

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA TERPENOID DARI FRAKSI
DIKLOROMETANA-3 EKSTRAK BATANG SONGGA (*Strychnos lucida*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Viena Cynthia Alvionita

NIM 175070507111015

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA TERPENOID DARI FRAKSI
DIKLOROMETANA-3 EKSTRAK BATANG SONGGA (*Strychnos lucida*)**

Oleh:

Viena Cynthia Alvionita

175070507111015

Telah diuji pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 28 Mei 2021

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

apt. Oktavia Rahayu Adianingsih, S.Farm., M.Biomed.

NIK. 2016099219102001

Pembimbing-I/Penguji-II

apt. Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm.

NIK. 2011068502181001

Pembimbing-II/Penguji-III

apt. Bachtiar Rifai P.I., S.Farm., M.Farm.

NIP. 198709292019031007

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya



apt. Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm.

NIP. 198502182019031007

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Viena Cynthia Alvionita

NIM : 175070507111015

Program Studi: Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas
Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 20 Mei 2021

Yang membuat pernyataan,



(Viena Cynthia Alvionita)

NIM. 175070507111015

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur bagi Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria, Bunda Allah berhikmat yang senantiasa memberikan penyertaan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid dari Fraksi Diklorometana-3 Ekstrak Batang Songga (*Strychnos lucida*)”.

Tanaman Songga (*Strychnos lucida*) merupakan tanaman yang seringkali digunakan oleh masyarakat NTB terutama kabupaten Dompu, sebagai pengobatan empiris untuk berbagai macam penyakit. Tanaman Songga yang menunjukkan banyak manfaat bagi kesehatan perlu diteliti lebih lanjut agar dapat digunakan sebagai kandidat pengobatan baru yang bermanfaat bagi masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa terpenoid yang terkandung pada fraksi diklorometana-3 dari batang Songga yang ke depannya dapat menambah informasi baru bagi para peneliti selanjutnya untuk mengembangkan senyawa tersebut sebagai kandidat obat baru yang bermanfaat.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Ibu Prof. Dr. apt. Sri Winarsih, M.Si. selaku Kepala Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Bapak apt. Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Ibu apt. Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm. selaku dosen pembimbing I yang telah membimbing penulisan naskah serta penelitian dari awal hingga akhir, memberikan banyak pengetahuan baru, memberikan saran, dan senantiasa sabar membimbing saya sehingga saya bisa menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan tepat waktu.
4. Bapak apt. Bachtiar Rifai P. I., S.Farm., M.Farm. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan ilmu, memberi saran, dan banyak membantu dalam penelitian dan penyusunan naskah ini sehingga saya bisa menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.

5. Ibu apt. Oktavia Rahayu Adianingsih, S.Farm., M.Biomed. selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu dan saran, serta banyak membantu dalam penyempurnaan naskah Tugas Akhir ini.
6. Pihak Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang selalu membantu dalam proses penelitian.
7. Pihak Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia (LIPI), Ciputat, Tangerang yang telah membantu proses identifikasi senyawa dengan FTIR dan LCMS.
8. Kedua orang tua saya, Bapak Sunaryo dan Ibu Sinta Dewi serta kakak perempuan saya, Yessica Alvionita, yang telah senantiasa mendukung dan mendoakan saya untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini.
9. Teman-teman satu penelitian, Istiqomah Fiddini dan Herdin Erliana, yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
10. Sahabat-sahabatku Dhera, Azatil, Alifia, Mildha, dan teman-teman Farmasi 2017 lainnya.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima dengan tangan terbuka untuk segala kritik dan saran. Semoga Tugas Akhir ini bermanfaat bagi pembaca, khususnya bagi profesi di bidang kesehatan.

Malang, 20 Mei 2021

Penulis

ABSTRAK

Alvionita, Viena Cynthia. 2021. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid dari Fraksi Diklorometana-3 Batang Songga (*Strychnos lucida*)**. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) apt. Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm. (2) apt. Bachtiar Rifai P. I., S.Farm., M.Farm.

Etnobotani sebagai ilmu tanaman untuk menunjang kehidupan terutama sebagai media pengobatan penyakit yang didasari dengan prinsip pengobatan masyarakat awam yaitu "*Back to nature*". Berdasarkan studi pustaka, batang Songga mengandung senyawa fitokimia yaitu senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, polifenol, dan alkaloid. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas farmakologi yang potensial namun informasi senyawa terpenoid pada batang Songga masih sangat terbatas. Isolat senyawa terpenoid pada batang Songga diperoleh dari hasil ekstraksi, ekstraksi cair-cair bertingkat dengan 4 pelarut yaitu air, diklorometana, etil asetat, dan n-butanol. Fraksi diklorometana dipisahkan lebih lanjut dengan metode kromatografi cair kolom vakum (KCKV). Fraksi ke-3 (D3) hasil KCKV kemudian dipisahkan lebih lanjut dengan metode kromatografi cair kolom lambat (KCKL). Isolat (D3X) yang didapat selanjutnya diidentifikasi dengan instrumen UV-Visibel, FTIR, dan LCMS/MS. Pemilihan fraksi dan subfraksi didasarkan pada profil KLT dengan penampak noda H₂SO₄ 10% yang menunjukkan adanya noda terpenoid berwarna ungu-coklat pada sinar tampak. Dari analisis dengan UV-Visibel, didapatkan satu puncak serapan maksimum sebesar 270,2 nm. Hasil identifikasi Isolat D3X dengan FTIR menunjukkan adanya serapan gugus khas terpenoid yaitu pada bilangan gelombang 1454,39 cm⁻¹ (CH₂ tekuk), 1316,47 cm⁻¹ (CH₃ tekuk), 2940,61 cm⁻¹ (CH alifatik), dan 1651,14 cm⁻¹ (C=C aromatis). Data LCMS/MS menunjukkan bahwa senyawa terpenoid yang terkandung dalam isolat D3X adalah Ferruginol m/z [M⁺] 285,22091 yang muncul pada waktu retensi ke 9,44 menit.

Kata kunci : Songga, *Strychnos lucida*, Terpenoid

ABSTRACT

Alvionita, Viena Cynthia. 2021. **Isolation and Identification of Terpenoid Compounds from Dichloromethane-3 Fraction of Songga Stem (*Strychnos lucida*)**. Final Project, Bachelor of Pharmacy Study Programe, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisor: (1) apt. Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm. (2) apt. Bachtiar Rifai P. I., S.Farm., M.Farm.

Ethnobotany as a plant science to support life, especially for the treatment of diseases based on the principle of ordinary people's medicine, namely "Back to nature". Based on literature studies, Songga stems contain phytochemical compounds, involve flavonoids, steroids, terpenoids, polyphenols, and alkaloids. The terpenoid compounds have potential pharmacological activity, but the information on the terpenoid compounds in the Songga stem is still very limited. The terpenoid compound isolates on the Songga stem were obtained from the extraction, liquid-liquid extraction with 4 solvents (water, dichloromethane, ethyl acetate, and n-butanol). The dichloromethane fraction was further separated by the vacuum column liquid chromatography (VCLC). The third fraction (D3) from VCLC results was then further separated by the column liquid chromatography (CLC) method. The isolate (D3X) obtained was then identified by UV-Visible, FTIR, and LCMS/MS instruments. The selection of fractions and subfractions was based on a thin layer chromatography profile with 10% H₂SO₄ stains showing the presence of purple-brown terpenoid stains on visible light and 366 nm UV light. From UV-visible analysis, it was found that a maximum absorption peak was 270.2 nm. The results of identification by FTIR showed that isolate D3X contained a typical terpenoid group, involve 1454.39 cm⁻¹ (CH₂ bend), 1316.47 cm⁻¹ (CH₃ bend), 2940.61 (aliphatic CH), and 1651.14 cm⁻¹ (C=C aromatic). LCMS/MS data indicate that the terpenoid compound contained in isolate D3X is Ferruginol m / z [M +] 285.22091 which appeared at Rt 9.44 minutes.

Keywords: Songga, *Strychnos lucida*, Terpenoid

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Tanaman Songga	7
2.1.1 Taksonomi	7
2.1.2 Nama Daerah.....	8
2.1.3 Distribusi dan Habitat	8
2.1.4 Morfologi	9
2.1.5 Senyawa Fitokimia	9
2.1.6 Aktivitas Farmakologi	11
2.2 Tinjauan Golongan Terpenoid	12
2.2.1 Definisi dan Struktur	12
2.2.2 Klasifikasi.....	13
2.2.3 Aktivitas Farmakologi	14

2.3 Tinjauan Ekstrak.....	16
2.3.1 Definisi Ekstrak	16
2.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Mutu Ekstrak	17
2.3.3 Metode Ekstraksi.....	17
2.4 Tinjauan Metode Pemisahan	19
2.4.1 Ekstraksi Cair-Cair	19
2.4.2 Kromatografi	20
2.5 Tinjauan Spektrofotometri.....	26
2.5.1 Spektrofotometri UV-Vis.....	26
2.5.2 Spektrofotometri <i>Infrared</i> (IR).....	30
2.5.3 Spektrofotometri LC-MS/MS.....	35
BAB III	38
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	38
3.1 Kerangka Konsep.....	38
BAB IV	42
METODE PENELITIAN.....	42
4.1 Rancangan Penelitian	42
4.2 Populasi dan Sampel.....	42
4.2.1 Populasi	42
4.2.2 Sampel.....	42
4.3 Variabel Penelitian.....	42
4.3.1 Variabel Bebas.....	42
4.3.2 Variabel Terikat	43
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	43
4.4.1 Lokasi Penelitian	43
4.4.2 Waktu Penelitian	43
4.5 Bahan dan Alat.....	43
4.5.1 Bahan Penelitian	43
4.5.2 Alat/Instrumen Penelitian	44
4.6 Definisi Operasional	44
4.7 Prosedur Penelitian	46
4.7.1 Ekstraksi Simplisia Batang Songga.....	46
4.7.2 Ekstraksi Cair-Cair Ekstrak Batang Songga	47
4.7.3 Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM	48

4.7.4 Kromatografi Kolom Lambat Fraksi D3.....	49
4.7.5 Identifikasi Golongan Senyawa Terpenoid dari Hasil KCKL Fraksi D3	49
4.7.6 Uji Konfirmasi Struktur.....	50
BAB V	52
HASIL PENELITIAN	52
5.1 Hasil Ekstraksi.....	52
5.2 Hasil Ekstraksi Cair-Cair.....	53
5.3 Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM.....	56
5.4 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom Lambat (Fraksi D3)	59
5.5 Uji Golongan Senyawa Terpenoid dari Hasil KCKL Fraksi D3	62
5.5.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	62
5.6 Hasil Analisis Spektrofotometri	64
5.6.1 Spektrofotometri UV Visibel	64
5.6.2 FTIR.....	65
5.6.3 LCMS/MS.....	67
BAB VI.....	74
PEMBAHASAN.....	74
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	74
6.2 Implikasi Penelitian.....	92
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	92
BAB VII.....	93
PENUTUP	93
7.1 Kesimpulan	93
7.2 Saran	93
DAFTAR PUSTAKA.....	94
LAMPIRAN	105

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Terpenoid	13
Tabel 2.2 Subkelas terpenoid berdasarkan jumlah cincin	14
Tabel 2.3 Bilangan gelombang serapan beberapa gugus fungsi pada FTIR	34
Tabel 2.4 Serapan gugus fungsi pada spektrometri IR	34
Tabel 4.1 Optimasi Kondisi LCMS/MS	51
Tabel 5.1 Hasil Proses Ekstraksi Cair-Cair	53
Tabel 5.2 Nilai Rf KLT Hasil Ekstraksi Cair-Cair.....	55
Tabel 5.3 Nilai Rf KLT 6 Fraksi Gabungan.....	57
Tabel 5.4 Nilai Rf KLT 7 Subfraksi Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat.....	60
Tabel 5.5 Nilai Rf KLT Hasil Uji Golongan Senyawa Terpenoid	62
Tabel 5.6 Hasil Identifikasi Gugus Fungsi Isolat D3X dengan FTIR	65
Tabel 5.7 Hasil Identifikasi Senyawa dalam Isolat D3X dengan LCMS/MS	67
Tabel 5.8 Data Fragmen Massa dari Fragmen Induk Ferruginol	70
Tabel 6.1 Kemiripan Spektra IR Ferruginol Isolat D3X dengan Literatur	86
Tabel 6.2 Kemiripan Fragmentasi Ferruginol dengan Literatur.....	90

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Songga.....	8
Gambar 2.2 Struktur Kimia Dua Isolat Pimarane Diterpenoid	10
Gambar 2.3 Struktur Kimia lanost-9(11)-enyl acetate	11
Gambar 2.4 Struktur unit isoprene	12
Gambar 2.5 Skema proses eluasi KLT dalam chamber	21
Gambar 2.6 Skema proses pemisahan molekul pada KLT	22
Gambar 2.7 Ilustrasi sistem kromatografi cair vakum dengan tekanan rendah ..	25
Gambar 2.8 Rumus Beer's Law	27
Gambar 2.9 Rumus absorbansi spesifik	28
Gambar 2.10 Skema spektrofotometer UV	29
Gambar 2.11 Skema monokromator pada spektrofotometer UV	30
Gambar 2.12 Ilustrasi prinsip kerja spektrofotometri IR.....	31
Gambar 2.13 Rumus transmittan	32
Gambar 2.14 Rumus persentase transmittan.....	32
Gambar 2.15 Perbedaan hasil spektra UV dan spektra IR.....	33
Gambar 2.16 Sistem HPLC	36
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	38
Gambar 4.1 Prosedur Penelitian.....	46
Gambar 5.1 Skema Hasil Penelitian	52
Gambar 5.2 Ekstrak Batang Songga (<i>Strychnos lucida</i>)	53
Gambar 5.3 Hasil Ekstraksi Cair-Cair	54
Gambar 5.4 KLT Hasil Ekstraksi Cair-Cair	55
Gambar 5.5 KLT 6 Fraksi Gabungan	57
Gambar 5.6 KLT 7 Subfraksi Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat	60
Gambar 5.7 KLT subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, dan D3.7	62

Gambar 5.8 Spektra UV Visibel Isolat D3X dalam Pelarut Metanol.....	64
Gambar 5.9 Spektra inframerah isolat D3X batang Songga (<i>Strychnos lucida</i>) dalam pelet KBr.....	65
Gambar 5.10 Spektra LCMS/MS Isolat D3X dalam Pelarut Metanol.....	67
Gambar 5.11 Struktur Senyawa (+)-Gomisin M2 (C ₂₂ H ₂₆ O ₆)	68
Gambar 5.12 Struktur Senyawa Bufotalinin (C ₂₄ H ₃₀ O ₆)	69
Gambar 5.13 Struktur Senyawa Ferruginol (C ₂₀ H ₂₈ O).....	69
Gambar 5.14 Struktur Senyawa Spirasterone (C ₂₉ H ₄₆ O).....	69
Gambar 5.15 Spektrum Massa Ferruginol	70
Gambar 5.16 Prediksi Pola Fragmentasi Senyawa Ferruginol	72

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sertifikasi Identifikasi Tanaman Songga (<i>Strychnos lucida</i>)	105
Lampiran 2. Diagram Alir Proses Ekstraksi	106
Lampiran 3. Diagram Alir Proses Fraksinasi	107
Lampiran 4. Proses Kromatografi Cair Kolom Vakum (KCKV) Fraksi DCM.....	108
Lampiran 5. Proses Kromatografi Cair Kolom Lambat (KCKL) Fraksi D3.....	109
Lampiran 6. Sertifikat Analisis Isolat D3X dengan FTIR	110
Lampiran 7. Laporan Optimasi LCMS/MS Isolat D3X	111
Lampiran 8. Sertifikasi Analisis LCMS/MS Isolat D3X.....	114
Lampiran 9. Hasil Optimasi Fase Gerak untuk Ekstraksi Cair-Cair	115
Lampiran 10. KLT Hasil Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM	117
Lampiran 11. Nilai Rf Hasil Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM	119
Lampiran 12. Hasil Optimasi Fase Gerak untuk Kromatografi Kolom Lambat Fraksi D3	122
Lampiran 13. KLT Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat Fraksi D3.....	123
Lampiran 14. Nilai Rf Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat Fraksi D3.....	125
Lampiran 15. Hasil Analisa Isolat D3X dengan FTIR	129
Lampiran 16. Hasil Analisa Isolat D3X dengan LCMS/MS	131
Lampiran 17. Spektrum Massa Senyawa Ferruginol pada Literatur	140

DAFTAR SINGKATAN

CLC	<i>Column Liquid Chromatography</i>
D3	Diklorometana-3
DCM	Diklorometana
EA	Etil Asetat
ECC	Ekstraksi Cair-Cair
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
IR	<i>Infra Red</i>
KCKL	Kromatografi Cair Kolom Lambat
KCKV	Kromatografi Cair Kolom Vakum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LCMS	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
QTOF	<i>Quadrupole Time of Flight</i>
TLC	<i>Thin Liquid Chromatography</i>
UV Visible	<i>Ultra Violet Visible</i>
VCLC	<i>Vacuum Column Liquid Chromatography</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Etnobotani merupakan ilmu tanaman mengenai penggunaannya sebagai penunjang hidup sehari-hari dan adat dalam berbagai suku bangsa (Darmono, 2007). Etnobotani digunakan sebagai dokumentasi pengetahuan yang dikumpulkan dari masyarakat zaman dahulu hingga saat ini yang telah menggunakan berbagai macam tanaman untuk menunjang kehidupannya. Penunjang kehidupan tersebut diantaranya ialah makanan, pengobatan, bahan bangunan, upacara adat, budaya, bahan pewarna, dan sebagainya (Suryadarma, 2008). Etnobotani yang terus berkembang dari masa ke masa paling banyak membahas mengenai seputar fungsi tanaman sebagai media pengobatan penyakit. Pengobatan tersebut didasari oleh pengetahuan pengobatan masyarakat awam yang diterapkan dari prinsip "*back to nature*" (Setiawan, 2014).

Tanaman Songga (*Strychnos lucida*) yang sering dikenal penduduk setempat regional NTB sebagai Bidara Laut atau kayu pit dan di Bali terkenal dengan sebutan "Kayu Pahit" seringkali dimanfaatkan oleh penduduk setempat sebagai pengobatan (BPK Mataram, 2009). Songga terdistribusi di Australia Barat yaitu diperbatasan utara, Cape York Peninsula, area Townsville, dan area Princess Charlotte Bay (Australian Tropical Herbarium, 2021). Songga juga terdistribusi di Asia, terutama di wilayah Nusa Tenggara Barat (NTB) dan Bali. Songga tersebar di seluruh kawasan hutan dan umumnya berdekatan dengan pantai. Berbagai bagian dari tanaman songga telah dimanfaatkan oleh

masyarakat pedesaan untuk mengatasi penyakit otot dan persendian, penyakit kulit, diabetes, dan juga penyakit jantung (Setiawan, 2014). Menurut informasi masyarakat pedesaan, setiap bagian dari songga memiliki khasiat yang berbeda, namun sebagian besar masyarakat seringkali memanfaatkan bagian batang dibandingkan dengan bagian lainnya. Bagian batang dari songga seringkali digunakan masyarakat setempat sebagai obat malaria dengan cara merebus batang dan sarinya lalu diminum satu gelas sebanyak tiga kali sehari (Maharani dkk., 2010).

Profil aktivitas farmakologi tanaman Songga juga meliputi antipiretik, antispasmodik, dan bahkan memiliki efikasi sebagai antiinflamasi dan analgesik (Sugiarso, 1993). Songga mengandung saponin, yakni steroid dan triterpenoid, dimana senyawa tersebut mampu menurunkan gula darah plasma dengan aksi hambatan pelepasan enzim α -glukosidase yang dihasilkan pankreas. Saponin memiliki aktivitas hipokolesterolemik, imunostimulator, hipoglikemik, dan antikarsinogenik (Gusmailina, 2015). Bagian tanaman songga meliputi daun, kayu, batang, dan akar mengandung senyawa fenolik campuran dari berbagai senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan triterpenoid. Senyawa fenolik telah diketahui sangat kaya akan aktivitas farmakologinya, meliputi antifungi, insektisida, bakterisidal, antivirus, dan memiliki potensi hambatan pada beberapa enzim (Zubaidah et al., 2018).

Berdasarkan hasil penelusuran pustaka, identifikasi senyawa dalam ekstrak etanol kayu Songga didapati golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan polifenol (Maximus & Tukan, 2012). Hasil penelitian oleh Sari *et al.* (2011) juga menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terdeteksi pada semua ekstrak etanol dari tanaman Songga meliputi flavonoid, kuinon, triterpenoid, steroid, dan

tanin. Senyawa yang terdeteksi diduga sebagai pecahan dari senyawa glikosida triterpenoid atau fenolik. Tidak hanya itu, penelitian oleh Puspita (2016) juga membuktikan secara ilmiah bahwa ekstrak etil asetat batang songga teridentifikasi mengandung senyawa golongan terpenoid, fenolik, flavonoid, dan alkaloid.

Terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon dari tanaman dengan rumus molekul umum $(C_5H_8)_n$ dan biasanya dalam bentuk teroksigenasi, terhidrogenasi, dan turunan terdehidrogenasi (Yadav et al., 2014). "*Terpen*" dari kata terpenoid mendeskripsikan adanya isomer hidrokarbon dari rumus molekul $C_{10}H_{16}$ yang terdapat pada minyak esensial dari jaringan tanaman (Connolly et al., 2010). Terpenoid terdiri atas dua atau lebih unit isoprene. Isoprene merupakan unit penyusun terpenoid dengan bentuk unik kepala menuju ekor. Satu unit isoprene terdiri atas lima atom karbon (Hanson, 2009). Klasifikasi terpenoid dijelaskan berdasarkan jumlah atom karbon penyusun struktur (Paul, 2001; Sun et al., 2006).

Proses isolasi terpenoid dilakukan berdasarkan polaritasnya. Terpenoid paling banyak ditemui dalam bentuk terpen linear dan terpen siklik yang terdiri atas banyak hidrokarbon, sehingga molekulnya bersifat sangat non-polar (Croom et al., 2009). Terpenoid dapat juga diekstraksi dengan pelarut petroleum, seperti diklorometana, toluene, dan heksana (Boutekedjiret et al., 2014). Proses isolasi senyawa terpenoid dari bagian tanaman tertentu umumnya menggunakan metode fraksinasi menggunakan kromatografi dengan silika sebagai fase diam. Senyawa terpenoid yang mengandung atom karbon lebih banyak akan lebih lambat tereluasi dibandingkan dengan senyawa terpenoid yang memiliki bobot molekul kecil. Sedangkan terpen siklik dapat tereluasi lebih cepat dibandingkan

dengan terpenoid non-siklik dengan jumlah karbon yang sama karena memiliki ukuran yang lebih padat (Jiang et al., 2016).

Beberapa tahun terakhir, penelitian mengenai senyawa terpenoid dari tanaman obat mengalami peningkatan karena senyawa terpenoid memiliki aktivitas biologis seperti antitumor, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antimalaria, memicu peningkatan absorpsi transdermal, mencegah dan mengobati penyakit kardiovaskular, serta dapat menurunkan gula darah plasma. Senyawa terpenoid juga memiliki aktivitas sebagai insektisida, imunomodulator, antioksidan, mencegah penuaan, dan memiliki efek neuroprotektif (Yang et al., 2020). Sebagai contoh, salah satu obat antimalaria yaitu Artemisinin diisolasi dari tanaman *Artemisia annua* yang secara struktur kimia merupakan lakton seskuiterpen dengan jembatan endoperoksida, dimana senyawa terpenoid tersebut memiliki aktivitas antimalaria dan telah digunakan sebagai salah satu pengobatan malaria (Ghafoori et al., 2013).

Melalui penelusuran pustaka, informasi senyawa aktif terpenoid pada tanaman Songga (*Strychnos lucida*) masih terbatas. Hanya ditemukan informasi senyawa aktif terpenoid dari spesies *Strychnos* lain yakni *Strychnos vanprukii*. Pada tanaman tersebut ditemukan dua isolat pimarane diterpenoid yaitu 7 β ,12 β -dihydroxypimara-8,15-dien-14-one dan 14-hydroxy-15,16-dinorpimara-8,11,13-trien-7-one (Thongphasuk et al., 2006). Informasi senyawa terpenoid lainnya diperoleh dari hasil penelitian oleh Bentley et al. (1953) dari hasil isolasi *Strychnos nux-vomica* yaitu lanost-9(11)-enyl acetate (Bentley et al., 1953).

Berdasarkan penjelasan di atas, senyawa terpenoid memiliki beberapa aktivitas farmakologi yang potensial untuk dikembangkan, namun hingga saat ini informasi kandungan senyawa terpenoid pada batang Songga (*Strychnos lucida*)

masih sangat terbatas. Sehingga pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid pada batang Songga (*Strychnos lucida*). Identifikasi dilakukan melalui penelusuran profil isolat senyawa yang didapat menggunakan spektrofotometri UV Visibel, FTIR, dan LC-MS/MS.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apa senyawa terpenoid yang diisolasi dari fraksi diklorometana batang Songga (*Strychnos lucida*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini dibedakan menjadi 2 tujuan yaitu, tujuan umum dan tujuan khusus:

1. Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui senyawa isolat golongan terpenoid yang didapatkan dari proses isolasi dan identifikasi fraksi diklorometana batang songga (*Strychnos lucida*).

2. Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk menganalisa hasil analisis spektrofotometri UV-Visibel, FTIR, dan LC-MS/MS isolat senyawa terpenoid dari fraksi diklorometana batang Songga (*Strychnos lucida*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan acuan dasar serta referensi dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan penelitian-penelitian masa depan,

khususnya memberikan informasi kepada para peneliti mengenai kandungan senyawa terpenoid pada batang Songga (*Strychnos lucida*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat Nusa Tenggara Barat (NTB) mengenai kandungan senyawa terpenoid yang mungkin memiliki efek antimalaria. Hal ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan seputar potensi tanaman Songga sebagai tanaman obat yang bermanfaat dan mendorong upaya pembudidayaan tanaman Songga (*Strychnos lucida*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Songga

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman songga (*Strychnos lucida*) adalah sebagai berikut (Setiawan dkk., 2014):

Kingdom : Plantae
Sub-Kingdom : Tracheobionta
Super-Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub-Kelas : Asteridae
Ordo : Gentianales
Famili : Loganiaceae
Genus : *Strychnos*
Spesies : *Strychnos ligustrina* Blume.
Syn. *Strychnos lucida* R.Br.



Gambar 2.1 Tanaman Songga (Setiawan dkk., 2014)

2.1.2 Nama Daerah

Tanaman songga merupakan tanaman yang menjadi sumber bahan pengobatan yang cukup terkenal di wilayah Nusa Tenggara Barat (NTB) dan Bali yang sering disebut sebagai *bidara laut*. Songga memiliki beberapa nama lokal seperti di Bima dan Dompu (NTB) dikenal dengan nama *kayu songga*, sedangkan di Bali lebih dikenal dengan sebutan *kayu pait* (Setiawan dkk., 2014).

2.1.3 Distribusi dan Habitat

Songga terdistribusi di Australia Barat yaitu diperbatasan utara, Cape York Peninsula, area Townsville, dan area Princess Charlotte Bay (Australian Tropical Herbarium, 2021). Songga juga terdistribusi di Asia, terutama di wilayah Nusa Tenggara Barat (NTB) dan Bali (Setiawan dkk., 2014).

Songga tumbuh di lokasi yang memiliki tipe iklim D, E, dan F dengan jumlah bulan kering relatif cukup panjang. Karakteristik topografi tempat tumbuh songga berupa dataran sampai dengan perbukitan dengan kemiringan lereng mulai dari landai hingga curam. Penanaman songga umumnya pada tanah

dengan tekstur sedang hingga agak kasar dan sifat kimia tanah didominasi oleh pH agak asam (5.5-6.5) dan netral (6.6-7.5) (Setiawan dkk., 2014).

2.1.4 Morfologi

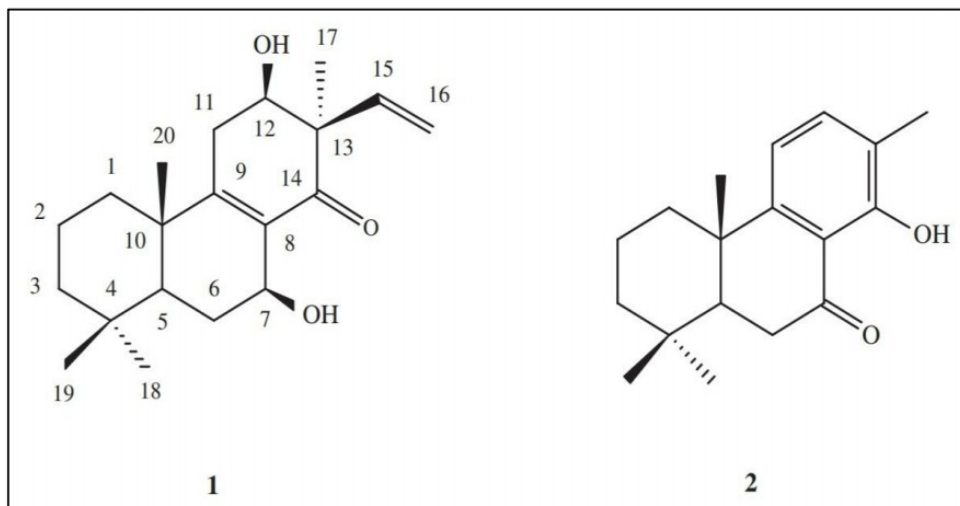
Songga (*Strychnos lucida*) termasuk dalam famili *Loganiaceae*. Karakteristik botani dari songga diantaranya adalah (1) tanaman merupakan pohon kecil dengan batang berdiameter hingga 30 cm dan tinggi rata-rata 12 m; (2) tanaman yang masih muda memiliki duri; (3) kayu berwarna kuning pucat, keras, dan kuat; (4) semua bagian dari tanaman memiliki rasa pahit dan yang paling pahit adalah bagian akar; (5) daun berukuran 2.6-6.1 cm x 1.7-3.7 cm dan bagian bawah daun berwarna lebih pucat; (6) bunga mempunyai kelopak dengan ukuran 1-1.3 mm, mahkota berukuran 10-15 mm, dan tabung sekitar 7-12 mm; (7) benang sari bunga terletak di dalam tabung dengan tangkai sari yang lebih pendek serta kepala sari berukuran 1.2-1.8 mm; (8) biji berdiameter 1 mm; (9) benih berukuran 12-15 mm x 10-12 mm; (10) kotiledon serupa dengan bentuk hati berukuran 25-30 mm (Setiawan dkk., 2014).

2.1.5 Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia yang terkandung dalam tanaman Songga meliputi golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, tanin, kuinon quasinoid, santon, stilbena, dan lignan (Nogueira, 2011). Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, identifikasi senyawa dalam ekstrak etanol kayu Songga didapati golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan polifenol (Maximus & Tukan, 2012). Hasil penelitian oleh Sari *et al.* (2011) juga menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terdeteksi pada ekstrak etanol dari tanaman Songga meliputi flavonoid, kuinon, triterpenoid, steroid, dan tanin. Senyawa yang terdeteksi

diduga sebagai pecahan dari senyawa glikosida triterpenoid atau fenolik. Tidak hanya itu, penelitian oleh Puspita (2016) juga membuktikan secara ilmiah bahwa ekstrak etil asetat batang songga teridentifikasi mengandung senyawa golongan terpenoid, fenolik, flavonoid, dan alkaloid.

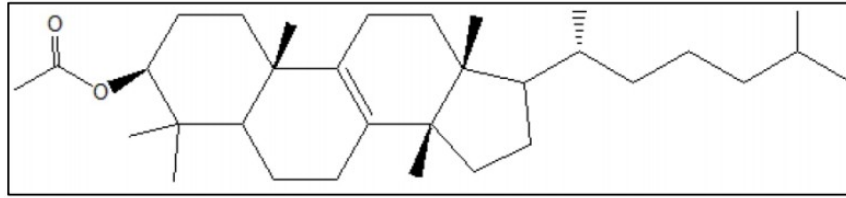
Melalui penelusuran pustaka, ternyata informasi senyawa aktif terpenoid spesifik pada Songga (*Strychnos lucida*) masih sangat minimal. Hasil penelusuran pustaka hanya ditemukan informasi senyawa aktif terpenoid yang ditemukan dari genus *Strychnos* lain yakni *Strychnos vanprukii*. Pada tanaman tersebut ditemukan dua isolat pimarane diterpenoid yaitu $7\beta,12\beta$ -dihydroxypimara-8,15-dien-14-one dan 14-hydroxy-15,16-dinorpimara-8,11,13-trien-7-one (Thongphasuk et al., 2006).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Dua Isolat Pimarane Diterpenoid

(Keterangan: (1) $7\beta,12\beta$ -dihydroxypimara-8,15-dien-14-one; (2) 14-hydroxy-15,16-dinorpimara-8,11,13-trien-7-one)

Informasi senyawa terpenoid lainnya diperoleh dari hasil penelitian oleh Bentley et al. (1953) dari hasil isolasi *Strychnos nux-vomica* dan didapatkan senyawa triterpenoid yaitu lanost-9(11)-enyl acetate (Bentley et al., 1953).



Gambar 2.3 Struktur Kimia lanost-9(11)-enyl acetate (Bentley et al., 1953)

2.1.6 Aktivitas Farmakologi

Songga terutama tersebar di kabupaten Bima dan kabupaten Dompu, Pulau Sumbawa. Songga tersebar di seluruh kawasan hutan dan umumnya berdekatan dengan pantai. Bagian batang songga telah dimanfaatkan oleh masyarakat pedesaan untuk mengatasi penyakit otot dan persendian, penyakit kulit, diabetes, dan juga penyakit jantung. Menurut informasi masyarakat pedesaan, setiap bagian dari songga memiliki khasiat yang berbeda, namun sebagian besar masyarakat seringkali memanfaatkan bagian batang dibandingkan dengan bagian lainnya. Bagian batang dari songga seringkali digunakan masyarakat setempat sebagai obat malaria dengan cara merebus batang dan sarinya diminum satu gelas sebanyak tiga kali sehari (Maharani dkk., 2010).

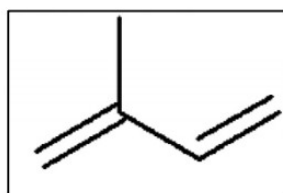
Profil aktivitas farmakologi tanaman Songga juga meliputi antipiretik, antispasmodik, dan bahkan memiliki efikasi sebagai antiinflamasi dan analgesik (Sugiarso, 1993). Songga mengandung saponin, yakni steroid dan triterpenoid, dimana senyawa tersebut mampu menurunkan gula darah plasma dengan aksi hambatan pelepasan enzim α -glukosidase yang dihasilkan pankreas. Saponin memiliki aktivitas hipokolesterolemik, imunostimulator, hipoglikemik, dan antikarsinogenik (Gusmailina, 2015). Bagian tanaman songga meliputi daun, kayu, batang, dan akar mengandung senyawa fenolik campuran dari berbagai

senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan triterpenoid. Senyawa fenolik telah diketahui sangat kaya akan aktivitas farmakologinya, meliputi antifungi, insektisida, bakterisidal, antivirus, dan memiliki potensi hambatan pada beberapa enzim (Zubaidah et al., 2018).

2.2 Tinjauan Golongan Terpenoid

2.2.1 Definisi dan Struktur

Terpenoid merupakan hidrokarbon yang berasal dari tanaman dengan rumus umum $(C_5H_8)_n$ dalam bentuk teroksigenasi, terhidrogenasi, atau turunan terhidrogenasi (Yadav et al., 2014). Terpenoid tersebar pada bagian daun, buah dan batang pada tanaman tingkat tinggi, konifera, citrus dan eukaliptus (Breitmaier, 2008). Terpenoid terdiri atas dua atau lebih unit isoprene, dimana tiap satu unit isoprene terdiri atas lima atom karbon. Antara satu unit isoprene dengan unit lainnya bergabung membentuk struktur terpenoid dengan model kepala menuju ekor atau umumnya disebut sebagai "*head to tail*" (Hanson, 2009).



Gambar 2.4 Struktur unit isoprene (Fischedick, 2013)

Kata "*terpene*" dari terpenoid menunjukkan bahwa senyawa diisolasi dari *terpentine*, yakni likuid bersifat volatil dari pohon pinus. Bentuk terpenoid yang lebih sederhana, yaitu monoterpene dan sesquiterpene merupakan komposisi utama pada minyak esensial yang terdapat dalam jaringan tanaman. Bentuk diterpene dan triterpene bersifat tidak volatil (Yadav et al., 2014).

Sebagian besar terpenoid tidak berwarna, berbentuk likuid beraroma yang lebih ringan dari air dan bersifat volatil dengan pemanasan. Beberapa terpenoid ada yang berbentuk padat, seperti kamfor. Semua terpenoid larut dalam pelarut organik dan biasanya tidak larut dalam air. Struktur terpenoid berupa rantai terbuka atau berupa senyawa siklik tak jenuh dengan satu atau lebih ikatan rangkap ganda. Hal ini menyebabkan terpenoid dapat bereaksi dengan penambahan atom hidrogen, halogen, asam, dan sebagainya. Reaksi yang terlibat pada terpenoid umumnya adalah polimerisasi dan dehidrogenisasi. Terpenoid mudah teroksidasi oleh sebagian besar agen pengoksidasi. Saat dekomposisi termal, hampir seluruh terpenoid menghasilkan isoprene sebagai salah satu produknya (Zhang et al., 2003).

2.2.2 Klasifikasi

Struktur kimia terpenoid memiliki rumus umum $(C_5H_8)_n$. Terpenoid dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah “n” atau jumlah atom karbon yang terdapat dalam struktur (Paul, 2001; Sun et al., 2006). Tiap kelas terpenoid dapat dibagi lagi menjadi beberapa subkelas berdasarkan jumlah cincin yang terdapat dalam struktur.

Tabel 2.1 Klasifikasi Terpenoid (Yadiv et al., 2014)

Jumlah Atom Karbon	Nilai n	Kelas
10	2	Monoterpenoid (C ₁₀ H ₁₆)
15	3	Sesquiterpenoid (C ₁₅ H ₂₄)
20	4	Diterpenoid (C ₂₀ H ₃₂)

25	5	Seisterpenoid (C ₂₅ H ₄₀)
30	6	Triterpenoid (C ₃₀ H ₄₈)
40	8	Tetraterpenoid (C ₄₀ H ₆₄)
> 40	> 8	Politerpenoid (C ₅ H ₈) _n

Tabel 2.2 Subkelas terpenoid berdasarkan jumlah cincin (Yadiv et al., 2014)

Subkelas Terpenoid	Jumlah cincin
Asiklik	0 (rantai terbuka)
Monosiklik	1
Bisiklik	2
Trisiklik	3
Tetrasiklik	4

2.2.3 Aktivitas Farmakologi

Salah satu aktivitas farmakologi yang sering diteliti pada terpenoid ialah aktivitas antimikroba. Terpenoid memiliki aktivitas antimikroba melalui mekanisme bakteristatik bakteri tertentu, seperti *Staphylococcus aureus*. Diterpenoid juga diketahui memiliki aktivitas antifungi (Hanson, 2007). Terpenoid bentuk mono-, sesqui-, dan di- juga telah diteliti dan menunjukkan bahwa beberapa memiliki aktivitas antivirus yang berpotensi sebagai kandidat obat baru di masa depan (Buchbauer, 2010). Secara *in vitro*, aktivitas antimikroba dari terpenoid utamanya karena kemampuan dari terpenoid dalam merusak membran bakteri secara tidak spesifik (Maffei et al., 2011).

Terpenoid juga menjadi salah satu senyawa isolat yang dikembangkan sebagai obat malaria karena memiliki aktivitas antimalaria yang poten yaitu endoperoksida pada terpenoid mampu memecah diri dan menimbulkan reaksi pembentukan ion radikal bebas yang kemudian akan berikatan dengan beberapa protein dan dapat memicu kematian dari organisme (O'Neill, 2010). Dalam penelitian oleh Ambrosio et al. (2004) telah diisolasi senyawa pimarane diterpenoid pada *Strychnos vaprunkii* yang memiliki potensi sebagai antimikroba terutama pada bakteri gram negatif dan positif. Hasil penelusuran pustaka juga menunjukkan bahwa senyawa pimarane diterpenoid memiliki efek antiparasit terutama pada parasit *Plasmodium falciparum* yakni parasit penyebab penyakit malaria. Pimarane diterpenoid juga memiliki aktivitas penurun tekanan darah melalui aktivitas relaksasi vaskular yang menyebabkan hambatan pada influks kalsium ekstraseluler, sehingga dapat mempengaruhi membran sel otot polos (Reveglia et al., 2018).

Terpenoid juga memiliki aktivitas antiinflamasi dan analgesik, terutama pada tanaman yang mengandung lakton seskuiterpen. Lakton seskuiterpen mampu menghambat faktor transkripsi pro-inflamasi seperti *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yang dapat memberikan efek antiinflamasi (Salminen et al., 2008). Beberapa uji klinis menunjukkan bahwa terpenoid memiliki efek positif mencegah nyeri haid (*dysmenorrhea*), nyeri kolik pada bayi, nyeri akibat trauma atau nyeri setelah operasi sendi, sakit kepala, dan *irritable bowel syndrome* (Harris, 2010). Beberapa bentuk diterpenoid juga memiliki efek antiinflamasi melalui hambatan mediator proinflamasi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) dan interleukin-12 (IL-12) (Hanson, 2007).

Terpenoid juga menjadi salah satu senyawa yang seringkali digunakan dalam pengembangan obat kanker baru. Terpenoid memiliki aktivitas antikanker melalui kemampuan untuk memicu polimerisasi tubulin menjadi mikrotubul yang stabil sehingga dapat mencegah terjadinya mitosis. Selain memiliki aktivitas antiinflamasi, diterpenoid juga memiliki efek sitotoksik dan aktivitas antitumor (Gunn et al., 2011). Banyak sesquiterpenoid juga dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik, terutama yang memiliki gugus *α-methylene-γ-lactone*, dengan mekanisme sitotoksik berupa hambatan *Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca-ATPase* (SERCA) yang dapat memicu peningkatan Ca^{2+} sitoplasma dan menyebabkan kematian sel (Drew et al., 2009).

Terpenoid juga memiliki efek pada sistem saraf pusat melalui persepsi aroma. Terpenoid memiliki aktivitas pada sistem saraf pusat melalui aksi farmakologi secara langsung pada otak, seperti pada reseptor saraf dan juga dapat mempengaruhi komponen pada sistem olfaktori (Heuberger, 2010). Beberapa penelitian juga melaporkan, terpenoid memiliki efek psikofarmakologis seperti *anxiolytic*, antikonvulsan, antidepresan, dan efek hipnotik yang mekanismenya belum diketahui secara jelas (Nunes et al., 2010).

2.3 Tinjauan Ekstrak

2.3.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang didapatkan dari proses ekstraksi senyawa aktif tertentu dari bahan baku berupa simplisia yang sumbernya dapat berasal dari tanaman atau hewan menggunakan pelarut tertentu yang kemudian pelarut tersebut diuapkan dan akan membentuk massa yang lebih pekat yang dapat diproses lebih lanjut (DEPKES RI, 2014). Beberapa macam ekstrak (Voight, 1994), yaitu:

- 1) Ekstrak cair, jika mengandung kadar air lebih dari 30%.
- 2) Ekstrak kental, jika mengandung kadar air antara 5-30%.
- 3) Ekstrak kering, jika mengandung kadar air kurang dari 5%.

2.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Mutu Ekstrak

Dua faktor utama yang dapat mempengaruhi mutu ekstrak adalah faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi spesies tanaman, habitat tanaman, waktu panen, penyimpanan bahan tanaman, usia tanaman, dan bagian tanaman yang digunakan. Sedangkan faktor kimia meliputi faktor internal seperti jenis senyawa aktif dalam bahan tanaman, komposisi senyawa aktif baik secara kualitatif dan kuantitatif, dan kadar total rata-rata senyawa aktif serta faktor kimia berupa faktor eksternal seperti metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi, ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat, dan kandungan pestisida (DEPKES RI, 2000).

2.3.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses isolasi senyawa atau bahan aktif dari sumber bahan yang belum melalui proses tertentu seperti tanaman atau hewan atau secara langsung berasal dari sumber alami. Tujuan dilakukannya ekstraksi, meliputi: (1) untuk mendapatkan bagian senyawa terapan dari bahan baku dan mengeliminasi bahan yang tidak dibutuhkan melalui perlakuan menggunakan pelarut tertentu; (2) berperan untuk determinasi komposisi ekstrak secara kualitatif dan kuantitatif; (3) hasil ekstrak dapat digunakan lebih lanjut dalam proses isolasi dan karakterisasi senyawa terapan. Proses ekstraksi secara keseluruhan dibagi menjadi empat tahap, yaitu penetrasi pelarut ke dalam bahan baku, disolusi senyawa-senyawa yang terkandung, difusi pelarut dari dalam sel-

sel, dan pemisahan antara bagian terlarut dan tidak terlarut (Balakrishna et al., 2016).

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tanaman adalah sebagai berikut (Mukhriani, 2014):

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah metode sederhana untuk memisahkan senyawa dalam pelarut dari tanaman. Metode ini dilakukan dengan merendam serbuk dalam pelarut tertentu dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan.

2) Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah.

b. Cara panas

1) Soxhlet

Metode soxhlet dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung dengan bahan selulosa (dapat diganti kertas saring) dalam kelongsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux.

2) Refluks dan Destilasi uap

Metode refluks dilakukan dengan memasukkan sampel bersama pelarut di dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap akan terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

3) Destilasi uap

Destilasi uap memiliki proses yang serupa dan umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial yang bersifat volatil. Selama pemanasan, uap akan terkondensasi dan destilat ditampung terpisah dalam wadah yang terhubung dengan kondensor.

2.4 Tinjauan Metode Pemisahan

2.4.1 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair (ECC) adalah metode untuk memisahkan zat terlarut dari medium pelarut. Dalam proses pemisahan, kedua pelarut yang tidak dapat bercampur (pelarut air dan pelarut organik) disatukan dan zat terlarut akan terdistribusi pada dua fase tersebut. Pemilihan pelarut adalah faktor penting dalam pemisahan dengan metode ECC. pemilihan pelarut menentukan distribusi dari zat terlarut pada dua fase pelarut sesuai dengan karakteristik kepolaran dari zat terlarut. Distribusi zat-zat terlarut dalam fase air dan fase organik diatur oleh koefisien distribusi (K_d). K_d adalah rasio kelarutan zat terlarut dalam fase organik terhadap fase air. Semakin besar nilai K_d menunjukkan semakin tinggi zat terlarut yang berada dalam fase organik (Mizzi dkk., 2016).

ECC biasanya dilakukan menggunakan corong pisah. Kedua pelarut yang tidak saling bercampur tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian

dikocok dan didiamkan hingga terpisah menjadi dua fase. Senyawa terlarut akan terdistribusi kedua fase tersebut, dua fase tersebut kemudian dapat dipisahkan dengan membuka kran pipa corong pisah (Dalimunthe dkk., 2016).

2.4.2 Kromatografi

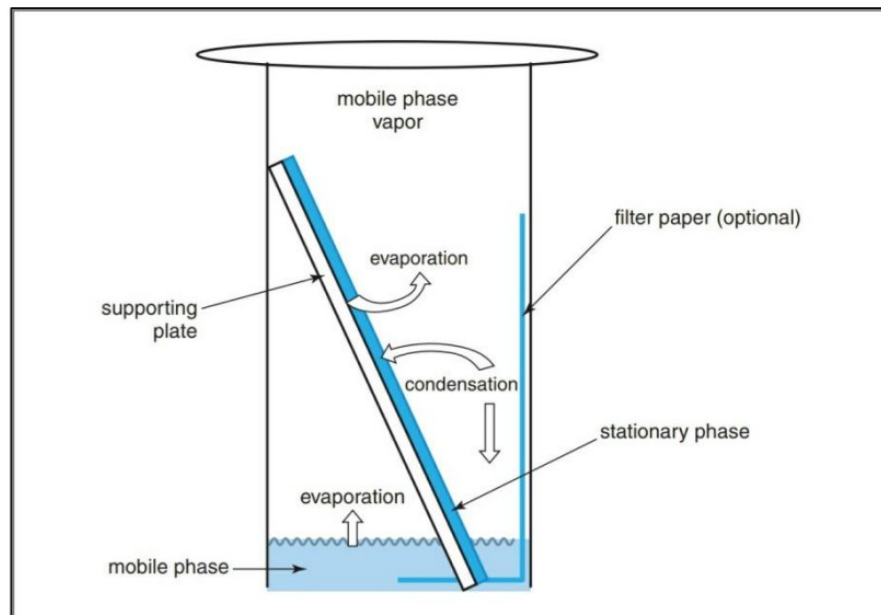
Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), *size-exclusion chromatography* (SEC), *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker dkk., 2006).

2.4.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Prinsip kerja KLT berdasarkan pada aturan "*Like Dissolves Like*" yang diikuti dengan pemisahan campuran senyawa polar, non polar, dan semipolar dari ekstrak pada fase diam dan fase gerak. Fase gerak akan mengalir melalui fase diam dengan aksi kapiler. Beberapa campuran senyawa akan larut dalam fase gerak dan naik ke atas dan beberapa campuran lainnya akan terjerap dalam fase diam. Nilai R_f adalah *Retardation factor* atau faktor retardasi yang dapat dihitung melalui perbandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. Nilai R_f kemudian dapat dihitung melalui observasi noda yang muncul pada plat KLT di bawah sinar UV 365 nm. Senyawa yang menempuh jarak dari titik penotolan awal dan jarak yang ditempuh pelarut harus dicatat. Molekul yang identik akan menempuh jarak yang

bervariasi tergantung pada suhu, fase gerak, dan fase diam yang digunakan (Lade et al., 2014).

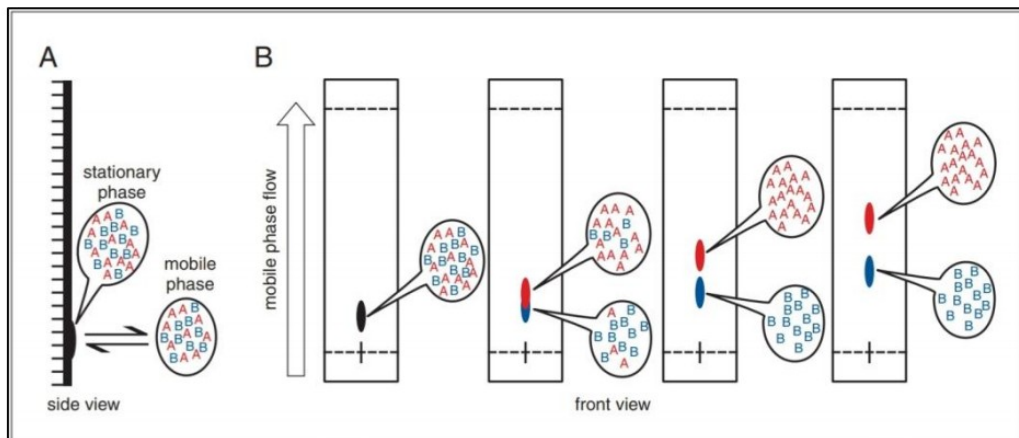
KLT melibatkan keadaan ekuilibrium molekul secara cepat dan dinamis antara dua fase (fase gerak dan fase diam). Diantara pencampuran fase gerak dan penguapan, kondisi ekuilibrium akan terjadi secara gradual atau seringkali disebut sebagai penjenahan *chamber*. Bagian dari lapisan fase diam yang telah terbasahi oleh fase gerak juga berkontribusi langsung terhadap proses ekuilibrium tersebut (Cai, 2014)..



Gambar 2.5 Skema proses eluasi KLT dalam chamber (Cai, 2014)

Selama proses eluasi, molekul akan terus menerus bergerak keluar dan masuk antara keadaan bebas dan teradsorpsi. Keseimbangan tekanan intermolekul mendeterminasikan posisi ekuilibrium dan menunjukkan kemampuan pelarut untuk menggerakkan zat terlarut naik melalui plat. Keseimbangan ini dipengaruhi oleh (1) polaritas bahan pelapis plat KLT, (2) polaritas pelarut yang digunakan, dan (3) polaritas molekul dalam sampel.

Sebagai contoh pada gambar 2.4, digunakan sampel mengandung dua senyawa gabungan A dan B. Jika molekul A terjerap lebih lama dalam fase gerak, molekul A akan dibawa melaju melewati fase diam lebih cepat. Sedangkan molekul B akan lebih terjerap pada fase diam daripada molekul A, karena molekul B hanya sebentar terjerap dalam fase gerak dan akan melalui fase diam secara lambat sehingga tidak akan berpindah terlalu jauh dalam waktu yang sama. Hal ini menyebabkan molekul A secara gradual terpisah dengan molekul B berdasarkan laju fase gerak (Cai, 2014).



Gambar 2.6 Skema proses pemisahan molekul pada KLT

Kelebihan dari metode pemisahan dengan KLT meliputi teknik yang berskala kecil sehingga hanya membutuhkan jumlah sampel yang sedikit, identifikasi secara cepat, mudah dimonitor, mudah dideterminasi, senyawa yang didapat dapat diidentifikasi lebih lanjut dengan instrumen lain. Sedangkan permasalahan yang mungkin muncul pada metode KLT, antara lain (Lade et al., 2014):

- Penotolan sampel terlalu besar, hal ini dapat menyebabkan pemisahan kurang baik dan menghasilkan noda yang memanjang dan kurang jelas untuk diidentifikasi.

- Kurva tajam pita

Banyak senyawa pada plat KLT dipisahkan dengan lengkung sangat tajam, bukan pita tepat lurus. Hal ini dapat disebabkan oleh sampel yang terkonsentrasi atau karena fase gerak yang kurang sesuai.

- Penotolan sampel yang tidak merata, hal ini menyebabkan distribusi sampel yang tidak merata pada fase diam.

- Laju fase gerak yang tidak merata

Plat KLT yang tidak rata dan silika gel yang menyebar secara tidak merata akan mengganggu pergerakan dan pemisahan senyawa.

- Pembentukan noda memanjang

Plat KLT terkadang menunjukkan pembentukan noda memanjang karena distribusi molekul yang tidak merata antara fase diam dan fase gerak atau karena kesalahan pencampuran fase gerak.

- Posisi plat

Sangat penting untuk menjaga posisi plat vertikal di dalam ruang kromatografi.

- Permukaan ruang kromatografi yang tidak rata

Permukaan harus bidang sehingga laju fase gerak tetap lurus dan segaris.

2.4.2.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bidimensional

KLT bidimensional atau dua dimensi merupakan metode yang sangat berguna untuk identifikasi sampel dengan kandungan dalam jumlah besar, seperti ekstrak hasil bahan alam. Dalam metode ini, sampel ditotolkan pada plat persegi besar dan dieluasi pertama kali dengan arah pertama yang kemudian setelah dikeringkan dilanjutkan eluasi kedua dengan memutar plat KLT sebesar

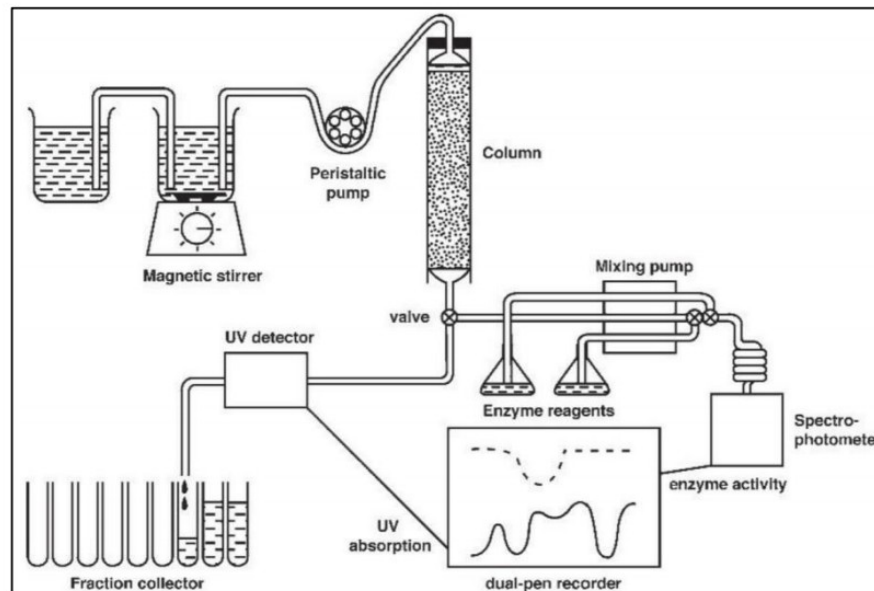
90 C menggunakan fase gerak yang berbeda. Dengan eluasi ganda ini sehingga didapatkan pemisahan dengan dua fase gerak yang berbeda (Cai, 2014).

2.4.2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Preparatif

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan metode preparatif hampir sama perlakuannya dengan KLT pada umumnya. KLT preparatif biasanya digunakan untuk mengisolasi senyawa spesifik yang sebelumnya teridentifikasi di bawah sinar UV. Perbedaan perlakuannya adalah pada penotolan sampel, kuantitas penotolan adalah sebanyak 30-100 mikroliter yang dilakukan di sepanjang garis batas plat yang telah ditentukan. Hasil noda yang tampak nantinya akan dikerok untuk kemudian diidentifikasi lebih lanjut menggunakan instrumen spektrofotometer UV, GCMS, FTIR, NMR, atau spektroskopi massa (Lade et al., 2014).

2.4.2.4 Kromatografi Cair Kolom (KCK)

Kromatografi Cair Kolom merupakan metode pemisahan komponen senyawa dalam campuran. Fraksinasi senyawa terjadi sebagai hasil dari migrasi diferensial senyawa melalui fase diam dalam tabung tertutup. Dalam KCK, fase gerak merupakan fase cair dan fase diam dapat berupa fase padat atau cair yang didukung dengan padatan inert (Nielsen, 2010).



Gambar 2.7 Ilustrasi sistem kromatografi cair vakum dengan tekanan rendah (Nielsen, 2010)

Fase diam umumnya melalui proses hidrasi terlebih dahulu menggunakan fase gerak terpilih. Fase diam yang sudah siap kemudian dimasukkan ke dalam kolom (berbahan gelas) yang panjang dan diameternya bervariasi dan dipilih berdasarkan jumlah sampel yang akan difraksinasi. Kolom yang lebih panjang dan lebar biasanya meningkatkan resolusi dan separasi. Kolom adsorpsi yang telah siap dibasahi dengan fase gerak hingga membentuk fase diam yang tetap. Sampel yang akan difraksinasi dilarutkan terlebih dahulu menggunakan sedikit fase gerak dan kemudian diaplikasikan di lapisan atas kolom. Fase gerak dibiarkan mengalir dan ditampung terus menerus serta dilakukan penambahan fase gerak melalui sisi atas hingga fraksinasi selesai. Kromatografi Cair Kolom tekanan rendah umumnya hanya menggunakan laju gravitasi saja untuk mengalirkan fase gerak melalui kolom (Nielsen, 2010).

Proses fase gerak melalui kolom dinamakan eluasi, dan bagian yang melewati kolom dan pada akhirnya ditampung disebut sebagai eluat. Proses

eluasi mungkin dapat isokratik atau konstan atau berdasarkan gradien. Pada proses eluasi, terjadi pemisahan komponen sampel secara selektif oleh fase diam berdasarkan pada kekuatan interaksi antara fase diam dan komponen (Nielsen, 2010)..

2.4.2.5 Kromatografi Cair Kolom Vakum (KCKV)

KCKV memiliki prinsip kerja yang sama dengan kromatografi cair kolom biasa dengan perbedaan pada proses eluasi. Proses eluasi pada KCKV, aliran fase gerak menggunakan bantuan vakum untuk menjaga aliran dari fase gerak dan mempercepat pemisahan. Eluen dapat secara mudah melewati fase diam akibat bantuan dari tekanan tinggi. Laju alir dipengaruhi oleh tekanan hidrostatik (Nielsen, 2010).

2.5 Tinjauan Spektrofotometri

Identifikasi golongan senyawa dapat dengan pengujian warna dengan reagen, penentuan kelarutan, nilai R_f dan karakteristik spectrum atau kromatogram. Identifikasi yang sering digunakan secara luas adalah pengukuran spektrum absorban dengan spektrofotometer. Terdapat tiga jenis spektrum absorban yaitu sinar tampak, sinar ultraviolet dan inframerah (Mukhriani, 2014).

2.5.1 Spektrofotometri UV-Vis

Daerah pengukuran spektrofotometer UV adalah pada panjang gelombang 200-400 nm. Spektrum UV disebut juga sebagai spektrum elektronik karena terjadi akibat interaksi radiasi UV terhadap molekul yang mengakibatkan molekul tersebut mengalami transisi elektronik. Apabila suatu molekul atau atom dipaparkan dengan radiasi elektromagnetik maka sebagian dari radiasi akan

diserap oleh molekul atau atom tersebut sesuai dengan karakteristik molekul atau atom yang memiliki gugus kromofor. Spektrum serapan UV tidak didasarkan pada getaran dari atom dalam molekul namun berdasarkan serapan radiasi dengan panjang gelombang tertentu. Spektra UV digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan ikatan rangkap terkonjugasi pendek misalnya cincin aromatik dan ikatan rangkap terkonjugasi panjang misalnya karotenoid (Gandjar, 2008).

Prinsip determinasi kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV adalah ketika radiasi elektromagnetik monokromatik dengan hanya satu jenis panjang gelombang dengan intensitas tertentu menembus melewati suatu larutan analit, beberapa radiasi akan terabsorpsi oleh analit ketika melewati analit tersebut. *Beer's Law* mengatur pengukuran absorpsi radiasi oleh larutan analit. Menurut *Beer's Law*, absorbansi (A) sebanding dengan laju gelombang dimana radiasi melewati analit (b) dan konsentrasi senyawa dari analit (c), dimana :

$$A = \epsilon bc$$

Gambar 2.8 Rumus Beer's Law (Hansen et al., 2012)

b diukur dalam sentimeter dan c dalam mol per liter (M), dan E disebut sebagai absorptivitas molar, dimana nilainya konstan terhadap senyawa partikular. *Beer's Law* mengatakan bahwa absorbansi sebanding dengan absorptivitas molar, panjang jalur, dan konsentrasi analit (Hansen et al., 2012).

Absorbansi spesifik nantinya dapat digunakan lebih lanjut untuk menghitung konsentrasi berupa % (g/100 mL). Absorbansi spesifik dihitung dengan rumus berikut:

$$A_{1\text{ cm}}^{1\text{ percent}} = \frac{10\varepsilon}{M_r}$$

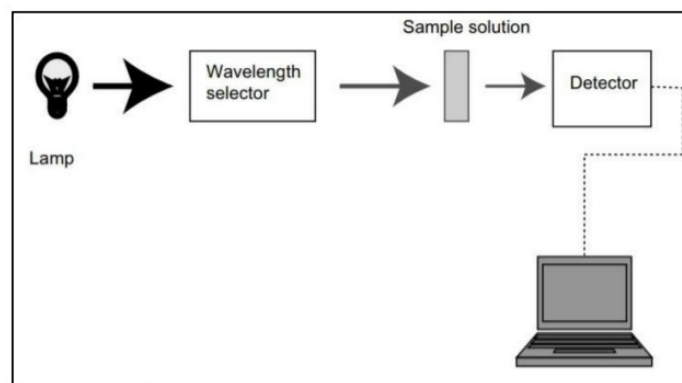
Gambar 2.9 Rumus absorbansi spesifik (Hansen et al., 2012)

Dalam hal ini, absorbansi larutan mengandung 1 g senyawa yang dilarutkan dalam 100 mL pelarut dan diukur pada panjang gelombang tertentu pada panjang jalur sebesar 1 cm. M_r merupakan massa molekul relatif dan absorbansi spesifik juga dapat ditulis dengan A (1%, 1 cm). Panjang jalur spesifik terhadap alat yang digunakan dan pengukurannya yang pada umumnya adalah sebesar 1 cm. Absorbansi analit harus dikalibrasi terlebih dahulu sebelum dideterminasi. Kalibrasi dilakukan dengan mengukur absorbansi dari larutan standar yang konsentrasinya telah diketahui. Absorbansi sangat dipengaruhi oleh (1) panjang gelombang, (2) pelarut, (3) pH senyawa (asam atau basa), dan (4) suhu (dalam pengaruh kecil). Kalibrasi dapat menjadi bias karena agak sulit menyeragamkan pelarut dan pH antara larutan standar dan larutan sampel. Hal ini diakibatkan oleh absorptivitas senyawa dari larutan standar yang mungkin berbeda dari larutan sampel (Hansen et al., 2012).

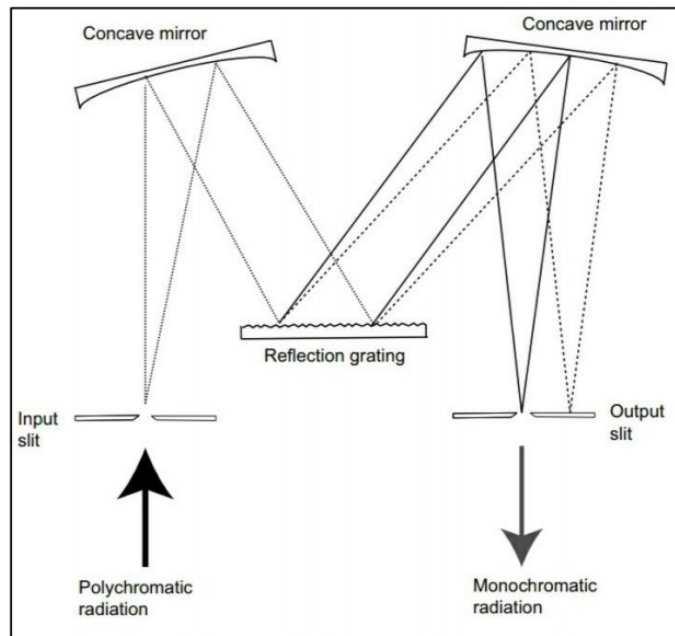
Selain untuk analisis kuantitatif, spektrofotometri UV juga digunakan untuk identifikasi senyawa. Identifikasi senyawa didasarkan pada spektra UV, dimana absorbansi senyawa dicatat sebagai panjang gelombang. Senyawa yang berbeda kemungkinan akan memiliki spektra UV yang berbeda pula. Senyawa yang tidak diketahui bisa diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV jika spektrum senyawa yang tidak diketahui identik dengan spektrum referensi dari senyawa yang diketahui. Namun perlu diperhatikan bahwa identifikasi dapat

menjadi bias karena senyawa yang berbeda bisa memiliki spektra UV yang serupa. Dalam hal tersebut, identifikasi bisa dikonfirmasi lebih lanjut menggunakan instrumen lain, seperti spektrofotometri IR (Hansen et al., 2012).

Skema pengukuran dengan spektrofotometri UV meliputi radiasi akan dipancarkan pada rentang panjang gelombang tertentu yang sebelumnya telah ditentukan. Rentang panjang gelombang akan diarahkan dari sumber radiasi menuju sampel. Sumber radiasi umumnya berasal dari lampu deuterium. Lampu tersebut memancarkan radiasi di rentang 160-375 nm. Spektrofotometer biasanya juga memiliki area radiasi visibel dengan rentang 350-2500 nm yang sumber radiasinya utamanya berasal dari lampu tungsten. Radiasi yang masuk melalui celah utama akan dipancarkan terus-menerus dan akan direfleksikan dan ditransmisikan pada berbagai sudut tergantung panjang gelombangnya. Radiasi akan berakhir memantul pada kaca konkaf dan melewati celah keluar. Ketika melalui celah keluar inilah panjang gelombang yang tepat dipilih (Hansen et al., 2012).



Gambar 2.10 Skema spektrofotometer UV (Hansen et al., 2012)



Gambar 2.11 Skema monokromator pada spektrofotometer UV (Hansen et al., 2012)

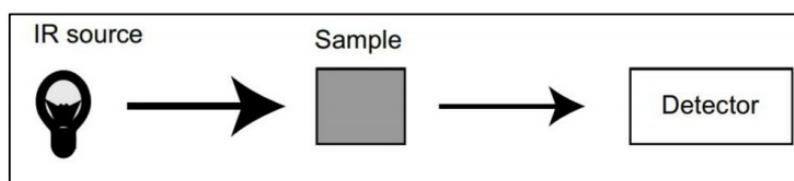
Dalam spektrofotometri UV-Visibel, gugus fungsi senyawa terpenoid dalam rentang panjang gelombang 200-350 nm disebut sebagai gugus kromofor. Gugus tersebut terdiri atas ikatan olefinat (ikatan dua dan tiga rangkap) dan gugus karbonil (aldehida, keton, ester asam karboksilat). Kromofor tunggal yang diisolasi dari ikatan dua dan tiga rangkap tidak dapat diadsorpsi pada panjang gelombang lebih dari 200 nm. Sedangkan gugus keton, aldehida, asam karboksilat, dan ester yang terisolasi dapat teradsorpsi pada panjang gelombang lebih besar dari 200 nm namun dengan intensitas yang rendah. Hasil analisa UV ini menjadi bermakna hanya jika senyawa terpenoid memiliki molekul dengan ikatan rangkap dua dan gugus α , β -unsaturated carbonyl (Manasa, 2014).

2.5.2 Spektrofotometri *Infrared* (IR)

Spektrofotometri IR merupakan teknik untuk mengidentifikasi gugus fungsional pada isolat dari ekstrak tanaman. Satu tetes sampel likuid

ditempatkan di antara dua plat sodium klorida untuk membentuk lapisan tipis. Pada sampel padat, sampel harus dihaluskan menjadi serbuk sehalus mungkin dan dilarutkan dengan kalium bromida (KBr). Kemudian campuran akan dikompres menjadi sebuah endapan dan diletakkan dalam tempat sampel (*sample holder*) dan siap untuk dianalisis. Hasil analisis berupa puncak pada gelombang spesifik yang dapat dikarakterisasi gugus fungsional yang muncul pada sampel (Mtewa, et al., 2018).

Spektrofotometri IR didasarkan pada fakta bahwa seluruh atom dalam molekul organik berada dalam getaran berkesinambungan dan berotasi dengan berinteraksi satu sama lain. Ketika frekuensi getaran spesifik sebanding dengan frekuensi radiasi IR mengarah langsung ke molekul, molekul akan menyerap radiasi dan radiasi akan dikonversikan menjadi energi getaran molekul. Spektroskopi IR memiliki prinsip kerja penyerapan radiasi elektromagnetik sama halnya seperti spektroskopi UV. Umumnya, panjang gelombang berkisar antara 2500 hingga 15000 nm. Daerah panjang gelombang tersebut dinamakan *middle infrared region*. Beberapa tahun terakhir, daerah 800-2500 nm juga digunakan dalam analisis bahan farmasi, dan dikenal sebagai *near infrared region* (NIR) (Hansen et al., 2012).



Gambar 2.12 Ilustrasi prinsip kerja spektrofotometri IR (Hansen et al., 2012)

Spektra IR menunjukkan pita absorpsi yang lebih detail daripada spektra UV pada senyawa yang sama. Spektra IR lebih menyerupai *fingerprints* dari

molekul organik dan mendukung informasi terukur yang bermanfaat untuk mengidentifikasi suatu senyawa. Perbedaan prinsip antara spektra UV dan IR adalah dalam spektra UV, absorbansi ditandai sebagai fungsi panjang gelombang, sedangkan pada transmittan spektra IR ditandai sebagai fungsi nilai gelombang. Transmittan didefinisikan dalam rumus berikut:

$$T = I/I_0$$

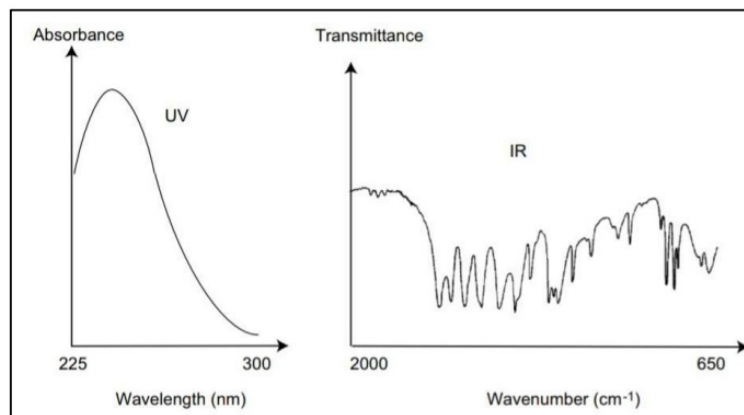
Gambar 2.13 Rumus transmittan (Hansen et al., 2012)

Dimana I_0 adalah intensitas radiasi yang secara langsung memancar ke sampel dan I adalah intensitas radiasi yang ditransmisikan melewati sampel. Transmittan seringkali diekspresikan dalam persentase menggunakan rumus berikut:

$$\% T = I/I_0 \times 100\%$$

Gambar 2.14 Rumus persentase transmittan (Hansen et al., 2012)

Ketika sampel tidak menyerap radiasi, $I = I_0$ dan transmittan adalah sebesar 100%. Jika seluruh radiasi diserap oleh sampel, transmittan akan bernilai 0%. Transmittan dalam spektra IR memiliki rentang 0 - 100%. Nilai gelombang didefinisikan sebagai: **Nilai gelombang = 1/panjang gelombang (dalam cm)** (Hansen et al., 2012).



Gambar 2.15 Perbedaan hasil spektra UV dan spektra IR (Hansen et al., 2012)


Senyawa terpenoid tersebar secara luas di berbagai tanaman dengan berbagai macam struktur. Beberapa studi literatur menunjukkan bahwa gugus fungsi dari senyawa golongan terpenoid memiliki karakteristik serapan bilangan gelombang yang tinggi pada gugus O-H terikat dengan intensitas medium pada daerah bilangan gelombang 3487,30 cm^{-1} , C-H alifatik dengan vibrasi bervariasi baik lurus dan tekuk dan intensitas medium hingga kuat pada rentang bilangan gelombang 2927,94-860,25 cm^{-1} , C=O keton intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1708,93 cm^{-1} , C=C alkena intensitas medium hingga lemah di daerah panjang gelombang 1635,64 cm^{-1} dan C-O alkohol intensitas kuat di daerah panjang gelombang 1238,30-1037,7 cm^{-1} . Gugus fungsi tersebut dapat diinterpretasikan melalui hasil spektra berupa serapan pada bilangan gelombang tertentu (Sastrohamidjojo, 1992; Daenlangi et al., 2016; Atmoko et al., 2018). Rentang bilangan gelombang spektra berdasarkan serapan gugus-gugus fungsi berbeda-beda pada beberapa literatur, hal ini dirincikan dalam tabel 2.3 dan 2.4 berikut.

Tabel 2.3 Bilangan gelombang serapan beberapa gugus fungsi pada spektrofotometri IR (Fessenden & Fessenden, 1995)

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)
C=C	1600-1700 (5,9-6,2 μm)
C=O	1700-1725 (5,8-5,88 μm)
C-O	900-1300 (8-11 μm)
C-H (sp ³)	2800-3000 (3,3-3,6 μm)
C-H (sp ²)	3000-3300 (3,0-3,3 μm)
C-H (sp)	~ 3000 (3,0 μm)
O-H	3000-3700 (2,7-3,3 μm)

Tabel 2.4 Serapan gugus fungsi pada spektrometri IR (Smith, 2006)

Gugus	Daerah Serapan (cm ⁻¹)	Intensitas
O-H	3600-3200	kuat, lebar
N-H	3500-3200	Medium
C sp ³ -H	3000-2850	Kuat
C sp ² -H	3150-3000	Medium
C sp-H	3300	Medium
C=O	1800-1650	Kuat
$\text{C}\equiv\text{C}$	2250	Medium
C=C	1650	Medium

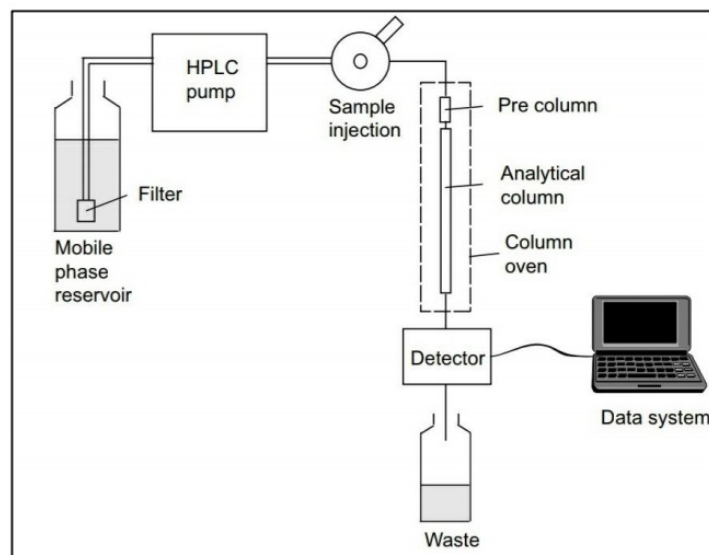
	1600-1500	Medium
---	-----------	--------

2.5.3 Spektrofotometri LC-MS/MS

Sistem *Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometry* (LC-MS) adalah kombinasi *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) dengan *Mass Spectrofotometry* (MS) menggunakan antarmuka sebagai sumber ionisasi. Hasil pemisahan sampel dengan LC akan disemprotkan ke sumber ion tekanan atmosfer, dimana akan dikonversi menjadi ion dalam fase gas. MS kemudian digunakan untuk mengurutkan senyawa berdasarkan berat molekul dan detektor akan menghitung munculnya berat molekul. Interpretasi data berupa spektrum massa yang digunakan untuk menentukan unsur elemen sifat orisotop senyawa, berat partikel dan molekul, dan untuk menjelaskan struktur kimia molekul. *Mass spectrometer* merupakan penganalisa senyawa yang membawa molekul terionisasi dan memisahkan mereka berdasarkan rasio muatan terhadap berat dan kemudian dikonversikan menjadi *digital output* (Parasuraman dkk., 2014).

Pemisahan dengan HPLC biasanya dilakukan dalam tabung panjang (5-25cm) dan dilapisi dengan fase diam. Di dalam kolom tersebut senyawa akan dipisahkan. Tiga bagian utama dalam sistem HPLC adalah laju pelarut, kolom pemisahan, dan detektor. Ketiga hal tersebut sangat vital dan penting sekali dalam pemisahan dengan sistem ini. Pemisahan terjadi ketika fase gerak dipompa dengan laju alir konstan melalui kolom dan terjadi pemisahan analit menuju detektor. Umumnya laju alir sistem HPLC adalah 0.5-2.0 mL/ menit dengan tekanan pompa sebesar 30-300 bar atau 3-30 MPa yang menghasilkan ukuran partikel sangat kecil. Pompa harus bisa memompa fase gerak dalam laju alir yang konstan meskipun dalam tekanan tinggi. Partikel dalam sampel diinjeksi

di bagian atas kolom. Volume injeksi sampel umumnya sekitar 5-100 mikroliter. Detektor nantinya akan mendukung respon elektronik terhadap analit. Respon diproses menggunakan sistem komputer yang akan dihasilkan data berupa kromatogram. Keseluruhan analisis dapat diproses secara otomatis dan terkontrol oleh sistem komputer (Hansen et al., 2012).



Gambar 2.16 Sistem HPLC (Hansen et al., 2012)

Detektor HPLC akan memberi respon terhadap analit untuk dikonversikan menjadi sinyal elektrik. Respon harus sebanding dengan konsentrasi senyawa atau massa senyawa dalam fase gerak, sehingga analisa kuantitatif dapat dilakukan berdasarkan pengukuran area puncak atau tinggi puncak. Detektor dapat dibagi menjadi dua tipe: (1) detektor umum yang mengukur semua perubahan dalam fase gerak, dan (2) detektor spesifik yang merespon hanya terhadap senyawa dengan karakteristik tertentu. Detektor utamanya digunakan dalam analisis bahan farmasi. Spektrometer massa dalam hal ini dapat dikombinasikan dengan HPLC, yang seringkali disebut sebagai LC-MS/MS. Spektrometer massa sebagai detektor memberikan informasi tambahan terhadap

struktur molekul dengan batas deteksi terendah sebesar 0.001-0.01 nanogram (Hansen et al., 2012).

Tidak hanya digunakan untuk identifikasi, MS juga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif. Analisis kuantitatif berdasarkan pada hasil area puncak analit pada kromatogram ion terpilih yang sebanding dengan konsentrasi analit. Dengan kalibrasi menggunakan larutan standar pada konsentrasi yang diketahui, kurva baku standar pada area puncak dapat ditandai sebagai fungsi konsentrasi, dan dari situ dapat dideterminasi jumlah senyawa yang tidak diketahui dalam sampel (Hansen et al., 2012).

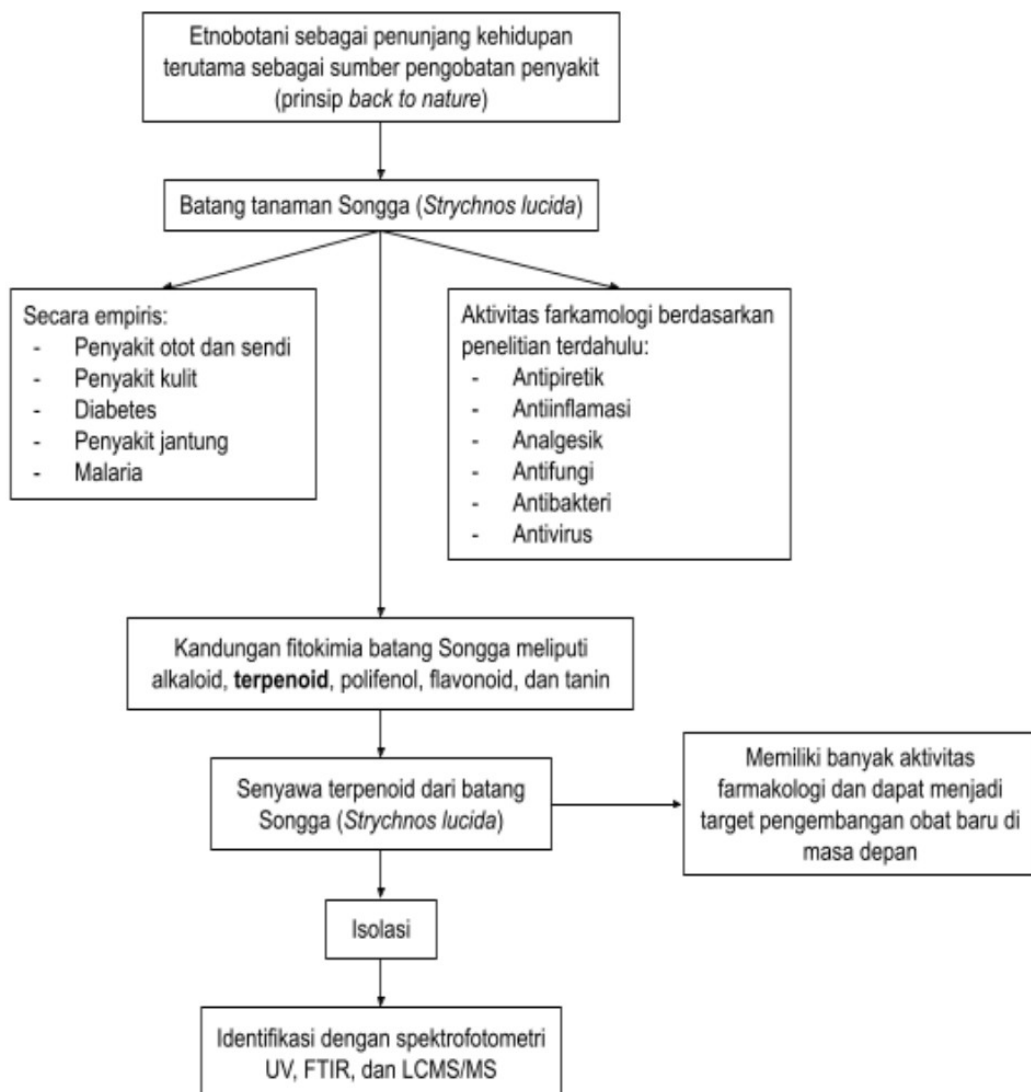
Informasi penunjang dari penelitian terdahulu menggunakan LC-MS/MS sebagai metode identifikasi senyawa terpenoid masih sedikit dan belum dibahas secara umum. Beberapa informasi didapat dari hasil penelusuran pustaka, hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa seskuiterpenoid ciri khas ditunjukkan pada gugus -OH dan ikatan rangkap C=C yang abundansinya tinggi dengan bobot molekul 202 m/z (Bahri & Rinawati, 2005). Sedangkan pada senyawa triterpenoid pentasiklik memiliki fragmentasi yang khas pada m/z = 408, 393, 273 dan 241 (Assimopoulou et al., 2005; Stiti et al., 2012). Senyawa triterpenoid dari hasil fragmentasi spektroskopi massa memiliki ion abundansi yang paling tinggi (*based peak*) pada m/z = 69, *based peak* merupakan fragmen yang paling stabil pada suatu molekul dan intensitas fragmen lain relatif pada puncak dasar yang berarti kestabilannya juga relatif (Sitorus, 2009).

Terpenoid diidentifikasi dengan LC-MS/MS umumnya dengan pelarut metanol baik sebagai *stock solution* maupun sebagai larutan kalibrasi. Fase gerak yang digunakan untuk analisis umumnya adalah air dan metanol dengan gradien pemisahan pada laju rendah 0,3 mL/menit (McHale and Doyle, 2016).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Etnobotani merupakan ilmu tanaman mengenai penggunaannya sebagai penunjang hidup sehari-hari (Darmono, 2007). Etnobotani yang terus berkembang dari masa ke masa paling banyak membahas mengenai seputar fungsi tanaman sebagai media pengobatan penyakit. Pengobatan tersebut didasari oleh pengetahuan pengobatan masyarakat awam yang diterapkan dari prinsip "*back to nature*" (Setiawan, 2014).

Tanaman Songga (*Strychnos lucida*) yang sering dikenal penduduk setempat regional NTB sebagai Bidara Laut atau kayu pit dan di Bali terkenal dengan sebutan "Kayu Pahit" seringkali dimanfaatkan oleh penduduk setempat sebagai pengobatan (BPK Mataram, 2009). Berbagai bagian dari tanaman songga telah dimanfaatkan oleh masyarakat pedesaan untuk mengatasi penyakit otot dan persendian, penyakit kulit, diabetes, dan juga penyakit jantung (Setiawan, 2014). Bagian batang dari songga seringkali digunakan masyarakat setempat sebagai obat malaria dengan cara merebus batang dan sarinya lalu diminum satu gelas sebanyak tiga kali sehari (Maharani dkk., 2010).

Profil aktivitas farmakologi tanaman Songga juga meliputi antipiretik, antispasmodik, dan bahkan memiliki efikasi sebagai antiinflamasi dan analgesik (Sugiarso, 1993). Bagian tanaman songga meliputi daun, kayu, batang, dan akar mengandung senyawa fenolik campuran dari berbagai senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan triterpenoid. Senyawa fenolik telah diketahui sangat kaya akan aktivitas farmakologinya, meliputi antifungi, insektisida, bakterisidal, antivirus, dan memiliki potensi hambatan pada beberapa enzim (Zubaidah et al., 2018).

Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, identifikasi senyawa dalam ekstrak etanol kayu Songga didapati golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan

polifenol (Maximus & Tukan, 2012). Tidak hanya itu, penelitian oleh Puspita (2016) juga membuktikan secara ilmiah bahwa ekstrak etil asetat batang songga teridentifikasi mengandung senyawa golongan terpenoid, fenolik, flavonoid, dan alkaloid.

Terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon dari tanaman dengan rumus molekul umum $(C_5H_8)_n$ dan biasanya dalam bentuk teroksigenasi, terhidrogenasi, dan turunan terdehidrogenasi (Yadav et al., 2014). Beberapa tahun terakhir, penelitian mengenai senyawa terpenoid dari tanaman obat mengalami peningkatan karena senyawa terpenoid memiliki aktivitas biologis seperti antitumor, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antimalaria, memicu peningkatan absorpsi transdermal, mencegah dan mengobati penyakit kardiovaskular, serta dapat menurunkan gula darah plasma. Senyawa terpenoid juga memiliki aktivitas sebagai insektisida, imunomodulator, antioksidan, mencegah penuaan, dan memiliki efek neuroprotektif (Yang et al., 2020).

Melalui penelusuran pustaka, informasi senyawa aktif terpenoid pada tanaman Songga (*Strychnos lucida*) masih terbatas. Hanya ditemukan informasi senyawa aktif terpenoid dari spesies *Strychnos* lain yakni *Strychnos vanprukii*. Pada tanaman tersebut ditemukan dua isolat pimarane diterpenoid yaitu $7\beta,12\beta$ -dihydroxypimara-8,15-dien-14-one dan 14-hydroxy-15,16-dinorpimara-8,11,13-trien-7-one (Thongphasuk et al., 2006). Informasi senyawa terpenoid lainnya diperoleh dari hasil penelitian oleh Bentley et al. (1953) dari hasil isolasi *Strychnos nux-vomica* yaitu lanost-9(11)-enyl acetate (Bentley et al., 1953).

Berdasarkan penjelasan di atas, senyawa terpenoid memiliki beberapa aktivitas farmakologi yang potensial untuk dikembangkan, namun hingga saat ini informasi kandungan senyawa terpenoid pada batang Songga (*Strychnos lucida*)

masih sangat terbatas. Sehingga pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid pada batang Songga (*Strychnos lucida*). Identifikasi dilakukan melalui penelusuran profil isolat senyawa yang didapat menggunakan spektrofotometri UV Visibel, FTIR, dan LC-MS/MS.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain penelitian deskriptif dengan melakukan isolasi dan identifikasi senyawa golongan terpenoid dari fraksi diklorometana ekstrak etanol batang Songga (*Strychnos lucida*) sehingga dapat diperkirakan senyawa terpenoid apa yang terkandung dalam fraksi diklorometana batang Songga (*Strychnos lucida*).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini menggunakan simplisia batang Songga (*Strychnos lucida*) yang diperoleh dari Kabupaten Dompu, Nusa Tenggara Barat. Sertifikasi identifikasi tanaman Songga (*Strychnos lucida*) dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

4.2.2 Sampel

Sampel penelitian ini adalah fraksi diklorometana ekstrak batang Songga (*Strychnos lucida*).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah batang Songga (*Strychnos lucida*).

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi profil kromatogram isolat senyawa terpenoid dari hasil analisis menggunakan instrumen spektroskopi UV-Visibel, FTIR, dan LC-MS/MS.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Departemen Bahan Alam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya di kota Malang, Jawa Timur dan identifikasi isolat dilakukan di Laboratorium LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Ciputat, Tangerang Selatan.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung sejak bulan November 2019 hingga bulan April 2021.

4.5 Bahan dan Alat

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan yaitu serbuk silika gel 60 (MERCK), silika gel kristal 60 (MERCK), lempeng KLT silica gel 60 F254 (MERCK), reagen H₂SO₄ 10%, reagen Vanilin 1%, reagen Dragendorff, reagen Anisaldehid-asam sulfat, reagen Liebermann-Burchard, etanol 96% teknis, kloroform (MERCK), aseton (MERCK), diklorometana (MERCK), etil asetat (MERCK), N-Butanol (MERCK), N-heksana (MERCK), N-heksana teknis.

4.5.2 Alat/Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas (PYREX), oven (MEMMERT), *rotary evaporator* (IKA), *chiller* (IKA), *overhead stirrer* (IKA), vakum, hotplate, lemari es, *chamber* (CAMAG).

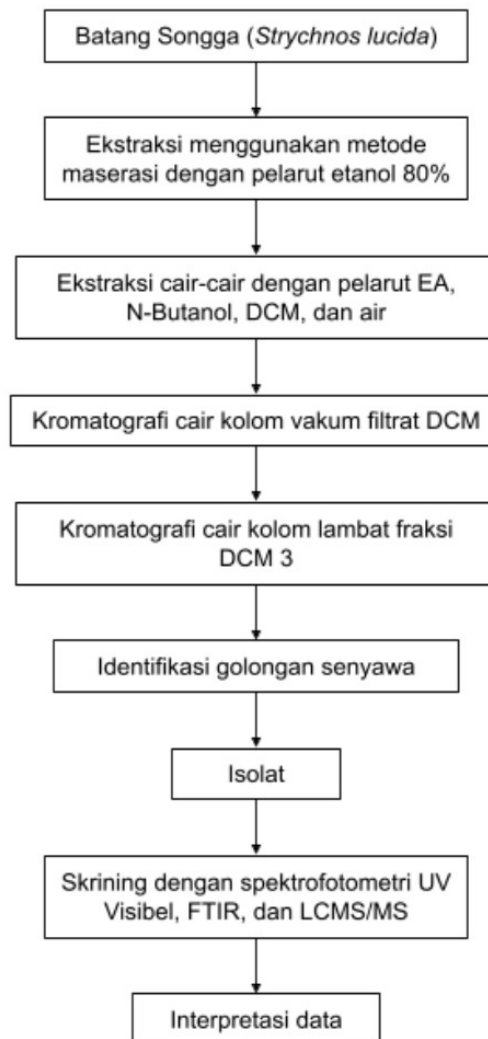
Instrumen yang digunakan yaitu LC-MS/MS (ACQUITY UPLC I-CLASS, XEVO QTOF XS), FTIR (SHIMADZU IR-PRESTIGE 21), dan spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU UV-Vis 1800).

4.6 Definisi Operasional

1. Batang Songga (*Strychnos lucida*) merupakan batang yang diperoleh dari daerah Kabupaten Dompu, Nusa Tenggara Barat.
2. Ekstrak batang songga (*Strychnos lucida*) merupakan hasil ekstraksi dari simplisia batang songga yang berupa ekstrak kental dari proses maserasi menggunakan pelarut etanol 80%.
3. Fraksi diklorometana ekstrak etanol batang songga adalah fraksi kental yang diperoleh dari ekstrak etanol batang songga yang difraksinasi cair-cair bertahap dengan corong pisah menggunakan 3 pelarut berturut-turut, yaitu diklorometana, etil asetat, dan n-butanol.
4. Fraksi D3 adalah fraksi kental yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom cair vakum (KCKV) fraksi diklorometana ekstrak etanol batang Songga menggunakan fase gerak N-heksana : EA dalam berbagai perbandingan.
5. Subfraksi D3.1, D3.2, D3.3, D3.4, D3.5, D3.6, dan D3.7 adalah hasil dari fraksinasi Fraksi D3 ekstrak etanol batang Songga (*Strychnos ligustrina*) menggunakan metode pemisahan kromatografi kolom lambat dengan pelarut N-heksana : Aseton 8 : 2.

6. Isolat D3X adalah isolat gabungan dari subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, dan D3.7.
7. Rf adalah *Retardation factor* yang merupakan suatu nilai yang dapat dihitung untuk mengobservasi noda yang muncul pada plat dalam metode kromatografi lapis tipis dengan menghitung perbandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut.
8. Spektra *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis) adalah hasil identifikasi senyawa berupa spektra sederhana antara absorbansi dan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) yang muncul pada rentang sinyal 200-400 nm (UV) atau 400-800 nm (Visibel) yang mendukung informasi keberadaan gugus kromofor pada suatu senyawa.
9. Spektra *infrared* (IR) adalah gambaran grafik transmitansi (T) dan bilangan gelombang (cm^{-1}) tertentu pada suatu gugus khas senyawa yang menyerupai *fingerprints* dari molekul organik dan mendukung informasi terukur yang bermanfaat untuk mengidentifikasi suatu senyawa.
10. Spektra *Liquid Chromatography Mass Spectroscopy/Mass Spectroscopy* (LC-MS/MS) adalah hasil identifikasi instrumen *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) dengan detektor MS berupa grafik spektra antara intensitas atau abundansi relatif dan *mass-to-charge* (m/z) yang muncul sebagai hasil fragmentasi-fragmentasi molekul pada suatu senyawa.

4.7 Prosedur Penelitian



Gambar 4.1 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Simplisia Batang Songga

1. Ditimbang simplisia batang songga sebanyak 1 kg dan dilarutkan dengan 2 L etanol 80%.
2. Diaduk dengan *stirrer* selama 15 menit dengan kecepatan 300 rpm lalu didiamkan selama 24 jam.
3. Hasil difiltrasi dengan vakum, didapatkan filtrat (1).

4. Residu ekstrak kemudian dilarutkan dengan 3 L etanol 80% dan diaduk dengan *stirrer* selama 15 menit dengan kecepatan 300 rpm lalu didiamkan selama 24 jam.
5. Hasil difiltrasi dengan vakum, didapatkan filtrat (2).
6. Residu ekstrak kemudian dilarutkan dengan 3 L etanol 80% dan diaduk dengan *stirrer* selama 15 menit dengan kecepatan 300 rpm lalu didiamkan selama 24 jam.
7. Hasil difiltrasi dengan vakum, didapatkan filtrat (3).
8. Filtrat (1)-(3) kemudian dicampur dan diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C.
9. Residu filtrat diuapkan hingga residu pelarut habis dengan oven pada suhu 40°C. Diagram alir proses ekstraksi dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

4.7.2 Ekstraksi Cair-Cair Ekstrak Batang Songga

1. Ditimbang 50 g sampel lalu disuspensikan dengan 100 mL akuades secara perlahan di mortir hingga homogen.
2. Ditambahkan diklorometana sebanyak 100 mL dan dimasukkan ke dalam corong pisah.
3. Corong pisah dikocok selama 5 menit dan didiamkan hingga terpisah.
4. Fraksi diklorometana ditampung dalam erlenmeyer.
5. Residu air ditambahkan dengan 100 mL diklorometana, dikocok dan didiamkan seperti tahap sebelumnya. Proses tersebut diulangi hingga fraksi DCM yang ditampung berwarna tetap.
6. Setelah fraksinasi dengan pelarut DCM selesai, residu air difraksinasi dengan pelarut etil asetat dengan tahapan yang sama kemudian diikuti dengan pelarut n-butanol.

7. Hasil fraksi yang didapat diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dan oven hingga didapat fraksi kental. Diagram alir proses ekstraksi cair-cair dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

4.7.3 Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM

1. Ditimbang silika gel 60 (0.063-0.200 mm) GF254 yang dibutuhkan untuk kolom dengan tinggi 6 cm (51,74 g).
2. Kemudian disetting silika gel pada kolom, diratakan dan dimampatkan.
3. 2,73 g fraksi DCM dikeringkan dengan silika kristal (1:1) kemudian disetting di atas kolom.
4. Aliri kolom dengan 200 mL pelarut diklorometana.
5. Kemudian dilakukan pengaliran fase gerak n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan:
 - 9 : 1 (2 x 100 mL)
 - 8 : 2 (2 x 100 mL)
 - 7 : 3 (4 x 100 mL)
 - 6 : 4 (4 x 100 mL)
 - 5 : 5 (4 x 100 mL)
 - 4 : 6 (2 x 100 mL)
 - 3 : 7 (2 x 100 mL)
 - 2 : 8 (2 x 100 mL)
 - 1 : 9 (2 x 100 mL)
 - 0 : 10 (2 x 100 mL)
6. Hasil fraksi dipindahkah ke vial dan pelarut diuapkan menggunakan oven suhu 40°C. Diagram alir proses Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

4.7.4 Kromatografi Kolom Lambat Fraksi D3

1. Ditimbang fase diam silika gel 60 (0.063-0.200 mm) GF254 $\frac{2}{3}$ tinggi kolom (9 g).
2. Disiapkan eluen n-heksana : aseton 8 : 2 dengan total volume 500-1000 mL.
3. Silika gel dilarutkan dengan eluen secukupnya, dikocok dalam erlenmeyer hingga larut lalu dan disetting ke dalam kolom.
4. Ditimbang fraksi D3 sebanyak 1% berat kebutuhan fase diam (0,09 g) dan dilarutkan dengan eluen sebanyak 2 mL.
5. Dituang larutan sampel perlahan dan secukupnya hingga batas atas kolom.
6. Sampel ditunggu hingga turun mencapai $\frac{1}{3}$ panjang kolom, lalu dimulai penampungan subfraksi.
7. Subfraksi ditampung sebanyak @1 mL tiap vial.
8. Penambahan eluen dan penampungan dilakukan hingga eluen berubah warna menjadi bening.
9. Hasil subfraksi diuji KLT dengan penampak noda H₂SO₄ 10% dan diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Diagram alir proses Kromatografi Cair Kolom Lambat Fraksi D3 dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.7.5 Identifikasi Golongan Senyawa Terpenoid dari Hasil KCKL Fraksi D3

4.7.5.1 Kromatografi Lapis Tipis dengan Penampak Noda H₂SO₄ 10%

1. Disiapkan plat KLT silika gel 60 (0.063-0.200 mm) GF254 dan kertas saring

2. Disiapkan fase gerak yang sesuai dan dilakukan penjuhan dengan menggunakan kertas saring sebagai penanda
3. Disiapkan sampel, dilakukan penotolan sampel pada batas bawah plat
4. Setelah fase gerak jenuh, KLT dieuasi hingga pelarut mencapai batas atas
5. Plat KLT dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm
6. Plat KLT disemprot dengan reagen penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan hotplate suhu 120 C
7. Plat KLT kemudian diamati di bawah sinar tampak, UV 254 nm dan 366 nm

4.7.6 Uji Konfirmasi Struktur

4.7.6.1 Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-Vis 1800)

1. 1 mg sampel dilarutkan dalam 3 mL metanol
2. Disiapkan larutan blanko (metanol)
3. Dibuat spektrum kurva absorbansi terhadap panjang gelombang 200-500 nm
4. Diidentifikasi panjang gelombang maksimal pada spektrum ultra violet yang terbentuk.

4.7.6.3 Spektroskopi IR (Shimadzu IR-Prestige 21)

1. 1 mg sampel dibuat endapan atau *pellet* dengan KBr
2. Dibuat spektrum kurva % transmisi terhadap bilangan gelombang pada 400-4000 cm⁻¹
3. Diidentifikasi pita absorpsi yang khas dari gugus-gugus tertentu. Sertifikasi analisis isolat dengan FTIR dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

4.7.6.2 Spektrofotometri LC-MS/MS (Acquity UPLC I-Class, Xevo QTOF XS)

1. Dilakukan optimasi alat:

Tabel 4.1 Optimasi Kondisi LCMS/MS

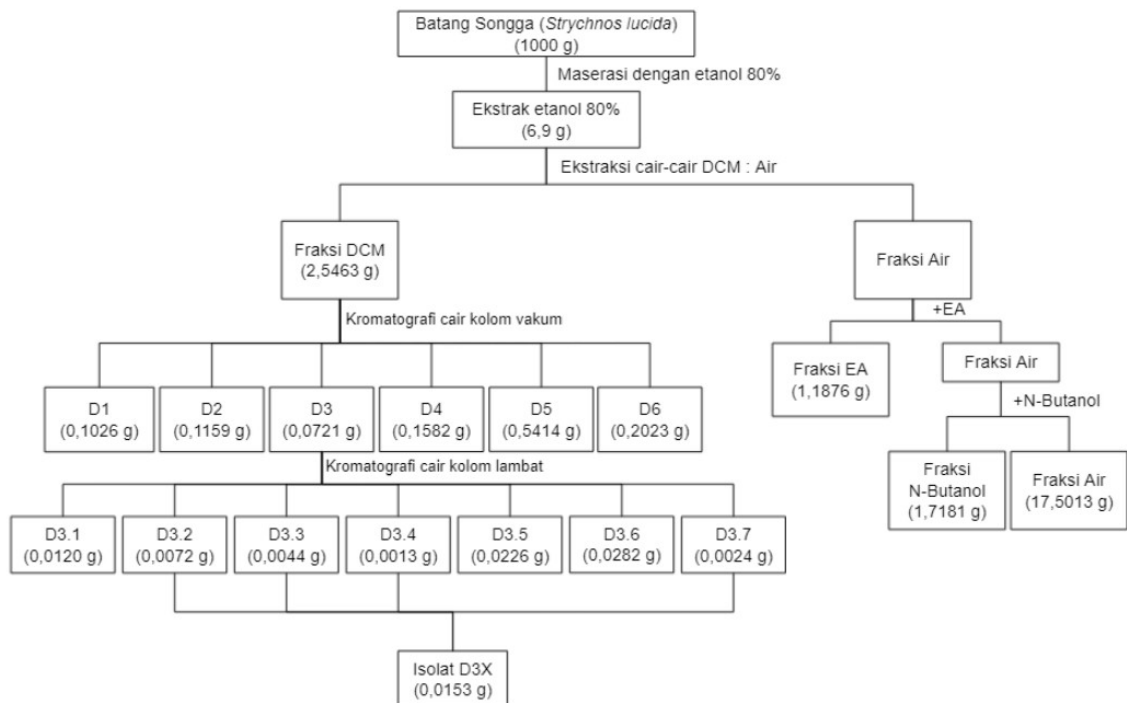
Optimasi LCMS/MS	
Jenis sistem elusi	Gradient (A:B) - menit 0-1 (95:5) - menit 8 (60:40) - menit 11-13 (0:100) - menit 16 (95:5)
Fase gerak	Pelarut A: 0.1% asam format/air Pelarut B: acetonitrile + 0.1% asam format
Jenis kolom	C18 (Acquity 2,1 x,50 mm, 1,7 μ m)
Suhu kolom	40°C
Laju alir	0.3 ml/menit
Mode operasi MS	Ion positif (M+)

Laporan optimasi LCMS/MS dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

2. Disiapkan sampel sebanyak 10 mg yang akan diinjeksi dengan melarutkan sampel menggunakan metanol
3. Dimulainya proses pemisahan
4. Dilakukan Identifikasi fragmen-fragmen massa yang terbentuk dalam spektrum. Sertifikasi analisis isolat dengan LCMS/MS dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

BAB V

HASIL PENELITIAN



Gambar 5.1 Skema Hasil Penelitian

5.1 Hasil Ekstraksi

Simplisia batang Songga yang digunakan untuk ekstraksi sebanyak 1 kg. Simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 80% dengan jumlah total volume sebanyak 8 L. Dari hasil maserasi didapatkan maserat cair berwarna coklat jernih sebanyak 4 toples. Maserat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak sebesar **69 gram**, sehingga rendemen ekstrak sebesar **6,9%** dengan konsistensi seperti pasta kental berwarna coklat kehitaman dan berbau khas aromatik.



Gambar 5.2 Ekstrak Batang Songga (*Strychnos lucida*)

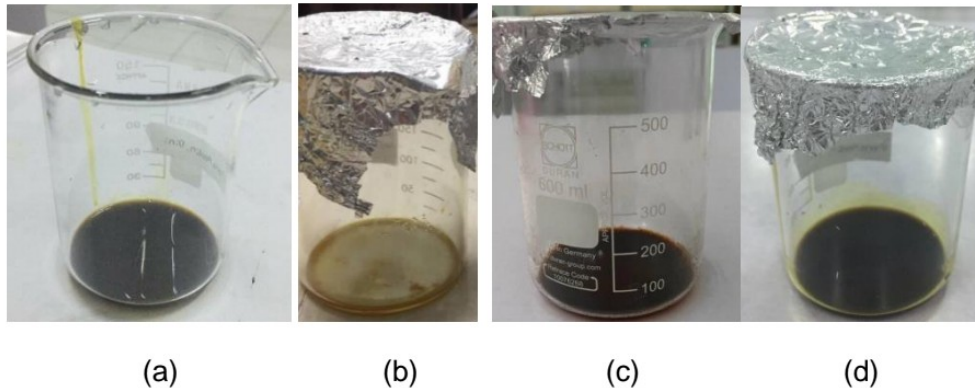
5.2 Hasil Ekstraksi Cair-Cair

Ekstrak etanol 80% sebanyak 50 g dilakukan fraksinasi dengan tiga pelarut berturut-turut adalah diklorometana, etil asetat, dan n-butanol. Pada penelitian ini didapatkan berat fraksi, rendemen, dan karakteristik fraksi tiap pelarut yang terlampir pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Hasil Proses Ekstraksi Cair-Cair

Jenis Pelarut	Berat Fraksi (gram)	Rendemen	Karakteristik
Diklorometana	2,5463	5,0926%	Konsistensi: pasta; Warna: coklat gelap; Bau: khas aromatik.
Etil Asetat	1,1876	2,3752%	Konsistensi: pasta; Warna: kuning; Bau: khas aromatik.
N-Butanol	1,7181	3,4362%	Konsistensi: pasta; Warna: coklat; Bau: khas aromatik.
Air	17,5013	35,0026%	Konsistensi: pasta; Warna: coklat kehitaman; Bau: khas

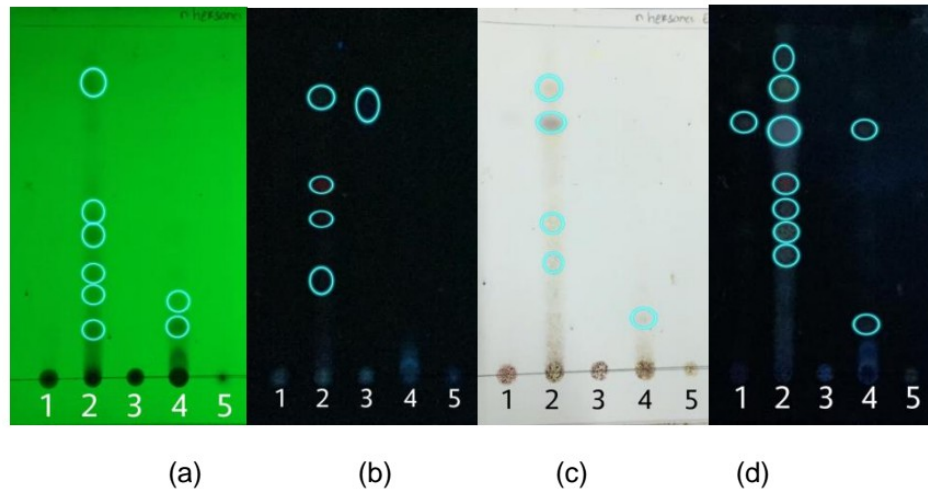
			aromatik.
--	--	--	-----------



Gambar 5.3 Hasil Ekstraksi Cair-Cair

(keterangan: (a) Fraksi diklorometana, (b) Fraksi etil asetat, (c) Fraksi n-butanol, (d) Fraksi air)

Tahap selanjutnya dilakukan identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk menentukan fraksi yang akan diisolasi lebih lanjut. KLT dilakukan dengan pelarut n-heksana : EA 5 : 5 hasil disemprot dengan reagen penampak noda H₂SO₄ 10% serta dipanaskan dengan *hotplate* suhu 120°C. Sebelumnya telah dilakukan optimasi fase gerak dengan kombinasi pelarut Kloroform dan Aseton berbagai perbandingan, meliputi 5 : 5, 6 : 4, dan 7 : 3. Hasil optimasi fase gerak dapat dilihat pada **Lampiran 9**.



Gambar 5.4 KLT Hasil Ekstraksi Cair-Cair

(keterangan: fase gerak n-heksana : EA 5 : 5 dan fase diam silika gel merck 60 (a) UV 254 nm, (b) UV 366 nm, (c) Sinar tampak setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%, (d) UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%; 1. Ekstrak etanol 80%, 2. Fraksi Diklorometana, 3. Fraksi Etil Asetat, 4. Fraksi N-Butanol, 5. Fraksi Air)

Tabel 5.2 Nilai R_f KLT Hasil Ekstraksi Cair-Cair

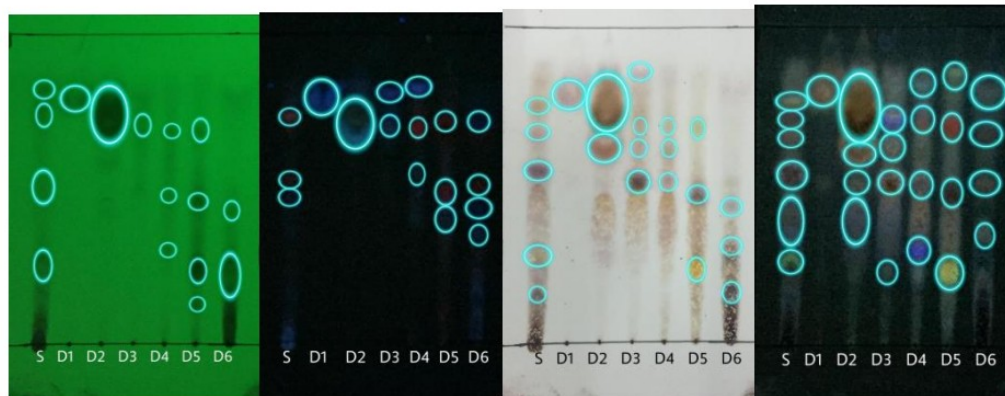
Fraksi	UV 254 nm	UV 366 nm		Visual (h ₂ so ₄)		UV 366 nm (h ₂ so ₄)		Golongan Senyawa (Wagner, 1996)
	R _f	R _f	Warna	R _f	Warna	R _f	Warna	
Ekstrak (s)	-	-	-	-	-	0,71	Ungu	terpenoid
DCM	-	-	-	-	-	0,90	Biru	steroid flavonoid terpenoid alkaloid terpenoid flavonoid terpenoid -
	0,82	0,82	kuning	0,82	kuning	0,82	kuning	
	-	-	-	0,71	ungu	0,71	ungu	
	-	0,56	merah	-	-	0,56	merah	
	-	0,46	ungu	0,46	ungu	0,46	ungu	
	0,40	-	-	-	-	0,40	kuning	
	0,30	0,30	ungu	0,30	ungu	0,30	ungu	
	0,23	-	-	-	-	-	-	
0,13	-	-	-	-	-	-		
EA	-	0,78	Biru	-	-	-	-	Steroid
N-butanol	0,21	-	-	-	-	0,70	Ungu	terpenoid terpenoid
	0,14	-	-	0,20	ungu	0,14	Ungu	

Air	-	-	-	-	-	-	-	-
-----	---	---	---	---	---	---	---	---

Berdasarkan hasil KLT, pada fraksi diklorometana terdapat noda paling banyak dibandingkan dengan fraksi EA, n-butanol, dan air. Pada fraksi diklorometana, terdapat tiga noda ungu dengan nilai Rf 0.30, Rf 0.46, dan Rf 0.71 yang terlihat pada sinar tampak dan berwarna putih keunguan pada sinar UV 366 nm sebelum dan setelah diberikan penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan pada suhu 120°C. Diduga ketiga noda ungu tersebut adalah senyawa terpenoid. Pada fraksi EA, hanya terdapat satu noda biru dengan Rf 0.78 yang tampak pada sinar UV 366 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10%, diduga noda tersebut adalah senyawa steroid. Pada fraksi N-butanol, terdapat dua noda ungu dengan nilai Rf 0.21 dan Rf 0.14 yang terlihat pada sinar tampak dan UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%, diduga noda tersebut adalah senyawa terpenoid. Pada fraksi air, tidak ada noda yang muncul baik sebelum maupun sesudah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% (Wagner, 1996). Hal ini menunjukkan seluruh metabolit sekunder pada ekstrak batang Songga (*Strychnos lucida*) seluruhnya sudah tertarik pada pelarut organik saat tahapan ekstraksi cair-cair.

5.3 Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM

Pada tahapan Kromatografi Cair Kolom Vakum (KCKV) Fraksi DCM didapatkan 26 fraksi. Seluruh fraksi kemudian diidentifikasi lebih lanjut dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak N-heksana : Etil Asetat 7 : 3 dan penampak noda H₂SO₄ 10%. Hasil uji KLT 26 fraksi dapat dilihat pada **Lampiran 10** dan nilai Rf yang diperoleh dapat dilihat pada **Lampiran 11**. Hasil 26 fraksi digabungkan berdasarkan profil KLT menjadi 6 fraksi gabungan, yaitu D1, D2, D3, D4, D5, dan D6. Kemudian keenam fraksi gabungan diuji KLT dengan fase gerak kloroform : aseton 9.5 : 0.5 dan penampak noda H₂SO₄ 10%.



(a)

(b)

(c)

(d)

Gambar 5.5 KLT 6 Fraksi Gabungan

(keterangan: fase gerak kloroform : aseton 9.5 : 0.5 dan fase diam silika gel merck 60 (a)

UV 254 nm, (b) UV 366 nm, (c) Sinar tampak setelah diberi penampak noda H₂SO₄

10%, (d) UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)

Tabel 5.3 Nilai Rf KLT 6 Fraksi Gabungan

Fraksi	Berat (g)	UV 254 nm	UV 366 nm		Visual (h ₂ so ₄)		UV 366 nm (h ₂ so ₄)		Golongan Senyawa (Wagner, 1996)
		Rf	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	
Fraksi DCM (S)	2,5463	0,82	-	-	-	-	-	-	-
		0,73	0,72	merah	0,75	coklat	0,77	coklat	alkaloid
		-	-	-	0,67	ungu	0,70	ungu	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,65-	ungu	terpenoid
		-	0,58	merah	-	-	-	-	alkaloid
		0,50	0,47	biru	-	-	0,53	-	steroid
		-	-	-	0,53	ungu	0,38	ungu	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,25	ungu	terpenoid
-	0,25	-	-	-	0,27	hijau	-	steroid	
-	-	-	-	-	0,15	ungu	-	terpenoid	
D1	0,1026	0,78	0,78	ungu	0,78	Ungu	0,78	oranye	terpenoid
D2	0,1159	0,75	0,70	biru - hijau	0,75	coklat	0,75	coklat-hijau	Steroid
		-	-	-	0,60	ungu	0,60	oranye	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,50	ungu	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,38	ungu	terpenoid

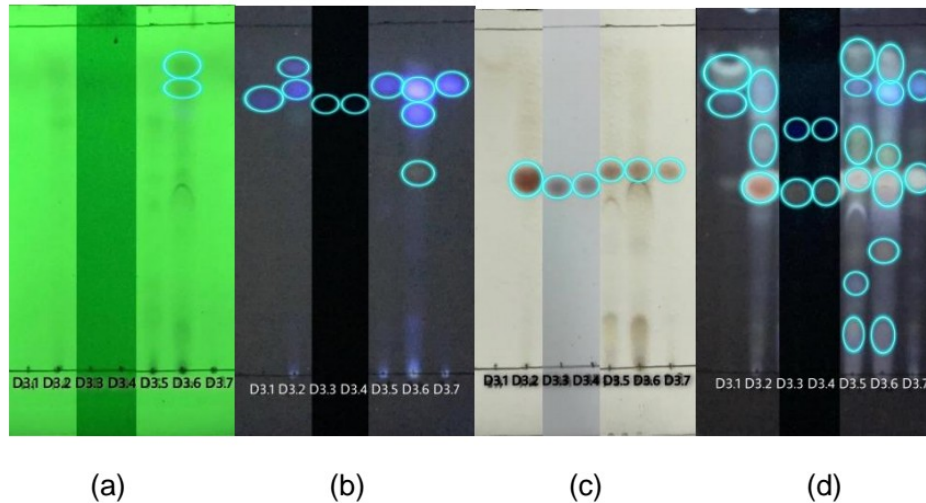
D3	0,0721	- 0,72 - - -	0,87 - 0,70 - -	biru - biru - -	0,87 - 0,69 0,62 0,50 -	ungu - hijau ungu ungu -	- 0,72 - 0,62 0,50 0,22	- ungu - ungu ungu hijau	terpenoid terpenoid steroid terpenoid terpenoid steroid
D4	0,1582	- 0,70 - 0,50 0,30	0,81 0,70 - 0,50 -	biru merah - putih -	- 0,69 0,62 0,50 -	- merah ungu ungu -	0,83 0,72 - 0,50 0,30	biru merah - ungu biru	Steroid alkaloid terpenoid terpenoid steroid
D5	0,5414	- 0,70 0,48 - 0,23 0,13	- 0,72 0,48 0,40 - -	- merah ungu biru - -	- 0,67 0,48 - 0,23 -	- merah ungu - kuning -	0,85 0,70 0,48 - 0,23 -	hijau merah coklat - kuning -	Steroid alkaloid terpenoid steroid flavonoid
D6	0,2023	- - 0,43 0,22 -	0,72 0,52 0,43 0,35 -	biru merah biru biru -	- - 0,45 0,35 0,13	- - ungu ungu ungu	0,72 0,52 0,45 0,35 -	biru merah ungu ungu -	Steroid alkaloid terpenoid terpenoid terpenoid

Berdasarkan hasil uji KLT, senyawa terpenoid terdapat pada keenam fraksi. Pada fraksi D1, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0,78. Pada fraksi D2, terdapat tiga noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.6, Rf 0.5, dan Rf 0.38. Pada fraksi D3, terdapat empat noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.87, Rf 0.72, Rf 0.62, dan Rf 0.50. Pada fraksi D4, terdapat dua noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.62 dan Rf 0.50. Pada fraksi D5, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.48. Sedangkan pada fraksi D6, terdapat tiga noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.45, Rf 0.35, dan Rf 0.13. Fraksi D3 dipilih untuk dilakukan pemisahan lebih lanjut karena memiliki noda terpenoid terbanyak dibandingkan fraksi lainnya dan noda yang muncul tidak *tailing*.

5.4 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom Lambat (Fraksi D3)

Kromatografi Cair Kolom Lambat (KCKL) dilakukan dengan fase gerak n-heksana : aseton 8 : 2. Pemilihan fase gerak dilakukan berdasarkan hasil optimasi fase gerak dengan dua perbandingan, yaitu n-heksana : aseton 8 : 2 dan n-heksana : aseton 9 : 1. Pada fase gerak n-heksana : aseton 8 : 2, fraksi D3 muncul noda berwarna ungu dengan nilai R_f 0,23 setelah diberi penampak noda H_2SO_4 10% dan dipanaskan dengan suhu $120^\circ C$. Saat diamati di bawah sinar UV 366 nm, noda ungu tersebut berwarna oranye. Noda tersebut diduga sebagai senyawa terpenoid. Sedangkan pada perbandingan 9 : 1, hasil noda pada fraksi D3 tidak dominan dan cenderung memiliki R_f yang lebih kecil yaitu R_f 0,11. Warna noda yang dihasilkan pada sinar tampak adalah ungu tua dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan warna kecoklatan (Wagner, 1996). Hasil optimasi fase gerak dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

Pada tahap KCKL fraksi D3 ini didapatkan 41 subfraksi dengan masing-masing volume sebanyak 1 mL. Seluruh subfraksi dilakukan uji KLT dengan fase gerak yang sama yaitu n-heksana : aseton 8 : 2 dan diberi penampak noda H_2SO_4 10% serta dilakukan pemanasan dengan suhu $120^\circ C$. Hasil uji KLT 41 subfraksi dapat dilihat pada **Lampiran 13** dan nilai R_f yang diperoleh dapat dilihat pada **Lampiran 14**. Kemudian dilakukan penggabungan subfraksi berdasarkan profil uji KLT. Hasil penggabungan menjadi 7 subfraksi yaitu D3.1, D3.2, D3.3, D3.4, D3.5, D3.6, dan D3.7.



Gambar 5.6 KLT 7 Subfraksi Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat

(keterangan: fase gerak kloroform : aseton 9.5 : 0.5 dan fase diam silika gel merck 60 (a)

UV 254 nm, (b) UV 366 nm, (c) Sinar tampak setelah diberi penampak noda H₂SO₄

10%, (d) UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)

Tabel 5.4 Nilai Rf KLT 7 Subfraksi Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat

Fraksi	Berat (g)	UV 254 nm	UV 366 nm		Visual (h ₂ so ₄)		UV 366 nm (h ₂ so ₄)		Golongan Senyawa (Wagner, 1996)
		Rf	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	
D3.1	0,0120	- -	- 0,79	- Biru	- -	- -	0,88 0,79	biru hijau	steroid steroid
D3.2	0.0072	- - -	0.89 0.82 -	biru biru -	- - 0.56	- - ungu - coklat	0.89 0.82 0.56	biru biru oranye	steroid steroid terpenoid
D3.3	0.0044	- -	0.73 -	biru -	- 0.53	- ungu - coklat	0.73 0.53	biru oranye	steroid terpenoid
D3.4	0.0013	- -	0.73 -	biru -	- 0.53	- ungu - coklat	0.73 0.53	biru oranye	steroid terpenoid
D3.5	0,0226	- - - -	- 0,82 - -	- biru - -	- - 0,51	- - ungu-	0,90 0,83 0,56 0,51	putih biru hijau oranye	terpenoid steroid steroid terpenoid

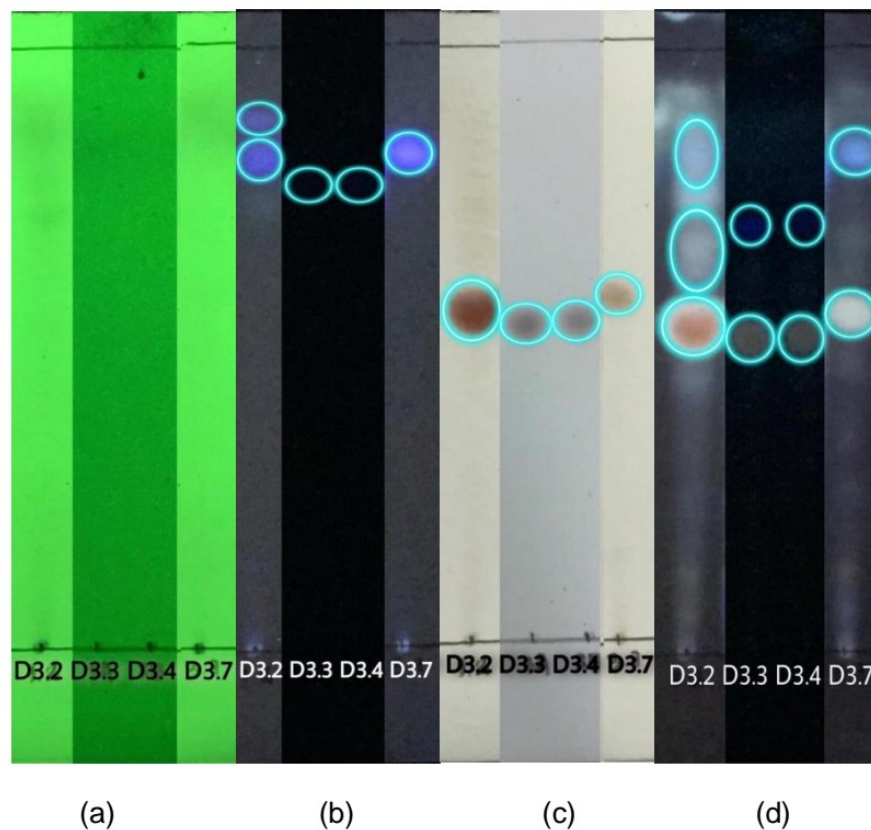
		-	-	-	-	coklat	-	-	-
		-	-	-	-	-	0,25	ungu	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,11	ungu	terpenoid
D3.6	0,0282	0,90	-	-	-	-	0,90	putih	terpenoid
		0,81	0,81	biru- ungu	-	-	0,81	biru	steroid
		-	0,74	biru	-	-	-	-	steroid
		-	-	-	-	-	0,63	hijau	steroid
		-	0,56	putih	0,56	ungu- coklat	0,56	-	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,35	oranye	terpenoid
		-	-	-	-	-	0,11	oranye ungu	terpenoid
D3.7	0.0024	-	0.81	biru	-	-	0.81	biru	steroid
		-	-	-	0.56	ungu - coklat	0.56	oranye	terpenoid

Berdasarkan hasil KLT, noda senyawa terpenoid muncul berwarna ungu-coklat pada sinar tampak dan berwarna oranye pada sinar UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan pemanasan pada suhu 120°C. Noda senyawa terpenoid terdapat pada subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, D3.5, D3.6, dan D3.7. Pada subfraksi D3.2, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.56. Pada subfraksi D3.3 dan D3.4, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.53. Pada subfraksi D3.5, terdapat empat noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.9, Rf 0.51, Rf 0.25, dan Rf 0.11. Pada subfraksi D3.6, terdapat empat noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.90, Rf 0.56, Rf 0.35, dan Rf 0.11. Sedangkan pada subfraksi D3.7, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.56. Subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, dan D3.7 dipilih dan digabungkan menjadi satu sebagai Isolat D3X untuk dianalisis lebih lanjut karena memiliki profil noda senyawa terpenoid yang memiliki nilai Rf yang sama.

5.5 Uji Golongan Senyawa Terpenoid dari Hasil KCKL Fraksi D3

5.5.1 Kromatografi Lapis Tipis

Uji golongan senyawa terpenoid dilakukan dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Isolat D3X yang diduga terdapat senyawa terpenoid. Uji KLT menggunakan fase gerak kloroform : aseton 9.5 : 0.5 dan menggunakan penampak noda H₂SO₄ 10%.



Gambar 5.7 KLT subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, dan D3.7

(keterangan: fase gerak kloroform : aseton 9.5 : 0.5 dan fase diam silika gel merck 60 (a)

UV 254 nm, (b) UV 366 nm, (c) Sinar tampak setelah diberi penampak noda H₂SO₄

10%, (d) UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)

Tabel 5.5 Nilai R_f KLT Hasil Uji Golongan Senyawa Terpenoid

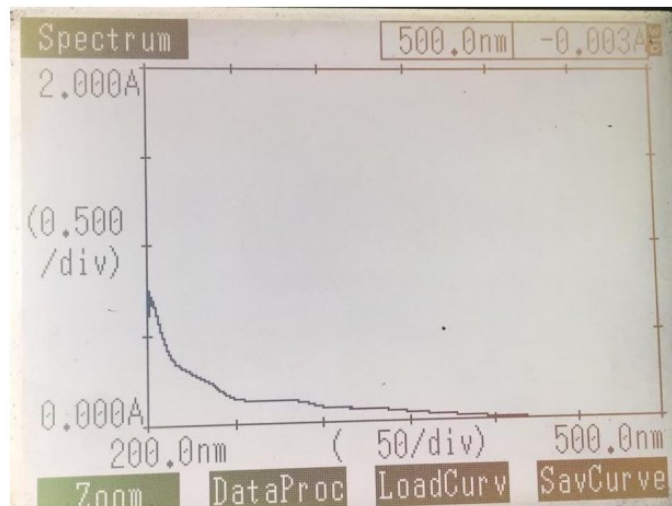
Fraksi	Berat (g)	UV 254 nm	UV 366 nm	Visual (h ₂ so ₄)	UV 366 nm (h ₂ so ₄)	Golongan Senyawa (Wagner,

		Rf	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	1996)
D3.2	0.0072	- - -	0.89 0.82 -	biru biru -	- - 0.56	- - ungu - coklat	0.89 0.82 0.56	biru biru oranye	steroid steroid terpenoid
D3.3	0.0044	- -	0.73 -	biru -	- 0.53	- ungu - coklat	0.73 0.53	biru oranye	steroid terpenoid
D3.4	0.0013	- -	0.73 -	biru -	- 0.53	- ungu - coklat	0.73 0.53	biru oranye	steroid terpenoid
D3.7	0.0024	- -	0.81 -	biru -	- 0.56	- ungu - coklat	0.81 0.56	biru oranye	steroid terpenoid

Berdasarkan hasil KLT, Pada subfraksi D3.2, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.56. Pada subfraksi D3.3 dan D3.4, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.53. Sedangkan pada subfraksi D3.7, terdapat satu noda senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0.56. Senyawa terpenoid ditandai dengan noda berwarna ungu-coklat pada sinar tampak dan berwarna oranye pada sinar UV 366 nm setelah diberi penampak noda, hal ini menunjukkan bahwa keempat subfraksi tersebut diduga mengandung senyawa terpenoid. Subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, dan D3.7 memiliki profil KLT yang serupa dengan noda yang lebih murni dibandingkan dengan subfraksi lainnya sehingga digabungkan menjadi satu menjadi target Isolat D3X untuk dianalisa lebih lanjut menggunakan instrumen spektrofotometer UV Visibel, FTIR, dan LCMS/MS.

5.6 Hasil Analisis Spektrofotometri

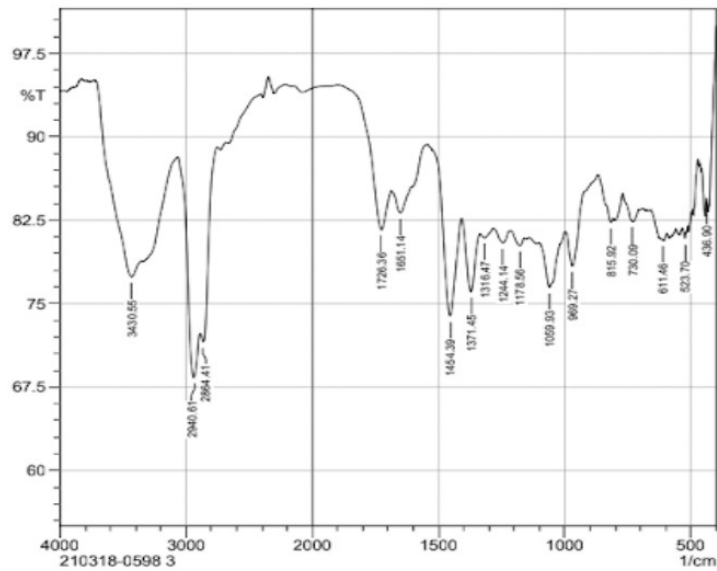
5.6.1 Spektrofotometri UV Visibel



Gambar 5.8 Spektra UV Visibel Isolat D3X dalam Pelarut Metanol

Hasil analisis panjang gelombang maksimum Isolat D3X dengan spektrofotometri UV Visibel pada rentang 200-500 nm menunjukkan satu puncak serapan sebesar 270,2 nm dengan absorbansi sebesar 0,131. Gugus fungsi senyawa terpenoid dalam rentang panjang gelombang 200-350 nm disebut sebagai gugus kromofor. Gugus tersebut terdiri atas ikatan olefinat (ikatan dua dan tiga rangkap) dan gugus karbonil (aldehida, keton, ester asam karboksilat) (Eksi *et al.*, 2020).

5.6.2 FTIR



Gambar 5.9 Spektra Inframerah Isolat D3X batang Songga (*Strychnos lucida*) dalam pelet KBr

Tabel 5.6 Hasil Identifikasi Gugus Fungsi Isolat D3X dengan FTIR

No	Bilangan gelombang yang diperoleh (cm-1)	Intensitas	Bilangan gelombang menurut literature			Dugaan gugus fungsi
			Fessenden & Fessenden (1995)	Smith (2006)	Dachriyanus (2004)	
1	1059,93	Sedang	1300-900 cm-1	-	-	C-O regang
2	1316,47	Sedang	-	-	1475-1300 cm-1	CH3 Tekuk
3	1454,39	Sedang	-	-	1475-1300 cm-1	CH2 tekuk
4	1651,14	sedang-lemah	1700-1600 cm-1	1650 cm-1	1675-1500 cm-1	C=C aromatik
5	1726,36	Sedang	1725-1700 cm-1	1800-1650 cm-1	1900-1650 cm-1	C=O regang (keton)
6	2940,61	sedang	3000-2800 cm-1	2850-3000	3000-2700 cm-1	C-H regang

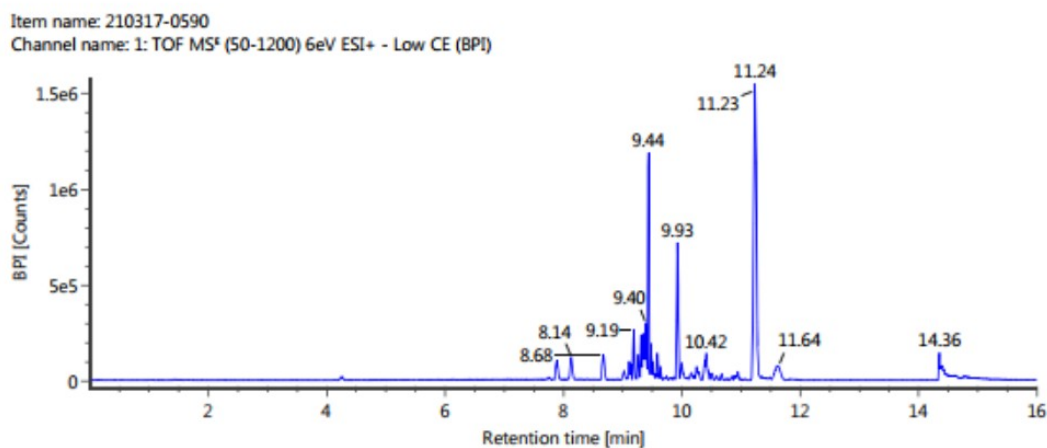
				cm-1		
7	3430,55	Sedang	-	3500-3200 cm-1	3750-3000 cm-1	O-H

Gugus fungsi dari senyawa golongan terpenoid memiliki karakteristik serapan bilangan gelombang yang tinggi pada gugus O-H terikat dengan intensitas medium pada daerah bilangan gelombang 3487,30 cm⁻¹, C-H alifatik dengan vibrasi bervariasi baik ulur dan tekuk dan intensitas medium hingga kuat pada rentang bilangan gelombang 2927,94-860,25 cm⁻¹, C=O keton intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1708,93 cm⁻¹, C=C alkena intensitas medium hingga lemah di daerah panjang gelombang 1635,64 cm⁻¹ dan C-O alkohol intensitas kuat di daerah panjang gelombang 1238,30-1037,7 cm⁻¹. Gugus fungsi tersebut dapat diinterpretasikan melalui hasil spektra berupa serapan pada bilangan gelombang tertentu (Sastrohamidjojo, 1992; Daenlangi et al., 2016; Atmoko et al., 2018).

Pita serapan Isolat D3X pada spektrofotometri inframerah menunjukkan gugus fungsi khas pada senyawa terpenoid yaitu gugus C-H alifatik pada bilangan gelombang 2940,61 cm⁻¹, CH₂ tekuk pada bilangan gelombang 1454,39 cm⁻¹, CH₃ tekuk pada bilangan gelombang 1316,47 cm⁻¹, dan C=C aromatik yang khas pada struktur dari kerangka abietane dengan bilangan gelombang 1651,14 cm⁻¹ dengan intensitas sedang cenderung lemah. Senyawa terpenoid yang diisolasi diduga memiliki gugus fungsi C-O dan O-H yang terikat pada salah satu atom karbonnya yang dibuktikan dengan adanya serapan gugus C-O pada bilangan gelombang 1059,93 cm⁻¹ dengan intensitas sedang dan gugus O-H yang khas dengan bentuk pita melebar pada bilangan gelombang

3430,55 cm⁻¹. Hasil dan laporan analisis Isolat D3X dengan FTIR dapat dilihat pada **Lampiran 15**.

5.6.3 LCMS/MS



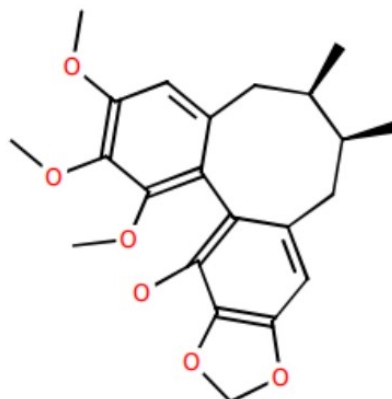
Gambar 5.10 Spektra LCMS/MS Isolat D3X dalam Pelarut Metanol

Tabel 5.7 Hasil Identifikasi Senyawa dalam Isolat D3X dengan LCMS/MS

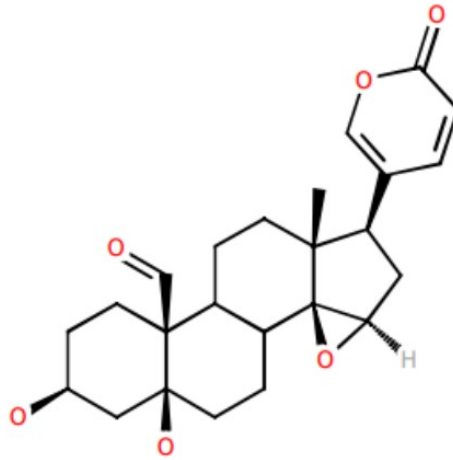
No.	Nama Senyawa	Observed m/z	Neutral mass (Da)	Observed RT (min)
1	(±)-Gomisin M2	387.1798	386.17294	8.68
2	Bufotalinin	415.2111	414.20424	9.19
3	Ferruginol	285.2209	284.21402	9.44
4	Spinasterone	411.3617	410.35487	10.41
5	Candidate Mass C ₃₇ H ₆₈ O ₇	647.4859	624.49650	10.00

Berdasarkan hasil analisis dengan LCMS/MS, terdapat total 83 puncak yang terdeteksi pada kromatogram LC. Dari keseluruhan puncak yang muncul, terdapat lima kandidat senyawa yang terdapat pada Isolat D3X, yaitu (±)-Gomisin M2, Bufotalinin, Ferruginol, Spirasterone, dan senyawa *Candidate Mass* C₃₇H₆₈O₇. (±)-Gomisin M2 merupakan senyawa lignan, Bufotalinin merupakan senyawa glikosida jantung, Ferruginol merupakan senyawa diterpenoid abietane, dan Spinasterone merupakan senyawa steroid. Sedangkan pada *Candidate*

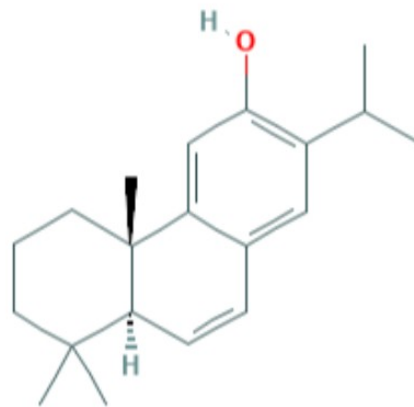
Mass dengan rumus molekul $C_{37}H_{68}O_7$ diduga merupakan senyawa *halogenated furanone* dan *Annonaceous Acetogenin* dengan fragmen induk 647.4895 m/z, dimana massa netral yang didapat sebesar 624.4965 Da akibat dari mode ionisasi positif yang menyebabkan senyawa terprotonasi oleh produk tambahan natrium yang memiliki unit massa atomik sebesar 22.98977 Da. Berdasarkan database (*Chemspider.com*, *PubChem*), ada beberapa kemungkinan senyawa dengan rumus molekul yang sama yaitu *cis*-Annomontacin, Rollinecin A, Squamoxinone, Goniotetracin, Rollinecin B, Annoglacin B, Annoglacin A, Asitrilobin A, (2,4-*cis/trans*)-annomontacinone, Squafosacin B, (2,4-*cis/trans*)-xylomaticinone, (2,4-*cis/trans*)-squamoxine B, Asitrilobin D, Asitrilobin C. Seluruh senyawa tersebut memiliki nilai massa netral teoritis sebesar 624.496521 Da, nilai ini mendekati nilai massa netral hasil analisis pada Isolat D3X yang menunjukkan massa netral sebesar 624.4965 Da. Hasil dan laporan analisis isolat D3X dengan LCMS/MS dapat dilihat pada **Lampiran 16**.



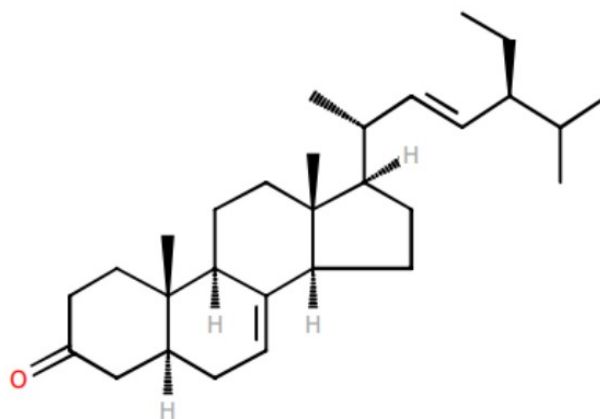
Gambar 5.11 Struktur Senyawa (+)-Gomisin M2 ($C_{22}H_{26}O_6$)



Gambar 5.12 Struktur Senyawa Bufotalinin (C₂₄H₃₀O₆)



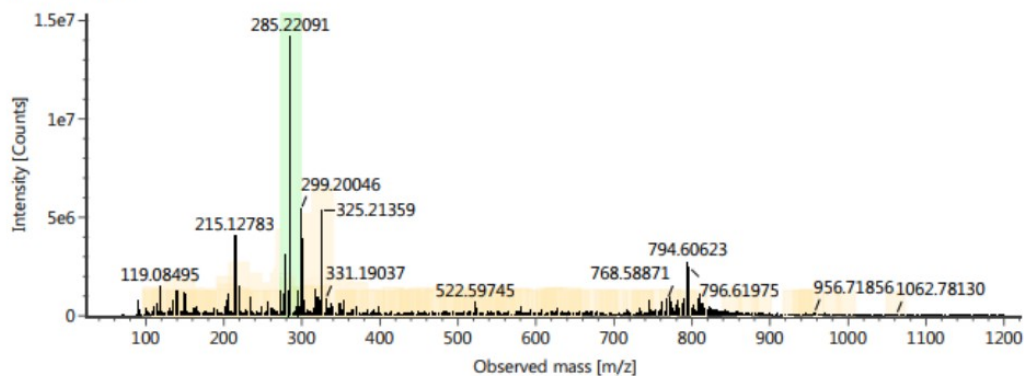
Gambar 5.13 Struktur Senyawa Ferruginol (C₂₀H₂₈O)



Gambar 5.14 Struktur Senyawa Spirasterone (C₂₉H₄₆O)

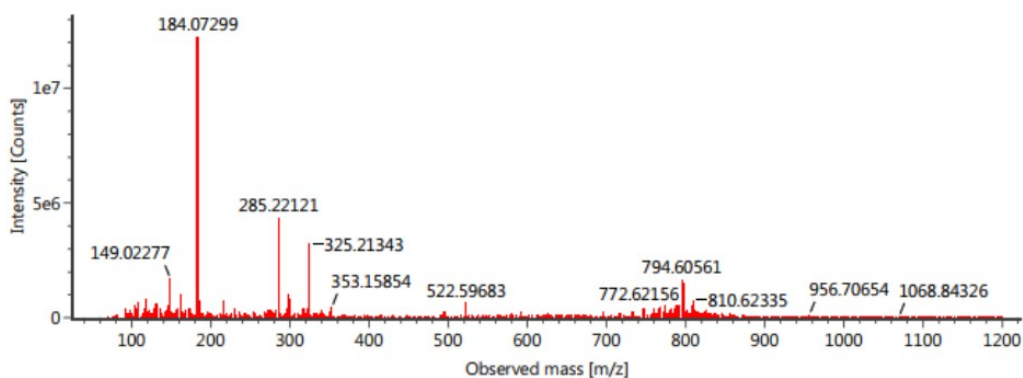
Item name: 210317-0590
Item description:

Channel name: Low energy : Time 9.4417 +/- 0.0722 minutes



Item name: 210317-0590
Item description:

Channel name: High energy : Time 9.4417 +/- 0.0722 minutes



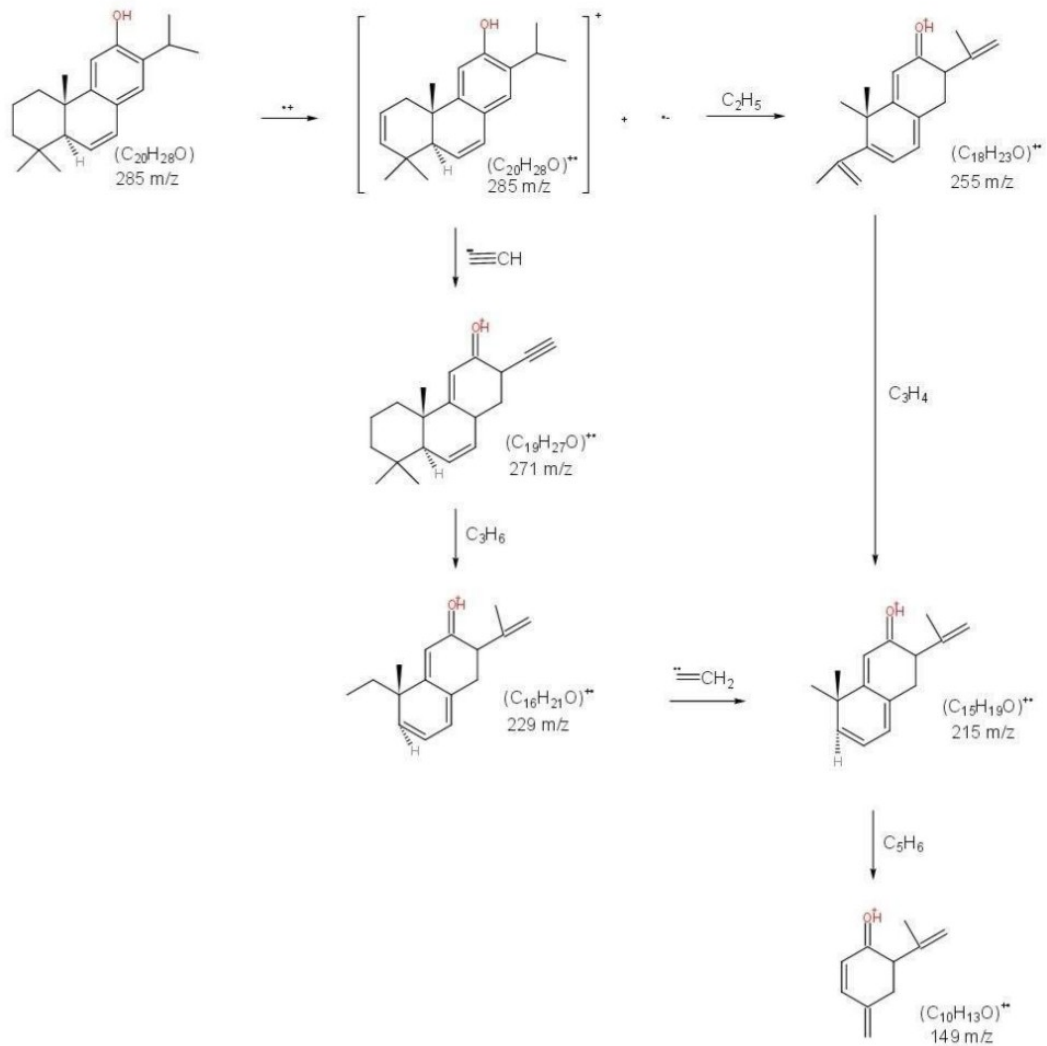
Gambar 5.15 Spektrum Massa Ferruginol

Tabel 5.8 Data Fragmen Massa dari Fragmen Induk Ferruginol

Expected m/z	Observed m/z	Mass error (mDa)	Mass error (ppm)	Detector Counts	Observed RT (min)	Formula
165.12739	165.12671	-0.7	-4.124	84416	9.39745	C11H17O
225.12739	225.12736	0.0	-0.142	100963	9.49680	C16H17O
229.15869	229.15791	-0.8	-3.404	95093	9.37304	C16H21O
255.17434	255.17403	-0.3	-1.203	253680	9.49811	C18H23O
257.18999	257.19015	0.2	0.630	204159	9.37364	C18H25O
259.20564	259.20643	0.8	3.048	35664	9.42605	C18H27O

259.20564	259.20584	0.2	0.783	28560	9.38783	C18H27O
267.21073	267.21053	-0.2	-0.745	272905	9.44247	C20H27
270.19782	270.19871	0.9	3.312	24741	9.44248	C19H26O
271.20564	271.20516	-0.5	-1.759	203829	9.40277	C19H27O

Dugaan senyawa terpenoid dalam Isolat D3X, yaitu Ferruginol, yang merupakan senyawa golongan diterpenoid tipe abietane atau seringkali disebut sebagai senyawa diterpenoid fenol (Eksi *et al.*, 2020), sedangkan keempat senyawa lainnya bukan merupakan senyawa golongan terpenoid. Dalam hasil analisa LCMS/MS, Ferruginol muncul pada waktu retensi ke 9.44 menit dan memiliki area puncak tertinggi dibandingkan dengan kandidat senyawa lainnya, yaitu sebesar 1627103 unit luas area. Detektor MS dalam mode ion positif (ESI+) menunjukkan fragmen massa induk yaitu 285.22091 m/z dengan intensitas tertinggi. Intensitas fragmen massa tertinggi diberi nilai abundansi 100% atau disebut sebagai *base peak* atau puncak dasar (Sutrisno, 2018). Detektor MS dalam mode ion positif (ESI+) dengan pembacaan peak adalah M+1, sehingga berat molekul senyawa Ferruginol sebesar 284.22091 g/mol. Berat molekul tersebut sesuai dengan nilai teoritis dari berat molekul senyawa Ferruginol yaitu 284.4 g/mol (PubChem, 2021). Terdapat total 14 fragmen massa yang terbentuk dari fragmen induk antara lain 271.20516 m/z, 270.19871 m/z, 267.21053 m/z, 259.20584 m/z, 259.20643 m/z, 257.19015 m/z, 255.17403 m/z, 229.15791 m/z, 225.12736 m/z, 215.12783 m/z, 184.07299 m/z, 165.12671 m/z, 149.022777 m/z, dan 119.08495 m/z. Pola fragmentasi senyawa Ferruginol dapat dilihat pada **Gambar 5.16**.



Gambar 5.16 Prediksi Pola Fragmentasi Senyawa Ferruginol

Berdasarkan prediksi pola fragmentasi senyawa ferruginol, fragmen induk dengan ion massa tertinggi adalah 285 m/z. Dari fragmen induk kemungkinan terdapat dua jalur fragmentasi, yaitu pada jalur pertama terjadi pelepasan gugus CH yang menghasilkan fragmen massa 271 m/z, kemudian terjadi pelepasan molekul C_3H_6 yang menghasilkan fragmen massa 229 m/z, lepasnya gugus CH_2 yang menghasilkan fragmen massa 215 m/z, dan lepasnya molekul C_3H_6 yang menghasilkan fragmen massa 149 m/z. Sedangkan pada jalur kedua, dari fragmen induk juga terjadi pelepasan molekul C_2H_5 yang menghasilkan fragmen

massa 255 m/z, kemudian terlepasnya molekul C₃H₄ yang menghasilkan fragmen 215 m/z, dan lepasnya molekul C₅H₆ yang menghasilkan fragmen 149 m/z.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Etnobotani merupakan ilmu tanaman mengenai penggunaannya sebagai penunjang hidup sehari-hari dan adat dalam berbagai suku bangsa (Darmono, 2007). Etnobotani paling banyak membahas mengenai seputar fungsi tanaman sebagai media pengobatan penyakit. Pengobatan tersebut didasari oleh pengetahuan pengobatan oleh masyarakat awam yang diterapkan dari prinsip “*back to nature*” (Setiawan, 2014).

Penduduk setempat regional NTB seringkali memanfaatkan Tanaman Songga (*Strychnos lucida*) sebagai pengobatan penyakit, seperti penyakit otot dan persendian, penyakit kulit, diabetes, dan juga penyakit jantung (Setiawan, 2014). Masyarakat paling sering memanfaatkan bagian batang dari Tanaman Songga sebagai pengobatan malaria dengan cara merebus batang dan sarinya lalu diminum satu gelas sebanyak tiga kali sehari (Maharani dkk., 2010). Tanaman Songga (*Strychnos lucida*) dikenal penduduk setempat NTB sebagai Bidara Laut atau Kayu Pit dan di Bali terkenal dengan sebutan "Kayu Pahit" (BPK Mataram, 2009).

Beberapa penelitian terdahulu melaporkan bahwa batang Songga mengandung senyawa fitokimia yang beragam, meliputi senyawa terpenoid, flavonoid, steroid, polifenol, saponin, tanin, dan alkaloid (Sari *et al.*, 2011; Maximus & Tukan, 2012; Puspita, 2016). Senyawa terpenoid memiliki banyak aktivitas farmakologi, seperti antitumor, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antimalaria, memicu peningkatan absorpsi transdermal, mencegah dan

mengobati penyakit kardiovaskular, serta dapat menurunkan gula darah plasma. Senyawa terpenoid juga memiliki aktivitas sebagai insektisida, imunomodulator, antioksidan, mencegah penuaan, dan memiliki efek neuroprotektif (Yang et al., 2020). Namun sampai saat ini, belum ada penelitian mengenai senyawa terpenoid yang terdapat pada batang Songga.

Untuk mendapatkan informasi mengenai senyawa terpenoid dalam batang Songga perlu dilakukan beberapa prosedur penelitian. Pada penelitian ini, dilakukan penemuan senyawa terpenoid batang Songga melalui 2 tahapan utama, yaitu tahapan untuk mendapatkan isolat dan tahapan untuk mengidentifikasi senyawa pada isolat. Tahapan untuk mendapatkan isolat disebut sebagai proses isolasi. Isolasi adalah proses pemisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Djamal, 2008). Isolasi senyawa pada tanaman umumnya merujuk pada prosedur ekstraksi. Ekstraksi didefinisikan sebagai pencampuran bahan alam dengan pelarut yang dapat menyebabkan larutnya komponen aktif dengan pelarut sehingga terpisah dengan komponen inert (Hussain *et al.*, 2019). Prosedur ekstraksi terbagi menjadi metode ekstraksi dingin dan metode ekstraksi panas, yang membedakan kedua metode tersebut adalah ada dan tidaknya proses pemanasan dalam prosedur tersebut.

Simplisia batang songga (*Strychnos lucida*) diekstraksi dengan metode maserasi. Metode maserasi adalah prosedur paling sederhana yang melibatkan perendaman bahan tanaman bubuk kasar dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup di suhu ruangan untuk jangka waktu tertentu. Metode ini cocok untuk ekstraksi awal dalam jumlah sampel yang banyak untuk senyawa yang bersifat termolabil (Hussain *et al.*, 2019). Metode maserasi dipilih karena

merupakan metode ekstraksi dingin tanpa pemanasan sehingga tidak merusak senyawa (Mukhriani, 2014). Maserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 80%. Pelarut etanol dipilih karena merupakan pelarut universal yang mampu menarik seluruh senyawa dalam proses maserasi terutama senyawa fitokimia seperti terpenoid, alkaloid, dan flavonoid dibandingkan dengan pelarut petroleum eter, kloroform dan air (Azwanida, 2015). Hasil proses maserasi adalah ekstrak batang songga memiliki konsistensi kental seperti pasta berwarna coklat kehitaman dan bau khas aromatik. Berat total ekstrak sebesar 69 gram sehingga didapatkan rendemen sebesar 6,9%. Dimana nilai rendemen tidak berbeda jauh dengan hasil maserasi pada penelitian sebelumnya oleh Syafii (2018) yakni pada ekstraksi 1 kg simplisia kayu Songga dengan pelarut etanol 75% didapatkan rendemen sebesar 5,03%.

Perlu didapatkan senyawa terpenoid yang murni untuk mempermudah identifikasi senyawa dengan instrumen, sehingga perlu dilakukan proses pemisahan lebih lanjut. Perbedaan kandungan senyawa pada beberapa proses pemisahan dapat disebabkan oleh karakteristik fisika maupun kimia senyawa tersebut, meliputi reaktivitas kimia, kelarutan, ukuran molekul, perbedaan muatan, titik lebur, dan titik beku. Teknik pemisahan senyawa dapat diklasifikasikan menjadi proses pemisahan mekanis dan pemisahan berdasarkan proses difusi. Proses pemisahan mekanis berdasarkan pada ukuran partikel, densitas, dan mobilitas elektrik atau magnetik, sedangkan pemisahan berdasarkan proses difusi meliputi pemisahan kromatografi, ekstraksi, dan fraksinasi. Setelah didapatkan ekstrak etanol 80% batang Songga, ekstrak dipisahkan lebih lanjut dengan metode fraksinasi. Metode fraksinasi adalah metode pemisahan yang umum digunakan untuk memisahkan campuran menjadi

beberapa komponen fraksi yang berbeda. Metode fraksinasi memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan karakteristik senyawa yang melibatkan proses fisik dan pembentukan fase (Hassan *et al.*, 2019). Pada penelitian ini, 50 g ekstrak etanol 80% batang Songga difraksinasi bertingkat dengan pelarut air, diklorometana, etil asetat, dan n-butanol. Sehingga didapatkan empat fraksi, yaitu fraksi DCM, fraksi EA, fraksi N-Butanol, dan Fraksi air dengan nilai rendemen berturut-turut adalah 3,4362%, 5,0926%, 2,3752%, dan 35,0026%. Fraksi air memiliki nilai rendemen yang paling tinggi yaitu 35,0026%, hal ini menandakan bahwa sebanyak sebagian besar senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol batang Songga adalah senyawa polar, sebanyak 5,8078% senyawa bersifat non polar, dan sebanyak 5,0926% senyawa bersifat semi polar. Seluruh fraksi tersebut diuji KLT dan hasil uji KLT menunjukkan bahwa pada fraksi DCM teridentifikasi adanya senyawa terpenoid, flavonoid, dan alkaloid. Pada fraksi EA, teridentifikasi adanya senyawa steroid. Pada fraksi N-butanol, teridentifikasi adanya senyawa terpenoid. Hasil uji KLT empat fraksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 5.4**. Pelarut diklorometana merupakan salah satu pelarut petroleum yang dapat mengekstraksi senyawa terpenoid dengan baik (Boutekedjiret *et al.*, 2014), hal ini dibuktikan dari profil KLT fraksi DCM yang paling baik dengan jumlah noda terpenoid paling banyak yang menunjukkan bahwa senyawa terpenoid pada batang Songga dapat diekstraksi dengan baik dalam pelarut tersebut. Fraksi DCM dipilih untuk diisolasi lebih lanjut karena memiliki noda terpenoid paling banyak yang muncul berupa warna ungu-coklat yang terlihat pada sinar tampak dan berwarna ungu atau oranye pada sinar UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%.

Berdasarkan profil KLT, fraksi DCM masih menunjukkan ketidakmurnian yang ditunjukkan dengan adanya banyak noda yang muncul, maka perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut pada fraksi DCM menggunakan metode kromatografi. Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan campuran, dimana campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam suatu cairan yang disebut sebagai fase gerak (eluen), yang membawanya melalui suatu struktur yang menahan material lain yang disebut sebagai fase diam. Fase gerak dapat berupa cairan, gas, atau cairan superkritis. Fase diam umumnya berupa lapisan tipis dari sebuah adsorben seperti silika gel, alumina atau selulosa pada suatu lempeng datar dan inert dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase diam juga dapat berada dalam tabung seperti pada kromatografi kolom. Berbagai komponen campuran yang akan dipisahkan bergerak pada kecepatan berbeda yang memicu pemisahan. Fraksinasi komponen campuran terjadi karena perbedaan afinitas antara fase diam dan fase gerak (Hassan *et al.*, 2019). Kromatografi Cair Kolom (KCK) merupakan metode pemisahan senyawa yang sering digunakan untuk pemurnian senyawa. Kromatografi Cair Kolom terbagi menjadi kromatografi cair kolom dengan tekanan rendah dan dengan tekanan tinggi. Tekanan rendah yang dimaksud adalah teknik klasik atau hanya menggunakan aliran gravitasi dalam proses pemisahannya atau sering disebut sebagai Kromatografi Cair Kolom Lambat (KCKL), sedangkan pada tekanan tinggi digunakan pompa peristaltik untuk mengatur aliran dari fase gerak melalui kolom atau sering disebut sebagai Kromatografi Cair Kolom Vakum. Berdasarkan profil KLT, fraksi DCM teridentifikasi adanya senyawa terpenoid, flavonoid, dan alkaloid, hal ini menunjukkan komponen dari fraksi DCM masih beragam sehingga dipilih metode KCKV untuk pemisahan lebih lanjut. Digunakan fase

diam silika gel 60 merck dan fase gerak N-heksana : EA dengan perbandingan bervariasi dari polaritas rendah hingga tinggi. Tujuan digunakan metode ini adalah untuk memisahkan konstituen zat aktif menjadi lebih spesifik berdasarkan tingkat polaritasnya. Hasil proses KCKV fraksi DCM adalah 26 fraksi yang kemudian diuji KLT. Hasil uji KLT digunakan sebagai acuan untuk menggabungkan fraksi berdasarkan profil KLT, yaitu berdasarkan pada jumlah noda dan nilai Rf noda yang tampak. Hasil dari penggabungan 26 fraksi tersebut adalah 6 fraksi gabungan yaitu D1, D2, D3, D4, D5, dan D6. Keenam fraksi gabungan dilakukan uji KLT dengan penampak noda H₂SO₄ 10% yang dapat menjadi indikator adanya senyawa terpenoid dalam fraksi tersebut. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa pada fraksi D1 teridentifikasi adanya senyawa terpenoid. Pada fraksi D2 teridentifikasi adanya senyawa steroid atau triterpenoid. Pada fraksi D3 teridentifikasi senyawa steroid dan terpenoid. Pada fraksi D4 teridentifikasi adanya senyawa terpenoid, steroid, alkaloid. Pada fraksi D5 teridentifikasi adanya senyawa steroid, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Sedangkan pada fraksi D6 teridentifikasi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Hasil uji KLT 6 fraksi dapat dilihat pada **Gambar 5.5**. Fraksi D3 dipilih untuk dilakukan isolasi lebih lanjut karena memiliki noda ungu-coklat pada sinar tampak dan sinar UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan *hot plate* pada suhu 120°C. Noda tersebut memiliki nilai Rf 0,5 dan tidak *tailing*. Noda berwarna ungu-coklat mengidentifikasikan bahwa pada fraksi D3 terdapat senyawa terpenoid, warna tersebut muncul akibat dari reaksi senyawa terpenoid dengan penampak noda H₂SO₄ 10% yang menyebabkan perubahan gem dimethyl pada karbon 4 dan pada gugus karbonil

atau hidroksil yang menghasilkan aksi hidrolitik oleh asam sulfat sehingga terjadi perubahan warna menjadi ungu kecoklatan (Ghosh & Thakur, 1982).

Fraksi D3 diisolasi dengan metode Kromatografi Cair Kolom Lambat (KCKL). Metode KCKL memiliki prinsip yang sama dengan KCKV, perbedaannya hanya pada KCKL menggunakan tekanan rendah atau hanya menggunakan aliran gravitasi saja saat proses pemisahan. Metode KCKL ini dipilih karena dapat mengisolasi senyawa menjadi lebih spesifik berdasarkan interaksi senyawa dengan fase gerak dan fase diam yang digunakan, interaksi terjadi lebih lama karena tidak dipengaruhi oleh tekanan. KCKL juga lebih dipilih sebagai metode pemisahan senyawa ketika sampel yang digunakan dalam jumlah terbatas. Dalam penelitian ini, digunakan fase gerak N-heksana : Aseton 8 : 2 dan fase diam silika gel 60 merck. Hasil dari KCKL ini adalah 41 subfraksi dengan volume masing-masing sebanyak 1 mL yang ditampung dalam vial. Seluruh subfraksi diuji KLT dan dilakukan penggabungan berdasarkan profil noda sehingga dihasilkan 7 subfraksi gabungan, yaitu subfraksi D3.1, D3.2, D3.3, D3.4, D3.5, D3.6, dan D3.7. Seluruh subfraksi gabungan diuji KLT dengan pelarut kloroform : aseton (9,5 : 0,5) dan menggunakan penampak noda H₂SO₄ 10%. Berdasarkan hasil KLT, pada subfraksi D3.1 teridentifikasi adanya senyawa steroid. Pada subfraksi D3.2 teridentifikasi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Pada subfraksi D3.3 dan D3.4 teridentifikasi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Pada subfraksi D3.5 teridentifikasi adanya senyawa steroid atau triterpenoid, dan terpenoid. Pada subfraksi D3.6 teridentifikasi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Sedangkan pada subfraksi D3.7 teridentifikasi adanya senyawa steroid dan terpenoid. Pada subfraksi D3.2, D3.3, D3.4, dan D3.7 terdapat noda senyawa terpenoid yang khas berwarna ungu kecoklatan pada

sinar tampak dan sinar UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan *hot plate* suhu 120°C. Subfraksi D3.2 memiliki tiga noda dengan nilai R_f sebesar 0.54 (ungu kecoklatan), 0.65 (biru), dan 0.83 (biru). Subfraksi D3.3 terdapat dua noda dengan nilai R_f sebesar 0,53 (ungu kecoklatan) dan 0,73 (biru). Pada subfraksi D3.4 terdapat dua noda dengan nilai R_f sebesar 0,53 (ungu kecoklatan) dan 0,72 (biru). Subfraksi D3.7 terdapat dua noda dengan nilai R_f sebesar 0,56 (ungu kecoklatan) dan 0,81 (biru). Hasil uji KLT 7 subfraksi gabungan dapat dilihat pada **Gambar 5.6**. Keempat subfraksi menunjukkan profil noda paling sedikit dibandingkan subfraksi lainnya dengan nilai R_f yang serupa sehingga dipilih dan digabungkan menjadi target Isolat D3X yang diduga mengandung senyawa terpenoid. Isolat D3X belum murni karena masih terdapat lebih dari satu noda. Isolat D3X tidak dimurnikan lebih lanjut karena memiliki berat terlalu sedikit untuk pengujian dengan instrumen. Isolat D3X kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV Visibel, FTIR, dan LCMS/MS.

Spektrofotometer UV-Visibel mengukur intensitas cahaya yang melewati suatu larutan sampel dalam kuvet, dan membandingkan intensitas tersebut dengan intensitas cahaya sebelum melewati sampel. Komponen utama spektrofotometer UV-Visibel adalah sumber cahaya, tempat sampel, mesin dispersif untuk memisahkan panjang gelombang cahaya yang berbeda (monokromator), dan detektor yang sesuai. Cara mengukur panjang gelombang maksimum dalam sampel terdiri atas dua tahapan, yaitu blanko dan determinasi sampel. Tahapan blanko dilakukan untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan melalui pelarut. Syarat pelarut blanko dan sampel pada spektrofotometri UV-Visibel adalah sesuai, transparan, dan tidak menyerap

wadah kuvet. Pelarut yang umum digunakan adalah air atau alkohol. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke kuvet, kemudian tembakan cahaya akan diemisikan melalui sumber cahaya menembus kuvet yang berisi pelarut. Intensitas cahaya yang ditransmisikan pada panjang gelombang yang berbeda akan diukur dengan detektor. Tahapan determinasi sampel dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pelarut yang sesuai dan dimasukkan ke dalam kuvet. Tembakan cahaya akan melewati kuvet dan cahaya akan diserap sebagian oleh molekul sampel. Cahaya yang ditransmisikan kemudian diukur dengan detektor. Perubahan intensitas cahaya pada panjang gelombang yang berbeda akan dihitung dengan membandingkan intensitas cahaya yang ditransmisikan pada sampel dengan nilai blanko (Toledo, 2015).

Spektra UV-Visibel Isolat D3X menunjukkan serapan pada panjang gelombang maksimum sebesar 270,2 nm dengan absorbansi sebesar 0,131. Spektra UV-Visibel dapat dilihat pada **Gambar 5.8**. Pada penelitian oleh Hou *et al.* (2011), analisis senyawa diterpenoid yang ditemukan dalam tanaman lain yaitu *Euphorbia lathyris* menunjukkan serapan gelombang ultraviolet maksimum pada 272 nm. Pada penelitian oleh Abdissa *et al.* (2017), didapatkan empat senyawa diterpenoid tipe abietane dengan panjang gelombang maksimum 270 nm. Hal ini menunjukkan bahwa pada panjang gelombang maksimum tersebut mengidentifikasi adanya senyawa diterpenoid tipe abietane. Dalam spektrofotometri UV-Visibel, gugus fungsi senyawa terpenoid dalam rentang panjang gelombang 200-350 nm disebut sebagai gugus kromofor. Gugus tersebut terdiri atas ikatan olefinat (ikatan dua dan tiga rangkap) dan gugus karbonil (aldehida, keton, ester asam karboksilat). Hasil analisa FTIR menunjukkan bahwa Isolat D3X memiliki ikatan dua rangkap (C=C aromatik)

yang dapat menyerap radiasi ultraviolet pada rentang 200-350 nm. Hal ini memperkuat dugaan bahwa Ferruginol merupakan senyawa terpenoid yang terdapat dalam Isolat D3X ekstrak batang Songga (*Strychnos lucida*).

Radiasi inframerah merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik antara daerah tampak dan daerah gelombang mikro. Pada praktek kimia organik, radiasi inframerah biasanya digunakan dalam rentang bilangan gelombang 4000 dan 400 cm^{-1} . Spektra inframerah digunakan sebagai informasi penunjang data spektra lainnya untuk mendeterminasi struktur molekul. Cara kerja instrumen ini adalah sampel diarahkan untuk kontak dengan radiasi inframerah. Radiasi inframerah kemudian akan menyebabkan getaran atomik pada molekul-molekul dalam sampel yang menghasilkan serapan dan/atau transmisi energi. Hal ini menyebabkan FTIR sangat berguna untuk mendeterminasi getaran molekul spesifik yang terdapat dalam sampel. Daerah spektrum inframerah terbagi menjadi empat, meliputi daerah ikatan tunggal (4000-2500 cm^{-1}), daerah rangkap tiga (2500-2000 cm^{-1}), daerah rangkap ganda (2000-1500 cm^{-1}), dan daerah sidik jari (1500-600 cm^{-1}) (Nandiyanto *et al.*, 2019).

Gugus fungsi dari senyawa golongan terpenoid memiliki karakteristik serapan bilangan gelombang yang tinggi pada gugus O-H terikat dengan intensitas medium pada daerah bilangan gelombang 3487,30 cm^{-1} , C-H alifatik dengan vibrasi bervariasi baik ulur dan tekuk dan intensitas medium hingga kuat pada rentang bilangan gelombang 2927,94-860,25 cm^{-1} , C=O keton intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1708,93 cm^{-1} , C=C alkena intensitas medium hingga lemah di daerah panjang gelombang 1635,64 cm^{-1} dan C-O alkohol intensitas kuat di daerah panjang gelombang 1238,30-1037,7 cm^{-1} . Gugus fungsi tersebut dapat diinterpretasikan melalui hasil spektra berupa

serapan pada bilangan gelombang tertentu (Sastrohamidjojo, 1992; Daenlangi et al., 2016; Atmoko et al., 2018). Hasil interpretasi spektrum inframerah senyawa pada Isolat D3X adalah sebagai berikut:

1. Spektrum menunjukkan adanya puncak serapan gugus O-H pada bilangan gelombang 3430,55 cm^{-1} . Menurut Silverstein, et al. (2005), pada rentang bilangan gelombang 3497 - 3077 cm^{-1} merupakan daerah gugus amina primer dan amida primer. Pada rentang bilangan gelombang serupa, yaitu 3800 - 2700 cm^{-1} merupakan daerah gugus O-H. Dugaan mengarah pada gugus O-H karena bentuk pita lebih lebar akibat dari ikatan hidrogen yang menyebabkan puncak melebar dan terjadi pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih pendek, sedangkan gugus N-H memiliki bentuk pita yang lebih tajam dan terbelah. Hal ini sesuai dengan struktur pada senyawa Ferruginol yang memiliki gugus O-H yang terikat pada C12 cincin C.
2. Spektrum menunjukkan adanya serapan ikatan C-H alifatik regang pada bilangan gelombang 2940,61 cm^{-1} dan 2864,41 cm^{-1} . Pita hasil serapan utama dalam spektra inframerah alkana disebabkan oleh regangan C-H di daerah bilangan gelombang 3000-2850 cm^{-1} (Smith, 2006). Ikatan C-H alifatik merupakan gugus karakteristik senyawa terpenoid sesuai dengan kerangka dasar unit isoprene pada senyawa terpenoid yaitu $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$.
3. Spektrum menunjukkan adanya serapan ikatan C=O karbonil pada bilangan gelombang 1726,36 cm^{-1} . Karakteristik serapan keton dan aldehida adalah getaran regangan C=O. Serapan aldehida biasanya terbentuk pada bilangan gelombang 1725 cm^{-1} (Nurdin, 1986), sedangkan keton pada bilangan gelombang 1715 cm^{-1} (Silverstein et al.,

2005). Dugaan mengarah pada gugus keton, karena tidak terdapat serapan C-H regang aldehida yang biasanya terbentuk pada rentang bilangan gelombang 2830-2695 cm^{-1} . Maka dugaan gugus ini adalah gugus keton. Berdasarkan struktur senyawa, senyawa Ferruginol tidak memiliki gugus C=O, hal ini dapat disebabkan oleh isolat D3 yang belum murni sehingga serapan radiasi inframerah terganggu karena adanya gugus fungsi dari senyawa pengotor.

4. Spektrum menunjukkan adanya serapan ikatan C=C pada bilangan gelombang 1651,14 cm^{-1} . Ikatan C=C yang bertetangga dengan gugus karbonil menunjukkan terjadinya delokalisasi elektron π pada ikatan karbonil dan ikatan rangkap (Silverstein et al., 2005). Ikatan C=C alkena merupakan gugus karakteristik senyawa terpenoid sesuai dengan kerangka dasar unit isoprene pada senyawa terpenoid yaitu C_5H_{10} . Dugaan diperkuat dari struktur senyawa Ferruginol yang memiliki cincin aromatik yang terdiri atas ikatan C=C.
5. Spektrum menunjukkan adanya serapan C-O pada bilangan gelombang 1059,93 cm^{-1} , 1178,56 cm^{-1} , dan 1244,14 cm^{-1} . Karakteristik spektra alkohol biasanya terdapat pada daerah bilangan gelombang antara 1260 - 1000 cm^{-1} yang biasa muncul sebagai pita regangan C-O. Spektrum metanol biasanya terdapat pada bilangan gelombang 1034 cm^{-1} dan etanol pada bilangan gelombang 1053 cm^{-1} (Silverstein et al., 2005). Adanya serapan gugus C-O pada spektrum diperkuat dengan adanya gugus C-O pada senyawa Ferruginol yang terikat pada C12 cincin C.
6. Spektrum menunjukkan adanya serapan CH_3 tekuk pada bilangan gelombang 1316,47 cm^{-1} dan CH_2 tekuk pada bilangan gelombang

1454,39 cm⁻¹. Serapan C-H tekuk terjadi pada rentang bilangan gelombang 1475 - 1300 cm⁻¹. Ikatan CH₂ dan CH₃ gugus karakteristik senyawa terpenoid sesuai dengan kerangka dasar unit isoprene pada senyawa terpenoid yaitu (C₅H₈)_n.

Pita serapan Isolat D3X pada spektrofotometri inframerah menunjukkan gugus fungsi khas pada senyawa terpenoid yaitu gugus C-H alifatik pada bilangan gelombang 2940,61 cm⁻¹, CH₂ tekuk pada bilangan gelombang 1454,39 cm⁻¹, CH₃ tekuk pada bilangan gelombang 1316,47 cm⁻¹, dan C=C aromatik yang khas pada struktur dari kerangka abietane dengan bilangan gelombang 1651,14 cm⁻¹ dengan intensitas sedang cenderung lemah. Senyawa terpenoid yang diisolasi diduga memiliki gugus fungsi C-O dan O-H yang terikat pada salah satu atom karbonnya yang dibuktikan dengan adanya serapan gugus C-O pada bilangan gelombang 1059,93 cm⁻¹ dengan intensitas sedang dan gugus O-H yang khas dengan bentuk pita melebar pada bilangan gelombang 3430,55 cm⁻¹. Hal ini dibuktikan dengan struktur senyawa Ferruginol yang mengandung gugus O-H dan C-O yang terikat pada C12 cincin C.

Tabel 6.1 Kemiripan Spektra IR Senyawa Ferruginol Isolat D3X dengan Literatur (Yang et al., 2001; Fukushima et al., 2002)

Spektra IR Senyawa Ferruginol Isolat D3X	Gugus Fungsi	Spektra IR Senyawa Ferruginol Literatur	
		(Fukushima <i>et al.</i> , 2002)	(Yang <i>et al.</i> , 2001)
1059,93 cm ⁻¹	C-O regang	1160 cm ⁻¹	1051 cm ⁻¹
1316,47	CH ₃ tekuk	1376 cm ⁻¹	1333 cm ⁻¹
1454,39 cm ⁻¹	CH ₂ tekuk	1420 cm ⁻¹	1463 cm ⁻¹

1651,14 cm ⁻¹	C=C aromatik	1500 cm ⁻¹	1604 cm ⁻¹
1726,36 cm ⁻¹	C=O regang (keton)	1712 cm ⁻¹	1714 cm ⁻¹
2940,61 cm ⁻¹	CH alifatik regang	2950 cm ⁻¹	2958 cm ⁻¹
3430,55 cm ⁻¹	OH	3650 cm ⁻¹	3425 cm ⁻¹

Terdapat beberapa perbedaan serapan bilangan gelombang yang muncul, hal ini dapat disebabkan oleh Isolat D3X yang belum murni sehingga serapan radiasi inframerah terganggu karena adanya gugus fungsi dari senyawa pengotor. Salah satu syarat yang perlu dipenuhi dalam menginterpretasikan spektrum inframerah adalah spektrum harus berasal dari senyawa yang murni sehingga spektrum yang didapatkan menghasilkan pita yang tajam dan jelas serta memiliki intensitas yang tepat (Dachriyanus, 2004).

Identifikasi Isolat D3X bersifat "tidak tertarget", sehingga tidak menggunakan standar senyawa dalam proses identifikasi. Sistem kromatogram pada LCMS/MS digunakan fase terbalik yang menggunakan *Acquity UPLC High Strength Silica C18* sebagai kolom kromatografi yang bersifat non polar, sedangkan fase gerak yang digunakan bersifat polar. Fase gerak yang digunakan terdiri atas larutan A dan B, larutan A adalah 0,1% asam format dengan penambahan akuades dan larutan B adalah asetonitril dengan penambahan 0,1% asam format. Penambahan asam format bertujuan untuk memperjelas bentuk puncak pada kromatogram dan menjadi sumber proton pada fase terbalik yang digunakan. Asam format mempunyai tingkat kontaminasi yang rendah, sehingga tidak mengganggu proses analisis yang memiliki tingkat sensitivitas tinggi (Ayuchecaria, 2016). Digunakan asetonitril pada pelarut B

untuk meningkatkan kepolaran. Kepolaran asetonitril disebabkan oleh asetonitril memiliki dua elektron bebas pada atom nitrogen dan mempunyai ikatan dipol yang kuat.

Spektroskopi massa yang digunakan adalah Xevo G2-XS QTOF MS dengan sumber ionisasi ESI (*Electrospray Ionisation*) dengan mode positif. QTOF MS (Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry) adalah instrumen gabungan yang mana menggabungkan teknologi *Quadrupole* dan *Time of Flight* dalam menganalisa suatu massa. Instrumen QTOF MS sangat mirip dengan spektrometer massa *triple quadrupole*, perbedaan terletak pada *quadrupole* ke tiga diganti dengan tabung *Time of Flight*. Cara kerja instrumen ini adalah *quadrupole* 1 (Q1) berfungsi sebagai filter massa berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z), hasil dari Q1 akan dikirimkan ke *quadrupole* 2 (Q2). Q2 berfungsi sebagai pemecah ion melalui proses tumbukan sehingga menghasilkan fragmen-fragmen ion yang dikenal dengan proses *Collision Induced Dissociation* (CID). Setelah ion tersebut dipecah, ion-ion tersebut akan masuk ke dalam tabung TOF. Kemudian ion yang berat akan membutuhkan waktu migrasi yang lebih lama dibanding ion yang lebih ringan. Ion yang telah melewati tabung TOF akan dideteksi oleh detektor (Allen & McWhinney, 2019).

Data kromatogram dari hasil identifikasi dengan LCMS/MS kemudian dianalisa dengan *OpenMS Software* yang berisi *database* senyawa. Berat molekul senyawa-senyawa yang teridentifikasi selanjutnya dibandingkan dengan *database* tersebut.

Hasil spektra LCMS/MS menunjukkan bahwa terdapat lima kandidat senyawa pada isolat D3, meliputi (\pm)-Gomisin M2, Bufotalinin, Ferruginol, Spinasterone, dan *Candidate Mass* C37H68O7. (\pm)-Gomisin M2 merupakan

senyawa golongan lignan. Lignan merupakan salah satu kelompok senyawa polifenol yang terbagi lagi dalam delapan subkelompok struktural, meliputi *dibenzylbutyrolactol*, *dibenzocyclooctaidene*, *dibenzylbutyrolactone*, *dibenzylbutane*, *arylnaphthalene*, *aryltetralin*, furan, dan furofuran. (±)-Gomisin M2 termasuk dalam subkelompok *dibenzocyclooctaidene* (Hou *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2018). Bufotalinin merupakan senyawa glikosida jantung turunan bufadienolida yang digunakan sebagai pengobatan pasien dengan penyakit jantung (Singh and Streeper, 2005). Spinasterone merupakan senyawa golongan steroid yang dapat digunakan sebagai prekursor hormon dan dapat menurunkan kadar LDL pada pasien hiperlipidemia (Muthia *et al.*, 2015; Haralampiev *et al.*, 2017). Sedangkan Ferruginol merupakan senyawa golongan diterpenoid trisiklik dengan kerangka abietane yang sebagian besar struktur senyawanya memiliki cincin C aromatik (Marcos *et al.*, 2010).

Dugaan senyawa terpenoid dalam Isolat D3X dari ekstrak batang Songga (*Strychnos lucida*) adalah Ferruginol. Ferruginol merupakan satu-satunya senyawa golongan terpenoid yang teridentifikasi oleh LCMS/MS. Spektra Ferruginol pada analisa dengan LCMS/MS muncul pada waktu retensi ke 9,44 menit dengan luas area puncak tertinggi dibandingkan dengan empat senyawa lainnya yaitu sebesar 1627103 unit luas area. Detektor MS dalam mode ion positif (ESI+) menunjukkan fragmen induk yaitu 285.22091 m/z dengan intensitas tertinggi. Intensitas fragmen massa tertinggi diberi nilai abundansi 100% atau disebut sebagai *base peak* atau puncak dasar (Sutrisno, 2018). Dalam mode ion positif (ESI+) pembacaan peak adalah M+1, sehingga berat molekul senyawa Ferruginol sebesar 284.22091 g/mol. Berat molekul tersebut sesuai dengan nilai teoritis dari berat molekul senyawa Ferruginol yaitu 284.4 g/mol (PubChem,

2021). Terdapat total 14 fragmen massa yang terbentuk dari fragmen induk antara lain 271.20516 m/z, 270.19871 m/z, 267.21053 m/z, 259.20584 m/z, 259.20643 m/z, 257.19015 m/z, 255.17403 m/z, 229.15791 m/z, 225.12736 m/z, 215.12783 m/z, 184.07299 m/z, 165.12671 m/z, 149.022777 m/z, dan 119.08495 m/z.

Berdasarkan prediksi pola fragmentasi senyawa ferruginol, fragmen induk dengan ion massa tertinggi yakni 285 m/z, kemungkinan mengalami dua jalur fragmentasi utama. Pada jalur pertama terjadi pelepasan gugus CH yang menghasilkan fragmen massa 271 m/z, kemudian terjadi pelepasan molekul C₃H₆ yang menghasilkan fragmen massa 229 m/z, lepasnya gugus CH₂ yang menghasilkan fragmen massa 215 m/z, dan lepasnya molekul C₅H₆ yang menghasilkan fragmen massa 149 m/z. Sedangkan pada jalur kedua, dari fragmen induk juga terjadi pelepasan molekul C₂H₅ yang menghasilkan fragmen massa 255 m/z, kemudian terlepasnya molekul C₃H₄ yang menghasilkan fragmen 215 m/z, dan lepasnya molekul C₅H₆ yang menghasilkan fragmen 149 m/z.

Tabel 6.2 Kemiripan Fragmentasi Ferruginol dengan Literatur (Beccera et al., 2002; Cox et al., 2007; NIST, 2018)

Fragmen Massa Ferruginol dari Isolat D3X	Fragmen Massa Ferruginol pada Literatur		
	(NIST, 2018)	(Cox et al., 2007)	(Beccera et al., 2002)
271.20516	271.0000	271.0000	271.0000
255.17403	255.0000	256.0000	255.0000
229.15791	229.0000	229.0000	229.0000
215.12783	215.0000	216.0000	215.0000

165.12671	163.0000	162.0000	165.0000
-----------	----------	----------	----------

Menurut Kristianingrum (2012), fragmen induk yang memiliki setidaknya dua fragmen anak yang sama dapat dikatakan merupakan senyawa yang sama. Fragmentasi yang dihasilkan oleh fragmen induk Ferruginol memiliki kesamaan dengan *NIST Mass Spectrometry Data Center*, hasil penelitian oleh Cox *et al.* (2007) dan Beccera *et al.* (2002). Spektrum massa senyawa ferruginol pada literatur dapat dilihat pada **Lampiran 17**. Berdasarkan database pada *The Metabolomic Innovation Centre* (2013), senyawa ferruginol memiliki pola fragmentasi yang sama dengan hasil analisis Isolat D3X, terutama pada fragmen 271 m/z, 229 m/z dan 215 m/z. Dari fragmen induk 285 m/z (C₂₀H₂₈O) juga melepas molekul CH yang menghasilkan fragmen massa 271 m/z (C₁₉H₂₇O), yang kemudian dilanjut dengan pelepasan molekul C₃H₆ menghasilkan fragmen massa 229 m/z (C₁₆H₂₁O), dan dilanjut dengan lepasnya molekul CH₂ menghasilkan fragmen massa 215 m/z (C₁₅H₁₉O). Perbedaan satu hingga dua angka pada fragmen massa dapat terjadi akibat dari perbedaan alat maupun optimasi kondisi alat seperti jenis sistem elusi, fase gerak, laju alir, dan volume injeksi (Kristianingrum, 2012).

Senyawa Ferruginol masuk ke dalam klasifikasi diterpenoid trisiklik yang khas dengan tiga cincin aromatik sebagai penyusun strukturnya. Ferruginol merupakan diterpenoid tipe abietane aromatik yang paling banyak ditemukan di tanaman (Gonzales, 2015). Berdasarkan studi pustaka, Ferruginol memiliki beberapa aktivitas farmakologi potensial. Pada aktivitas kardiovaskular, Ferruginol memiliki efek antidisritmia dan kardiotonik serta dapat menurunkan tekanan darah arteri dan denyut jantung. Ferruginol memiliki aktivitas antibakteri

Bacillus subtilis, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* (Ulubelen, 2003; Somova *et al.*, 2003). Dalam penelitian oleh Clarkson *et al.* (2003), Ferruginol menunjukkan adanya aktivitas antimalaria terhadap resisten klorokuin dan strain sensitif *Plasmodium falciparum*, serta memiliki toksisitas yang rendah setelah diuji pada dua garis sel mamalia. Pada penelitian oleh Koch *et al.* (2006), Ferruginol juga menunjukkan adanya aktivitas antimalaria yang diuji pada klon sensitif klorokuin *Plasmodium falciparum*. Mekanisme antimalaria oleh Ferruginol diduga melalui hambatan potensial pada enzim karbonat anhidrase pada *Plasmodium falciparum* yang menyebabkan hambatan pertumbuhan patogen (Supuran, 2010; Long *et al.*, 2012).

6.2 Implikasi Penelitian

Penelitian ini dapat menjadi informasi tambahan bagi penelitian selanjutnya mengenai kandungan senyawa terpenoid pada fraksi diklorometana ekstrak batang Songga (*Strychnos lucida*). Informasi senyawa terpenoid yang didapat dapat menjadi pertimbangan untuk diteliti lebih lanjut bagaimana aktivitas farmakologinya pada berbagai penyakit. Hal ini dapat digunakan sebagai alternatif untuk pengembangan obat baru maupun obat yang telah mengalami resistensi.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah dalam proses analisis menggunakan FTIR dan LCMS/MS dilakukan di laboratorium institusi lain sehingga peneliti tidak sepenuhnya mengambil alih dalam operasi alat.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil identifikasi Isolat D3X dengan spektrofotometer UV Visibel, FTIR, dan LCMS/MS didapatkan senyawa terpenoid yang dikonfirmasi sebagai senyawa Ferruginol, yang termasuk ke dalam subkelas diterpenoid tipe abietane.

7.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya, perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut pada Isolat D3 fraksi diklorometana ekstrak etanol batang songga (*Strychnos lucida*).
2. Perlu dipertimbangkan untuk memperbanyak hasil ekstraksi sehingga hasil akhir isolat yang didapatkan cukup untuk pengujian dengan instrumen.
3. Perlu dilakukan konfirmasi struktur senyawa Ferruginol dengan instrumen *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).
4. Perlu dipertimbangkan untuk menguji aktivitas farmakologi dari Isolat D3 sebagai antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdissa N., Frese M., Sewald N. Antimicrobial Abietane-Type Diterpenoids from *Plectranthus punctatus*. *Molecules*, 2017, 22(11): 1919.
- Achmadi S. S. 2003. *Prinsip-Prinsip Kimia Modern*. Erlangga: Jakarta.
- Ambrosio S.R., Schorr K., Da Costa F.B. Terpenoids of *Strychnos* sp Biochemical Systematics and Ecology. *PLoS One*, 2004, 32(1): 221-224.
- Arnelia. 2002. *Fitokimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM dan Kanker*. Dalam buku: Setiawan, Ogi, Nurul Wahyuni, Wayan Widhana Susila, Anita Aprilliani Dwi Rahayu, dan Tati Rostiwati. 2014. *Bidara Laut (Strychnos ligustrina) syn. S.lucida R. Br: Sumber Bahan Obat Potensial di Nusa Tenggara Barat dan Bali*. Forda Press: Bogor.
- Arimura G, Ozawa R, Shimoda T, Nishioka T, Boland W, Takabayashi J. Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*. 2000, 406(6795): 512-515.
- Assimopoulou A.N., Papageorgiou V.P. GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of Pistacia species part I *Pistacia lentiscus* var Chia. *Biomedical Chromatography*, 2005, 19(1): 285-31.
- Atmoko D.P., Marlina E., Erwin. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid dari Daun *Macaranga beccariana* Merr. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 2018, 16(1): 21-24.
- Azwanida N.N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plants*, 2015, 4(1): 3.
- Beccera J., Flores C., Mena J., Aqueveque P., Alarcon J., Hernandez M.V., Hoeneisen M., Ruiz E., Silva M. Antifungal and Antibacterial Activity

- of Diterpenes Isolated from Wood Extractables of *Chilean podocarpaceae*. *Bol. Soc. Chil. Quím.*, 2002, 47(1): 151-157.
- Bentley H.R, Henry J.A, Irvine D.S, Spring F.S. the non-saponifiable fraction from *Strychnos nux-vomica* seed fat: the structure of cyclo-Artenol. *Triterpene resinols and related acids*. Part XXVIII.
- Boutekedjiret C., Vian M.A., and Chemat F. 2014. *Terpenes as Green Solvents for Natural Products Extraction in Alternative Solvents for Natural Products Extraction, Green Chemistry and Sustainable Technology*. Springer: Berlin.
- Breitmaier E. 2008. *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones, 1st Edition*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co: Germany.
- Buchbauer G. 2010. *Biological Activities of Essential Oils, Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton.
- Cai L. 2014. *Thin Layer Chromatography*. John Wiley & Sons, Inc: USA.
- Clarkson C., Campbell W.E., Smith P. In vitro antiplasmodial activity of abietane and totarane diterpenes isolated from *Harpagophytum procumbens* (devil's claw). *Planta Med.*, 2003, 69(1): 720.
- Connolly J.D., Hill R.A.. Triterpenoids. *Natural Product Reports*, 2010, 27(1): 79-132.
- Cox R.E., Yamamoto S., Otto A., Simoneit B.R.T. Oxygenated di- and tricyclic diterpenoids of southern hemisphere conifers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2007, 35: 342-362.
- Dachriyanus. 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. LPTIK Universitas Andalas: Medan.

- Daenlangi R., Salempa P., Danial M. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksan Kulit Batang Sukun (*Artocarpus altilis*). *Jurnal Chemical*, 2016, 17(1): 91 - 97.
- Dalimunthe C.I., Sembiring Y.R.V., Andriyanto M., Siregar T.H.S., Darwis H.S., Barus D.A. Identifikasi dan Uji Metabolit Sekunder Bangun-Bangun (*Coleus amboinicus*) Terhadap Penyakit Jamur Akar Putih (*Rigidiporus microporus*) di Laboratorium. *Jurnal Penelitian Karet*, 2016, 34(2): 189-200.
- Darmono. 2007. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat untuk keperluan adat*. Diakses Melalui download.portal.garuda.org.pdf. Pada 23 Oktober 2020. Malang.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Depkes RI: Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depkes RI: Jakarta.
- Djamal R. 2008. *Prinsip-prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Universitas Baiturrahmah: Padang.
- Drew D., Krichau N., Reichwald K., Simonsen H. Guaianolides in apiaceae: perspectives on pharmacology and biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 2009, 8: 581–599.
- Eksi G., Kurbanoglu S., Erdem S.A. Analysis of diterpenes and diterpenoids. *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 2020, 313-345.
- Fassenden, R. J., & Fassenden, J. S. 1995. *Kimia Organik Jilid 3*. Erlangga: Jakarta.
- Fischedick J. 2013. *Terpenoids for Medicine*. Leiden University Press: Leiden.

- Fukushima J., Yatagai M., Ohira T. Abietane-type and labdane-type diterpenoids from the cones of *Chamaecyparis obtusa*. *J Wood Sci*, 2002, 48: 326-330.
- Gandjar I.G., Abdul R. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Ghafoori, H., Sariri R., Naghavi M.R., Aryakia E., Dolatyari A., Fazeli S.A.S., Ramazani H., Farahmand Z. Analysis of Artemisinin Isolated From *Artemisia Annua* L. By TLC and HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2013, 36(9): 1198-1206.
- Ghosh P., Thakur S. Spray reagent for steroids and triterpenoids on thin-layer plates. *Journal of Chromatography*, 1982, 240: 515-517.
- Gonza'lez M.A. Aromatic abietane diterpenoids: total syntheses and synthetic studies. *Tetrahedron*, 2015, 71(13): 1883–1908.
- Gunn E.J., Williams J.T., Huynh D.T., Iannotti M.J., Han C., Barrios F.J., Kendall S., Glackin C.A., Colby D.A., Kirshner J. The natural products parthenolide and andrographolide exhibit anti-cancer stem cell activity in multiple myeloma. *Leukemia & Lymphoma*, 2011, 52: 1085–1097.
- Gusmailina G. 2015. *Eksplorasi Potensi Senyawa Organik Kayu Ular (Strychnos lucida) Sebagai Sumber Biofarmaka*. Forda Press: Bogor.
- Hanson JR. Diterpenoids. *Natural Product Report*, 2007, 24:1332–1341.
- Hanson JR. Diterpenoids. *Natural Product Report*, 2009, 26: 1156-1171.
- Haralampiev I., Scheidt H.A., Huster D., and Muller P. The Potential of α -Spinasterol to Mimic the Membrane Properties of Natural Cholesterol. *Molecules*, 2017, 22(8): 1390.

- Harris B. 2010. *Phytotherapeutic Uses of Essential Oils, Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton.
- Hassan A.B. 2019. *Fractionation*. Licensee IntechOpen: USA.
- Heuberger E. 2010. *Central Nervous System Effects of Essential Oils in Humans, Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton.
- Hou X., Wan L., Zhan Z., Li C., Shan W. Analysis and determination of diterpenoids in unprocessed and processed *Euphorbia lathyris* seeds by HPLC–ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2011, 1(3): 197-202.
- Hou X., Deng J., Zhang Q., Wang D., Kennedy D., Quinn R.J. Cytotoxic ethnic Yao medicine Baizuan, leaves of *Schisandra viridis* A. C. Smith. *J. Ethnopharmacol.*, 2016, 194: 146–152.
- Hussain M.K., Khan M.F., Saquib M. Techniques for Extraction, Isolation, and Standardization of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *Natural Bioactive Compounds*, 2019, 2: 19-21.
- Itoh A., Tanaka Y., Nagakura N., Nishi T., Tanahashi T. A Quinic Acid Ester from *Strychnos lucida*. *J. Nat. Med.*, 2006, 60: 146–148.
- Jenie, Umar A., Kardono L.B.S., Hanafi M., Rumampuk R.J., Darmawan A. 2014. *Teknik Modern Spektroskopi NMR: Teori dan Aplikasi dalam Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Press: Jakarta.
- Jiang Z., Kempinski C., Chappell J. Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *Curr Protoc Plant Biol.*, 2016, 1: 345–358.

- Kementerian Kesehatan. 2013. *Vademekum Tanaman Obat untuk Saintifikasi Jamu Jilid 4*. Kementerian Kesehatan: Jakarta.
- Koch A., Orjala J., Mutiso P.C., Soejarto D.D. An antimalarial abietane diterpene from *Fuerstia africana* T.C.E. Fries. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2006, 34: 270.
- Korfmacher W.A. Foundation review: Principles and applications of LC-MS in new drug discovery. *Drug Discov Today*, 2005, 10(20): 1357-67.
- Kristianingrum S. 2012. *Handout: Spektroskopi Inframerah*. UNY: Yogyakarta.
- Lim C.K., Lord G. Current development in LC-MS for pharmaceutical analysis. *Bio Pharm Bull.*, 2002, 25(5): 547-57.
- Long T.E., Lu X., Galizzi M., Docampo R., Gut J., Rosenthal P.J. Phosponium Lipocations as Antiparasitic Agents. *Med. Chem. Lett.*, 2012, 22: 2976.
- Maffei M.E., Gertsch J., Appendino G. Plant volatiles: Production, function and pharmacology. *Natural Product Reports*, 2011, 28: 1359.
- Maharani D., Nandini R., Darmawan S., Wahyuni N. 2010. *Eksplorasi, Pemanfaatan dan Budi Daya Kayu Songga Sebagai Bahan Obat Alternatif di Provinsi NTB dan Bali*. Laporan Hasil Penelitian Program Insentif Riset Dasar Tahun 2010. Balai Penelitian Kehutanan: Mataram.
- Manasa G. Structural elucidation of Terpenoids by spectroscopic techniques. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 2014, 5.
- Maximus M.T., Tukan G.D. *Potensi dan Keamanan Ekstrak Kayu Ular sebagai Obat Antimalaria dari Resep Tradisional Masyarakat Timor*. Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing. UNIKA: Kupang.

- McHale K.J., Doyle R. Measurement of Terpenes in Plant Extracts via LC-MS/MS. *Thermo Fisher Scientific*, 2016.
- Metz, K.R. 2016. *Handbook of Measurement in Science and Engineering, 1st Edition*. John Wiley & Sons, Inc: USA.
- Mizzi B., Meyer M., Prat L., Augier F., Leinenkugel-le-cocq D. General design methodology for reactive liquid-liquid extraction: Application to dicarboxylic acid recovery in fermentation broth, *Chem.Eng.Process*, 2016.
- Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 2014, 7(2).
- Muthia A., Santoni A., Darwis D. Spinasterol: Steroids From *Filicium decipiens* Stem Bark. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Analysis*, 2015, 3(1): 1-5.
- Nandiyanto A.B.D., Oktiani R., Ragadhita R. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Journal of Science & Technology*, 2019, 4(1): 97-118.
- National Institute of Standards and Technology. 2018. *NIST Standard Reference Database 69: NIST Chemistry WebBook*. U.S. Secretary of Commerce on behalf of the U.S.A: USA.
- Nielsen S. S. 2010. *Food Analysis, Food Science Texts Series*. Springer Science+Business Media, LLC: Berlin.
- Nunes D.S., Linck V.M., Silva A.L., Figueiro M., Elisabetsky E. 2010. *Psychopharmacology of Essential Oils, in: Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton.

- Nurdin D. 1986. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Angkasa: Bandung.
- Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th Edition. John Wiley & Sons, Ltd: USA.
- O'Neill P.M., Barton V.E., Ward S.A. The Molecular Mechanism of Action of Artemisinin—The Debate Continues. *Molecules*, 2010, 15: 1705–1721.
- Parasuraman S., Anish R., Balamurugan S., Muralidharan S Kumar K.J., Vijayan V. An Overview of Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy Instrumentation. *Pharmaceutical Methods*, 2014, 5(2): 177-201.
- Paul M.D. 2001. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 2nd Edition*. John Wiley & Sons, Ltd : England.
- PubChem. 2021. *Compound Summary: Ferruginol*. National Library of Medicine: USA.
- Puspitasari Y., Suciati, Agil M. Isolasi Senyawa Terpenoid Dari Fraksi N-Heksana Daun *Marsilea crenata* Presl. Pada Hasil Kcv Fraksi No.2. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2015, 2(1): 111-121.
- Puspita A.E. 2016. *Penentuan Senyawa Aktif Fraksi Etil Asetat Kayu Songga (Strychnos Ligustrina) sebagai Antimalaria Melalui Penghambatan Polimerisasi Heme*. FMIPA UII : Yogyakarta.
- Reveglia P., Cimmino A., Masi M. Pimarane diterpenes: Natural source, stereochemical configuration, and biological activity. *Chirality.*, 2018, 1–20.
- Salminen A., Lehtonen M., Suuronen T., Kaarniranta K., Huuskonen J. Terpenoids: natural inhibitors of NF-kappaB signaling with anti-

- inflammatory and anticancer potential. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2008, 65: 2979–2999.
- Sarker S.D., Latif Z., Gray A.I. 2006. Natural products isolation. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation. 2nd ed.* Humana Press Inc: Totowa.
- Sastrohamidjojo H. 1992. *Spektroskopi Inframerah*. Libert: Yogyakarta.
- Setiawan O., Wahyuni N., Susila W.W., Rahayu A.A.D., dan Rostiwati T. 2014. *Bidara Laut (Strychnos ligustrina) syn. S. lucida R. Br: Sumber Bahan Obat Potensial di Nusa Tenggara Barat dan Bali*. Forda Press: Bogor.
- Shapira A., Berman P., Futoran K., Guberman O., Meiri D. Tandem Mass Spectrometric Quantification of 93 Terpenoids in Cannabis Using Static Headspace Injections. *Anal. Chem.*, 2019, 91: 11425–11432.
- Singh C.U., Streeper R. 2005. *Water Soluble Formulations of Digitalis Glycosides for Treating Cell-Proliferative and Other Diseases*. US Patent Application Publication: USA.
- Sitorus M. 2009. *Spektroskopi: Eludasi Struktur Molekul Organik*. Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Somova L.I., Nadar A., Ramnanan P., Shode F.O. Cardiovascular antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acid in experimental hypertension. *Phytomedicine*, 2003, 10: 115–121.
- Stanescu U., Miron A., Hancianu M., Aprotosoiaie C. 2014. *Medicinal plants from A to Z; monographs of products with therapeutic interest, Vol.II*. Publishing House: Lasi.
- Stiti N., Hartmann M.A. 2012. Nonsterol Triterpenoids as Major Constituents of *Olea europaea*. *Journal of Lipids*, 2012, 1-13.

- Sugiarso N.C. Profil Aktivitas Farmakologi dari Kayu Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* BL). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 1993, 2(1).
- Sun H.D., Huang S.X., Han Q.B. Diterpenoids from *Isodon* species and their biological activities. *Natural Product Reports*, 2006, 23: 673-698.
- Supuran C.T. Bioorganism Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Med. Chem. Lett.*, 2010, 20: 3467.
- Sutrisno. 2018. *Struktur Organik dari Spektra Massa, UV-Vis, dan IR (Seri Buku Ajar Penelitian Struktur Organik)*. PT. Book Mart Indonesia: Malang.
- Syafii W., Darmawan W. 2018. Aktivitas Antibakteri Zat Ekstraktif Kayu Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Blume). IPB: Bogor.
- TMIC (The Metabolomics Innovation Centre). 2013. *Predicted LC-MS/MS Spectrum of Ferruginol*. Canadian Institutes of Health Research: Canada.
- Thongphasuk P.R., Bavovada R., Verpoorte R. Two new pimarane diterpenoid from *Strychnos vanprukii*. *Natural Product Research*, 2006, 20(10): 966–968.
- Toledo M. 2015. *UV/VIS Spectrophotometry*. Metter-Toledo: Switzerland.
- Ulubelen A. Cardioactive and Antibacterial Terpenoids from some *Salvia* species. *Phytochemistry*, 2003, 64(2): 395-399.
- Voight R. 1994. *Buku Pengantar Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soedani, N., Edisi V. Universitas Gadjah Mada Press: Yogyakarta.
- Wagner H., Bladt S. 1996. *Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography, 2nd Edition*. Springer: New York.


- Xu W.H., Zhao P., Wang M., Liang Q. Naturally occurring furofuran lignans: Structural diversity, biological activities. *Nat. Prod. Res.*, 2018, 16: 1–17.
- Yadav N., Yadav R., Goyal A. Chemistry of Terpenoids. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 2014, 27(2): 272-278.
- Yang W., Chen X., Li Y. Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. *Natural Product Communication Volume*, 2020, 15(3): 1-13.
- Zhang H.J., Tan G.T., Hoang V.D., Hung N.V., Cuong N.M. Sesquiterpenes and Butenolides, Natural anti-HIV constituents from *Litsea verticillata*. *Planta Medica*, 2005, 71: 452-457.
- Zubaidah A., Faidah K.R., Samsundari S. Effectiveness of *Strychnos ligustrina* Bl. extract as feed supplementation to increase immune system of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) which against *Streptococcus agalactiae*. *IJOTA*. 2018, 1(1): 1-8.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikasi Identifikasi Tanaman Songga (*Strychnos lucida*)



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+ 62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN
No: 787 /IPH.06/HM/VII/2019

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama	: Uswatun Khasanah, S.Farm.,M. Farm., Apt.
NIK	: 2011068512222001
Instansi	: Farmasi FKUB
Tanggal material diterima	: 24 Juli 2019

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut :


Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Ordo	: Gentianales
Family	: Loganiaceae
Genus	: <i>Strychnos</i>
Species	: <i>Strychnos lucida</i> R. Br.

Referensi:

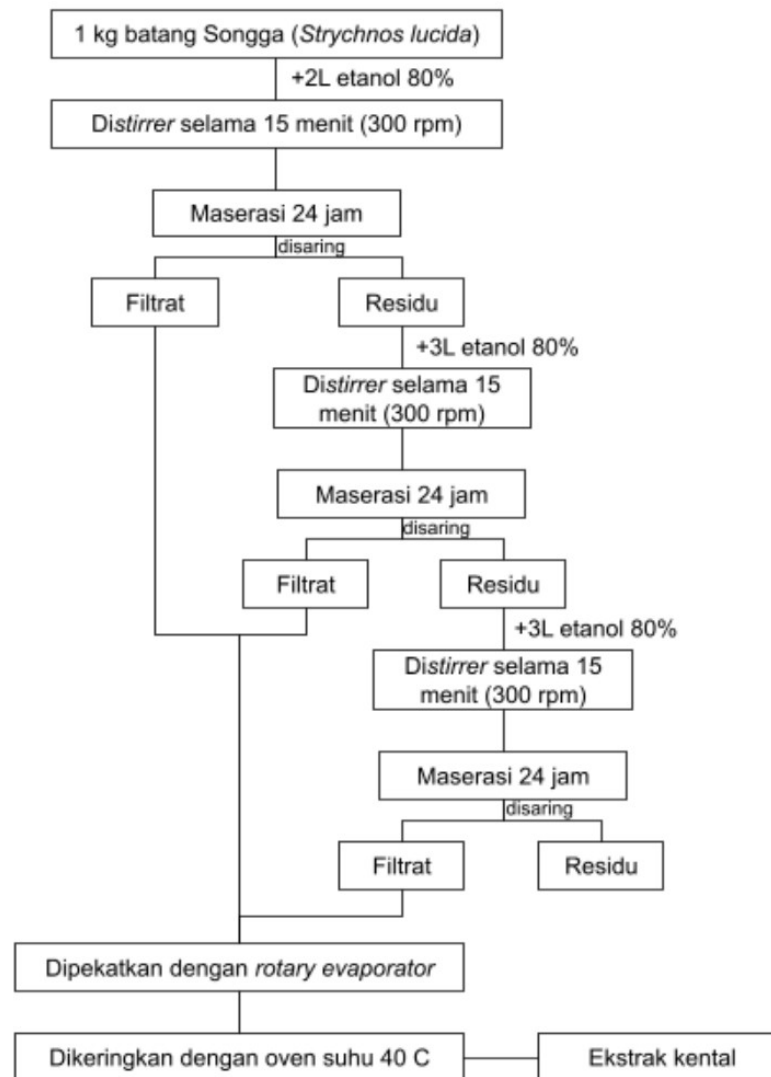
1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol. II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 210
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbi University Press, New York, USA. Hal. XVII
3. L.S. de Padua ,N. Bunyapraphatsara dan R.H.M.J. Lemmens, 1999 . (esd) PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (1) ; Medicinal and poisonous plants 1, Hal. 471

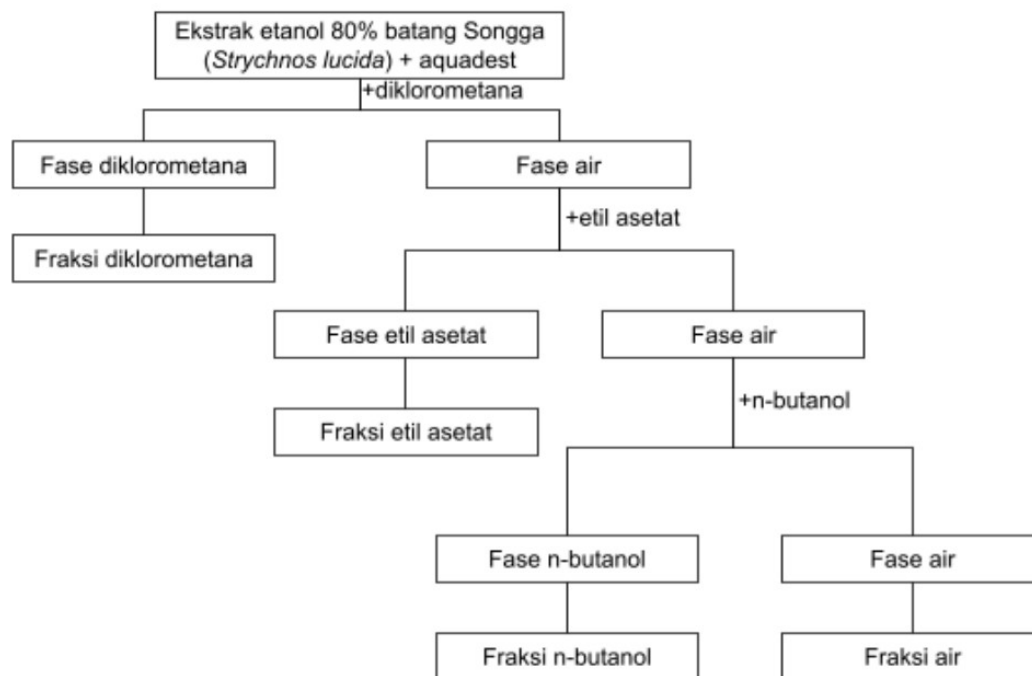
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 2 Agustus 2019
An. Kepala
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



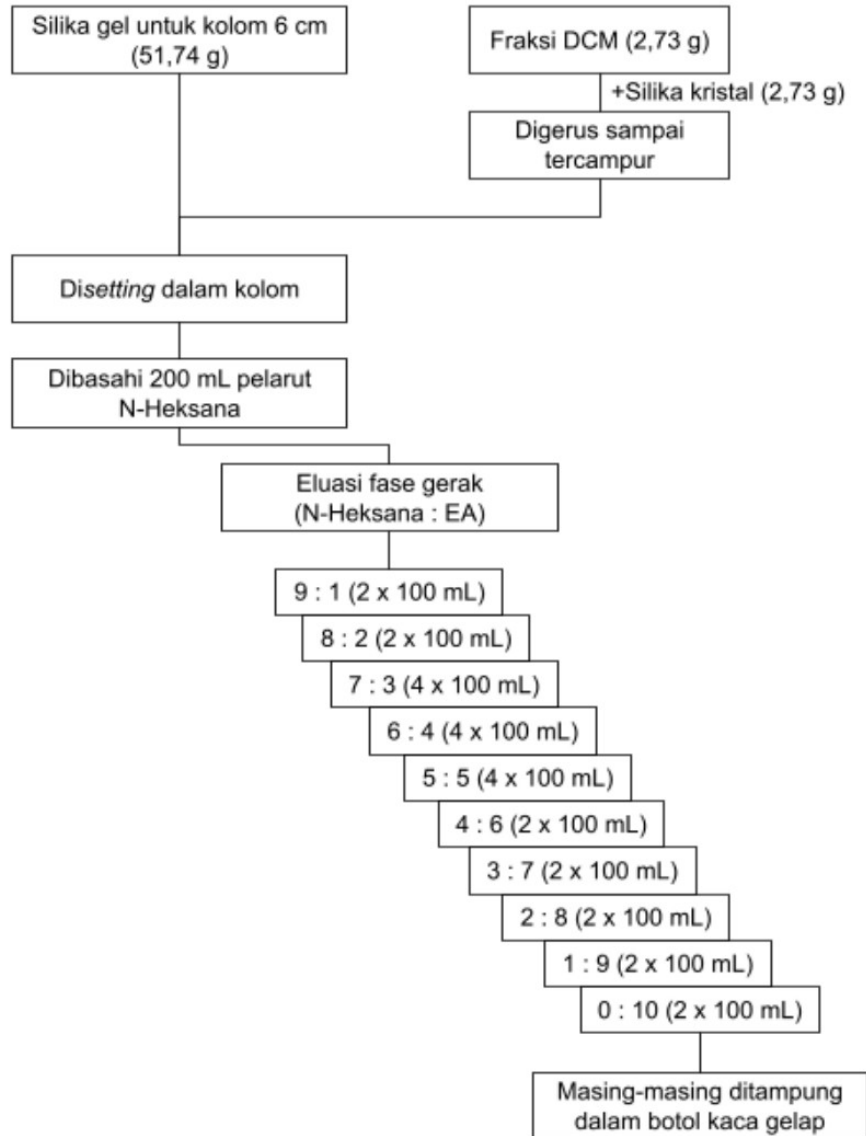
Rudy Irawanto, S.Si.,M.T.

Lampiran 2. Diagram Alir Proses Ekstraksi

Lampiran 3. Diagram Alir Proses Fraksinasi

Lampiran 4. Proses Kromatografi Cair Kolom Vakum (KCKV) Fraksi DCM

Diagram Alir Proses KCKV Fraksi DCM

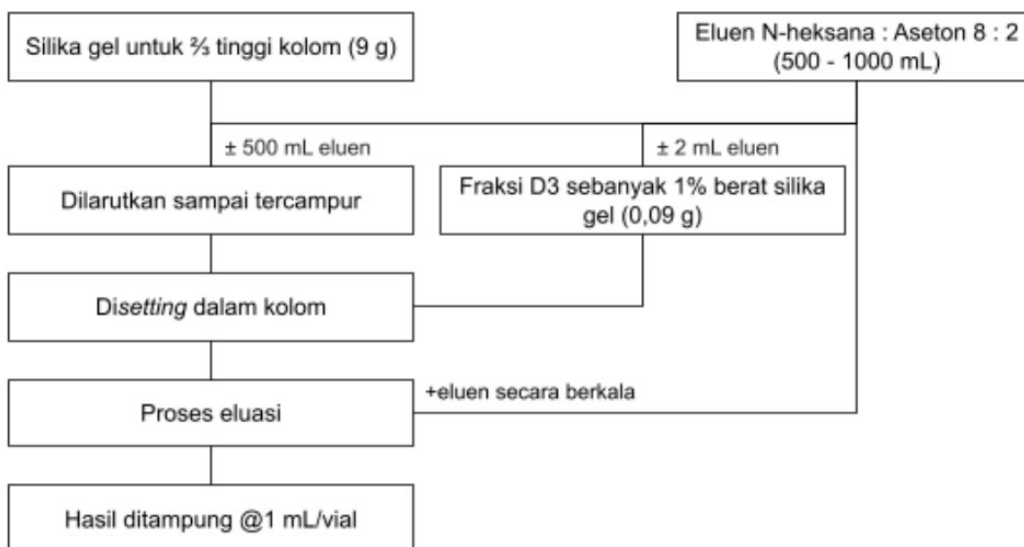


Gambar Hasil KCKV Fraksi DCM

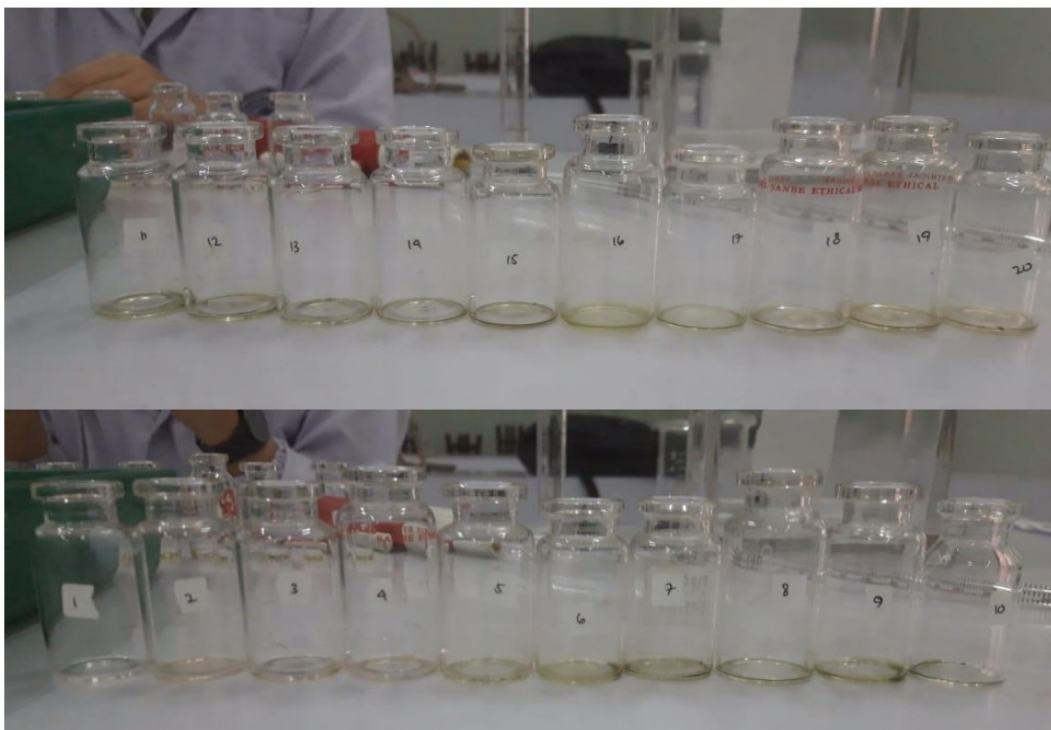


Lampiran 5. Proses Kromatografi Cair Kolom Lambat (KCKL) Fraksi D3

Diagram Alir Proses KCKL Fraksi D3



Hasil KCKL Fraksi D3 (41 Subfraksi)



Lampiran 6. Sertifikat Analisis Isolat D3X dengan FTIR



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PEMANFAATAN DAN INOVASI IPTEK
(CENTER FOR THE UTILIZATION AND INNOVATION OF SCIENCE AND TECHNOLOGY)

Gedung PPI Iptek LIPI
Jln. Raya Bogor km. 47, Cibinong 16912, Bogor, Jawa Barat, Indonesia
telp. 021 - 8791 7216, WA 0811 8612 332
www.ppi.lipi.go.id | www.lipi.go.id | email: ppi@mail.lipi.go.id



- I. Identitas Pemohon
 Nama : Viena Cynthia Alvionita
 Alamat : Villa Mutiara Pluit Blok B3 No. 15, Tangerang
- II. Detail Pengajuan Layanan
 ID Transaksi : #13720
 Nama Layanan : Analisa FTIR (Mahasiswa)
 Deskripsi Pengujian : saya melakukan ralat pengajuan, mohon yang sebelumnya diabaikan saja.. terdiri atas 3 sampel berbeda hasil isolasi batang Songga (Strychnos ligustrina). Tolong skringing dan pencocokan library.
 Tanggal Pengajuan : 08-03-2021 09:23:51
 Tanggal Pelaksanaan : 23-03-2021 11:58:17 s.d. 31-03-2021 08:03:10
 Daftar Sampel :

No	Kode Sampel	Nama Sampel
----	-------------	-------------

- III. Hasil Pengujian
 Keterangan hasil pengujian :
 Hasil analisa dikirimkan via email layanan.kimia@mail.lipi.go.id
- Dikeluarkan di : Serpong
 Pada Tanggal : 07 April 2021

Laporan ini mengacu pada kondisi sampel saat diterima dan hanya berhubungan dengan sampel yang diuji. *This report refers to the condition when samples received and relate onlywith samples tested*

Laporan ini tidak boleh disalin sebagian maupun seluruhnya tanpa seijin dari Pusat Pemanfaatan dan Inovasi IPTEK LIPI. *This report may not be reproduced in whole or in part without permission from Center For The Utilization and Innovation of Science and Technology*

Disetujui Oleh (Approved by)	
Nama	: Ika Fitriana Hapsari, S.E.
Jabatan	: Manajer PPII Kawasan Serpong
Tanggal	: 07 April 2021
TTD	:  TT ELEKTRONIK



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari SGrE, silakan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Lampiran 7. Laporan Optimasi LCMS/MS Isolat D3X

Experimental Record : 210317-0590

I-Class Binary Solvent Manager

General

Solvent Name A: 0.1%FA/WA
 Solvent Selection A: A1
 Comment:

Solvent Name B: Acetonitrile+0.1FA
 Solvent Selection B: B1
 Seal Wash Period: 5.000 min

Gradient start: At injection
 2D Repeat Enabled: No
 Low Pressure Limit: 0 psi

Pre-Injector Volume: 0 µL
 High Pressure Limit: 18000 psi

Gradient Table

Time (min)	Flow Rate (mL/min)	Composition A (%)	Composition B (%)	Curve
0.00	0.300	95.0	5.0	Initial
1.00	0.300	95.0	5.0	6
8.00	0.300	60.0	40.0	6
11.00	0.300	0.0	100.0	1
13.00	0.300	0.0	100.0	1
16.00	0.300	95.0	5.0	1

Data

System Pressure (psi) Channel Enabled: Yes
 A Composition (%) Channel Enabled: No
 Primary A Pressure (psi) Channel Enabled: No
 Primary B Pressure (psi) Channel Enabled: No
 Degasser Pressure (psi) Channel Enabled: No

Flow Rate (mL/min) Channel Enabled: No
 B Composition (%) Channel Enabled: No
 Accumulator A Pressure (psi) Channel Enabled: No
 Accumulator B Pressure (psi) Channel Enabled: No

Analog Out

Chart Out 1: Flow Rate

Chart Out 2: Flow Rate

Events

Initial Switch 1: No Change
 Initial Switch 3: No Change
 Run Events: No

Initial Switch 2: No Change
 Pre-Analysis mode: No

Sample Manager FTN

General

Wash Solvent: Water:MeOH:ACN:IPA 1:1:1:1
 Wash Solvent Post Inject: 5 s
 Load Ahead: Disabled
 Column Temperature Enable: Yes
 Column Temperature Alarm: No
 Sample Temperature: 20.0 °C
 Comment:

Wash Solvent Pre Inject: 0 s
 Purge Solvent: MeOH:Water 1:9
 Loop Offline: Disabled
 Column Temperature: 40.0 °C
 Sample Temperature Enable: Yes
 Sample Temperature Alarm Enable: No

Data

Sample Temperature (°C) Channel Enabled: Yes
 Ambient Temperature (°C) Channel Enabled: Yes
 Seal Force (%) Channel Enabled: No

Column Temperature (°C) Channel Enabled: No
 Sample Pressure (psi) Channel Enabled: No
 Pre Heater Temperature (°C) Channel Enabled: No

Dilution

Dilution Enable: Disabled
Dilution Dispense Purge Solvent: Disabled

Needle Placement (from bottom): Disabled
Post Dilution Delay: Disabled

Events

Run Events: No

Advanced

Syringe Draw Rate: Automatic
Pre Aspirate Air: Automatic
Mix Stroke Cycles: Automatic

Needle Placement (from bottom): Automatic
Post Aspirate Air: Automatic
Mix Stroke Volume: Automatic

Xevo G2-XS QTof**Experiment:****Function 1 - MS⁺**

Ionisation type: ESI
Acquisition Start Time: 0.00 min
Start Mass: 50.00 m/z
Scan Time: 0.100 s
High CE Ramp Start: 10.00 eV
Cone Mode: Method Settings
Collision Mode: Specific

Polarity: Positive
Acquisition End Time: 16.00 min
End Mass: 1200.00 m/z
Low CE: 6.00 eV
High CE Ramp End: 40.00 eV
Cone Voltage: 30 V
Collision Energy: 6.00 eV

Function 2 - MS⁺

Ionisation type: ESI
Acquisition Start Time: 0.00 min
Start Mass: 50.00 m/z
Scan Time: 0.100 s
High CE Ramp Start: 10.00 eV
Cone Mode: Method Settings
Collision Mode: Ramp
Collision Energy End: 40.00 eV

Polarity: Positive
Acquisition End Time: 16.00 min
End Mass: 1200.00 m/z
Low CE: 6.00 eV
High CE Ramp End: 40.00 eV
Cone Voltage: 30 V
Collision Energy Start: 10.00 eV

Settings

Analyzer Mode: Sensitivity

ESI +

Capillary: 2 kV
Source Temperature: 120 °C
Cone Gas Flow: 50 L/h

Cone: 30 V
Desolvation Temperature: 500 °C
Desolvation Gas Flow: 1000 L/h

Active Noise Reduction Settings

Mode: High

DRE Settings

Attenuate: Off

LockSpray

Enabled: True

Analyzer mode: Sensitivity

Interval: 10 s

Capillary Voltage: 2.00 kV

Acquisition Mode: MS

Scan Time: 0.250 s

Cone Voltage: 30.000000 V

Transmission: 86.2

Events

Event 1

Time: Initial

Action: LC

Event: Flow State

System: Sample

Event 2

Time: Initial

Action: B

Event: Reservoir

System: Reference

Event 3

Time: Initial

Action: Auto-Refill

Event: Refill

System: Reference

Event 4

Time: Initial

Action: Start

Event: Infusion

System: Reference

Triggers

Type: Network

Event Input 2: Off

Event Input 1: On

Lampiran 8. Sertifikasi Analisis LCMS/MS Isolat D3X



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PEMANFAATAN DAN INOVASI IPTEK
(CENTER FOR THE UTILIZATION AND INNOVATION OF SCIENCE AND TECHNOLOGY)

Gedung PPI Iptek LIPI
Jln. Raya Bogor km. 47, Cibinong 16912, Bogor, Jawa Barat, Indonesia
Telp. 021 - 8791 7216, WA 0811 9612 392
www.ppi.lipi.go.id | www.lipi.go.id | email: ppi@mail.lipi.go.id



- I. Identitas Pemohon
 Nama : Viena Cynthia Alvionita
 Alamat : Villa Mutiara Pluit Blok B3 No. 15, Tangerang
- II. Detail Pengajuan Layanan
 ID Transaksi : #14080
 Nama Layanan : Analisis menggunakan LCMS/MS untuk Mahasiswa
 Deskripsi Pengujian : Pengajuan ulang untuk meralat pengajuan sampel dengan ID ELSA #13718 pada tanggal 15, Sampel sudah tiba di LIPI Tangerang sejak kemarin. Sudah konfirmasi ke email Layanan Kimia LIPI. Terdiri atas 2 sampel berbeda, hasil isolasi batang songga (*Strychnos lucida*). Sampel larut dalam metanol. Ingin screening dan butuh raw data luas area dan fragmentasi m/z.
 Tanggal Pengajuan : 19-03-2021 10:36:10
 Tanggal Pelaksanaan : 31-03-2021 12:32:11 s.d. 08-04-2021 14:46:39
 Daftar Sampel :

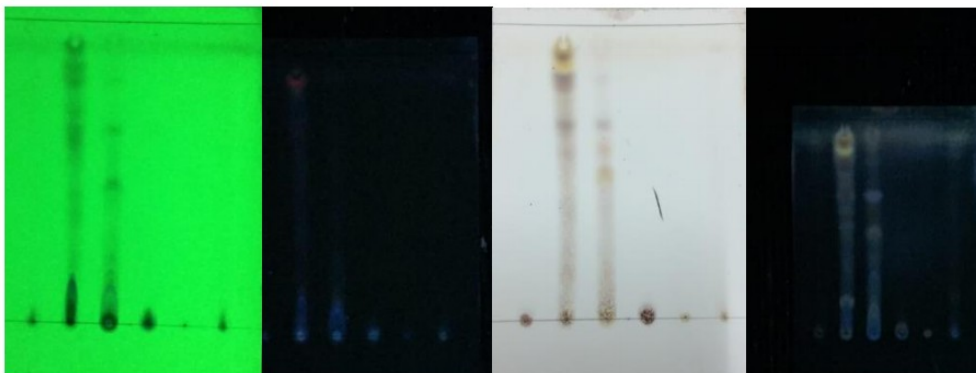
No	Kode Sampel	Nama Sampel
----	-------------	-------------

- III. Hasil Pengujian
 Keterangan hasil pengujian :
 Hasil analisa dikirimkan via email layanan.kimia@mail.lipi.go.id
- Dikeluarkan di : Serpong
 Pada Tanggal : 15 April 2021

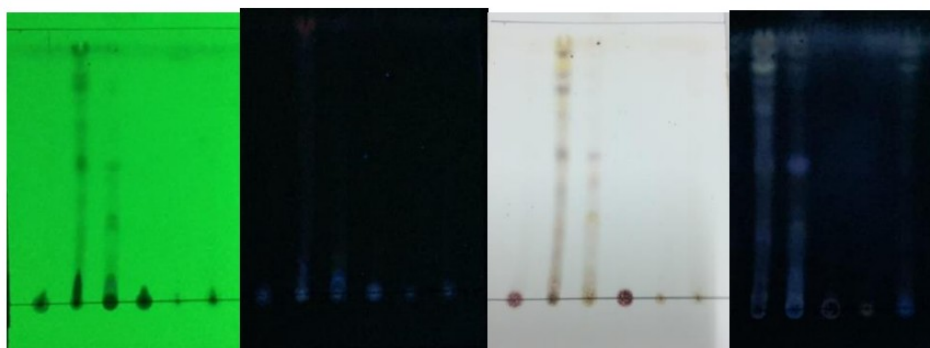
Laporan ini mengacu pada kondisi sampel saat diterima dan hanya berhubungan dengan sampel yang diuji. *This report refers to the condition when samples received and relate onlywith samples tested*

Laporan ini tidak boleh disalin sebagian maupun seluruhnya tanpa seijin dari Pusat Pemanfaatan dan Inovasi IPTEK LIPI. *This report may not be reproduced in whole or in part without permission from Center For The Utilization and Innovation of Science and Technology*

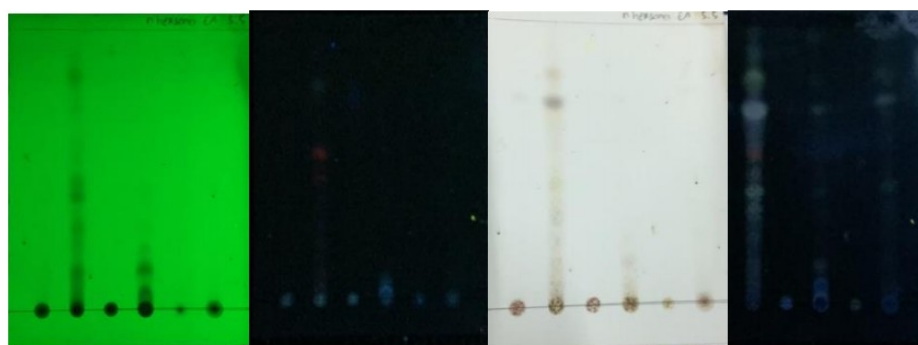
Disetujui Oleh (Approved by)	
Nama	: Ika Fitriana Hapsari, S.E.
Jabatan	: Manajer PPII Kawasan Serpong
Tanggal	: 15 April 2021
TTD	:  TT ELEKTRONIK

Lampiran 9. Hasil Optimasi Fase Gerak untuk Ekstraksi Cair-Cair

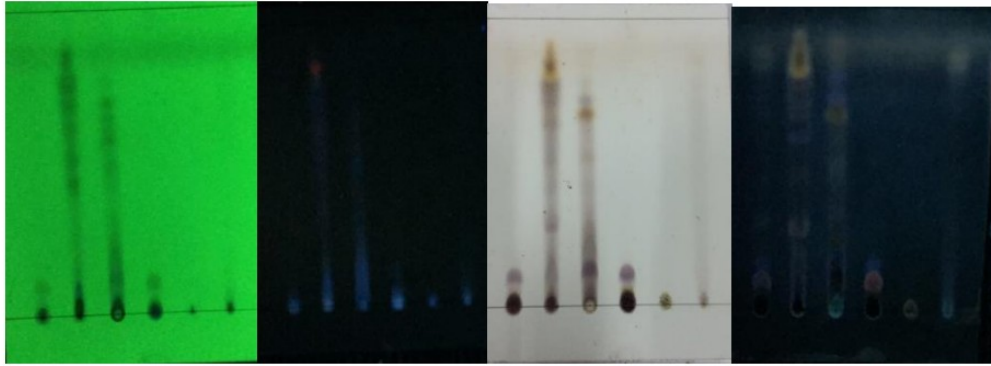
Optimasi fase gerak Kloroform : Aseton 6 : 4



Optimasi fase gerak Kloroform : Aseton 7 : 3

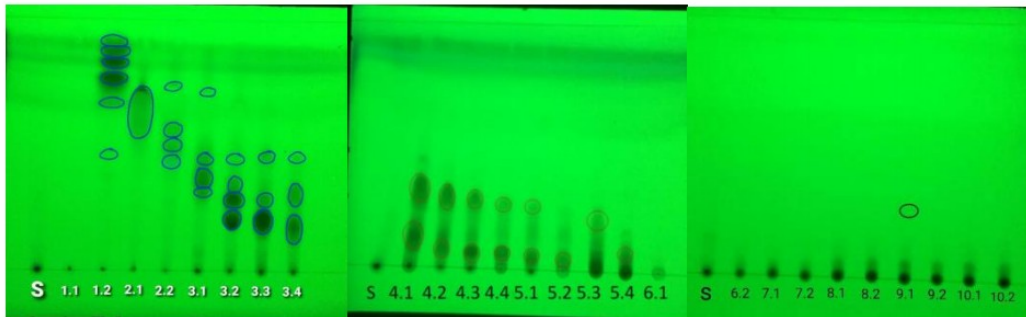


Optimasi fase gerak N-heksana : EA 5 : 5



Optimasi fase gerak Kloroform : Aseton 5 : 5

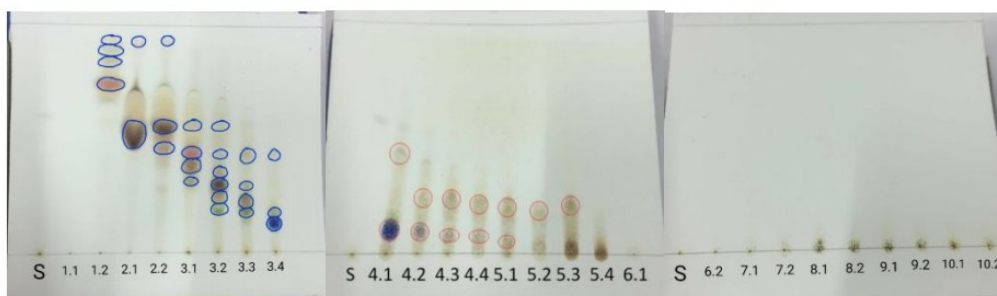
Lampiran 10. KLT Hasil Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM



KLT 26 fraksi dengan pelarut N-heksana : EA 7 : 3 (UV 254 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)



KLT 26 fraksi dengan pelarut N-heksana : EA 7 : 3 (UV 366 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)



KLT 26 fraksi dengan pelarut N-heksana : EA 7 : 3 (sinar tampak setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan hotplate suhu 120 C)



KLT 26 fraksi dengan pelarut N-heksana : EA 7 : 3 (UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan hotplate suhu 120 C)

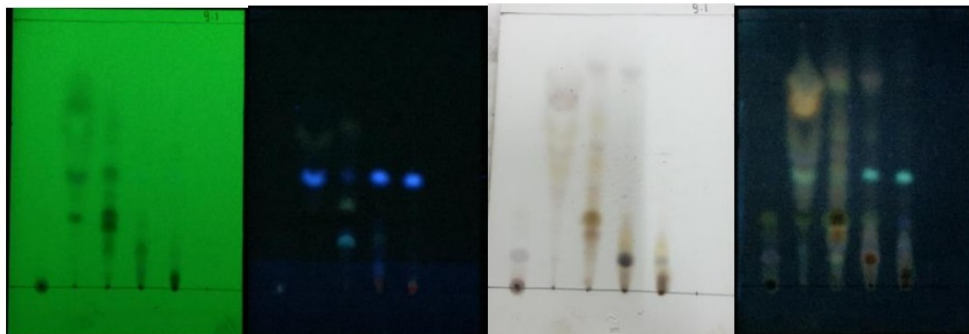
Lampiran 11. Nilai Rf Hasil Kromatografi Cair Kolom Vakum Fraksi DCM

Fraksi	Berat (g)	UV 254 nm	UV 366 nm		Visual (h ₂ so ₄)		UV 366 nm (h ₂ so ₄)	
		Rf	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
1.1		-	0.89	biru	-	-	0.85	biru muda
1.2		0.46 0.73 0.76 0.83 0.88 0.98	0.66 0.73 0.85 0.9 0.95	biru biru muda hijau hijau biru	0.74 0.85 0.88 0.94	merah coklat biru biru	0.56 0.63 0.69 0.75 0.78 0.81 0.88 0.94	hijau biru muda hijau coklat hijau coklat hijau putih
2.1		0.63	0.45 0.63	biru biru muda	0.5 0.94	coklat abu	0.39 0.50 0.93	biru muda coklat putih
2.2		0.44 0.5 0.56 0.74	0.33 0.43 0.5 0.56 0.65 0.78	merah biru muda merah hijau biru hijau	0.45 0.55 0.94	coklat coklat abu	0.44 0.54 0.93	krem coklat putih
3.1		0.31 0.38 0.45 0.73	0.18 0.25 0.31 0.4 0.44 0.51 0.65 0.78	merah merah merah merah biru merah biru hijau	0.30 0.38 0.44 0.56	hijau coklat merah krem	0.30 0.34 0.38 0.43 0.55 0.90	merah ungu hijau oranye putih putih
3.2		0.20 0.29 0.35 0.45	0.06 0.21 0.31 0.41 0.5 0.65 0.76	merah merah merah biru merah biru hijau	0.19 0.24 0.30 0.35 0.44 0.56	hijau krem hijau krem krem krem	0.15 0.21 0.29 0.41 0.55	merah kuning coklat kuning kuning
3.3		0.20 0.29 0.45	0.06 0.13 0.19	merah merah merah	0.18 0.23 0.30	hijau krem hijau	0.15 0.23 0.31	merah coklat coklat

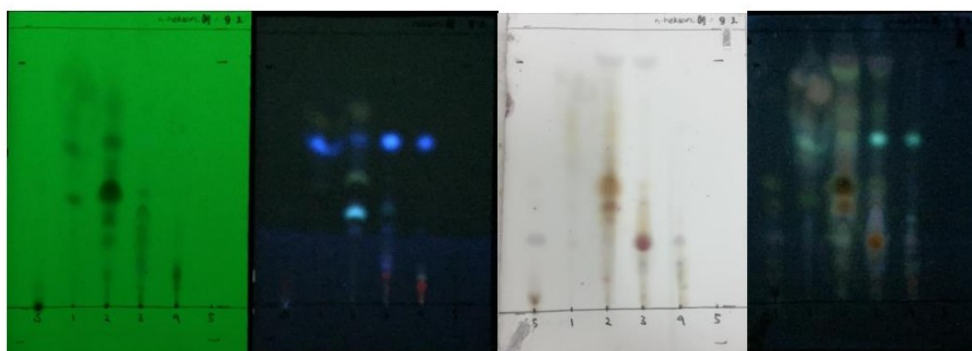
			0.25 0.31 0.48 0.65	merah merah biru biru	0.43	krem	0.41 0.55	kuning kuning
3.4		0.18 0.31 0.45	0.11 0.16 0.23 0.31 0.63	merah biru merah merah biru	0.13 0.18 0.44	biru hijau krem	0.10 0.18 0.23 0.31 0.44 0.64	hijau biru merah merah kuning biru
4.1		0.11 0.3	0.09 0.14 0.21 0.28 0.59	coklat biru merah merah biru	0.10 0.44	biru coklat	0.09 0.14 0.21 0.35 0.39 0.52 0.58	hitam biru coklat biru coklat hijau biru
4.2		0.07 0.30	0.14 0.21 0.28 0.57	biru merah merah biru	0.10 0.38	biru ungu coklat	0.09 0.14 0.21 0.35 0.39 0.52 0.58	hitam biru coklat biru coklat hijau biru
4.3		0.07 0.28	0.14 0.21 0.28 0.57	biru merah merah biru	0.07 0.23	coklat coklat	0.09 0.21 0.35 0.52 0.58	hitam coklat biru hijau biru
4.4		0.04 0.26	0.14 0.21 0.28 0.57	biru merah merah biru	0.07 0.23	coklat coklat	0.21 0.27 0.52 0.58	coklat biru hijau biru
5.1		0.04 0.23	0.14 0.21 0.28 0.57	biru merah merah biru	0.05 0.21	coklat coklat	0.18 0.26 0.52 0.58	coklat biru hijau biru
5.2		0.02	0.14 0.21 0.57	biru merah biru	0.15	coklat	0.18 0.52 0.58	coklat hijau biru
5.3		0.22	0.14 0.21 0.28 0.57	biru merah merah biru	0.23	coklat	0.21 0.52 0.58	coklat hijau biru

5.4		0.07	0.21 0.28	merah merah	-	-	0.21 0.52 0.58	coklat hijau biru
6.1		-	0.57	biru	-	-	-	-
6.2		-	0.52	biru	-	-	0.52	Biru
7.1		-	0.52	biru	-	-	0.52	Biru
7.2		-	-	-	-	-	0.51	Biru
8.1		-	0.52	biru	-	-	0.52	Biru
8.2		-	0.52	biru	-	-	0.53	Biru
9.1		0.26	0.53	biru	-	-	0.53	Biru
9.2		-	-	-	-	-	0.53	Biru
10.1		-	-	-	-	-	-	-
10.2		-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 12. Hasil Optimasi Fase Gerak untuk Kromatografi Cair Kolom Lambat Fraksi D3

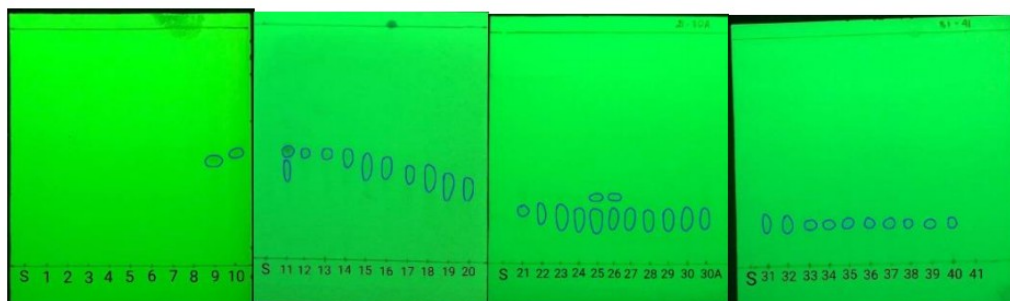


Optimasi Fase Gerak (n-heksana : aseton 9 : 1)

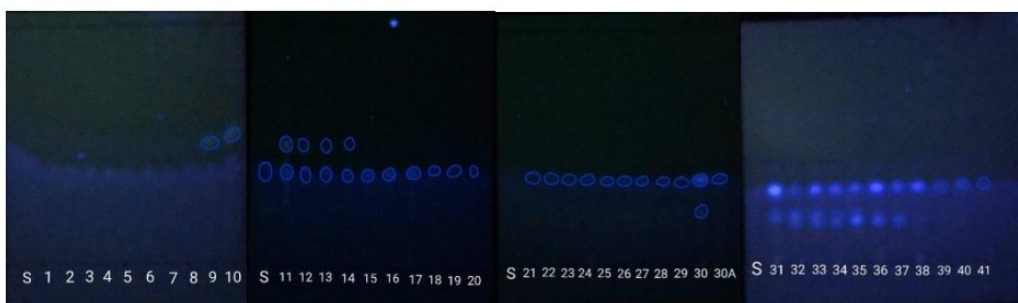


Optimasi Fase Gerak (n-heksana : aseton 8 : 2)

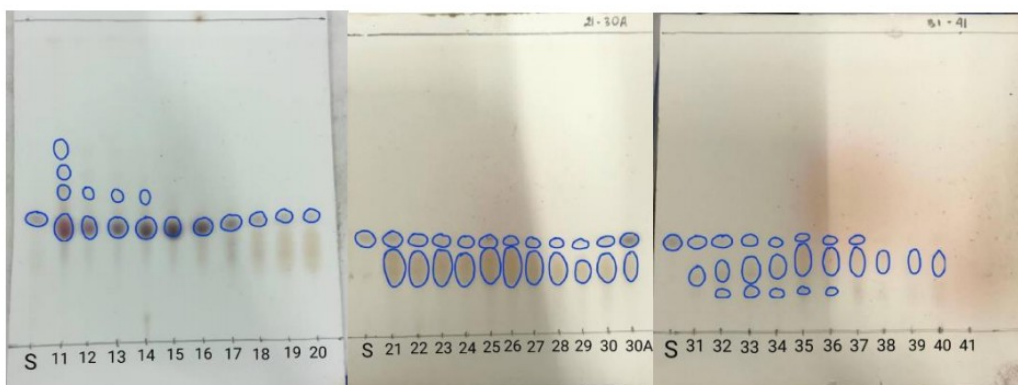
Lampiran 13. KLT Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat Fraksi D3 (41 subfraksi)



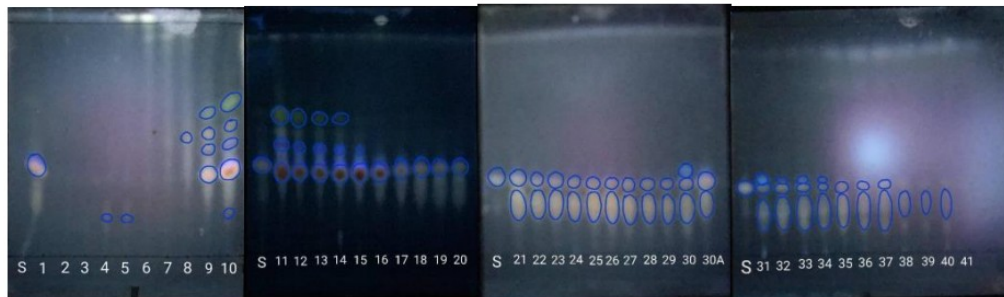
KLT 41 subfraksi dengan pelarut n-heksana : aseton 8 : 2 (UV 254 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)



KLT 41 subfraksi dengan pelarut n-heksana : aseton 8 : 2 (UV 366 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10%)



KLT 41 subfraksi dengan pelarut n-heksana : aseton 8 : 2 (sinar tampak setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan hotplate suhu 120 C)



KLT 41 subfraksi dengan pelarut n-heksana : aseton 8 : 2 (UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan dengan hotplate suhu 120 C)

Lampiran 14. Nilai Rf Hasil Kromatografi Cair Kolom Lambat Fraksi D3 (41 Subfraksi)

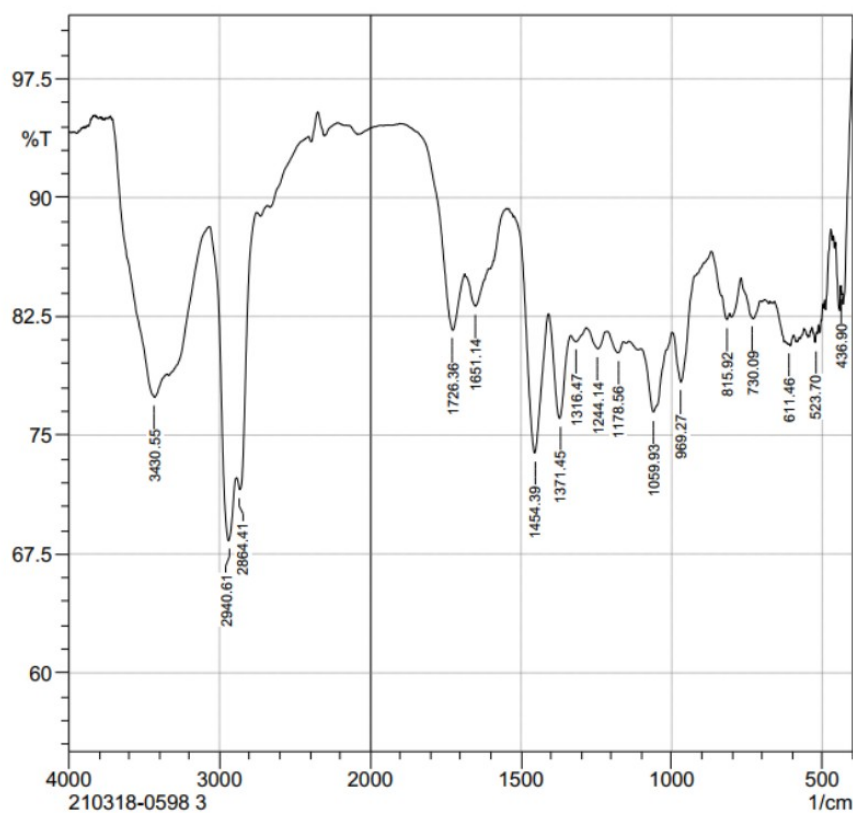
Fraksi	Berat (g)	UV 254 nm	UV 366 nm		Visual (h ₂ so ₄)		UV 366 nm (h ₂ so ₄)	
		Rf	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
1		-	-	Biru	-	-	-	-
2		-	-	Biru	-	-	-	-
3		-	-	Biru	-	-	-	-
4		-	-	Biru	-	-	0.17	ungu
5		-	-	Biru	-	-	0.17	ungu
6		-	-	Biru	-	-	-	-
7		-	-	Biru	-	-	-	-
8		-	-	Biru	-	-	0.51	kuning muda
9		0.44	0.44	Biru	-	-	0.35 0.45 0.53 0.62	merah muda ungu kuning muda hijau
10		0.46	0.47	Biru	-	-	0.18 0.38 0.48 0.64 0.67	ungu merah muda ungu kuning muda hijau
11		0.38 0.45	0.38 0.45	Biru Biru	0.37 0.47 0.53 0.6	ungu kuning ungu kuning	0.32 0.46 0.58	coklat biru hijau
12		0.45	0.38 0.45	Biru Biru	0.37 0.47	ungu kuning	0.33 0.45	coklat biru

							0.57	hijau
13		0.45	0.38 0.45	Biru Biru	0.37 0.47	ungu kuning	0.32 0.44 0.56	coklat biru hijau
14		0.43	0.38 0.52	Biru Biru	0.37 0.47	ungu kuning	0.32 0.44 0.56	coklat biru hijau
15		0.40	0.37	Biru	0.37	ungu	0.32 0.44	coklat biru
16		0.40	0.37	Biru	0.37	ungu	0.33	coklat
17		0.37	0.37	Biru	0.37	ungu	0.33	coklat
18		0.35	0.37	Biru	0.38	ungu	0.33	putih
19		0.32	0.37	Biru	0.38	ungu	0.33	putih
20		0.32	0.37	Biru	0.38	ungu	0.33	putih
21		0.23	0.38	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.36	kuning muda putih
22		0.22	0.36	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.36	kuning muda putih
23		0.20	0.35	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.36	kuning muda putih
24		0.20	0.33	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.35	kuning muda putih
25		0.18 0.28	0.33	Biru Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.35	kuning muda putih
26		0.18	0.33	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.33	kuning muda putih
27		0.18	0.33	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20	kuning muda

							0.33	putih
28		0.18	0.35	Biru	0.23 0.32	kuning ungu	0.20 0.35	kuning muda putih
29		0.18	0.35	Biru	0.20 0.30	kuning ungu	0.20 0.35	kuning muda putih
30		0.18	0.23 0.36	Biru Biru	0.20 0.30	kuning ungu	0.16 0.36 0.38	kuning muda putih biru
30A		0.18	0.35	Biru	0.20 0.30	kuning ungu	0.22 0.35	kuning muda putih
31		0.20	0.32	Biru	0.18 0.30	kuning ungu	0.17 0.30 0.32	putih putih biru
32		0.20	0.32	Biru	0.13 0.20 0.30	coklat kuning ungu	0.17 0.30 0.32	putih putih biru
33		0.20	0.33	Biru	0.13 0.20 0.30	coklat kuning ungu	0.17 0.30 0.32	putih putih biru
34		0.20	0.33	Biru	0.13 0.20 0.30	coklat kuning ungu	0.17 0.30 0.32	putih putih biru
35		0.20	0.33	Biru	0.14 0.25 0.32	coklat kuning ungu	0.17 0.30	putih putih
36		0.20	0.33	Biru	0.14 0.25 0.32	coklat kuning ungu	0.17 0.30	putih putih
37		0.20	0.33	Biru	0.25 0.32	kuning ungu	0.17 0.30	putih putih
38		0.20	0.33	Biru	0.25	kuning	0.17	putih
39		0.20	0.33	Biru	0.25	kuning	0.17	putih

40		0.20	0.33	Biru	0.25	kuning	0.17	putih
41		-	0.33	Biru	-	-	-	-

Lampiran 15. Hasil Analisa Isolat D3X dengan FTIR



Comment;
210318-0598 3

Date/Time; 3/31/2021 2:22:14 AM
No. of Scans;
Resolution;

SHIMADZU

No.	Peak	Height	Corr. He	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Ar
1	436.9	15.916	0.141	438.82	435.93	0.217	0.002
2	523.7	19.136	0.632	529.48	517.91	1.046	0.018
3	611.46	19.287	0.085	617.25	609.53	0.716	0.002
4	730.09	17.645	1.674	769.63	705.98	5.07	0.316
5	815.92	17.698	0.746	834.25	807.24	2.213	0.062
6	969.27	21.651	4.552	999.17	923.94	6.894	0.903
7	1059.93	23.53	4.408	1101.4	999.17	10.539	1.168
8	1178.56	19.794	0.932	1212.31	1159.27	4.937	0.147
9	1244.14	19.545	1.169	1282.72	1220.03	5.726	0.208
10	1316.47	19.099	0.563	1334.8	1282.72	4.703	0.086
11	1371.45	23.935	5.911	1408.1	1334.8	7.489	1.162
12	1454.39	26.118	11.268	1522.87	1408.1	10.641	2.944
13	1651.14	16.868	1.855	1686.82	1621.24	4.945	0.317
14	1726.36	18.382	5.674	1858.49	1686.82	9.228	1.074
15	2864.41	28.434	3.539	2886.6	2753.5	12.853	0.136
16	2940.61	31.676	8.791	3065.02	2886.6	20.695	3.26
17	3430.55	22.613	4.096	3708.31	3371.71	26.991	5.561

Laporan Hasil Analisis FTIR Isolat D3X



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
LABORATORIUM PUSAT PENELITIAN KIMIA
 Website: <http://kimia.lipi.go.id>; Email: layanan.kimia@mail.lipi.go.id

LAPORAN HASIL ANALISIS

No. Pengujian : 0217 LPPK III 2021
 Jumlah Halaman : 1 Halaman
 Tanggal Penerimaan : 17 Maret 2021
 Tanggal Pengerjaan : 31 Maret 2021
 Tanggal Penyelesaian : 31 Maret 2021
 Pelanggan : Viena Cynthia Alvionita
 ID ELSA : 13720
 Alamat : Universitas Brawijaya
 Jenis Contoh : Padatan
 Jumlah Contoh : 3 Buah
 Jenis Pengujian : Analisa Gugus Fungsi

No	Kode Contoh	Jenis Analisis	Hasil Analisis	Satuan	Metode Analisis
1	1 (210317-0596)	Kualitatif	Terlampir	-	IK-5.1-3 FTIR (Shimadzu IR- Prestige 21)
2	2 (210317-0597)	Kualitatif	Terlampir	-	IK-5.1-3 FTIR (Shimadzu IR- Prestige 21)
3	3 (210317-0598)	Kualitatif	Terlampir	-	IK-5.1-3 FTIR (Shimadzu IR- Prestige 21)

Serpong, 01 April 2021
 Manajer Laboratorium
 Jasa Analisa Kimia,

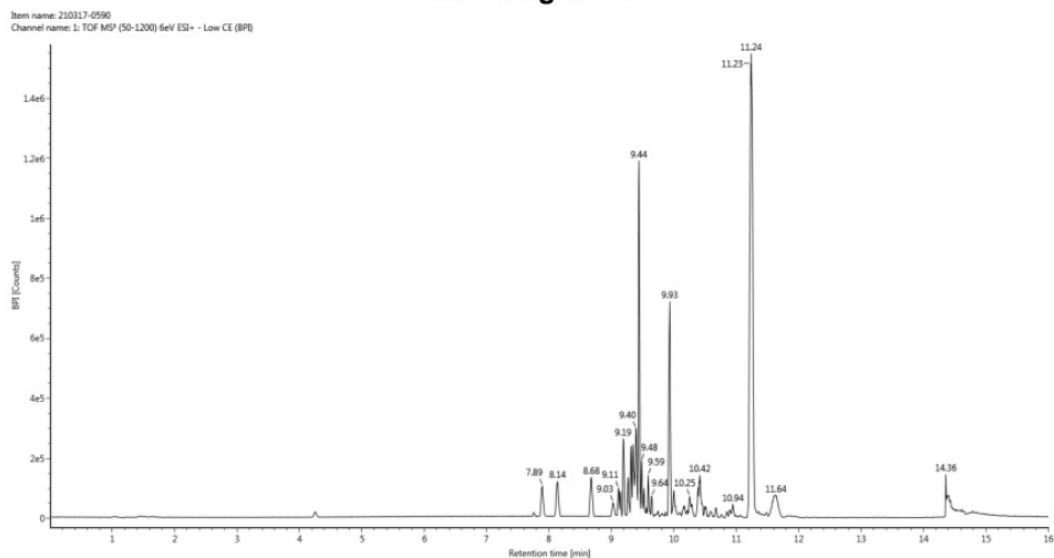
Dr. Sofa Fajriah, M. Si
 NIP. 198102052005022002

Catatan:

- Hasil analisis hanya berlaku untuk contoh yang diterima Laboratorium Pusat Penelitian Kimia
- Laporan tidak boleh digunakan tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Penelitian Kimia
- Pengalihan/transfer mohon disampaikan kepada Manajer Mutu Laboratorium Pusat Penelitian Kimia dalam batas waktu 30 hari sejak tanggal laporan ini diterbitkan

Lampiran 16. Hasil Analisa Isolat D3X dengan LCMS/MS

Kromatogram LC



Retention time (min)	Area	% Area (%)	Height	Width (s)	Integration type	Peak width parameter (s)	Threshold parameter
4.26	48557	0.35	16768	5.69	BB	3.36	1187.31
6.45	455	0.00	1458	0.68	BB	3.36	1187.31
7.06	351	0.00	872	0.69	BB	3.36	1187.31
7.66	355	0.00	1545	0.46	BB	3.36	1187.31
7.76	20771	0.15	12661	2.97	BV	3.36	1187.31
7.80	807	0.01	2386	0.91	VB	3.36	1187.31
7.89	241393	1.75	102722	6.15	BB	3.36	1187.31
7.99	519	0.00	1811	0.69	BB	3.36	1187.31
8.03	376	0.00	1061	0.69	BB	3.36	1187.31
8.13	294656	2.14	114250	6.40	BB	3.36	1187.31
8.67	322480	2.34	128556	5.94	BB	3.36	1187.31
8.79	768	0.01	2024	0.69	BB	3.36	1187.31
9.02	105614	0.77	43412	5.03	BB	3.36	1187.31
9.11	127114	0.92	90855	2.51	BV	3.36	1187.31
9.14	87475	0.64	80961	1.90	VB	3.36	1187.31
9.19	368992	2.68	256531	3.19	BB	3.36	1187.31
9.27	183257	1.33	128679	3.08	BV	3.36	1187.31
9.31	246951	1.79	231189	1.89	VV	3.36	1187.31
9.34	376349	2.73	242732	2.34	VV	3.36	1187.31
9.39	555350	4.03	298083	3.12	VV	3.36	1187.31
9.44	1627103	11.82	1202460	2.82	VV	3.36	1187.31
9.48	226423	1.64	185543	2.33	VV	3.36	1187.31
9.52	112313	0.82	93626	2.56	VV	3.36	1187.31
9.56	28832	0.21	28321	1.54	VV	3.36	1187.31
9.59	170610	1.24	134325	3.22	VV	3.36	1187.31
9.64	80251	0.58	67735	2.98	VB	3.36	1187.31
9.69	5858	0.04	7275	1.19	BV	3.36	1187.31
9.73	13570	0.10	10390	1.87	VV	3.36	1187.31
9.75	21590	0.16	18495	1.95	VB	3.36	1187.31
9.81	11587	0.08	10710	2.16	BV	3.36	1187.31
9.82	11266	0.08	8962	2.15	VB	3.36	1187.31

9.87	13178	0.10	15001	1.74	BV	3.36	1187.31
9.93	1203097	8.74	702227	4.64	VV	3.36	1187.31
10.00	196442	1.43	85001	6.07	VV	3.36	1187.31
10.08	11703	0.09	11039	1.40	VV	3.36	1187.31
10.10	17623	0.13	13155	1.96	VV	3.36	1187.31
10.15	41715	0.30	30266	2.43	VV	3.36	1187.31
10.17	41704	0.30	36997	1.74	VV	3.36	1187.31
10.19	7812	0.06	13908	0.74	VV	3.36	1187.31
10.21	26667	0.19	21582	1.71	VV	3.36	1187.31
10.25	113533	0.82	66808	2.60	VV	3.36	1187.31
10.29	67982	0.49	40282	3.67	VB	3.36	1187.31
10.39	125384	0.91	102605	3.45	BV	3.36	1187.31
10.41	272673	1.98	132744	2.97	VV	3.36	1187.31
10.45	48805	0.35	46620	1.79	VV	3.36	1187.31
10.50	34433	0.25	35749	1.71	VV	3.36	1187.31
10.51	36292	0.26	34542	1.80	VV	3.36	1187.31
10.54	2899	0.02	3918	1.10	VB	3.36	1187.31
10.59	39872	0.29	18761	4.08	BB	3.36	1187.31
10.67	52461	0.38	30589	3.47	BB	3.36	1187.31
10.76	17907	0.13	9901	3.46	BB	3.36	1187.31
10.85	32968	0.24	18644	3.13	BV	3.36	1187.31
10.89	41852	0.30	22584	2.47	VV	3.36	1187.31
10.95	82833	0.60	41167	3.72	VV	3.36	1187.31
10.99	9084	0.07	5950	2.24	VB	3.36	1187.31
11.06	9804	0.07	5946	2.72	BB	3.36	1187.31
11.24	5027987	36.52	1497815	9.27	BB	3.36	1187.31
11.36	6294	0.05	6301	1.98	BB	3.36	1187.31
11.40	315	0.00	726	0.74	BB	3.36	1187.31
11.42	786	0.01	1816	0.74	BB	3.36	1187.31
11.48	18038	0.13	10314	3.24	BB	3.36	1187.31
11.58	101470	0.74	51690	4.34	BV	3.36	1187.31
11.60	76570	0.56	69116	1.21	VV	3.36	1187.31
11.63	137260	1.00	73090	1.94	VV	3.36	1187.31
11.64	96197	0.70	69374	1.69	VV	3.36	1187.31
11.67	68326	0.50	40549	4.70	VB	3.36	1187.31
14.36	89134	0.65	142099	1.23	BV	3.36	1187.31
14.40	186564	1.36	65300	3.23	VV	3.36	1187.31
14.43	81309	0.59	48726	3.53	VV	3.36	1187.31
14.49	8941	0.06	7745	1.73	VB	3.36	1187.31
14.54	504	0.00	1316	0.69	BB	3.36	1187.31
14.61	6174	0.04	9815	1.81	BV	3.36	1187.31
14.64	2389	0.02	4510	0.69	VV	3.36	1187.31
14.65	7481	0.05	5740	1.83	VB	3.36	1187.31
14.78	1854	0.01	5460	0.89	BB	3.36	1187.31
14.84	1303	0.01	2578	0.91	BB	3.36	1187.31
14.95	1130	0.01	2975	1.12	BB	3.36	1187.31
14.98	268	0.00	1172	0.46	BB	3.36	1187.31
15.02	282	0.00	1235	0.46	BB	3.36	1187.31
15.13	2332	0.02	3711	2.04	BB	3.36	1187.31
15.30	1225	0.01	3054	1.12	BB	3.36	1187.31
15.47	2084	0.02	3135	1.81	BB	3.36	1187.31
15.81	989	0.01	2904	0.89	BB	3.36	1187.31

Komponen Senyawa dalam Isolat D3X

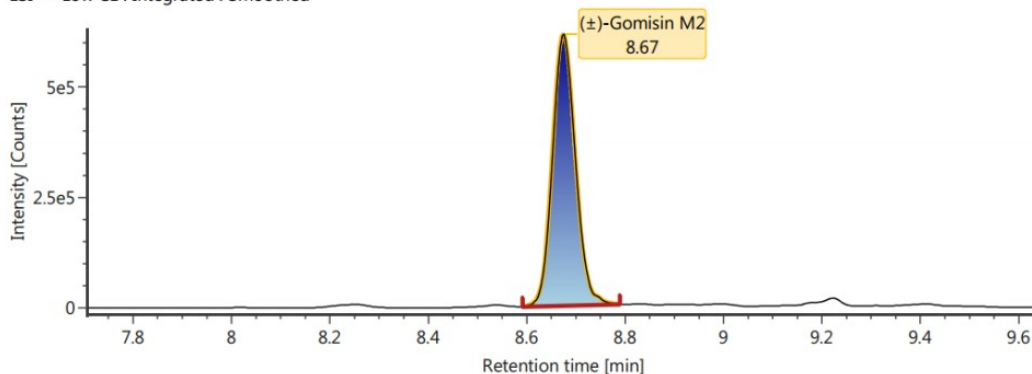
Item name: 210317-0590, Sample position: 1:C,4, Replicate number: 1

.	Component name	Identification status	Observed m/z	Neutral mass (Da)	Observed RT (min)	Detector counts
1	(±)-Gomisin M2	Identified	387.1798	386.17294	8.68	335794
2	Bufotalinin	Identified	415.2111	414.20424	9.19	273418
3	Ferruginol	Identified	285.2209	284.21402	9.44	459645
4	Spinasterone	Identified	411.3617	410.35487	10.41	220400
5	Candidate Mass C37H68O7	Identified	647.4859	624.49650	10.00	314113

.	Component name	Identification status	Response	Adducts	Formula	Mass error (mDa)
1	(±)-Gomisin M2	Identified	213036	+H, +Na	C22H26O6	-0.4
2	Bufotalinin	Identified	173363	+H, +Na	C24H30O6	-0.4
3	Ferruginol	Identified	362902	+H	C20H28O	-0.4
4	Spinasterone	Identified	155067	+H	C29H46O	-0.4
5	Candidate Mass C37H68O7	Identified		+Na	C37H68O7	0.2

Kromatogram (±)-Gomisin M2

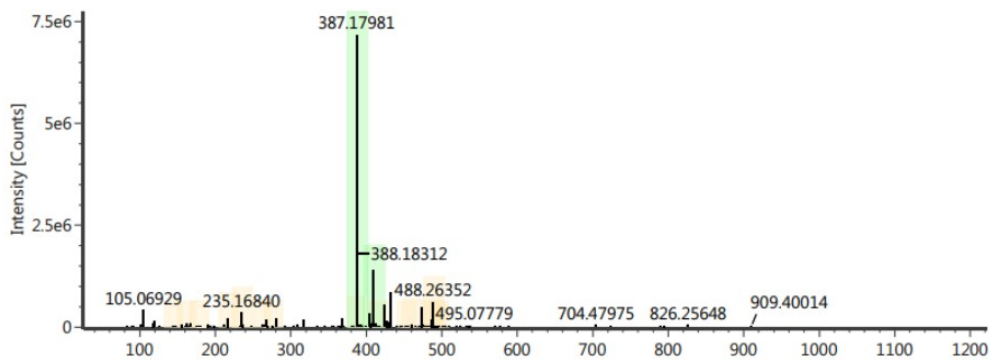
Item name: 210317-0590
 Channel name: 1: +387.1798 (41.0 PPM) +388.1831 (41.0 PPM) +389.1849 (41.0 PPM) +390.1854 (41.0 PPM) : TOF MSⁿ (50-1200) 6eV
 ESI+ - Low CE : Integrated : Smoothed



Spektrum Massa (±)-Gomisin M2

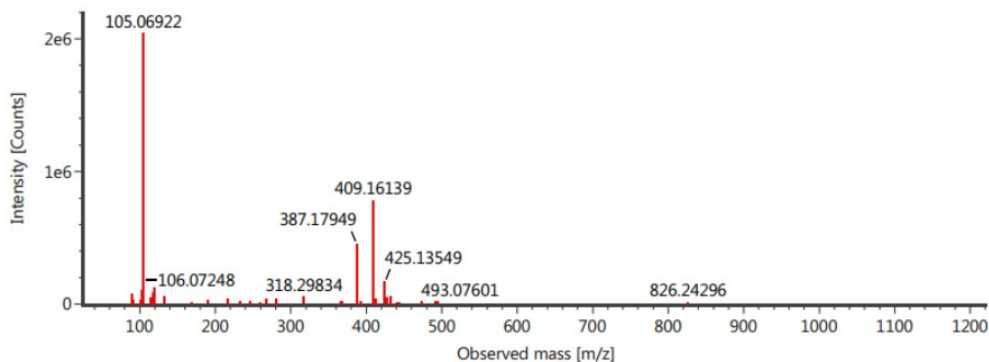
Item name: 210317-0590
 Item description:

Channel name: Low energy : Time 8.6763 +/- 0.0241 minutes



Item name: 210317-0590
 Item description:

Channel name: High energy : Time 8.6763 +/- 0.0241 minutes

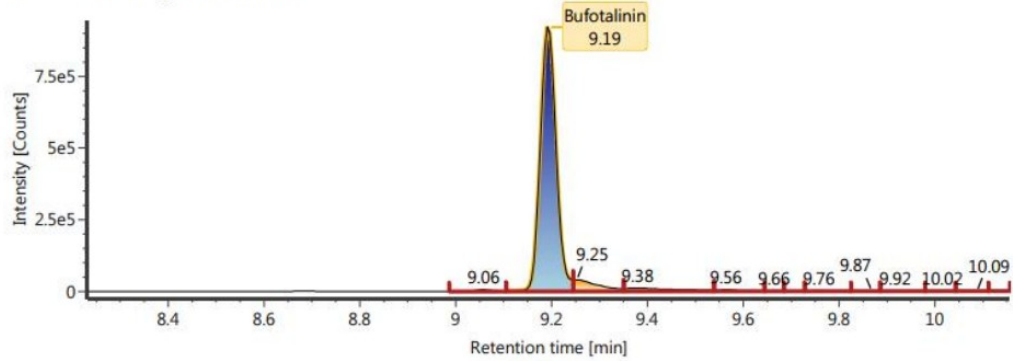


Kromatogram Bufotalinin

Component name: Bufotalinin

Item name: 210317-0590

Channel name: 1: +415.2111 (41.0 PPM) +416.2147 (41.0 PPM) +417.2167 (41.0 PPM) +418.2206 (41.0 PPM) : TOF MS⁺ (50-1200) 6eV
ESI+ - Low CE : Integrated : Smoothed

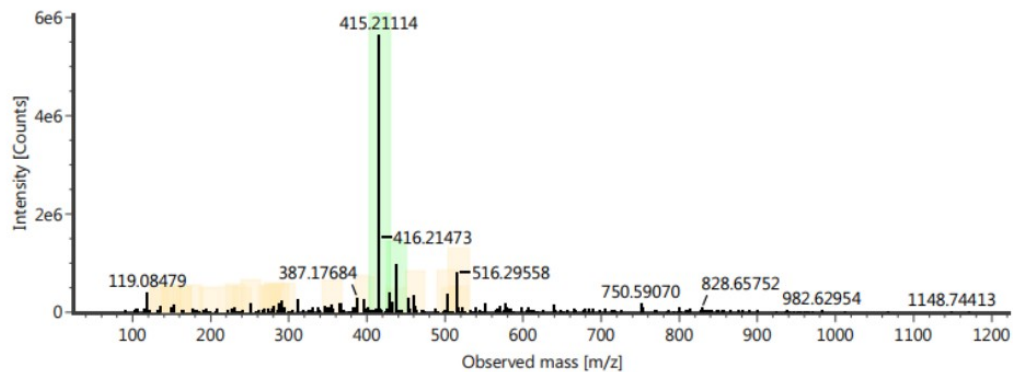


Spektrum Massa Bufotalinin

Item name: 210317-0590

Channel name: Low energy : Time 9.1939 +/- 0.0241 minutes

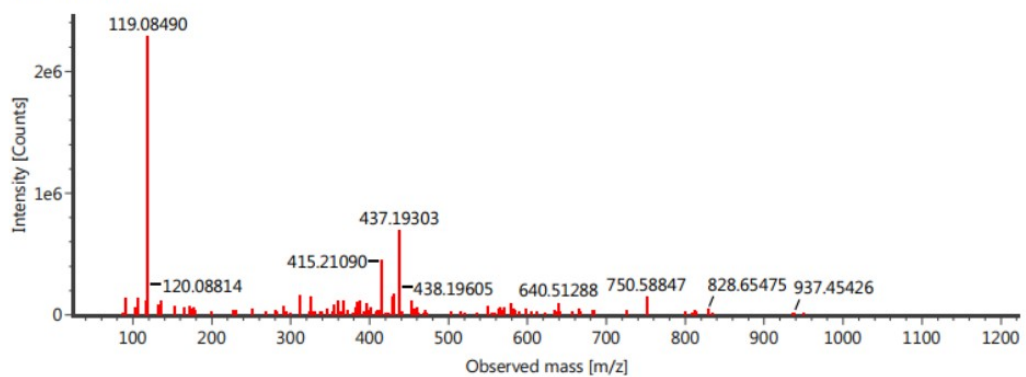
Item description:



Item name: 210317-0590

Channel name: High energy : Time 9.1939 +/- 0.0241 minutes

Item description:

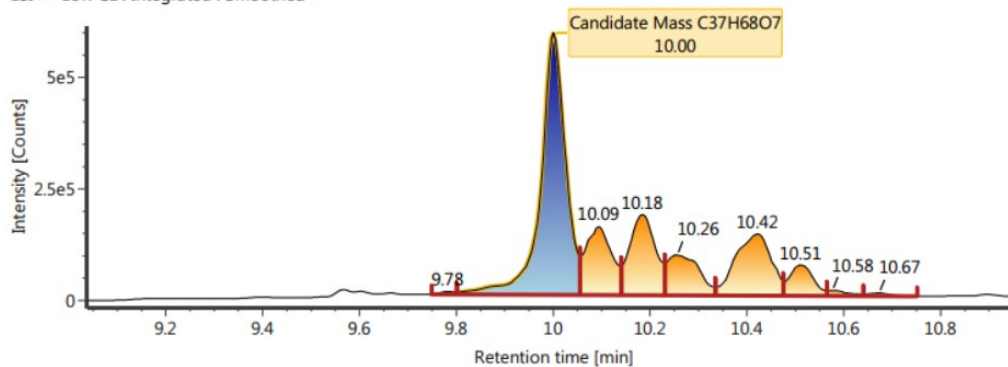


Kromatogram *Candidate Mass C37H68O7*

Component name: **Candidate Mass C37H68O7**

Item name: 210317-0590

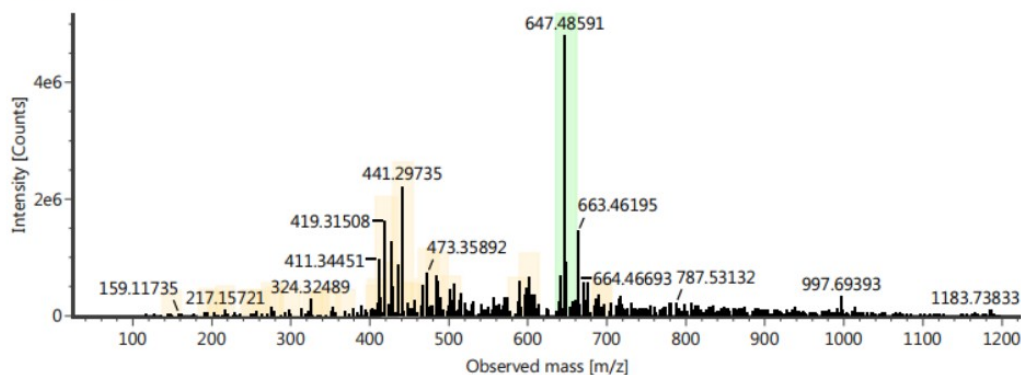
Channel name: 1: +647.4859 (41.0 PPM) +648.4892 (41.0 PPM) +649.4934 (41.0 PPM) +650.4977 (41.0 PPM) : TOF MS^E (50-1200) 6eV
ESI+ - Low CE : Integrated : Smoothed



Spektrum Massa *Candidate Mass C37H68O7*

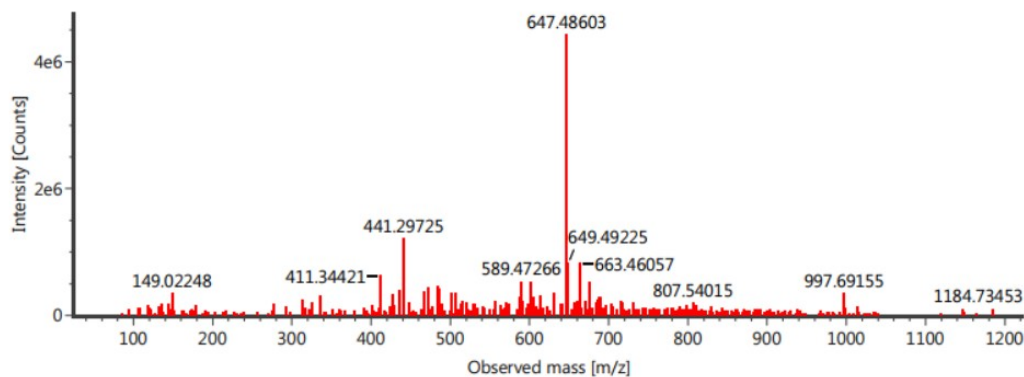
Item name: 210317-0590
Item description:

Channel name: Low energy : Time 10.0018 +/- 0.0241 minutes



Item name: 210317-0590
Item description:

Channel name: High energy : Time 10.0018 +/- 0.0241 minutes



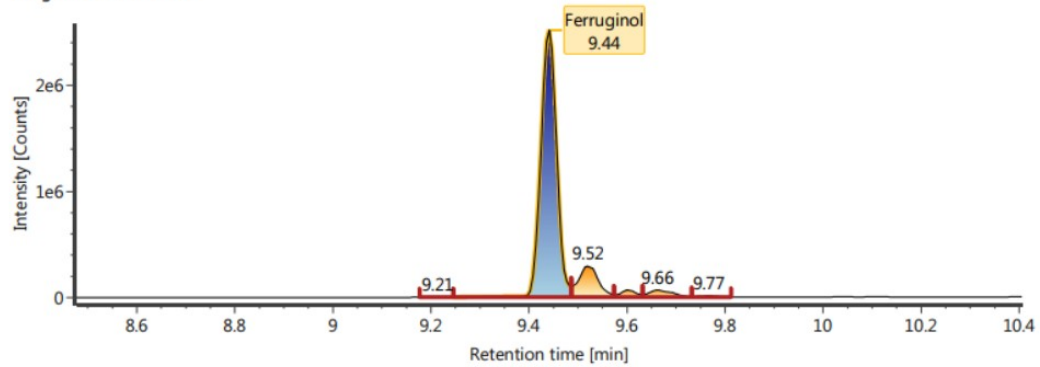
Kromatogram Ferruginol

Component name: Ferruginol

Item name: 210317-0590

Channel name: 1: +285.2209 (41.0 PPM) +286.2246 (41.0 PPM) +287.2310 (41.0 PPM) : TOF MS^e (50-1200) 6eV ESI+ - Low CE :

Integrated : Smoothed

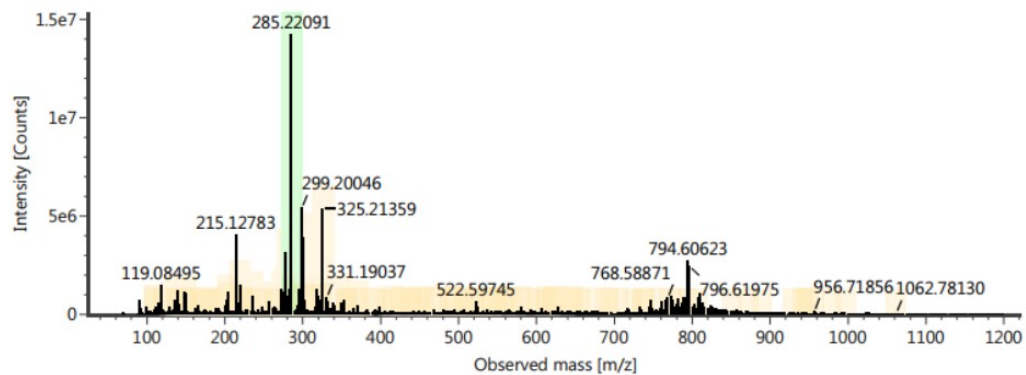


Spektrum Massa Ferruginol

Item name: 210317-0590

Channel name: Low energy : Time 9.4417 +/- 0.0722 minutes

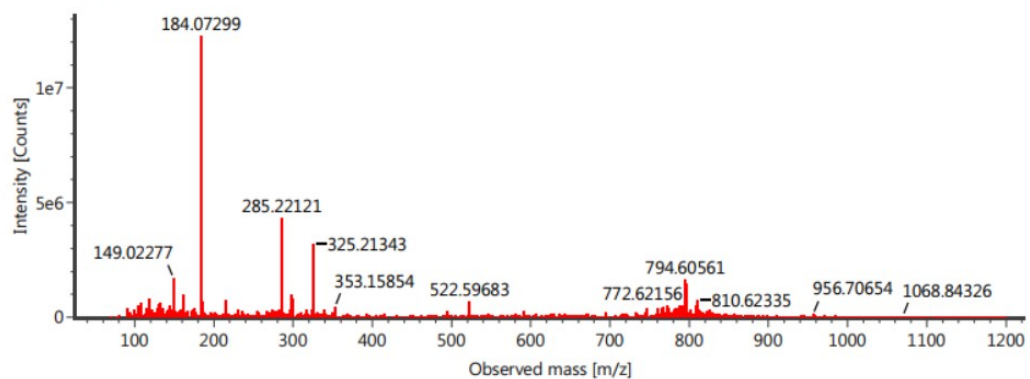
Item description:



Item name: 210317-0590

Channel name: High energy : Time 9.4417 +/- 0.0722 minutes

Item description:



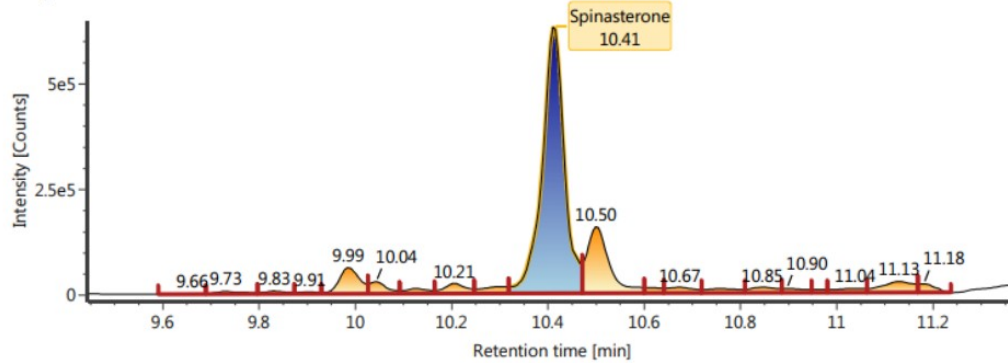
Kromatogram Spinasterone

Component name: Spinasterone

Item name: 210317-0590

Channel name: 1: +411.3617 (41.0 PPM) +412.3646 (41.0 PPM) +413.3693 (41.0 PPM) : TOF MS^E (50-1200) 6eV ESI+ - Low CE :

Integrated : Smoothed

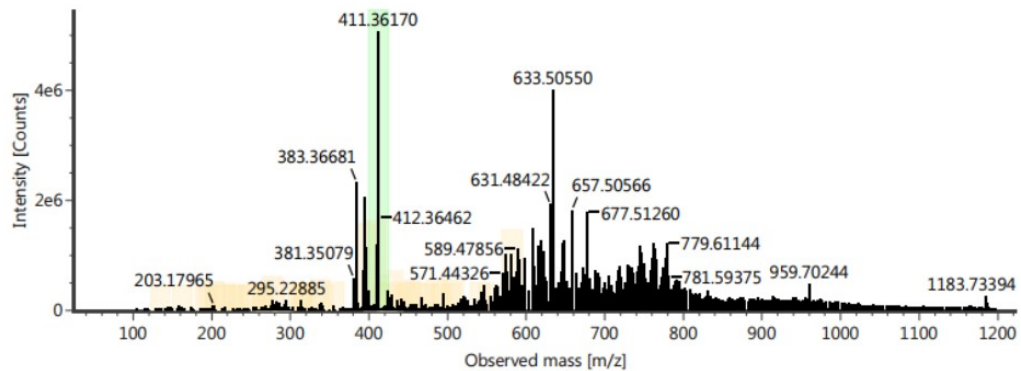


Spektrum Massa Spinasterone

Item name: 210317-0590

Channel name: Low energy : Time 10.4105 +/- 0.0241 minutes

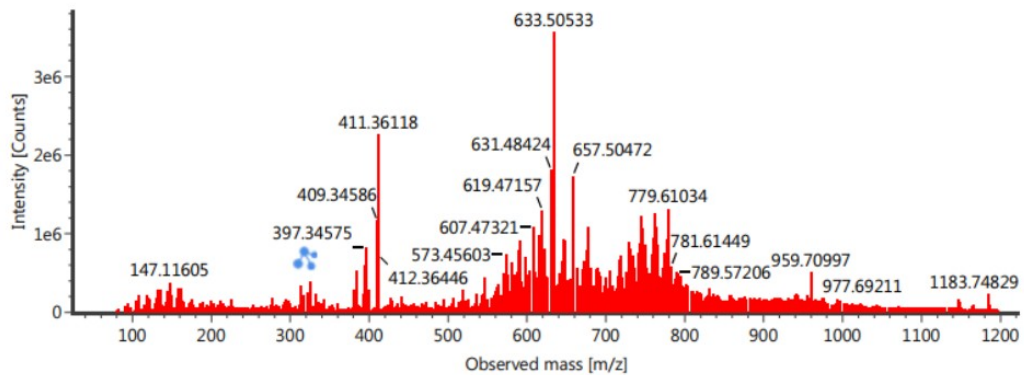
Item description:



Item name: 210317-0590

Channel name: High energy : Time 10.4105 +/- 0.0241 minutes

Item description:



Laporan Hasil Analisis Isolat D3X dengan LCMS/MS



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
LABORATORIUM PUSAT PENELITIAN KIMIA
 Website: <http://kimia.lipi.go.id>; Email: layanan.kimia@mail.lipi.go.id

LAPORAN HASIL ANALISIS

No. Pengujian : 0214/LPPK/III/2021
 Jumlah Halaman : 1 Halaman
 Tanggal Penerimaan : 17 Maret 2021
 Tanggal Pengerjaan : 24 Maret 2021
 Tanggal Penyelesaian : 05 April 2021
 Pelanggan : Viena Cynthia Alvionita
 ID ELSA : 14080
 Alamat : Universitas Brawijaya
 Jenis Contoh : Padatan
 Jumlah Contoh : 1 buah
 Jenis Pengujian : Analisa Komponen Senyawa

No	Kode Contoh	Jenis Analisis	Hasil Analisis	Satuan	Metode Analisis
1.	210317-0589 (1)	kualitatif	Terlampir	-	LCMS-MS (Acquity UPLC I-Class dan XEVO G2-XS QToF)
2.	210317-0590 (2)	kualitatif	Terlampir	-	

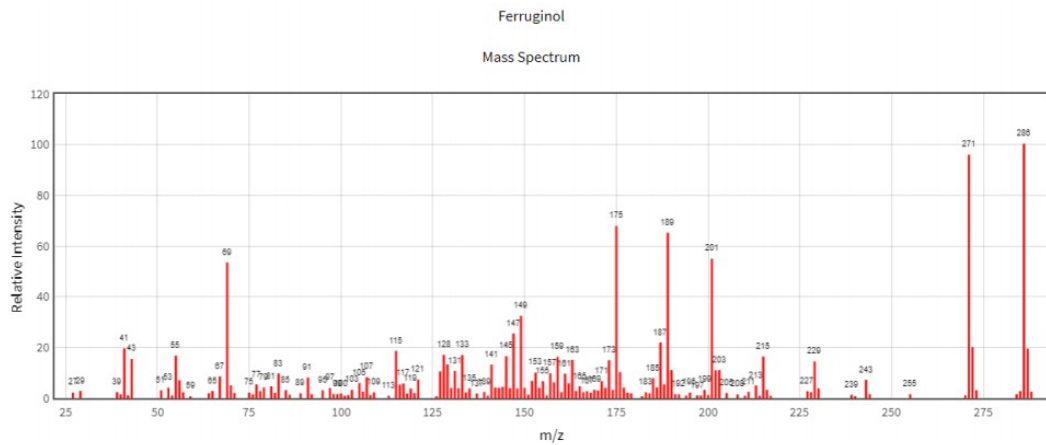
Serpong, 05 April 2021
 Manajer Laboratorium
 Jasa Analisa Kimia,

Dr. Sofa Fajriah, M. Si
 NIP. 198102052005022002

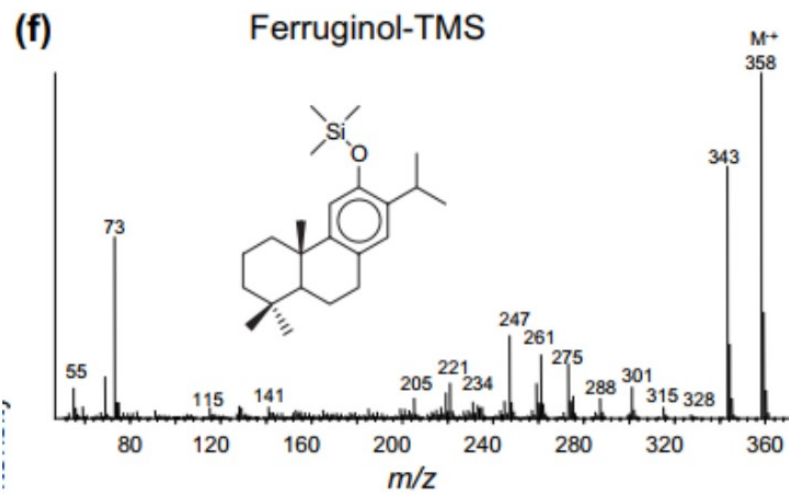
Gatatan:

- Hasil analisis hanya berlaku untuk contoh yang diterima Laboratorium Pusat Penelitian Kimia
- Laporan tidak boleh dipertukarkan tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Penelitian Kimia
- Pengaduan/kecurahan mohon disampaikan kepada Manajer Mutu Laboratorium Pusat Penelitian Kimia dalam batas waktu 30 hari sejak tanggal laporan ini diterbitkan

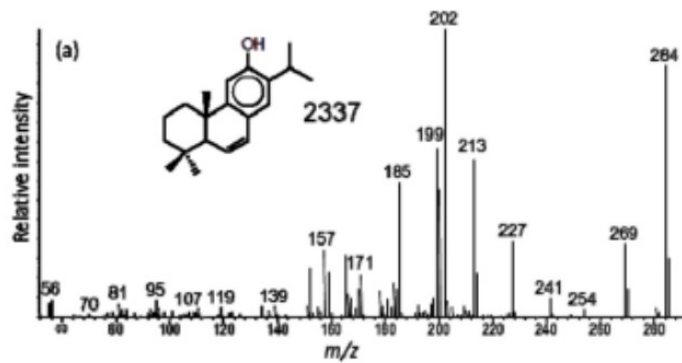
Lampiran 17. Spektrum Massa Senyawa Ferruginol pada Literatur



(NIST, 2018)



(Cox *et al.*, 2007)



(Beccera *et al.*, 2002)