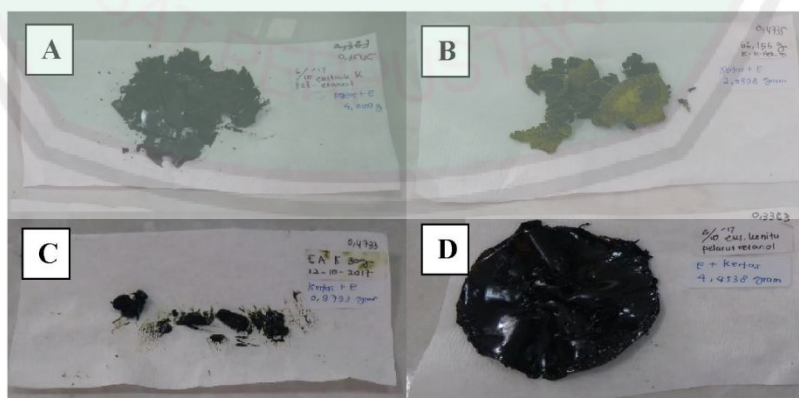
5.4 Pembuatan Ekstrak Daun *C. Cainito*

Proses ekstraksi daun *C. cainito* pada penelitian ini dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik menggunakan instrumen *Sonicator*. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk menarik keluar senyawa-senyawa yang ada dalam simplisia menggunakan prinsip *like dissolves like* agar dapat berikatan dengan pelarut. Metode ultrasonik memiliki keuntungan utama dibanding ekstraksi konvensional, yakni lebih aman digunakan untuk menarik senyawa yang tidak tahan panas, efisiensi yang lebih besar, dan waktu pengoperasian yang lebih singkat (Supardan, 2011).

Sonikator dapat mengalirkan gelombang ultrasonik melewati fase cair, sehingga menimbulkan kavitasi/gelembung mikro pada fase cair. Gelembung ini tumbuh dengan menyerap energi dari gelombang ultrasonik dan melakukan

rekompresi. Kompresi ini meningkatkan suhu dan tekanan, yang mana dapat memicu pecahnya gelembung tersebut. Dengan pecahnya gelembung tersebut maka dinding sel juga akan pecah, sehingga senyawa dalam sel akan keluar dan larut dalam pelarut (Hemwimol, 2006).

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang dilakukan secara satu tahap beserta pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol yang dilakukan secara bertingkat dengan perbandingan 1:10 [b/v], yang mana jumlah simplisia sebanyak 30 gram dilarutkan kedalam 500 ml pelarut. Etanol 96% digunakan dalam ekstraksi satu tahap karena etanol memiliki rantai karbon nonpolar dan gugus hidroksil sehingga dapat larut baik bersama senyawa nonpolar maupun senyawa polar (Fardhyanti dan Riski, 2015). N-heksana sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan metanol sebagai pelarut polar digunakan secara bertingkat mulai dari pelarut non polar hingga ke polar agar senyawa yang bersifat non polar dapat tertarik keluar terlebih dahulu sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi dengan pelarut polar.



Gambar 5.3 Berbagai Ekstrak Kering Daun *C. cainito*

Keterangan:

- A** : Ekstrak kering etanol 96% daun *C. cainito*
- B** : Ekstrak kering n-heksana daun *C. cainito*
- C** : Ekstrak kering etil asetat daun *C. cainito*
- D** : Ekstrak kering metanol daun *C. cainito*

Hasil dari ekstraksi ultrasonik ini berupa ekstrak cair berwarna hijau dari masing-masing pelarut. Ekstrak yang diperoleh masih mengandung banyak pelarut, oleh karena itu perlu diuapkan kembali menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan oven untuk didapatkan ekstrak kering daun *C. cainito*. Prinsip kerja dari *vacuum rotary evaporator* adalah pemisahan menggunakan perbedaan titik didih antara pelarut dan analit yang disertai dengan perputaran dan tekanan. Tekanan dan perputaran diperlukan untuk meminimalisir kerusakan analit akibat pemanasan serta menurunkan suhu yang diperlukan untuk mempercepat penguapan pelarut, sehingga waktu yang diperlukan lebih singkat. Suhu pada *water bath* yang digunakan untuk pemanasan sebesar 50°C untuk mencegah rusaknya senyawa yang tidak tahan pada suhu tinggi. Proses penguapan tersebut dihentikan ketika volume ekstrak mencapai jumlah yang kecil dan konsistensinya berubah menjadi agak kental agar ekstrak tersebut dapat dikeluarkan dari *evaporation flask* (Abeysena dan Darrington, 2014).

Ekstrak kental tersebut perlu diuapkan lebih lanjut agar menjadi ekstrak kering dengan menggunakan oven. Tujuan dari pengeringan lebih lanjut menggunakan oven adalah untuk menguapkan sisa-sisa pelarut yang masih tertinggal dalam ekstrak. Suhu yang digunakan pada oven adalah sebesar 40% untuk mencegah rusaknya senyawa yang tidak tahan pada suhu tinggi. Ekstrak dimasukkan ke dalam oven dan ditunggu beberapa hari hingga menjadi kering. Ekstrak kering yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya. Rendemen dari berbagai ekstrak daun *C. cainito* ditampilkan pada tabel berikut ini:

Tabel 5.2 Hasil Ekstraksi Daun *C. cainito*

No	Jenis Pelarut	Berat Serbuk (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1	Etanol 96%	30,0099	4,6926	15,6420
2	N-heksana		0,7931	2,6436
3	Etil asetat	30,0350	0,2530	0,8433
4	Metanol		3,5155	11,7185

Berdasarkan data tabel tersebut, hasil rendemen yang diperoleh pada masing-masing ekstrak berbeda-beda jumlahnya. Metanol memiliki rendemen tertinggi yaitu sebesar 11,7185% dan etil asetat memiliki rendemen terendah yaitu sebesar 0,8433%. Perbedaan polaritas dari pelarut menghasilkan perbedaan jumlah rendemen dan jenis senyawa metabolit sekunder yang didapat. Perbedaan ini dapat dipengaruhi beberapa faktor antara lain metode ekstraksi yang digunakan, kondisi alamiah dari senyawa yang terkandung dalam sampel serta ukuran dari partikel sampel yang digunakan (Harborne, 1987).

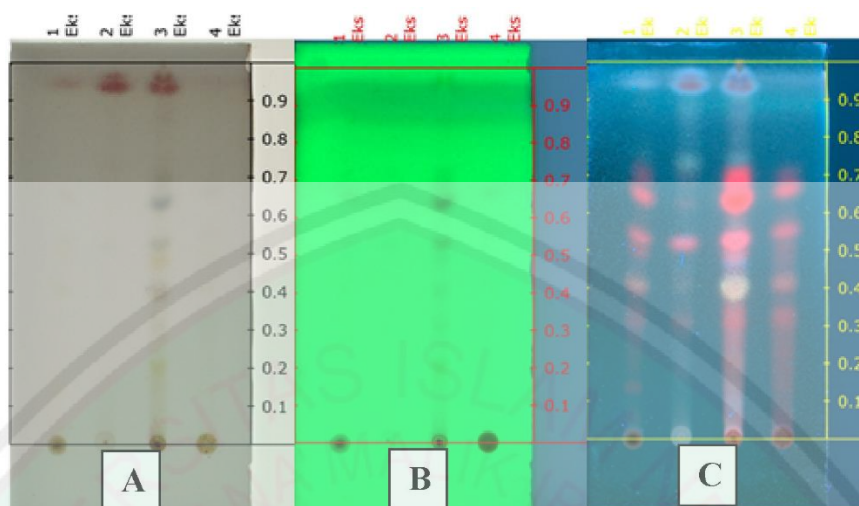
Menurut Septiana dan Asnani (2012), ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol, n-heksana, etil asetat dan metanol mampu memisahkan senyawa-senyawa penting dalam suatu tumbuhan. Perbedaan pelarut yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan kadar dan kandungan senyawa yang diekstrak, dikarenakan prinsip *like dissolves like* sehingga ada senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan.

5.5 Skrining Fitokimia Menggunakan TLC *Visualizer*

Skrining fitokimia dilakukan pada penelitian ini dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta visualisasi dengan TLC *Visualizer*. Skrining ini dilakukan untuk pendeteksian dini senyawa secara kualitatif yang terkandung

didalam masing-masing ekstrak, serta untuk memastikan golongan senyawa. Prinsip kerja dari KLT ini berdasarkan adsorpsi dan partisi dimana sampel akan berpisah berdasarkan perbedaan kepolaran antara fase diam dan fase gerak nya. Masing-masing ekstrak kering ditimbang sebanyak 10 mg untuk dilarutkan kedalam 1 ml pelarut masing-masing. Ekstrak yang telah larut selanjutnya ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan mikro pipet sebanyak 2 μ l. Eluen yang digunakan yaitu berupa campuran n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 7:3 sebanyak 10 ml. Eluen ini dipilih setelah melalui optimasi sebelumnya, dan saat dielusi dengan lempeng tersebut menunjukkan pemisahan noda yang bagus. Selanjutnya plat dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen yang telah dijenuhkan, dan ditunggu hingga eluen bergerak naik menuju tanda batas. Plat KLT diangkat setelah eluen mencapai tanda batas guna mencegah rusaknya spot yang muncul. Selanjutnya plat disemprot dengan penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan diatas TLC *Heater* dengan suhu 105° selama beberapa menit.

Penampakan noda setelah lempeng disemprot dengan H₂SO₄ 10% disebabkan karena H₂SO₄ ini bersifat reduktor yang dapat memutuskan ikatan rangkap sehingga panjang gelombangnya bertambah dan warna noda dapat dilihat. Mekanisme penampakan noda ini dapat disebabkan juga karena gugus OH yang dimiliki H₂SO₄ sehingga berfungsi sebagai ausokrom, dimana ausokrom ini dapat menyebabkan pergeseran batokromik yaitu pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih panjang pada cahaya tampak (Gandjar, 2010).



Gambar 5.4 Skrining KLT dengan *TLC Visualizer*

Keterangan:

- A** : Visualisasi plat KLT pada cahaya putih
B : Visualisasi plat KLT pada UV dengan panjang gelombang 254 nm
C : Visualisasi plat KLT pada UV dengan panjang gelombang 366 nm

Tabel 5.3 Rincian Profil KLT Berbagai Ekstrak Daun *C. cainito*

Ekstrak	No	Rf	Warna	Golongan
Etanol 96%	1	0.022	Kuning	Flavonoid
	2	0.410	Coklat	Alkaloid
	3	0.529	Hijau	Steroid
	4	0.651	Hijau kebiruan	Steroid
	5	0.942	Ungu	Terpenoid
N-heksana	1	0.021	Kuning	Flavonoid
	2	0.517	Coklat	Alkaloid
	3	0.734	Hijau kebiruan	Steroid
	4	0.922	Ungu	Terpenoid
	5	0.972	Ungu	Terpenoid
Etil asetat	1	0.025	Kuning	Flavonoid
	2	0.061	Kuning	Flavonoid
	3	0.404	Coklat	Alkaloid
	4	0.523	Hijau	Steroid
	5	0.629	Hijau kebiruan	Steroid
	6	0.919	Ungu	Terpenoid
	7	0.967	Ungu	Terpenoid
Metanol	1	0.032	Kuning	Flavonoid
	2	0.416	Coklat	Alkaloid
	3	0.544	Hijau	Steroid
	4	0.659	Hijau kebiruan	Steroid
	5	0.957	Ungu	Terpenoid

Hasil dari tabel tersebut menunjukkan pada masing-masing ekstrak daun *C. cainito* sama-sama timbul bercak berwarna kuning, coklat, hijau kebiruan, dan ungu yang menandakan bahwa dalam ekstrak tersebut mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, steroid dan terpenoid. Perbedaan profil KLT yang diperoleh dari masing-masing ekstrak hanya pada nilai Rf nya dan intensitas warna pada plat tersebut. Pemisahan senyawa yang paling bagus terdapat pada ekstrak etil asetat karena pada ekstrak etil asetat lebih banyak intensitas warna yang muncul sehingga menghasilkan spot yang lebih banyak, hal ini menandakan bahwa kombinasi eluen n-heksana dan etil asetat 7:3 cocok digunakan untuk pemisahan berbagai jenis senyawa dalam pelarut.

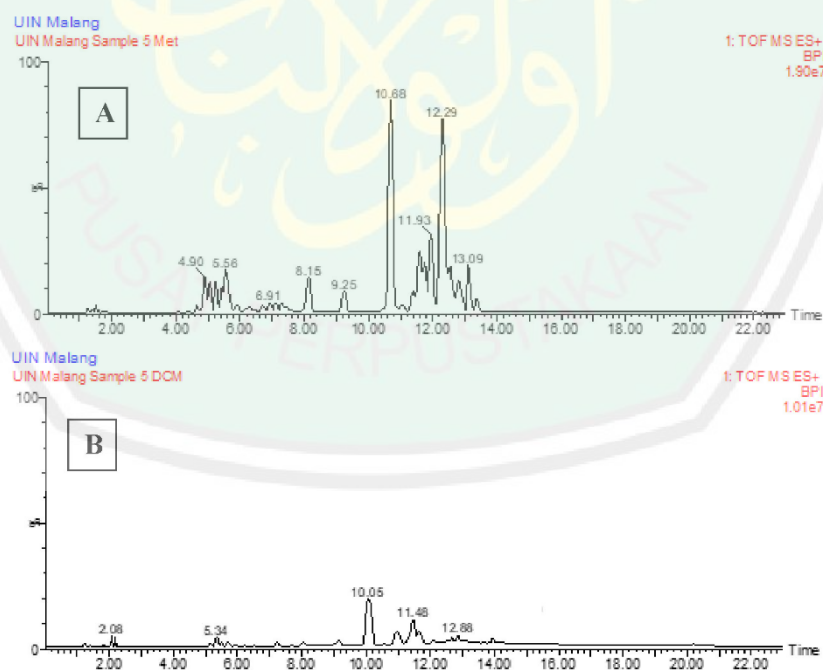
5.6 Metabolite Profiling Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS

Analisis kandungan senyawa dalam ekstrak daun *C. cainito* dilakukan dengan menggunakan instrumen UPLC-QToF-MS/MS. UPLC-QToF-MS/MS ini dipilih karena memiliki berbagai macam keunggulan antara lain resolusi yang tinggi sehingga meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa, partikel kolom yang kecil (sub-2 μ m) sehingga meningkatkan sensitivitas, *flow rate* yang lebih tinggi sehingga mengurangi waktu analisis yang dibutuhkan, tekanan yang lebih tinggi sehingga mampu memisahkan senyawa yang lebih kecil, mengurangi jumlah sampel yang dibutuhkan (Naushad dan Khan, 2014), pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat, spektra resolusi tinggi untuk konfirmasi target dan senyawa yang tidak diketahui serta memperoleh hasil yang lebih cepat tanpa menurunkan resolusi massa (Zhang *et al.*, 2015).

Preparasi sampel dengan metode Ekstraksi Fase Padat (SPE) dilakukan terlebih dahulu sebelum sampel diinjeksikan kedalam instrumen UPLC-QToF-MS/MS. Keuntungan preparasi sampel dengan SPE ini yakni memisahkan senyawa pengotor atau senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih murni sehingga menghasilkan sensitivitas spektra yang dihasilkan lebih tinggi (Simpson, 2000). Masing-masing ekstrak dilarutkan kedalam 10 ml pelarut dan dimasukkan kedalam vakum cartridge yang telah dikondisikan sehingga senyawa organik akan tertahan pada penjerap dan fase air akan keluar dari cartridge. Langkah selanjutnya masing-masing sampel yang tertinggal pada penjerap dielusi dengan metanol sebanyak 10 ml dan ditampung filtratnya. Masing-masing sampel tersebut direkonstitusi atau dielusi kembali menggunakan diklorometan sebanyak 10 ml dan ditampung filtratnya. Filtrat dari metanol dan diklorometan inilah yang akan diinjeksikan kedalam instrumen UPLC-QToF-MS/MS.

Masing-masing ekstrak yang telah dipreparasi dengan metanol dan diklorometan diinjeksikan kedalam instrumen UPLC-QToF-MS/MS sebanyak 5 μ l menggunakan *micro syringe*. Hasil pertama yang diperoleh yakni berupa kromatogram. Kromatogram diperoleh setelah sampel memasuki kolom dan terjadi proses pemisahan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak hingga senyawa-senyawa tersebut melewati detektor. Fase diam/kolom yang digunakan pada instrumen ini berupa C18/ODS(*octadecyl silane*), sedangkan fase gerak/eluen yang digunakan pada instrumen ini berupa kombinasi eluen A (air : asam format 99,9:0,1 [v/v]) dan eluen B (asetonitril : asam format 99,9:0,1 [v/v]) dengan metode elusi gradien, yang artinya perbandingan kedua eluen tersebut berubah-ubah tiap satuan

waktu yang ditentukan. C18 digunakan sebagai fase diam karena pada bagian permukaan ikatan silika lebih bebas mengadsorpsi senyawa dalam kadar air yang tinggi pada fase gerak, sedangkan kombinasi air, asetonitril, asam format dapat meningkatkan kelarutan senyawa dan membantu mengurangi resiko kerusakan pada kolom yang digunakan (Gritti dan Guiochon, 2005). Kromatografi pada penelitian ini menggunakan sistem “*reversed phase*” yakni fase diam yang bersifat non-polar dan fase gerak yang bersifat polar sehingga senyawa yang muncul pada kromatogram di awal waktu retensi adalah senyawa yang bersifat polar dan semakin lama waktu retensi maka senyawa yang muncul akan semakin non-polar (Venn, 2008). Berikut ini merupakan hasil kromatogram dari masing-masing ekstrak dengan preparasi metanol dan diklorometan.

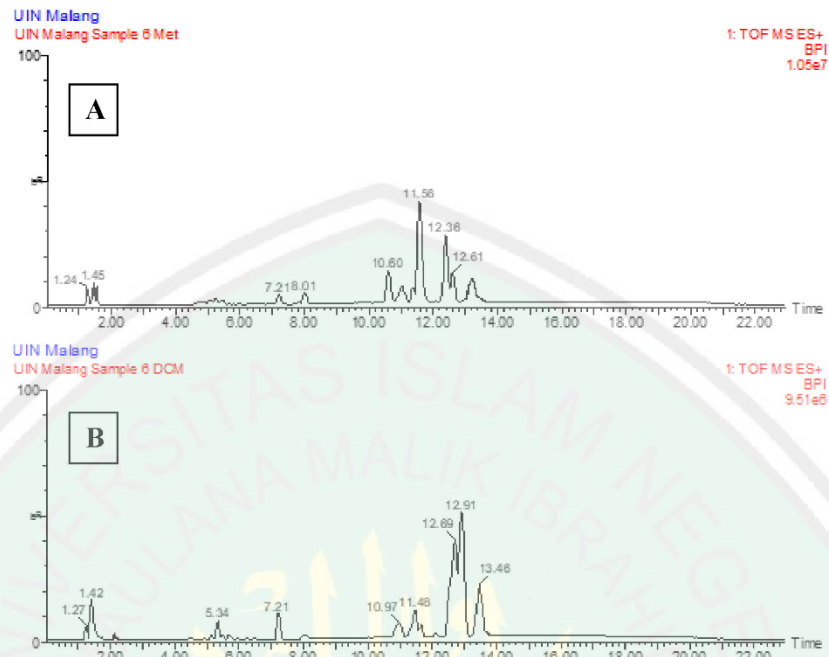


Gambar 5.5 Hasil Kromatogram Ekstrak Etanol 96% Daun *C. cainito*

Keterangan:

A : Kromatogram dengan preparasi metanol

B : Kromatogram dengan preparasi diklorometan

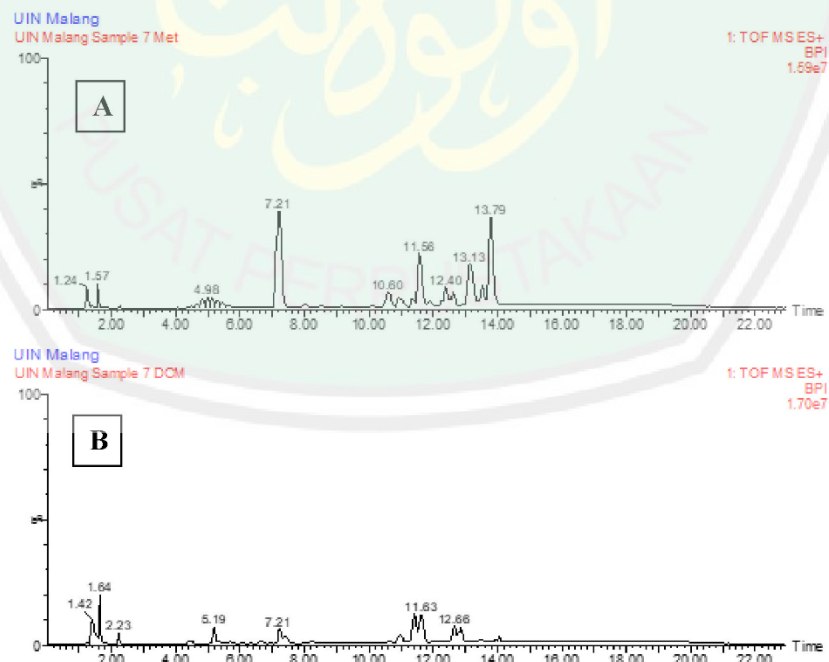


Gambar 5.6 Hasil Kromatogram Ekstrak N-heksana Daun *C. cainito*

Keterangan:

A : Kromatogram dengan preparasi metanol

B : Kromatogram dengan preparasi diklorometan

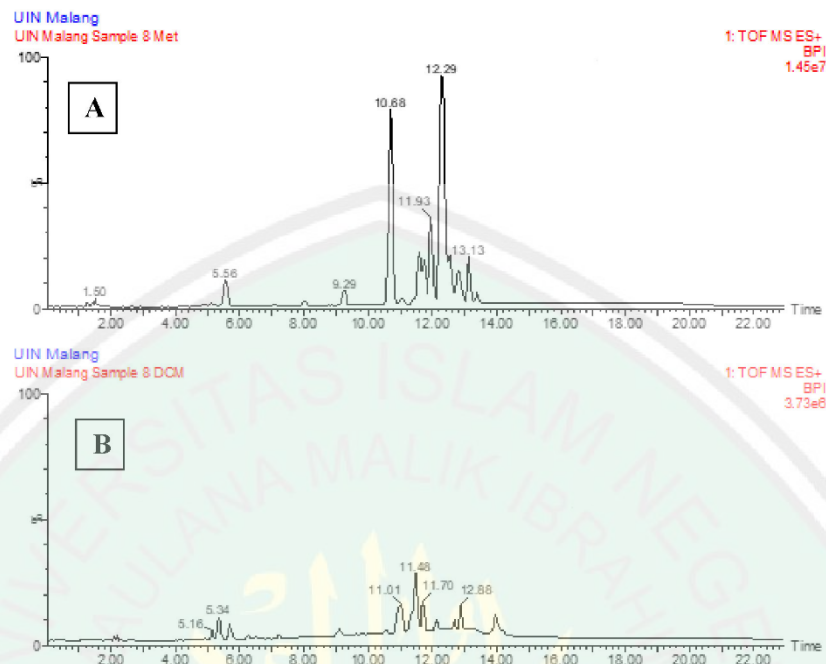


Gambar 5.7 Hasil Kromatogram Ekstrak Etil asetat Daun *C. cainito*

Keterangan:

A : Kromatogram dengan preparasi metanol

B : Kromatogram dengan preparasi diklorometan



Gambar 5.8 Hasil Kromatogram Ekstrak Metanol Daun *C. cainito*

Keterangan:

A : Kromatogram dengan preparasi metanol

B : Kromatogram dengan preparasi diklorometan

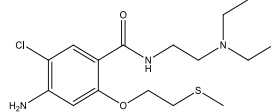
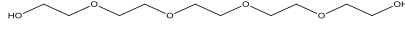
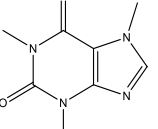
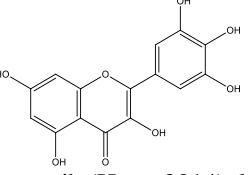
Sampel yang telah dipisahkan pada UPLC akan memasuki sistem MS dengan diionisasi terlebih dahulu menggunakan metode ESI positif. Pada ESI, molekul disemprotkan dari kapiler menuju ke *chamber* pengionisasi melewati arus listrik tinggi sehingga molekul sampel menjadi tetesan dalam bentuk proton yang semakin mengecil lalu akan menguap menjadi fase gas dan terpisah dengan molekul pelarut. Selanjutnya molekul-molekul yang telah terionisasi akan diseleksi dan dipisahkan menggunakan *mass analyzer* jenis *Quadrupole* dan *Time of Flight*. Prinsip dari *Quadrupole* ini dengan membuat medan gelombang elektrostatis menggunakan arus dc dan frekuensi radio pada area diantara keempat tiang yang disusun secara paralel. Ion yang memiliki m/z terlalu kecil atau terlalu besar akan mengalami ketidakstabilan gelombang dan tidak mampu mencapai detektor. Sedangkan prinsip dari *Time of Flight* ini berdasarkan perbedaan kecepatan ion

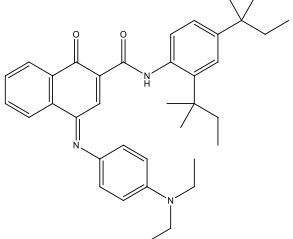
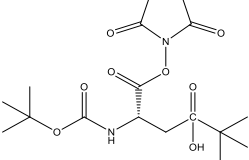
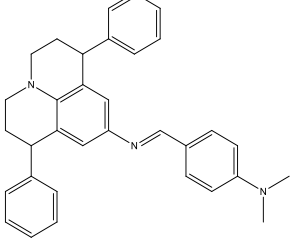
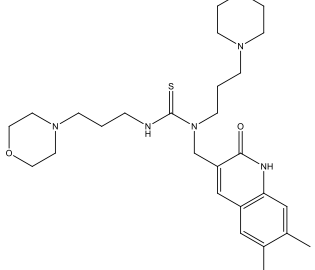
dalam mencapai detektor dengan energi kinetik yang sama. Ion yang lebih ringan akan lebih cepat mencapai detektor dan sebaliknya, ion yang lebih berat akan lebih lama untuk mencapai detektornya (Pavia, 2009). Hasil dari pemisahan sampel tersebut akan ditampilkan dalam bentuk spektra pada tiap peak yang terdeteksi.

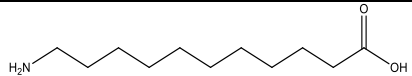
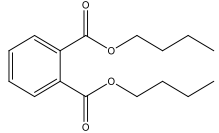
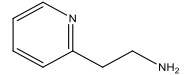
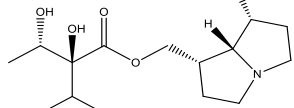
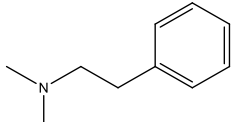
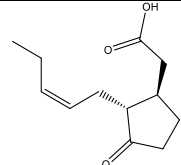
Software *Masslynx* versi 4.1 dapat digunakan untuk mengolah dan menginterpretasikan kromatogram dan spektra tersebut guna mengetahui massa senyawa dan memprediksi rumus molekul dari senyawa yang telah ditemukan. *Measured mass* merupakan massa yang ditemukan dari senyawa yang diidentifikasi, sedangkan *calculated mass* merupakan massa tepat dari suatu rumus formula. *Measured mass* dan *calculated mass* tidak harus sama persis, akan tetapi ada batas tolerir untuk rumus molekul tersebut dapat dikatakan sebagai rumus molekul dari peak tersebut, yakni apabila selisih antara keduanya sebesar $\leq 0,00055$ Da (Brenton dan Godfrey, 2010).

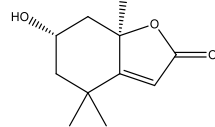
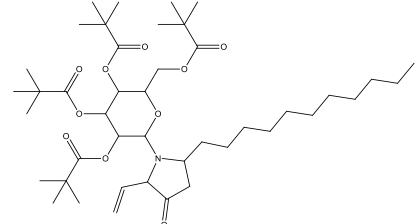
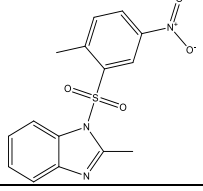
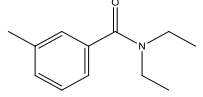
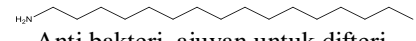
Pencarian nama senyawa berdasarkan rumus molekul yang telah diketahui tersebut dapat diakses melalui website *chemspider* dengan mengurangi 1 atom H pada rumus molekul terlebih dahulu. Hal tersebut dikarenakan molekul akan terprotonasi dengan 1 atom H dalam proses ionisasi ESI positif, sehingga jumlah massa yang diketahui juga dikurangi sebesar 1,00782 Da. Setelah diketahui nama senyawa dari rumus molekul yang ditemukan, maka dilakukan penggambaran struktur senyawa tersebut menggunakan software *Chemdraw Ultra* versi 12.0. Penentuan persentase area juga dilakukan dengan cara membagi luas area peak tersebut dengan luas area dari keseluruhan peak lalu dikali dengan 100%. Hasil dari interpretasi data masing-masing ekstrak akan disajikan dalam tabel berikut ini.

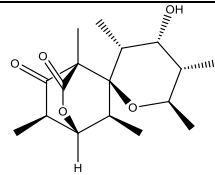
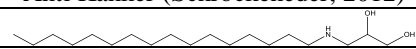
Tabel 5.4 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol 96% Daun *C. cainito* dengan UPLC-MS

Preparasi Metanol								
NO	RT	% Area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	1.500	0,5829%	359,1431	359,1435	C ₁₆ H ₂₆ N ₃ O ₂ SCl	4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfanyl)ethoxy]benzamide	Amida	
2	2.667	0,0996%	124,9790	-	-	UNKNOWN		-
3	4.382	0,1101%	238,1420	238,1417	C ₁₀ H ₂₂ O ₆	“Pentaethylene glycol” 3,6,9,12-Tetraoxatetradecane-1,14-diol	Alkohol	
4	4.645	0,5183%	299,1947	299,1944	C ₁₂ H ₂₉ NO ₇	UNKNOWN		-
5	4.896	3,0941%	194,0808	194,0804	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	“Caffeine” 1,3,7-Trimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione	Alkaloid purin	 Neurodegeneratif (Akomolafe,2017) meningkatkan produksi estradiol pada ovarian (Kwak,2017)
6	5.228	2,6907%	431,2734	431,2731	C ₁₆ H ₂₉ N ₁₅	UNKNOWN		-
7	5.559	7,2157%	318,0378	318,0376	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	“Myricetin” 3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one	Flavonoid	 Estrogenik (Hong,2014) dan Renoprotektif (Kandasamy, 2014)

8	5.891	0,7804%	563,3516	563,3512	C ₃₇ H ₄₅ N ₃ O ₂	(4E)-N-[2,4-Bis(2-methyl-2-butanyl)phenyl]-4-[[4-(diethylamino)phenyl]imino]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	Amida	
9	6.291	0,9429%	386,1693	386,1689	C ₁₇ H ₂₆ N ₂ O ₈	1-(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl) 4-(2-methyl-2-propanyl) N-[[2-(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]-L-aspartate	Asam Amino	
10	6.691	0,6842%	471,2680	471,2675	C ₃₃ H ₃₃ N ₃	4-{(E)-[(1,7-Diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)imino]methyl}-N,N-dimethylaniline	Anilin	
11	6.908	1,0304%	515,2933	515,2930	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	1-[(6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinolinyl)methyl]-1,3-bis[3-(4-morpholinyl)propyl]thiourea	Amida	
12	7.126	1,0018%	559,3206	559,3204	C ₂₂ H ₃₇ N ₁₅ O ₃	UNKNOWN		-

1	2.084	4,1525%	201,1724	201,1729	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid	Asam amino	
2	3.215	0,1978%	278,1516	278,1518	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Ester	 Antibakteri (Khatiwora 2012), glikosidase inhibitor (Lee 2000), estrogenik (Harris 1997)
3	4.199	6,3960%	122,0841	122,0844	C ₇ H ₁₀ N ₂	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	Amina	
4	4.462	0,4560%	301,1892	301,1889	C ₁₅ H ₂₇ NO ₅	“Megalanthoine” [(1S,7R,7aR)-7-Hydroxyhexahydro-1H-pyrrolizin-1-yl]methyl (2S,3S)-2,3-dihydroxy-2-isopropylbutanoate	Alkaloid pirolizidin	 Anti jamur (Reina 1998)
5	4.930	0,2423%	299,1939	299,1944	C ₁₂ H ₂₉ NO ₇	UNKNOWN		-
6	5.113	1,1702%	343,2193	343,2193	C ₁₁ H ₂₅ N ₁₁ O ₂	UNKNOWN		-
7	5.342	3,3256%	149,1201	149,1205	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Turunan Alkaloid	 TAAR1 agonis pada manusia (Wainscott, 2007)
8	5.708	1,6608%	210,1253	210,1256	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	“Jasmonic acid” {(1R,2R)-3-Oxo-2-[(2Z)-2-penten-1-yl]cyclopentyl}acetic acid	Asam organik	 Antimalaria (Zhai,2014)
9	6.508	0,1919%	607,3782	607,3779	C ₂₆ H ₅₇ NO ₁₄	UNKNOWN		-

10	7.206	1,6855%	196,1098	196,1100	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	<p>“Loliolide” (6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one</p>	Mono-terpenoid	 <p>Antioksidan (Yang,2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)</p>
11	9.184	3,0011%	763,5230	763,5235	C ₄₃ H ₇₃ NO ₁₀	1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)hexopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone	Amina	
12	10.053	34,9810%	331,0627	331,0627	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	<p>“BI6015” 2-Methyl-1-[(2-methyl-5-nitrophenyl)sulfonyl]-1H-benzimidazole</p>	Amida	
13	10.567	0,2265%	119,0939	-	-	UNKNOWN		-
14	10.967	8,1775%	191,1311	191,1310	C ₁₂ H ₁₇ NO	<p>“Diethyltoluamide” N,N-Diethyl-3-methylbenzamide</p>	Amida	 <p>Pengusir serangga (Ditzen, 2008)</p>
15	11.482	15,2609%	241,2771	241,2770	C ₁₆ H ₃₅ N	<p>“Cetylamine” 1-Hexadecanamine</p>	Amina	 <p>Anti bakteri, ajuvan untuk difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood 2012)</p>
16	11.665	5,8381%	287,2812	-	-	UNKNOWN		-

17	12.111	1,5154%	310,1782	310,1780	C ₁₇ H ₂₆ O ₅	“Portentol” (1S,2S,3S,3'R,4R,4'R,5'S,6'R,8R)-4'- Hydroxy-1,3,3',5',6',8- hexamethyltetrahydro-6H,7H- spiro[5-oxabicyclo[2.2.2]octane-2,2'- pyran]-6,7-dione	Poliketida	 Anti Kanker (Schröckeneder, 2012)
18	12.659	4,2821%	315,3138	315,3138	C ₁₉ H ₄₁ NO ₂	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	Alkohol	
19	12.877	5,5344%	303,2935	-	-	UNKNOWN		-
20	13.940	1,7043%	401,3496	-	-	UNKNOWN		-



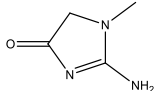
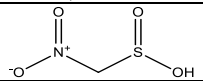
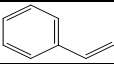
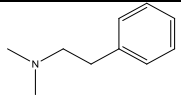
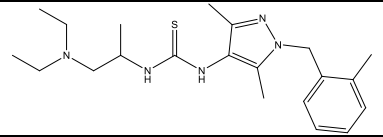
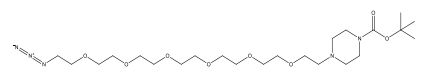
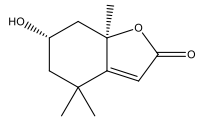
Berdasarkan profil metabolit pada tabel 5.4 tersebut, diketahui bahwa pada ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol terdapat 16 senyawa beserta 5 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya, sedangkan pada preparasi menggunakan diklorometan terdapat 13 senyawa beserta 7 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya. Dengan demikian total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* berjumlah 29 senyawa beserta 12 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya.

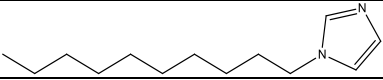
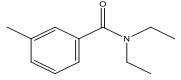
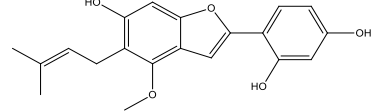
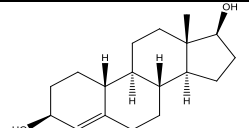
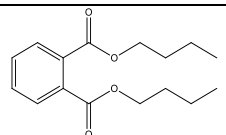
Senyawa mayor pada ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol adalah senyawa *4-[2-(Isopropylamino)-2-oxoethoxy]-3-methoxy-N-[2-(1-piperazinyl)ethyl]benzamide hydrochloride* dengan persentase area sebanyak 33,3049%, sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni *Lauryl diethanolamine* dengan persentase area sebanyak 25,1743% dan *Safingol* dengan persentase area sebanyak 8,3917%. Berdasarkan literatur, senyawa *Lauryl diethanolamine* memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* (Lambert, 1977).

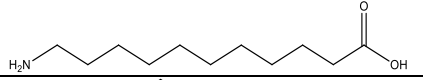
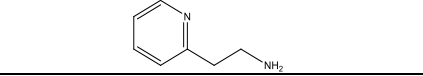
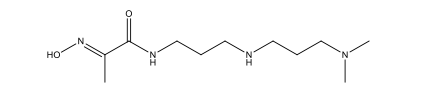
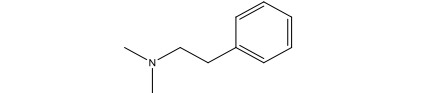
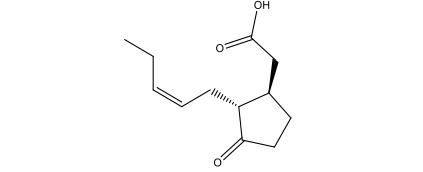
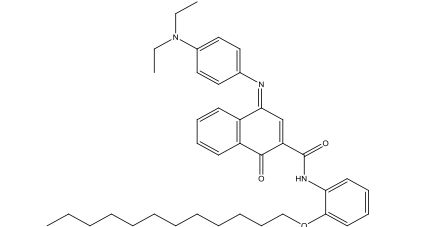
Senyawa mayor dengan preparasi menggunakan diklorometan adalah senyawa *2-Methyl-1-[(2-methyl-5-nitrophenyl)sulfonyl]-1H-benzimidazole* dengan persentase area sebanyak 34,9810%, sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni *Cetylamine* dengan persentase area sebanyak 15,2609% dan *Diethyltoluamide* dengan persentase area sebanyak 8,1775%. Berdasarkan literatur, senyawa *Cetylamine* memiliki aktivitas sebagai anti bakteri (Attwood, 2012) dan senyawa *Diethyltoluamide* memiliki aktivitas sebagai pengusir serangga (Ditzen, 2008).

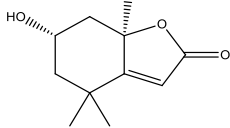
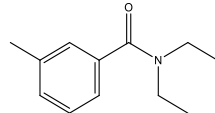
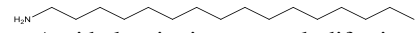
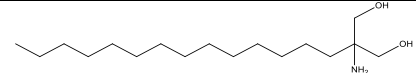
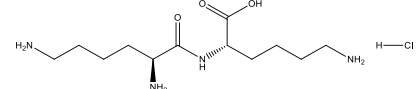
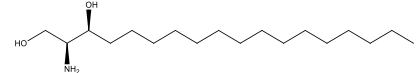
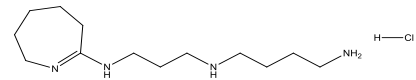
Beberapa senyawa yang telah ditemukan dalam ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* memiliki aktivitas estrogenik berdasarkan literatur, antara lain: Caffeine dengan persentase area sebesar 3,0941% (Kwak,2017), Myricetin dengan persentase area sebesar 7,2157% (Hong,2014), dan *Dibutyl phthalate* dengan persentase area sebesar 0,1978% (Harris 1997). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* dapat bermanfaat sebagai fitoestrogen. Serta beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker berdasarkan literatur juga ditemukan, antara lain: Safingol dengan persentase area sebesar 8,3917% (Dickson,2011), Loliolide dengan persentase area sebesar 1,6855% (Yang, 2011), Portentol dengan persentase area sebesar 1,5154% (Schröckeneder, 2012).

Tabel 5.5 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak N-heksana Daun *C. cainito* dengan UPLC-MS

Preparasi Metanol								
NO	RT	% area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	1.455	13,8483%	113,0588	113,0589	C ₄ H ₇ N ₃ O	“Creatinine” 2-Amino-1-methyl-1,5-dihydro-4H-imidazol-4-one	Keton	 Antikanker (Sreekumar, 2009), antibakteri (McDonald, 2012)
2	2.632	2,9314%	124,9788	125,9783	CH ₃ NO ₄ S	Nitromethanesulfinic acid	Asam organik	
3	4.427	0,0922%	104,0622	104,0626	C ₈ H ₈	“Styrene” Ethenylbenzene	Turunan benzen	
4	4.862	5,3085%	149,1201	149,1205	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Turunan Alkaloid	 TAAR1 agonis pada manusia (Wainscott, 2007)
5	5.045	5,1965%	387,2459	387,2457	C ₂₁ H ₃₃ N ₅ S	1-[1-(Diethylamino)-2-propanyl]-3-[3,5-dimethyl-1-(2-methylbenzyl)-1H-pyrazol-4-yl]thiourea	Turunan benzen	
6	5.662	0,9137%	519,3268	519,3268	C ₂₃ H ₄₅ N ₅ O ₈	2-Methyl-2-propanyl 4-(20-azido-3,6,9,12,15,18-hexaoxaicos-1-yl)-1-piperazinecarboxylate	Ester	
7	7.206	8,1337%	196,1101	196,1100	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	“Loliolide” (6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one	Mono-terpenoid	

								Antioksidan (Yang,2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)
8	7.823	1,1308%	208,1937	208,1940	C ₁₃ H ₂₄ N ₂	“decylimidazole” 1-Decyl-1H-imidazole	Nitrogen alifatik	
9	9.870	1,5462%	120,0941	-	-	UNKNOWN		-
10	10.018	0,4913%	121,0941	-	-	UNKNOWN		-
11	10.167	0,3162%	122,094	-	-	UNKNOWN		-
12	10.601	30,6104%	191,1315	191,1310	C ₁₂ H ₁₇ NO	“Diethyltoluamide” N,N-Diethyl-3-methylbenzamide	Amida	 Pengusir serangga (Ditzen, 2008)
13	11.379	8,1734%	340,1313	340,1311	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	“Licocoumarone” 4-[6-Hydroxy-4-methoxy-5-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1-benzofuran-2-yl]-1,3-benzenediol	Flavonoid	 Antioksidan, antimikroba (Harborne, 1994), Anti asam urat (Lim, 2016)
14	13.208	21,3075%	276,2090	276,2090	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	“Bolandiol” (3β,17β)-Estr-4-ene-3,17-diol	Steroid	 Estrogenik , Androgenik, Progesteronik (Attardi, 2010)
Preparasi Diklorometan								
NO	RT	% area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	0.837	0,7233%	278,1517	278,1518	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Ester	

								Antibakteri (Khatiwora 2012), glikosidase inhibitor (Lee 2000), estrogenik (Harris 1997)
2	2.118	1,6886%	201,1727	201,1729	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid	Asam amino	
3	4.130	0,7668%	122,0839	122,0844	C ₇ H ₁₀ N ₂	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	Amina	
4	4.530	0,9478%	242,1746	242,1743	C ₁₁ H ₂₄ N ₄ O ₂	(2E)-N-(3-[[3-(Dimethylamino)propyl]amino]propyl)-2-(hydroxyimino)propanamide	Amida	
5	4.679	0,1884%	383,7632	383,7632	C ₅ H ₇ PSCl ₅ Br	UNKNOWN		-
6	4.930	0,2903%	299,1932	299,1931	C ₉ H ₂₁ N ₁₁ O	UNKNOWN		-
7	5.159	1,5941%	162,0673	162,0672	C ₅ H ₁₁ N ₄ Cl	UNKNOWN		-
8	5.342	6,8849%	149,1202	149,1205	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Turunan Alkaloid	 TAAR1 agonis pada manusia (Wainscott, 2007)
9	5.662	1,7719%	210,1254	210,1256	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	“Jasmonic acid” {(1R,2R)-3-Oxo-2-[(2Z)-2-penten-1-yl]cyclopentyl}acetic acid	Asam organik	 Antimalaria (Zhai,2014)
10	6.508	0,3731%	607,3775	607,3774	C ₃₉ H ₄₉ N ₃ O ₃	(4Z)-4-[[4-(Diethylamino)phenyl]imino]-N-[2-(dodecyloxy)phenyl]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	Amida	

11	7.206	11,9257%	196,1098	196,11	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	“Loliolide” (6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one	Mono-terpenoid	 <p>Antioksidan (Yang,2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)</p>
12	10.967	12,6469%	191,1307	191,1310	C ₁₂ H ₁₇ NO	“Diethyltoluamide” N,N-Diethyl-3-methylbenzamide	Amida	 <p>Pengusir serangga (Ditzen, 2008)</p>
13	11.482	17,9960%	241,2767	241,2770	C ₁₆ H ₃₅ N	“Cetylamine” 1-Hexadecanamine	Amina	 <p>Anti bakteri, ajuvan untuk difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood 2012)</p>
14	11.665	4,5139%	287,2829	287,2825	C ₁₇ H ₃₇ NO ₂	2-Amino-2-tetradecyl-1,3-propanediol	Alkohol	
15	12.111	1,5793%	310,1773	310,1772	C ₁₂ H ₂₇ N ₄ O ₃ Cl	Lysyllysine hydrochloride	Asam amino	
16	12.294	1,0056%	301,2976	301,2981	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	“Safingol” (2S,3S)-2-Amino-1,3-octadecanediol	Sphingolipid	 <p>Anticancer (Dickson,2011)</p>
17	13.460	35,1036%	276,2084	276,2081	C ₁₃ H ₂₉ N ₄ Cl	N-[3-(3,4,5,6-Tetrahydro-2H-azepin-7-ylamino)propyl]-1,4-butanediamine hydrochloride	Amina	

Berdasarkan interpretasi data tabel 5.5 tersebut, diketahui bahwa pada ekstrak n-heksana daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol terdapat 11 senyawa beserta 3 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya, sedangkan pada preparasi menggunakan diklorometan terdapat 14 senyawa beserta 3 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya. Dengan demikian total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksana daun *C. cainito* berjumlah 22 senyawa beserta 6 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya.

Senyawa mayor pada ekstrak n-heksana daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol adalah senyawa *Diethyltoluamide* dengan persentase area sebanyak 30,6104%, sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni Bolandiol dengan persentase area sebanyak 21,3075% dan Creatinine dengan persentase area sebanyak 13,8483%. Berdasarkan literatur, senyawa *Diethyltoluamide* memiliki aktivitas sebagai pengusir serangga (Ditzen, 2008).

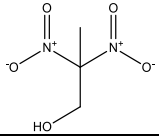
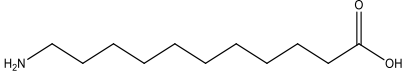
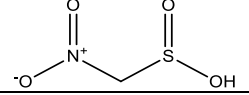
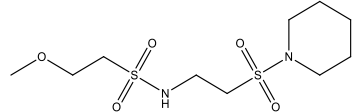
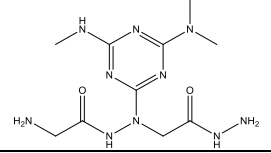
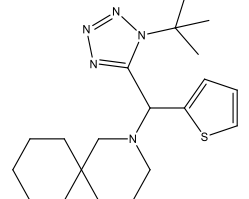
Senyawa mayor dengan preparasi menggunakan diklorometan adalah senyawa *N-[3-(3,4,5,6-Tetrahydro-2H-azepin-7-ylamino) propyl]-1,4-butanediamine hydrochloride* dengan persentase area sebesar 35,1036%, sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni senyawa *Cetylamine* dengan persentase area sebesar 17,9960%, serta *Diethyltoluamide* dengan persentase area sebesar 12,6469%.

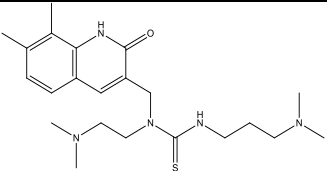
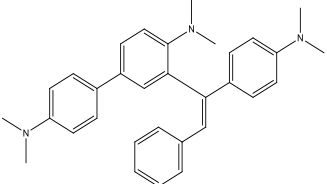
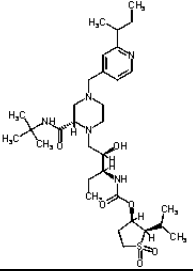
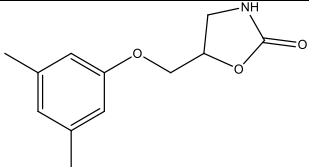
Beberapa senyawa yang telah ditemukan dalam ekstrak n-heksana daun *C. cainito* memiliki aktivitas estrogenik berdasarkan literatur, antara lain: Bolandiol dengan persentase area sebesar 21,3075% (Attardi, 2010), dan *Dibutyl phthalate*

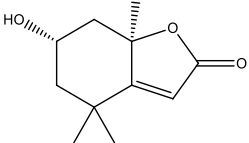
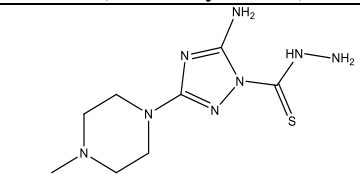
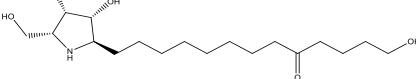
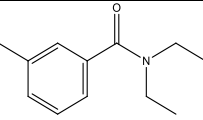
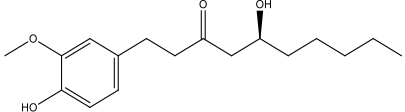
dengan persentase area sebesar 0,7233% (Harris, 1997). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun *C. cainito* dapat bermanfaat sebagai fitoestrogen. Serta beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker berdasarkan literatur juga ditemukan, antara lain: Creatinine dengan persentase area sebesar 13,8483,% (Sreekumar, 2009), Loliolide dengan persentase area sebesar 20,0594% (Yang, 2011), Licocoumarone dengan persentase area sebesar 8,1734% (Harborne, 1994), Safingol dengan persentase area sebesar 1,0056% (Dickson, 2011).

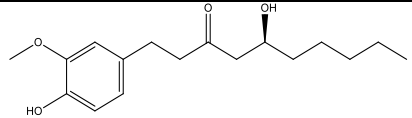
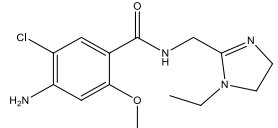
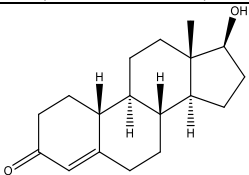
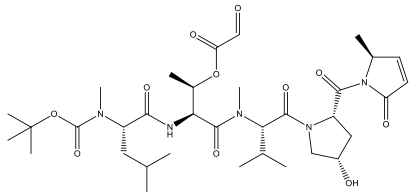


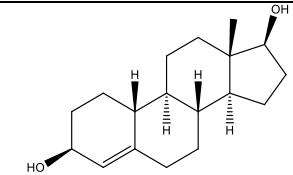
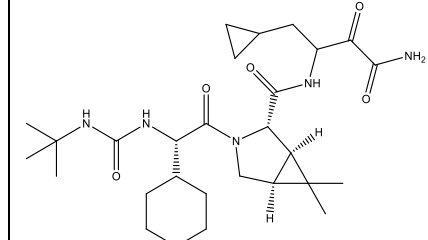
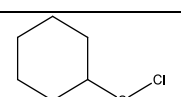
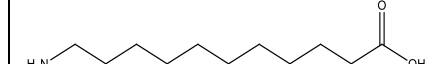
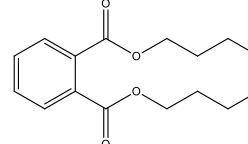
Tabel 5.6 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Etil asetat Daun *C. camito* dengan UPLC-MS

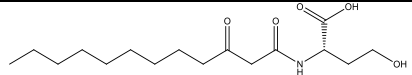
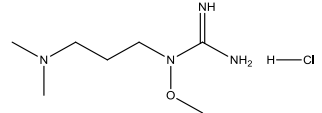
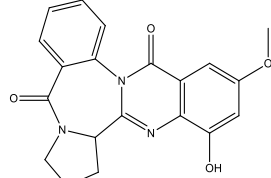
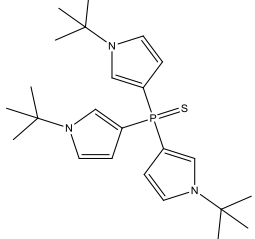
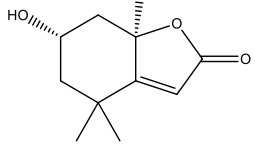
Preparasi Metanol								
No	RT	% area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	1.237	2,1179%	150,0275	150,0277	C ₃ H ₆ N ₂ O ₅	2,2-Dinitro-1-propanol	Alkohol	
2	1.386	0,2413%	119,0936	-	-	UNKNOWN	-	-
3	1.569	2,0502%	201,1726	201,1729	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic Acid	Asam amino	
4	3.730	0,6056%	124,9786	124,9783	CH ₃ NO ₄ S	Nitromethanesulfinic Acid	Asam organik	
5	4.062	0,0764%	314,0969	314,0970	C ₁₀ H ₂₂ N ₂ O ₅ S ₂	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonyl amide	Amida	
6	4.496	0,3605%	312,1766	312,1771	C ₁₀ H ₂₀ N ₁₀ O ₂	2-Amino-N'-[4-(dimethylamino)-6-(methylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]-N'-(2-hydrazino-2-oxoethyl)acetohydrazide	Amida	
7	4.645	0,6812%	472,2300	472,2300	C ₂₀ H ₃₁ N ₅ S	2-[[1-(2-Methyl-2-propanyl)-1H-tetrazol-5-yl](2-thienyl)methyl]-2-azaspiro[5.5]undecane	Nitrogen alifatik	

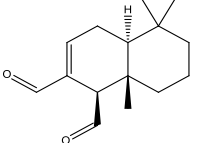
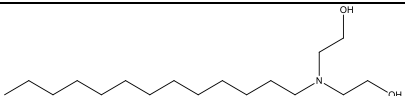
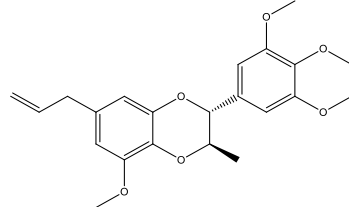
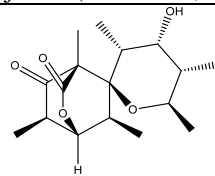
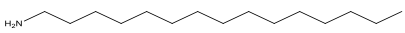
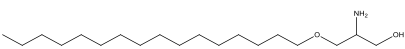
8	4.828	1,4675%	417,2566	417,2563	C ₂₂ H ₃₅ N ₅ OS	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[(7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinolinyl)methyl]thiourea	Amina	
9	4.976	1,9775%	461,2828	461,2831	C ₃₂ H ₃₅ N ₃	3-[(Z)-1-[4-(Dimethylamino)phenyl]-2-phenylvinyl]-N,N,N',N'-tetramethyl-4,4'-biphenyldiamine	Amina	
10	5.113	1,5589%	505,3107	505,3103	C ₁₇ H ₄₄ N ₉ O ₆ Cl	UNKNOWN		-
11	5.296	1,1842%	549,3370	549,3366	C ₆ H ₃₅ N ₂₇ O ₄	UNKNOWN		-
12	5.445	0,8797%	593,3635	593,363	C ₁₆ H ₄₃ N ₂₁ O ₂ S	UNKNOWN		-
13	5.628	0,4864%	637,3875	637,3873	C ₃₂ H ₅₅ N ₅ O ₆ S	5-[(2S)-4-[(2-sec-Butyl-4-pyridinyl)methyl]-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbamoyl]-1-piperazinyl]-1,2,3,5-tetraoxo-3-[[[(2R,3R)-2-isopropyl-1,1-dioxidotetrahydro-3-thiophenyl]oxy]carbonyl]amino]-D-erythro-pentitol	Peptida	
14	5.845	0,1736%	681,4127	681,4122	C ₃₁ H ₅₁ N ₁₅ OS	UNKNOWN		-
15	6.108	0,0174%	221,1049	221,1052	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	“Metaxalone” 5-[(3,5-Dimethylphenoxy)methyl]-1,3-oxazolidin-2-one	Keton	 Relaksan otot (Trivedi, 2012)

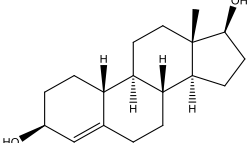
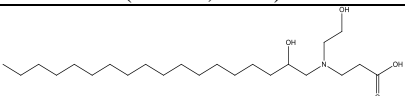
16	7.206	27,1269%	196,1095	196,1100	$C_{11}H_{16}O_3$	<p>“Loliolide” (6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one</p>	Mono-terpenoid	 <p>Antioksidan (Yang,2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)</p>
17	8.521	0,4141%	256,1217	256,1219	$C_8H_{16}N_8S$	5-Amino-3-(4-methyl-1-piperazinyl)-1H-1,2,4-triazole-1-carbothiohydrazide	Amida	
18	9.184	0,1292%	345,2511	345,2515	$C_{18}H_{35}NO_5$	<p>“Broussonetine B” 13-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)pyrrolidin-2-yl]-1-hydroxytridecan-5-one</p>	Alkaloid pirolidin	 <p>Antidiabetes (Rahman,2003)</p>
19	10.098	0,4552%	307,1983	307,1982	$C_{11}H_{21}N_{11}$	UNKNOWN		-
20	10.601	3,7308%	191,1308	191,1310	$C_{12}H_{17}NO$	<p>“Diethyltoluamide” N,N-Diethyl-3-methylbenzamide</p>	Amida	 <p>Pengusir serangga (Ditzen, 2008)</p>
21	10.933	2,6787%	294,1832	294,1831	$C_{17}H_{26}O_4$	<p>“Gingerol” (5S)-5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-decanone</p>	Fenol	 <p>Antikanker (Zhang, 2017), anti rheumatoid arthritis (Funk, 2009)</p>

22	11.379	1,0235%	340,1308	340,1311	$C_{20}H_{20}O_5$	<p>“Licocoumarone” 4-[6-Hydroxy-4-methoxy-5-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1-benzofuran-2-yl]-1,3-benzenediol</p>	Flavonoid	 <p>Antioksidan, antimikroba (Harborne, 1994), Anti asam urat (Lim, 2016)</p>
23	11.562	17,4560%	310,1199	310,1197	$C_{14}H_{19}N_4O_2Cl$	<p>“Lintopride” 4-Amino-5-chloro-N-[(1-ethyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methyl]-2-methoxybenzamide</p>	Alkaloid	 <p>Meningkatkan motilitas esofagus, mencegah mual dan muntah (Delvaux, 1995)</p>
24	11.882	1,3254%	274,1934	274,1933	$C_{18}H_{26}O_2$	<p>“Nandrolone” (17β)-17-Hydroxyestr-4-en-3-one</p>	Steroid	 <p>Androgenik, terapi pengganti testosteron (Pomara, 2015)</p>
25	12.614	2,6114%	693,3944	693,3949	$C_{34}H_{55}N_5O_{10}$	<p>(2R,3S)-4-[[[(2S)-1-[(2S,4S)-4-Hydroxy-2-[[[(2S)-2-methyl-5-oxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl]carbonyl]-1-pyrrolidinyl]-3-methyl-1-oxo-2-butanyl](methyl)amino]-3-[(N-methyl-N-[[[(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]-L-leucyl)amino]-4-oxo-2-butanyl oxoacetate</p>	Peptida	

26	13.128	11,6164%	276,2094	276,2108	$C_{18}H_{28}O_2$	“Bolandiol” (3S,8R,9S,10R,13S,14S,17S)-13-methyl-1,2,3,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthrene-3,17-diol	Steroid	 Estrogenik , Androgenik, Progesteronik (Attardi, 2010)	
27	13.791	17,5540%	531,3424	531,3421	$C_{28}H_{45}N_5O_5$	(1R,2S,5S)-N-(4-Amino-1-cyclopropyl-3,4-dioxo-2-butanyl)-3-[(2S)-2-cyclohexyl-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbonyl]amino}acetyl]-6,6-dimethyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide	Amina		
Preparasi Diklorometan									
NO	RT	% area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas	
1	1.237	0,0725%	150,0270	150,0270	$C_6H_{11}SCl$	(Chlorosulfanyl)cyclohexane	Alkana		
2	1.638	10,8435%	201,1724	201,1729	$C_{11}H_{23}NO_2$	11-Aminoundecanoic acid	Asam amino		
3	3.730	0,4403%	278,1515	278,1518	$C_{16}H_{22}O_4$	Dibutyl phthalate	Ester	 Antibakteri (Khatiwora 2012), glikosidase inhibitor (Lee 2000), estrogenik (Harris 1997)	
4	4.164	0,1412%	122,0834	-	-	-	-	-	

5	4.496	2,0220%	242,1749	242,1750	C ₄ H ₂₂ N ₁₀ S	UNKNOWN		-
6	4.930	0,1826%	299,194	299,1944	C ₁₂ H ₂₉ NO ₇	UNKNOWN		-
7	5.193	7,6120%	315,2044	315,2046	C ₁₆ H ₂₉ NO ₅	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	Asam amino	
8	5.662	1,4322%	210,1248	210,1248	C ₇ H ₁₉ N ₄ OCl	“TCMDC-142297” 1-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methoxyguanidine hydrochloride	Alkaloid guanidin	
9	6.291	0,2265%	563,3519	563,3519	C ₃₀ H ₄₅ N ₉ S	UNKNOWN		-
10	6.657	1,5976%	363,1218	263,1219	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₄	“Circumdatin E” 4-Hydroxy-2-methoxy-5b,6,7,8-tetrahydro-10H,16H-pyrrolo[2,1-c]quinazolino[3,2-a][1,4]benzodiazepine-10,16-dione	Alkaloid quinazolin	
11	6.943	0,3754%	429,2367	429,2368	C ₂₄ H ₃₆ N ₃ PS	3,3',3''-Phosphorothioyltris[1-(2-methyl-2-propanyl)-1H-pyrrole]	Alkena	
12	7.389	10,7983%	196,1097	196,1100	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	“Loliolide” (6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one	Mono-terpenoid	 Antioksidan (Yang,2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)
13	8.223	1,5944%	271,1953	-	-	UNKNOWN		-
14	10.201	0,1890%	119,0941	-	-	UNKNOWN		-

15	10.601	1,1764%	234,1616	234,162	$C_{15}H_{22}O_2$	“Polygodial” (1R,4aS,8aS)-5,5,8a-Trimethyl-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,2-naphthalenedicarbaldehyde	Sesquiterpen	 <p><i>Anti-leishmanial, anti-trypanosomal</i> (Corrêa, 2011), dan anti inflamasi (Barrosa, 2016)</p>
16	10.967	7,3301%	192,1382	-	-	UNKNOWN		-
17	11.413	15,4696%	287,2822	287,2825	$C_{17}H_{37}NO_2$	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	Alkohol	
18	11.630	17,5889%	386,1732	386,173	$C_{22}H_{26}O_6$	“Eusiderin” (2R,3R)-7-Allyl-5-methoxy-3-methyl-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxine	Lignan	 <p>Antijamur (Muhaimin, 2016)</p>
19	12.111	1,1637%	310,1775	310,178	$C_{17}H_{26}O_5$	“Portentol” (1S,2S,3S,3'R,4R,4'R,5'S,6'R,8R)-4'-Hydroxy-1,3,3',5',6',8-hexamethyltetrahydro-6H,7H-spiro[5-oxabicyclo[2.2.2]octane-2,2'-pyran]-6,7-dione	Poliketida	 <p>Anti Kanker (Schröckeneder, 2012)</p>
20	12.248	1,9526%	227,2613	227,2613	$C_{15}H_{33}N$	“Cetylamine” 1-Pentadecanamine	Amina	 <p>Anti bakteri, ajuvan untuk difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood 2012)</p>
21	12.877	15,4823%	315,3137	315,3138	$C_{19}H_{41}NO_2$	2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol	Amina	

22	13.460	1,3660%	276,2087	276,209	$C_{18}H_{28}O_2$	<p>“Bolandiol” (3S,8R,9S,10R,13S,14S,17S)-13-methyl-1,2,3,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthrene-3,17-diol</p>	Steroid	 <p>Estrogenik , Androgenik, Progesteronik (Attardi, 2010)</p>
23	13.940	0,9429%	401,3503	401,3505	$C_{23}H_{47}NO_4$	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	Asam amino	



Berdasarkan interpretasi data tabel 5.6 tersebut, diketahui bahwa pada ekstrak etil asetat daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol terdapat 21 senyawa beserta 6 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya, sedangkan pada preparasi menggunakan diklorometan terdapat 16 senyawa beserta 7 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya. Dengan demikian total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* berjumlah 34 senyawa beserta 13 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya.

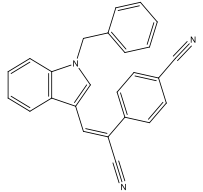
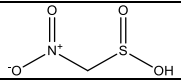
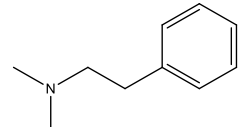
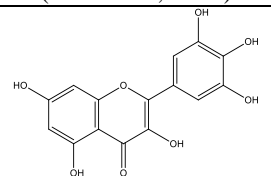
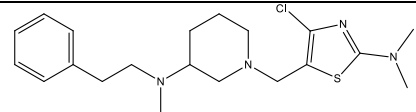
Senyawa mayor pada ekstrak etil asetat daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol adalah senyawa Loliolide dengan persentase area sebanyak 27,1269%. Sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni Lintopride dengan persentase area sebesar 17,4560% dan *(1R,2S,5S)-N-(4-Amino-1-cyclopropyl-3,4-dioxo-2-butanyl)-3-[(2S)-2-cyclohexyl-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbamoyl]amino}acetyl]-6,6-dimethyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide* dengan persentase area sebesar 17,5540%. Berdasarkan literatur, senyawa Loliolide memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Yang, 2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015).

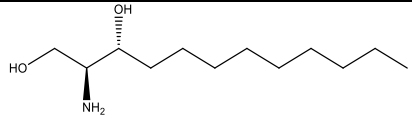
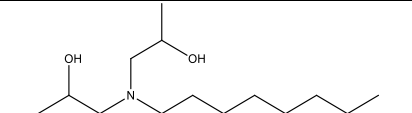
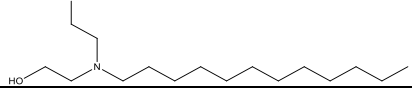
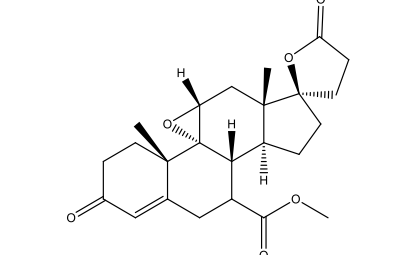
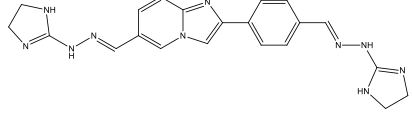
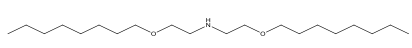
Senyawa mayor dengan preparasi menggunakan diklorometan adalah senyawa Eusiderin dengan persentase area sebanyak 17,5889%. Sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni *2,2'-(Tridecylimino)diethanol* dengan persentase area sebanyak 15,4696% dan senyawa *2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol* dengan

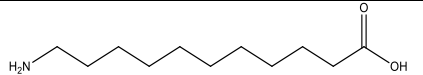
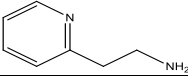
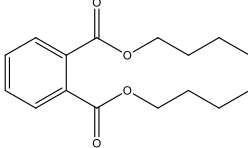
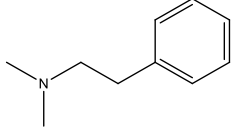
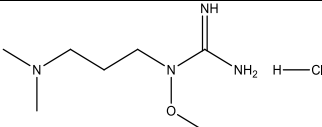
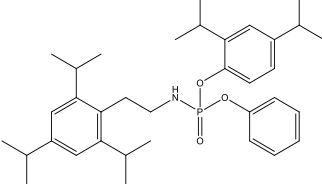
persentase area sebanyak 15,4823%. Berdasarkan literatur, senyawa Eusiderin memiliki aktivitas sebagai Antijamur (Muhaimin, 2016).

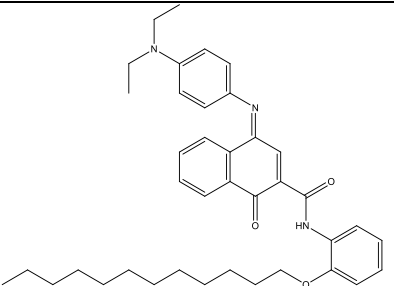
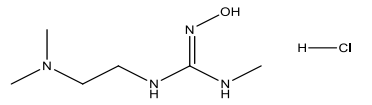
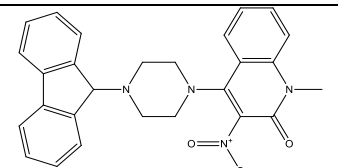
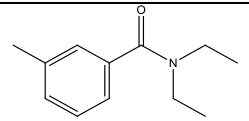

Beberapa senyawa yang telah ditemukan dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* memiliki aktivitas estrogenik berdasarkan literatur, antara lain: Bolandiol dengan persentase area sebesar 12,9824% (Attardi, 2010), dan *Dibutyl phthalate* dengan persentase area sebesar 0,4403% estrogenik (Harris 1997). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun *C. cainito* dapat bermanfaat sebagai fitoestrogen. Serta beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker berdasarkan literatur juga ditemukan, antara lain: Gingerol dengan persentase area sebesar 2,6787% (Zhang, 2017), Licocoumarone dengan persentase area sebesar 1,0235% (Harborne, 1994), Loliolide dengan persentase area sebesar 44,5829% (Yang, 2011), Polygodial dengan persentase area 1,1764% (Barrosa, 2016), Portentol dengan persentase area sebesar 1,1637% (Schröckeneder, 2012)..

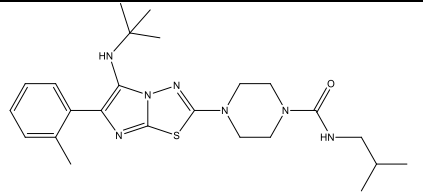
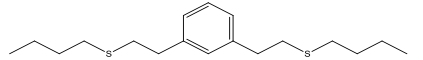
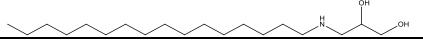
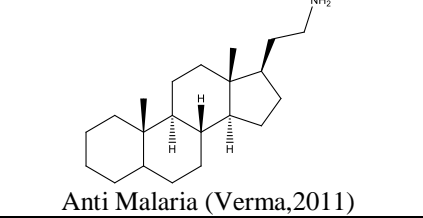
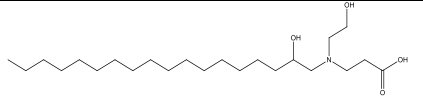
Tabel 5.7 Interpretasi Hasil Kandungan Senyawa Ekstrak Metanol Daun *C. cainito* dengan UPLC-MS

Preparasi Metanol								
NO	RT	% area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama IUPAC	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	1.500	0,8805%	359,1425	359,1423	C ₂₅ H ₁₇ N ₃	4-[(E)-2-(1-Benzyl-1H-indol-3-yl)-1-cyanovinyl]benzotrile	Turunan Benzen	
2	2.632	0,8753%	124,9788	124,9783	CH ₃ NO ₄ S	Nitromethanesulfinic acid	Asam organik	
3	5.113	0,9453%	149,1206	149,1205	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Turunan Alkaloid	 TAAR1 agonis pada manusia (Wainscott, 2007)
4	5.559	4,0277%	318,0377	318,0376	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	“Myricetin” 3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one	Flavonoid	 Estrogenik (Hong, 2014), Renoprotektif (Kandasamy, 2014)
5	7.057	0,3423%	392,1806	392,1802	C ₂₀ H ₂₉ N ₄ SCl	1-[4-Chloro-2-(dimethylamino)-1,3-thiazol-5-yl]methyl]-N-methyl-N-(2-phenylethyl)-3-piperidinamine	Amina	

6	7.572	0,0428%	217,2040	217,2042	C ₁₂ H ₂₇ NO ₂	(2S,3R)-2-Amino-1,3-dodecanediol	Alkohol	 <p>Antifungi (Thevissen,2008)</p>	
7	9.287	2,0958%	245,1359	245,1355	C ₁₄ H ₃₁ NO ₂	1,1'-(Octylimino)di(2-propanol)	Alkohol		
8	10.682	26,2093%	273,2669	273,2668	C ₁₆ H ₃₅ NO ₂	“Lauryldiethanolamine” 2-[dodecyl(2-hydroxyethyl)amino]ethanol	Alkohol		
9	11.928	9,6582%	301,2990	-	-	UNKNOWN		-	
10	12.294	45,6101%	414,2041	414,2043	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	“Eplerenone” Methyl (4aS,4bR,5aR,6aS,7R,9aS,9bR)- 4a,6a-dimethyl-2,5'-dioxo- 2,4,4',4a,5',5a,6,6a,8,9,9a,9b,10,11- tetradecahydro-3H,3'H- spiro[cyclopenta[7,8]phenanthro[4b,5- b]oxirene-7,2'-furan]-10-carboxylate	Steroid	 <p>Antihipertensi, mengurangi gangguan kardiovaskular (Delyani, 2006)</p>	
11	12.797	4,9278%	414,2032	414,2029	C ₂₁ H ₂₂ N ₁₀	6-[(E)-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-ylhydrazono)methyl]-2-{4-[(E)-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylhydrazono)methyl]phenyl}imidazo[1,2-a]pyridine	Alkaloid piridin		
12	13.128	3,8569%	329,3291	329,3294	C ₂₀ H ₄₃ NO ₂	2-(Octyloxy)-N-[2-(octyloxy)ethyl]ethanamine	Amina		
13	13.391	0,5278%	355,3445	-	-	-		-	
Preparasi Diklorometan									

NO	RT	% area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	2.084	1,5105%	201,1731	201,1729	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid	Asam amino	
2	2.667	1,7959%	122,0844	122,0844	C ₇ H ₁₀ N ₂	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	Amina	
3	3.467	1,7933%	278,1518	278,1518	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Ester	 Antibakteri (Khatiwora 2012), glikosidase inhibitor (Lee 2000), estrogenik (Harris 1997)
4	4.930	0,3597%	299,1938	-	-	UNKNOWN		-
5	5.159	1,6725%	343,2194	343,2193	C ₁₁ H ₂₅ N ₁₁ O ₂	UNKNOWN		-
6	5.342	5,5258%	149,1201	149,1205	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Turunan Alkaloid	 TAAR1 agonis pada manusia (Wainscott, 2007)
7	5.708	3,5733%	210,1244	210,1248	C ₇ H ₁₉ N ₄ OCl	“TCMDC-142297” 1-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methoxyguanidine hydrochloride	Alkaloid guanidin	
8	6.257	0,8867%	563,3529	563,3529	C ₃₅ H ₅₀ NO ₃ P	2,4-Diisopropylphenyl phenyl [2-(2,4,6-triisopropylphenyl)ethyl]phosphoramidate	Amida	

9	6.508	0,6584%	607,3777	607,3774	$C_{39}H_{49}N_3O_3$	(4Z)-4- {[4-(Diethylamino)phenyl]imino }-N-[2-(dodecyloxy)phenyl]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	Amida	
10	7.091	0,1938%	132,0931	-	-	UNKNOWN		-
11	7.206	1,0871%	196,1093	196,1091	$C_6H_{17}N_4OCl$	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-2-hydroxy-3-methylguanidine hydrochloride	Alkaloid guanidin	
12	7.640	0,3783%	215,1872	-	-	-		-
13	9.104	2,6441%	931,6243	931,6244	$C_{60}H_{86}NO_5P$	UNKNOWN		-
14	10.567	1,2769%	452,1851	452,1849	$C_{27}H_{24}N_4O_3$	4-[4-(9H-Fluoren-9-yl)-1-piperazinyl]-1-methyl-3-nitro-2(1H)-quinolinone	Alkaloid quinolin	
15	11.013	15,6351%	191,1307	191,131	$C_{12}H_{17}NO$	“Diethyltoluamide” N,N-Diethyl-3-methylbenzamide	Amida	 Pengusir serangga (Ditzen, 2008)
16	11.482	26,2540%	241,2766	241,277	$C_{16}H_{35}N$	“Cetylamine” 1-Hexadecanamine	Amina	 Anti bakteri, ajuvan untuk difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood 2012)

17	11.699	12,4096%	469,2623	469,2624	C ₂₄ H ₃₅ N ₇ O ₅	N-Isobutyl-4-{6-(2-methylphenyl)-5-[(2-methyl-2-propanyl)amino]imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazol-2-yl}-1-piperazinecarboxamide	Alkaloid	
18	12.145	2,6428%	310,1789	310,1789	C ₁₈ H ₃₀ S ₂	1,3-Bis[2-(butylsulfanyl)ethyl]benzene	Turunan benzen	
19	12.694	2,0309%	315,3143	315,3138	C ₁₉ H ₄₁ NO ₂	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	Alkohol	
20	12.877	7,1492%	303,2927	303,2926	C ₂₁ H ₃₇ N	“Aminopregnane” 2-[(8S,9S,10S,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]ethanamine	Alkaloid	 Anti Malaria (Verma,2011)
21	13.643	5,8577%	119,0939	-	-	UNKNOWN		-
22	13.940	4,6644%	401,3505	401,3505	C ₂₃ H ₄₇ NO ₄	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	Asam amino	

Berdasarkan interpretasi data tabel 5.7 tersebut, diketahui bahwa pada ekstrak metanol daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol terdapat 11 senyawa beserta 2 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya, sedangkan pada preparasi menggunakan diklorometan terdapat 16 senyawa beserta 6 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya. Dengan demikian total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun *C. cainito* berjumlah 26 senyawa beserta 8 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya.

Senyawa mayor pada ekstrak metanol daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol antara lain adalah senyawa Eplerenone dengan persentase area sebesar 45,6101%. Sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni *Lauryl diethanolamine* dengan persentase area sebesar 26,2093% dan senyawa *unknown* dengan persentase area sebesar 9,6582%. Berdasarkan literatur, senyawa Eplerenone memiliki aktivitas sebagai anti-hipertensi serta dapat mengurangi gangguan kardiovaskular (Delyani, 2006) dan senyawa *Lauryl diethanolamine* memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* (Lambert, 1977).

Senyawa mayor dengan preparasi menggunakan diklorometan adalah senyawa *Cetylamine* dengan persentase area sebesar 26,2540%, sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni *Diethyltoluamide* dengan persentase area sebesar 15,6351% dan *N-Isobutyl-4-{6-(2-methylphenyl)-5-[(2-methyl-2-propanyl)amino]imidazo[2,1b][1,3,4]thiadiazol-2-yl}-1-piperazinecarboxamide* dengan persentase area sebesar 12,4096%.

Beberapa senyawa yang ditemukan dalam ekstrak metanol daun *C. cainito* memiliki aktivitas estrogenik berdasarkan literatur, antara lain: Myricetin dengan persentase area sebesar 4,0277% (Hong,2014), dan *Dibutyl phthalate* dengan persentase area sebesar 1,7933% (Harris 1997). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *C. cainito* dapat bermanfaat sebagai fitoestrogen.

Berdasarkan hasil interpretasi profil metabolit dari berbagai ekstrak daun *C. cainito* menunjukkan bahwa pada pengidentifikasian senyawa menggunakan instrumen UPLC-QToF-MS/MS terdapat beberapa permasalahan, yakni *peak* yang tidak memiliki *calculated mass* dikarenakan selisih massa tersebut $>0,0005$ serta beberapa *peak* yang belum diketahui nama senyawa beserta strukturnya. *Peak* yang telah memiliki *calculated mass* dan rumus molekul namun belum diketahui nama dan strukturnya perlu dilakukan isolasi senyawa serta elusidasi struktur lebih lanjut guna memastikan kandungan senyawa yang sebenarnya, sedangkan *peak* yang tidak memiliki *calculated mass* kemungkinan bisa disebabkan karena beberapa faktor. Faktor pertama terkait detektor yang digunakan yang belum cukup akurat untuk mendeteksi massa sebenarnya dari suatu molekul, sehingga solusi untuk faktor pertama ini dapat diselesaikan dengan cara mengganti detektor yang lebih baik. Faktor kedua terkait metode ionisasi yang digunakan berupa ESI positif yang dapat menimbulkan kesalahan pengukuran massa sebenarnya dari suatu molekul, sehingga solusi untuk faktor kedua ini dapat diselesaikan dengan cara mengganti metode ionisasi dengan yang lebih baik. Faktor ketiga terkait kriteria penentuan selisih *measured mass* dan *calculated mass* yang terlalu kecil, sehingga solusi untuk faktor ketiga ini dapat diselesaikan dengan cara memperlebar jarak selisihnya

hingga didapatkan *calculated mass* dengan selisih terdekat. Brenton dan Godfrey (2010) menyatakan bahwa dalam melakukan pengukuran massa tidak lepas dari kesalahan, yang membedakan hanyalah tingkat dan jenis kesalahan yang dilakukan. Suatu eksperimen pengukuran terhadap massa ion molekul jenis M^+ atau molekul yang terprotonasi $[M+H]^+$ dan jenis ion lainnya diperkirakan dapat menimbulkan kesalahan dalam pengukuran massa sehingga *measured mass* yang dihasilkan dapat bernilai lebih tinggi atau lebih rendah dibandingkan dengan *calculated mass*.

Hasil profil metabolit dari berbagai ekstrak tersebut menunjukkan bahwa terdapat 3 senyawa yang sama-sama terkandung dalam masing-masing ekstrak yakni *Dibutyl phthalate*, *Diethyltoluamide*, dan *Cetylamine*. Berdasarkan aktivitas-aktivitas berbagai senyawa yang ditemukan dalam berbagai ekstrak tersebut dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan uji aktivitas pada berbagai ekstrak daun *C. cainito* guna mengetahui sinergisme aktivitas senyawa tersebut dalam bentuk ekstrak.

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 99 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا
مُتْرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ
مُتَشَبِهٍ ۗ لَّنظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu

pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.” (Q.S. Al-An’am: 99)

Menurut tafsir Quraish Shihab (2002) telah dijelaskan bahwa Allah SWT telah menurunkan air hujan dari awan untuk menumbuhkan berbagai jenis tanaman serta terdapat fase yang sedemikian rupa untuk tumbuhan tersebut dapat menghasilkan buah yang matang. Kemajuan ilmu pengetahuan telah dapat membuktikan kemahaesaan Allah SWT. Zat-zat yang diperlukan manusia dan sejumlah besar jenis hewan sangat berkaitan erat dengan zat-zat yang terdapat dalam tumbuhan, sehingga banyak sekali manfaat tumbuhan dalam bidang kesehatan. Tumbuhan kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia. Pemanfaatannya tidak sebatas sebagai pengonsumsi saja, tetapi juga sebagai tumbuhan yang mampu mengobati penyakit diabetes dan kanker atas izin Allah SWT (Koffi *et al.*, 2009).

Allah SWT juga berfirman dalam surat Al-Hijr ayat 19 yang berbunyi:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْرُونَ ﴿١٩﴾

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.” (Q.S. Al-Hijr: 19)

Berdasarkan tafsir Kemenag RI (2015) telah dijelaskan bahwa Allah SWT telah menghamparkan bumi sebagai pijakan manusia untuk memudahkan bepergian mencari rezeki yang halal dan memungkinkan digunakan untuk bercocok tanam di atasnya, serta diciptakan-Nya pula gunung-gunung yang kokoh sebagai pasak bagi bumi dan dihiasi oleh beraneka ragam tumbuhan yang menghijau. Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuhan, masing-masing mempunyai ukuran dan

kadar yang telah ditentukan. Demikian pula mengenai kandungan senyawa yang ada dalam tumbuhan pun juga memiliki jenis dan kadar yang berbeda-beda. Allah menciptakan segala sesuatu dengan ukuran dan kadar yang tertentu, sehingga melihat kesempurnaan ciptaan-Nya itu akan bertambah pula iman di dalam hati orang yang mau berpikir dan bertambah pula keyakinan bahwa Allah adalah Maha Sempurna



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan profil metabolit dari masing-masing ekstrak daun *C.cainito* dengan pelarut etanol 96% berjumlah 29 senyawa beserta 12 senyawa *unknown*, n-heksana berjumlah 22 senyawa beserta 6 senyawa *unknown*, etil asetat berjumlah 34 senyawa beserta 13 senyawa *unknown*, serta metanol berjumlah 26 senyawa beserta 8 senyawa *unknown*.
2. Senyawa mayor yang terdapat pada ekstrak etanol 96% adalah senyawa 2-*Methyl-1-[(2-methyl-5-nitrophenyl)sulfonyl]-1H-benzimidazole*, pada ekstrak n-heksana adalah senyawa *Diethyltoluamide*, pada ekstrak etil asetat adalah senyawa *Loliolide*, dan pada ekstrak metanol adalah senyawa *Eplerenone*.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukannya replikasi injeksi sampel pada penggunaan UPLC-QToF-MS/MS.
2. Metode ekstraksi bertingkat perlu dicek menggunakan KLT setelah melakukan proses ekstraksi.
3. Perlu dilakukan elusidasi struktur terhadap senyawa-senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [KEMENAG RI] Kementerian Agama Republik Indonesia. 2015. *Al-Qur'an dan Tafsirnya* (edisi yang disempurnakan). Jakarta: Widya Cahaya
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2004. *Chrysophyllum cainito* L. (<http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=CHCA10>) National Plant Data Center. Baton Rouge. LA 70874-4490 USA
- Abeyseena, I. and Darrington, R. 2014. *Understanding Evaporation and Concentration Technologies. Part 1-Basic Principle of Commonly Used Evaporation Technologies*. Ipswich: Genevac Ltd.
- Akomolafe S. F., Akinyemi A. J., Ogunsuyi O. B., Oyeleye S. I., Oboh G., Adeoyo O. O., Allismith Y. R. 2017. Effect of caffeine, caffeic acid and their various combinations on enzymes of cholinergic, monoaminergic and purinergic systems critical to neurodegeneration in rat brain-*In vitro*. *Neuro Toxicology*. Vol. 62: 6-13
- Ar-Rifa'I, Muhammad Nasib. 2000. *Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir, Jilid 3*. Jakarta: Gema Insani.
- Attardi B. J., Page S. T., Hild S. A, Coss C. C., Matsumoto A. M. 2010. Mechanism of action of bolandiol (*19-nortestosterone-3beta,17beta-diol*), a unique anabolic steroid with androgenic, estrogenic, and progestational activities. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 118 (3): 151–61.
- Attwood D., Florence, A. T. 1983. *Surfactant Systems: Their chemistry, pharmacy and biology*. London: Chapman and Hall Ltd.
- Balcke, G. U., *et al.* 2012. An UPLC-MS/MS Method for Highly Sensitive High-Throughput Analysis of Phytohormones in Plant Tissues. *Plant Methods*. Volume 8: 1-11
- Barrosa K. H., Mecchi M. C., Rando D. G., *et al.* 2016. Polygodial, a sesquiterpene isolated from *Drimys brasiliensis* (Winteraceae), triggers glucocorticoid-like effects on pancreatic β -cells. *Chemico-Biological Interactions* Vol. 258: 245-256
- Bendicho, C. and Lavilla, I. 2000. *Ultrasound Extractions*. Spain: Academic Press
- Brenton, A. G. and Godfrey, A. R. 2010. Accurate Mass Measurement: Terminology and Treatment of Data. *Journal of American Society for Mass Spectrometry*. Vol. 21: 1821-1835

- Caze, J. 2010. *Encyclopedia of Chromatography: Third Edition*. New York: Taylor and Francis Group
- Chawla, G. and Ranjan, C. 2016. Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography: *Open Chemistry Journal*. Volume 3: 1-16
- Cintas, P. and Cravotto, G. 2005. Power Ultrasound in Organic Synthesis: Moving Cavitation Chemistry from Academia to Innovative and Large-Scale Applications. *The Royal Society Journal of Chemistry*. Volume 35: 180-196
- Coe, F. G., Anderson, G. J. 1996. Ethnobotany of The Garifuna of Eastern Nicaragua. *Economic Botany*. Volume 50: 71-107
- Corrêa D. S., Tempone A. G., Reimão J. Q., et al. 2011. Anti-leishmanial and anti-trypanosomal potential of polygodial isolated from stem barks of *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae). *Parasitology Research* Vol. 109(1): 231-236
- Das, A., Badaruddin, B.N., Bhaumik, A. 2010. A Brief Review on *Chrysophyllum cainito*. *Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations*. Volume 1: 1-7
- Delvaux M., Maisin J. M., Arany Y., Atlan P., Prieto-Cabanis M. J., Canal M., Frexinós J. 1995. The effects of linclopride, a 5HT-4 antagonist, on oesophageal motility. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. Vol. 9(5): 563-569
- Delyani J. A., Rocha R., Cook, C. S., Tolbert D. S., Levin S., Roniker B., Workman D. L., Sing Y. L., Whelihan B. 2006. Eplerenone: A Selective Aldosterone Receptor Antagonist (SARA). *Cardiovascular Drug Reviews*. 19 (3): 185–200
- Departemen Kesehatan RI., 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan pertama, Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan
- Departemen Kesehatan RI., 1985. *Cara Pembuatan Simplicia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan
- Dickson M. A., Carvajal R. D., Merrill A. H.Jr., Gonen M., Cane L. M., Schwartz G. K. 2011. A Phase I Clinical Trial of Saffinorol in Combination with Cisplatin in Advanced Solid Tumors. *Clinical Cancer Research*. Vol. 17(8): 2484-2492
- Ditzen M., Pellegrino M., Vosshall L. B. 2008. Insect Odorant Receptors Are Molecular Targets of the Insect Repellent DEET. *Scienceexpress* Vol. 319(5871): 1838–42.

- Fardhyanti, D. S. dan Riski, R. D. 2015. Pemungutan Brazilin dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) dengan Metode Maserasi dan Aplikasinya untuk Pewarnaan Kain. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. Vol. 4(1): 6-13
- Fried, B., Sherma, J. 1999. *Thin Layed Chromatography Fourth Edition, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Funk J. L., Frye J. B., Oyarzo J. N., Timmermann, B. N. 2009. Comparative Effects of Two Gingerol-Containing Zingiber officinale Extracts on Experimental Rheumatoid Arthritis. *Journal of Natural Products*. 72 (3): 403-7
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2010. *Kimia Farmasi Analisis. Cetakan ke 7*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Grabarczyk M., Katarzyna W., Maczka W., Potaniec B., Aniol M. 2015. Loliolide - the most ubiquitous lactone. *Folia Biologica et Oecologica*. Vol. 11:1-8
- Griffiths, J. A. 1959. On the distribution of gentistic acid in Green plants. *Journal of Experimental Botany*. Volume 10: 437-442
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., and Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terjemahan oleh Kosasih P. Bandung: ITB Press
- Gritti, F., and Guiochon G. 2005. Effect of the endcapping of reversed-phase high-performance liquid chromatography adsorbents on the adsorption isotherm. *Journal of Chromatography A* Vol. 1098(1-2): 82-94
- Gross, J. H. 2004. *Mass Spectrometry*. Berlin: Springer
- Hambali, E., Mujdalipah S., Tambunan A. H., Pattiwiri A. W., Hendroko R. 2008. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agro Media
- Hani'ah, Munnal. 2010. *Intisari dan Kumpulan Rumus Kimia*. Yogyakarta: Tunas Publishing
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Harborne J. B. 1994. *The Flavonoids Advances in Research Since 1986*. Florida: CRC Press LLC.
- Harris A. C., Henttu P., Parker G. M., and Sumpter J. P. 1997. The Estrogenic Activity of Phtalate Esters *In Vitro*. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 105, No. 8
- Hemwimol S., Pavasant P., Shotipruk A. 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry*. Vol. 13: 543-548

- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*, diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta. 1558.
- Hidayat A. dan Ningsih I. Y. 2015. Pengembangan Ekstrak Daun dan Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) untuk Obat Herbal Terstandar Diabetes Mellitus. Jember: Universitas Negeri Jember
- Hong H., Branham W. S., Ng H. W., Moland C. L., Dial S. L., Fang H., Perkins R., Sheehan D., Tong W. 2015. Human Sex Hormone-Binding Globulin Binding Affinities of 125 Structurally Diverse Chemicals and Comparison with Their Binding to Androgen Receptor, Estrogen Receptor, and α -Fetoprotein. *Toxicological Sciences*. Vol. 143(2): 333-348
- Kandasamy N., and Ashokkumar N. 2014. Renoprotective effect of myricetin restrains dyslipidemia and renal mesangial cell proliferation by the suppression of sterol regulatory element binding proteins in an experimental model of diabetic nephropathy. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 743: 53-62
- Khatiwora E., et al. 2012. Antibacterial activity of Dibutyl Phthalate: A secondary metabolite isolated from *Ipomoea carnea* stem. *Journal of Pharmacy Research*. Vol. 5(1):150-152
- Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy and Pharmacology*. Volume 3: 501-506
- Koffi, N'guessan. 2008. Plantes medicinales et pratiques medicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Department d'Agboville (Cote-d'Ivoire). [Thesis]. Cote-d'Ivoire: Universite de Cocody-Abidjan
- Krastanov, A. 2010. Metabolomics – The State of Art. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Volume 24: 1537-1543.
- Kwak Y., Choi H., Bae J., Choi Y. Y., Roh J. 2017. Peri-pubertal high caffeine exposure increases ovarian estradiol production in immature rats. *Reproductive Toxicology*. Vol. 69: 43-52
- Lambert P. A., and Smith A. R. W. 1977. The Mode of Action of N-(n=Dodecyl)diethanolamine with Particular Reference to the Effect of Protonation on Uptake by *Escherichia coli*. *Journal of General Microbiology* Vol. 103: 367-374
- Lee, Dong-Sun. 2000. Dibutyl Phthalate an α -Glucosidase Inhibitor from *Streptomyces melanosporofaciens*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 89, No. 3:271-273

- Liang, Yi-Zeng., Xie., Chan, K. 2004. Quality Control of Herbal Medicines. *Journal of Chromatography B*. 812(2004): 53-70
- Lim, T. K. 2016. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 10, Modified Stems, Roots, Bulbs*. Berlin: Springer International Publishing AG.
- Lopez, J. A. 1983. 1983. Isolation of β -amyryn acetate from leaves and stems of star Apple (*Chrysophyllum cainito*: Sapotaceae). *Ing. Cienc.Quim.* Volume 7: 22-23
- Luo, X. D., Basile, M. J., and Kennely, E. J. 2002 Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 50: 1379-1382
- Manoi, Feri. 2006. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. Vol.17(1) :1-5
- McDonald T., Drescher K. M., Weber A., Tracy S. 2012. Creatinine inhibits bacterial replication. *The Journal of Antibiotics* Vol. 65(3): 153–156
- Mettler Toledo. 2015. Drying Oven vs. Halogen Moisture Analyzer. Switzerland: Global MarCom
- Morton, J. 1987. Star Apple Fruits of Warm Climates. *Miami Florida*. 408-410
- Muhaimin, Syamsurizal, Chaerunisaa A. Y., Sinaga M. S. 2016. Eusiderin I from Eusideroxylon zwagery as Antifungal agent against Plant Pathogenic Fungus. *International Journal of ChemTech Research* Vol. 9(5): 418-424
- Naushad, Mu. Khan, M. R. 2015. *Ultra Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry: Evaluation and Applications in Food Analysis*. New York: CRC Press
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. 2009. Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0.1 [Online]. <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>.
- Pavia L. D., Lampman G. M., Kriz G. S., Vyvyan J. R. 2009. *Introduction to Spectroscopy: Fourth Edition*. Washington: Brooks/Cole CENGAGE Learning
- Pino, J. Marbot, R. Rosado, A. 2002. Volatile Constituents of Star Apple (*Chrysophyllum cainito* L.) from Cuba. *Flavour and Fragrance Journal*. Volume 7: 401-403
- Pomara C., et al. 2015. Effects of Nandrolone Stimulation on Testosterone Biosynthesis in Leydig Cells. *Journal of Cellular Physiology*. Vol 231: 1385-1391

- Rahman, Atta-ur. 2003. *Studies in Natural Products Chemistry: Bioactive Natural Products (Part I)*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Rahmatia, T. U. 2017. Metode SPE (Solid Phase Extraction) Sebagai Alternatif Terbaru dalam Analisis dan Pemurnian Senyawa Obat. *Farmaka*. Volume 4: 1-24
- Reina M., *et al.* 1998. Pyrrolizidine Alkaloids from *Heliotropium megalanthum*. *Journal of Natural Products*. Vol. 61, No. 11
- Rohman, A. 2009. *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Yogyakarta: Pustaka Graha Ilmu
- Schröckeneder, Albert. 2012. Towards the Total Synthesis of Portentol A Formal Synthesis of Dimethylglutamine The Crystal Structure of the Dess-Martin Periodinane [Disertasi]. München: Ludwig Maximilians Universität München
- Septiana, A. T., dan Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *AGROINTEK*. Vol. 6, No. 1
- Shailajan, S., and Gurjar, D. 2014. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Volume 26: 106-111
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an) Vol. 10*. Jakarta: Lentera Hati.
- Simpson, Nigel, J. K. 2000. *Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications*. New York: CRC Press
- Sreekumar A., *et al.* 2009. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *NATURE*. Vol. 457: 910-914
- Supardan M. D., Asnawi T. M., Putri Y., Wahyuni S. 2011. Metode Ekstraksi Pelarut Berbantuan Ultrasonik untuk *Recovery* Minyak dari Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *AGRITECH*. Vol. 31, No. 4 : 368-373
- Thevissen K., Hillaert U., Meert E. M. K., Chow K. K., Cammue B. P. A., Calenbergh S. V., Francois I. E. J. A. 2008. Fungicidal activity of truncated analogues of dihydrosphingosine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. Vol. 18(13): 3728-3730
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G., Kaur H., 2011, Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106

- Trivedi R. K., and Atel M. C. P. 2012. Development of a Stability-Indicating RP-UPLC Method for Rapid Determination of Metaxalone and its Degradation Products in Solid Oral Dosage Form. *Scientia Pharmaceutica* Vol. 80: 353-366
- Venn, R. F. 2008. *Principles and Practice of Bioanalysis: Second Edition*. New York: CRC Press
- Verma G, Dua K. V., Agarwal D. D., Atul P. K. 2011. Anti-malarial activity of *Holarrhena antidysenterica* and *Viola canescens*, plants traditionally used against malaria in the Garhwal region of north-west Himalaya. *Malaria Journal* Vol. 10: 10-20
- Wainscott D. B., Little S. P., Yin T., Tu Y., Rocco V. P., He J. X., Nelson D. L. 2007. Pharmacologic characterization of the cloned human trace amine-associated receptor1 (TAAR1) and evidence for species differences with the rat TAAR1. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 320(1): 475–485
- Wink, Michael. 2010. *Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites: Second Edition*. United Kingdom: Blackwell Publishing
- Yang X., Kang M. C., Lee K. W., Kang S. M., Lee W. W., Jeon Y. J. 2011. Antioxidant activity and cell protective effect of loliolide isolated from *Sargassum ringgoldianum* subsp. *coreanum*. *ALGAE*. Vol. 26(2): 201-208
- Yildiz, Fatih. 2006. *Phytoestrogens In Functional Foods*. New York: Taylor & Francis Group
- Zhai B., Clark J., Ling T., Connelly M., Medina-Bolivar F., Rivas F. 2014. Antimalarial evaluation of the chemical constituents of hairy root culture of *Bixa orellana* L. *MOLECULES*. Vol. 19(1): 756-766
- Zhang F., Zhang J. G., Qu J., Zhang Q., Prasad C., Wei Z. J. 2017. Assessment of anti-cancerous potential of 6-gingerol (Tongling White Ginger) and its synergy with drugs on human cervical adenocarcinoma cells. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 109(2): 910-922
- Zhang, Z., *et al.* 2015. Quadrupole time-of-flight mass spectrometry as a powerful tool for demystifying traditional Chinese medicine. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Volume 72: 169-180
- Zulaikhah, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varietas Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember [Tesis]. Jember: Universitas Jember

LAMPIRAN

Lampiran 1. Spektra m/z Senyawa Keseluruhan

Nama Senyawa	Spektra
4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfonyl)ethoxy]benzamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 41 (1.500) 1: TOF MS ES+ 6.23e5</p>
Pentaethylene glycol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 120 (4.382) 1: TOF MS ES+ 2.57e5</p>
Caffeine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 134 (4.896) 1: TOF MS ES+ 2.83e6</p>
Myricetin	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 152 (5.559) 1: TOF MS ES+ 3.33e6</p>
(4E)-N-[2,4-Bis(2-methyl-2-butanyl)phenyl]-4-{{[4-(diethylamino)phenyl]imin o}-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 161 (5.891) 1: TOF MS ES+ 7.06e5</p>
1-(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl) 4-(2-methyl-2-propanyl) N-{{(2-methyl-2-propanyl)oxy}carbonyl}-L-aspartate	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 172 (6.291) 1: TOF MS ES+ 5.59e5</p>
4-{{(E)-[(1,7-Diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)imino]methyl}}-N,N-dimethylaniline	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 183 (6.691) 1: TOF MS ES+ 6.30e5</p>

1-[(6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliny)methyl]-1,3-bis[3-(4-morpholinyl)propyl]thiourea	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 189 (6.908) 1: TOF MS ES+ 8.43e5</p>
N,N',N''-Tris[1-(2,5-dimethylphenyl)ethyl]-1,3,5-benzenetricarboxamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 199 (7.274) 1: TOF MS ES+ 7.26e5</p>
N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 223 (8.155) 1: TOF MS ES+ 2.72e6</p>
Lauryldiethanolamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 292 (10.681) 1: TOF MS ES+ 1.61e7</p>
N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 311 (11.379) 1: TOF MS ES+ 1.68e6</p>
Safingol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 326 (11.928) 1: TOF MS ES+ 5.96e6</p>
4-[2-(Isopropylamino)-2-oxoethoxy]-3-methoxy-N-[2-(1-piperazinyl)ethyl]benzamide hydrochloride	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 336 (12.294) 1: TOF MS ES+ 1.47e7</p>
2,2'-(Hexadecylimino)diethanol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 358 (13.094) 1: TOF MS ES+ 3.65e6</p>

N-(2-Hydroxyethyl)icosanamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 Met 365 (13.345) 1: TOF MS ES+ 1.18e6</p>
11-Aminoundecanoic acid	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 57 (2.084) 1: TOF MS ES+ 5.28e5</p>
Dibutyl phthalate	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 88 (3.215) 1: TOF MS ES+ 8.07e4</p>
2-(2-Pyridinyl)ethanamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 115 (4.199) 1: TOF MS ES+ 8.78e4</p>
Megalanthonine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 122 (4.462) 1: TOF MS ES+ 1.20e5</p>
N,N-Dimethylphenethylamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 146 (5.342) 1: TOF MS ES+ 4.86e5</p>
Jasmonic acid	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 156 (5.708) 1: TOF MS ES+ 2.68e5</p>
Loliolide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 197 (7.206) 1: TOF MS ES+ 2.65e5</p>

1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)hexopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 251 (9.184) 1: TOF MS ES+ 3.32e5</p>
BI6015	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 275 (10.053) 1: TOF MS ES+ 1.99e6</p>
DEET	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 300 (10.967) 1: TOF MS ES+ 6.95e5</p>
Cetylamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 314 (11.482) 1: TOF MS ES+ 1.18e6</p>
Portentol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 331 (12.111) 1: TOF MS ES+ 3.50e5</p>
3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 5 DCM 346 (12.659) 1: TOF MS ES+ 4.93e5</p>
Creatinine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 40 (1.455) 1: TOF MS ES+ 1.04e6</p>
Styrene	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 121 (4.427) 1: TOF MS ES+ 9.80e4</p>

1-[1-(Diethylamino)-2-propanyl]-3-[3,5-dimethyl-1-(2-methylbenzyl)-1H-pyrazol-4-yl]thiourea	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 138 (5.045) 1: TOF MS ES+ 3.38e5</p>
2-Methyl-2-propanyl 4-(20-azido-3,6,9,12,15,18-hexaoxaicos-1-yl)-1-piperazinecarboxylate	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 155 (5.662) 1: TOF MS ES+ 2.01e5</p>
Decylimidazole	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 214 (7.823) 1: TOF MS ES+ 2.16e5</p>
Licocoumarone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 311 (11.379) 1: TOF MS ES+ 8.41e5</p>
Bolandiol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 Met 361 (13.208) 1: TOF MS ES+ 1.21e6</p>
(2E)-N-(3-{{3-(Dimethylamino)propyl}amino}propyl)-2-(hydroxyimino)propanamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 DCM 124 (4.530) 1: TOF MS ES+ 1.66e5</p>
Jasmonic acid	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 DCM 155 (5.662) 1: TOF MS ES+ 2.78e5</p>
(4Z)-4-{{4-(Diethylamino)phenyl}imino}-N-[2-(dodecyloxy)phenyl]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 DCM 178 (6.508) 1: TOF MS ES+ 1.36e5</p>

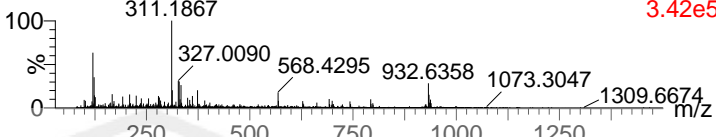
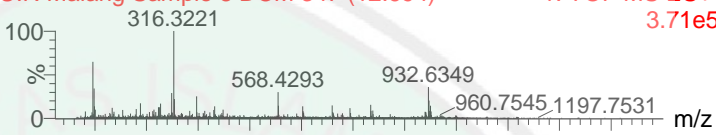

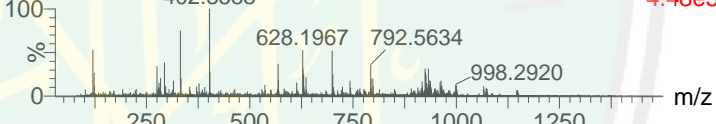
2-Amino-2-tetradecyl-1,3-propanediol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 DCM 319 (11.665) 1: TOF MS ES+ 6.87e5</p>
Lysyllsine hydrochloride	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 6 DCM 331 (12.111) 1: TOF MS ES+ 3.48e5</p>
2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 111 (4.062) 1: TOF MS ES+ 1.22e5</p>
2-Amino-N'-[4-(dimethylamino)-6-(methylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]-N''-(2-hydrazino-2-oxoethyl)acetohydrazide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 123 (4.496) 1: TOF MS ES+ 2.17e5</p>
2-[[1-(2-Methyl-2-propanyl)-1H-tetrazol-5-yl](2-thienyl)methyl]-2-azaspiro[5.5]undecane	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 127 (4.645) 1: TOF MS ES+ 3.71e5</p>
1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[(7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliny)methyl]thiourea	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 132 (4.828) 1: TOF MS ES+ 6.57e5</p>
3-[(Z)-1-[4-(Dimethylamino)phenyl]-2-phenylvinyl]-N,N,N',N'-tetramethyl-4,4'-biphenyldiamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 136 (4.976) 1: TOF MS ES+ 7.78e5</p>
5-[(2S)-4-[(2-sec-Butyl-4-pyridinyl)methyl]-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbamoyl]-1-piperazinyl]-1,2,3,5-tetraoxy-3-[[[(2R,3R)-2-isopropyl-1,1-	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 154 (5.628) 1: TOF MS ES+ 2.92e5</p>

dioxidotetrahydro-3-thiophenyl]oxy}carbonyl)amino]-D-erythro-pentitol	
Metaxalone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 167 (6.108) 1: TOF MS ES+ 1.28e5</p>
5-Amino-3-(4-methyl-1-piperazinyl)-1H-1,2,4-triazole-1-carbothiohydrazide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 233 (8.521) 1: TOF MS ES+ 2.88e5</p>
Broussonetine B	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 251 (9.184) 1: TOF MS ES+ 1.97e5</p>
Gingerol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 299 (10.933) 1: TOF MS ES+ 7.83e5</p>
Licocoumarone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 311 (11.379) 1: TOF MS ES+ 6.32e5</p>
Lintopride	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 316 (11.562) 1: TOF MS ES+ 3.54e6</p>
Nandrolone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 325 (11.882) 1: TOF MS ES+ 5.32e5</p>

<p>(1R,2S,5S)-N-(4-Amino-1-cyclopropyl-3,4-dioxo-2-butanyl)-3-[(2S)-2-cyclohexyl-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbamoyl]amino]acetyl]-6,6-dimethyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 377 (13.791) 1: TOF MS ES+ 5.83e6</p>
<p>(2R,3S)-4-[(2S)-1-[(2S,4S)-4-Hydroxy-2-[(2S)-2-methyl-5-oxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl]carbonyl]-1-pyrrolidinyl]-3-methyl-1-oxo-2-butanyl}(methyl)amino]-3-[(N-methyl-N-[(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]-L-leucyl)amino]-4-oxo-2-butanyl oxoacetate</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 Met 345 (12.614) 1: TOF MS ES+ 1.14e6</p>
<p>(Chlorosulfanyl)cyclohexane</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 34 (1.237) 1: TOF MS ES+ 1.61e5</p>
<p>1-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methoxyguanidine hydrochloride</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 155 (5.662) 1: TOF MS ES+ 2.52e5</p>
<p>Circumdatin E</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 182 (6.657) 1: TOF MS ES+ 2.47e5</p>
<p>3,3',3''-Phosphorothioyltris[1-(2-methyl-2-propanyl)-1H-pyrrole]</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 190 (6.943) 1: TOF MS ES+ 1.66e5</p>
<p>Polygodial</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 290 (10.601) 1: TOF MS ES+ 3.12e5</p>

2,2'- (Tridecylimino)diethanol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 312 (11.413) 1: TOF MS ES+ 2.10e6</p> <p>288.2900 289.2934 513.3574 932.6317 1148.3480 m/z</p>
Eusiderin	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 318 (11.630) 1: TOF MS ES+ 2.10e6</p> <p>387.1810 404.2078 432.2393 790.3819 1148.3329 1340.8667 m/z</p>
2-Amino-3- (hexadecyloxy)-1-propanol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 352 (12.877) 1: TOF MS ES+ 1.01e6</p> <p>304.3005 316.3215 317.3248 568.4278 932.6324 1148.3257 m/z</p>
N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2- hydroxyoctadecyl)-β- alanine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 7 DCM 381 (13.940) 1: TOF MS ES+ 4.20e5</p> <p>402.3581 568.4279 699.5965 960.7538 1149.3300 m/z</p>
4-[(E)-2-(1-Benzyl-1H- indol-3-yl)-1- cyanovinyl]benzotrile	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 41 (1.500) 1: TOF MS ES+ 5.83e5</p> <p>296.1348 360.1503 365.1056 476.1976 702.2661 1044.3853 1439.5029 m/z</p>
1-{[4-Chloro-2- (dimethylamino)-1,3- thiazol-5-yl]methyl}-N- methyl-N-(2-phenylethyl)- 3-piperidinamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 193 (7.057) 1: TOF MS ES+ 2.81e5</p> <p>393.1884 409.1625 763.3876 997.3608 1375.4449 m/z</p>
(2S,3R)-2-Amino-1,3- dodecanediol	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 207 (7.572) 1: TOF MS ES+ 1.43e5</p> <p>218.2118 251.1646 579.2193 990.3998 1131.3046 m/z</p>
1,1'-(Octylimino)di(2- propanol)	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 254 (9.287) 1: TOF MS ES+ 1.03e6</p> <p>246.2437 247.2469 476.3059 m/z</p>

Eplerenone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 336 (12.294) 1: TOF MS ES+ 1.34e7</p>
6-[(E)-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-ylhydrazono)methyl]-2-{4-[(E)-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylhydrazono)methyl]phenyl}imidazo[1,2-a]pyridine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 350 (12.797) 1: TOF MS ES+ 2.19e6</p>
2-(Octyloxy)-N-[2-(octyloxy)ethyl]ethanamine	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 Met 359 (13.128) 1: TOF MS ES+ 2.95e6</p>
2,4-Diisopropylphenyl phenyl [2-(2,4,6-triisopropylphenyl)ethyl]phosphoramidate	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 171 (6.257) 1: TOF MS ES+ 1.43e5</p>
(4Z)-4-{[4-(Diethylamino)phenyl]imino}-N-[2-(dodecyloxy)phenyl]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 178 (6.508) 1: TOF MS ES+ 1.21e5</p>
1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-2-hydroxy-3-methylguanidine hydrochloride	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 197 (7.206) 1: TOF MS ES+ 1.54e5</p>
4-[4-(9H-Fluoren-9-yl)-1-piperazinyl]-1-methyl-3-nitro-2(1H)-quinolinone	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 289 (10.567) 1: TOF MS ES+ 2.31e5</p>
N-Isobutyl-4-{6-(2-methylphenyl)-5-[(2-methyl-2-propanyl)amino]imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazol-2-yl}-1-piperazinecarboxamide	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 320 (11.699) 1: TOF MS ES+ 6.58e5</p>

<p>1,3-Bis[2-(butylsulfanyl)ethyl]benzene</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 332 (12.145) 1: TOF MS ES+ 3.42e5</p> 
<p>3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 347 (12.694) 1: TOF MS ES+ 3.71e5</p> 
<p>Aminopregnane</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 352 (12.877) 1: TOF MS ES+ 5.85e5</p> 
<p>N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine</p>	<p>UIN Malang UIN Malang Sample 8 DCM 381 (13.940) 1: TOF MS ES+ 4.48e5</p> 

Lampiran 2. Hasil Determinasi Tumbuhan *Chrysophyllum cainito* L.



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 354/ 102.7/ 2017
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Kenitu

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : REYHAN AMIRUDDIN
NIM : 14670018
Instansi : JURUSAN FARMASI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman kenitu

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Dilleniidae
Ordo : Ebenales
Famili : Sapotaceae
Genus : *Chrysophyllum*
Spesies : *Chrysophyllum cainito* L.
Nama Umum : Indonesia: Sawo hijau, apel ijo, genitu, kenitu, manicu, sawo ijo, sawo hejo (Snd), sawo kadu. Inggris: Caimito, star apple. Melayu: sawu duren, pepulut. Thailand: Sataa appoen. Pilipina: Caimito.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121b-124b-125a-126b-127a.

2. Morfologi : Habitus: Tumbuhan berbentuk pohon, berumur menahun (perennial), tinggi 15 - 20 m. Batang: Batang berkayu, silindris, tegak, warna coklat, permukaan kasar. Daun: Daun tunggal, warna permukaan atas hijau - bawah coklat, panjang 9 - 14 cm, lebar 3 - 5 cm, helaian daun agak tebal, kaku, bentuk lonjong (elliptica), ujung runcing (acutus), pangkal meruncing (acuminatus), tepi rata, pertulangan menyirip (pinnate). Bunga: Perbungaan terletak di ketiak daun, berupa kelompok 5-35 kuntum bunga-bunga kecil bertangkai panjang, kekuningan hingga putih lembayung kelopak 5 helai, mahkota berbentuk tabung bercuping 5, panjang sampai 4 mm. Buah: buni (bacca), bulat, warna hijau keputih-putihan, dengan biji hitam, pipih, panjang sekitar 1 cm, berkeping dua. Akar: Akar tunggang.

3. Nama Simplicia : *Chrysophylli cainitii* Folium / Daun Kenitu.

4. Kandungan kimia : Daun mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Selain itu, juga mengandung zat yang belum diketahui tetapi mempunyai fungsi menurunkan kadar gula darah dan juga antioksidan dan anti kanker.

5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=320>, diakses 26 April 2010.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 27 September 2017
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.196111021991031003

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

L.3.1 Preparasi Simplisia



Daun kenitu segar



Daun kenitu kering



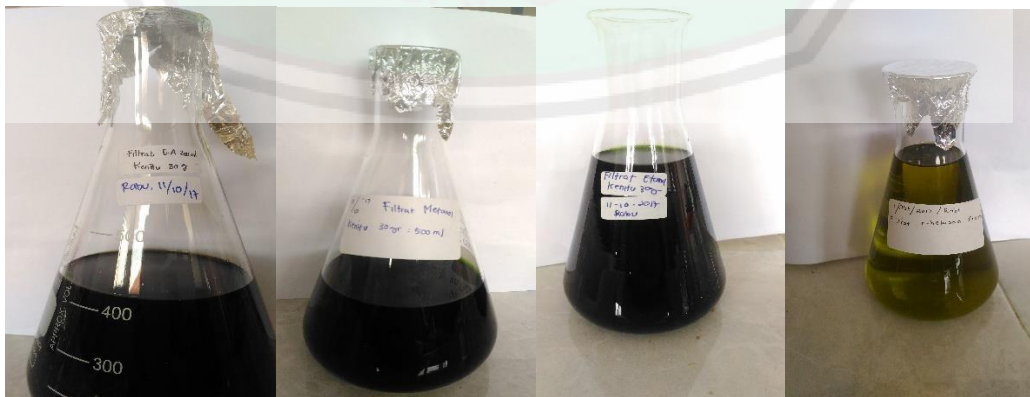
Serbuk daun kenitu

L.3.2 Ekstraksi



Alat Sonica Ultrasonic Cleaner

Penimbangan serbuk daun *C.cainito*



Dari kiri ke kanan: Filtrat etanol 96%, n-heksana, etil asetat, dan metanol



Seperangkat Rotary Evaporator

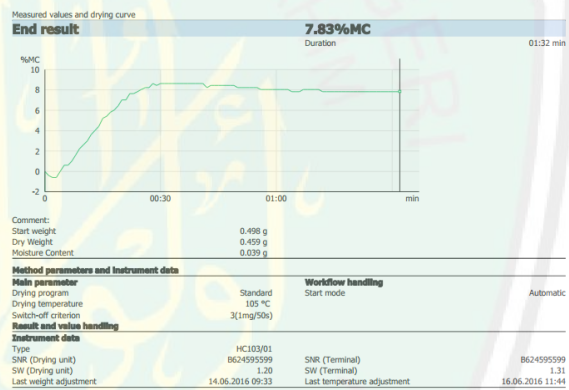


Oven untuk pengeringan ekstrak

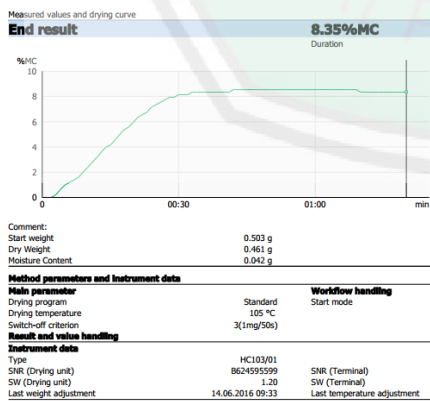
L.3.3 Moisture Content



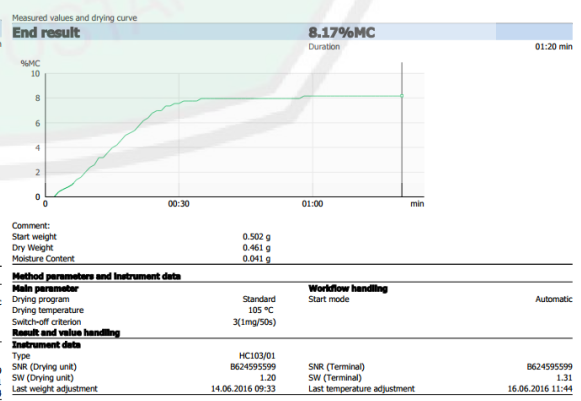
Alat Mettler Toledo HC103



Hasil replikasi pertama pengukuran kadar air



Hasil replikasi kedua pengukuran kadar air



Hasil replikasi ketiga pengukuran kadar air

L.3.4 Skrining KLT



Pemanasan plat dengan *TLC Heater*



Pembacaan spot noda dengan *TLC Visualizer*



Proses eluasi plat KLT

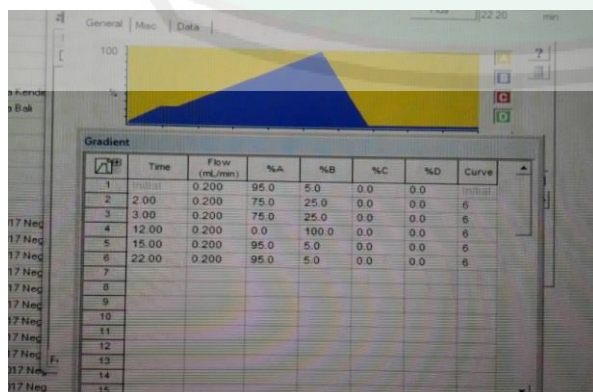
L.3.5 Metabolite Profiling



Cartridge yang digunakan untuk preparasi dengan SPE



Seperangkat instrument UPLC-QToF-MS/MS yang digunakan



Kondisi fase gerak dan kecepatan alir dengan sistem eluasi gradien