

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Hasil ekstrak kasar daun lindur diperoleh dengan cara ekstraksi. Adapun metode yang digunakan yaitu sonikasi bertingkat. Kelebihan dari ekstraksi ini yaitu untuk mendapatkan komponen bioaktif yang lebih murni dengan menggunakan tiga pelarut. Mulai dari pelarut yang bersifat non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), dan polar (metanol). Perbandingan antara sampel dengan pelarut yang digunakan yaitu 1 : 5 dimana serbuk daun lindur yang digunakan sebanyak 120 gram direndam dengan 600 ml pelarut.

Ekstrak yang didapatkan dari masing-masing pelarut ini selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes. Hal tersebut bertujuan untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut yang digunakan. Kemudian ekstrak yang didapatkan dipekatkan lagi dengan menggunakan gas N₂. Hasil dari ekstraksi daun lindur ditimbang untuk mengetahui nilai rendemen yang diperoleh dari masing-masing pelarut yang digunakan.

Ekstrak kasar daun lindur dengan metode sonikasi menggunakan pelarut yang berbeda mendapatkan hasil rendemen yang berbeda. Menurut Parhusip (2006), menyatakan bahwa rendemen ekstrak merupakan faktor yang sangat penting karena menunjukkan banyaknya senyawa organik yang larut dalam pelarut tersebut. Dari penelitian yang dilakukan didapatkan hasil rendemen tertinggi dengan pelarut metanol yaitu sebesar 53,98 %, sedangkan rendemen terendah yaitu ekstrak n-heksan sebesar 41,35 %.

Hasil rendemen yang berbeda-beda dari pelarut yang digunakan disebabkan beberapa faktor seperti, ukuran sampel, waktu penyimpanan, metode ekstraksi, jumlah sampel, dan jumlah pelarut. Selain itu kandungan

senyawa bioaktif yang paling banyak terekstrak pada ekstrak kasar daun lindur yang bersifat polar. Ini terlihat dari perbedaan rendemen yang dihasilkan oleh masing-masing pelarut yang diakibatkan kemampuan setiap pelarut yang spesifik hanya dapat melarutkan senyawa yang sesuai dengan kepolarannya. Menurut Sultana *et al.* (2009), menyatakan bahwa jenis pelarut yang digunakan merupakan faktor utama yang menentukan hasil ekstraksi atau rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot awal yang digunakan dan dinyatakan dalam persen (%).

4.2 Hasil Uji Kadar Air Ekstrak Kasar Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Dari hasil uji kadar air didapatkan kadar air daun lindur segar yaitu sebesar 62,87 %, setelah proses pengovenan selama 2 jam dengan suhu 60 °C terjadi penurunan dengan persentasi kadar air pada ekstrak kasar metanol sebesar 19%, etil asetat sebesar 18%, dan n-heksan sebesar 6%. Penurunan kadar air ini disebabkan karena terjadi penguapan sebagian air pada saat proses pengovenan. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hardiningtyas (2012), bahwa kadar air pada daun api-api yang mengalami penurunan kadar air sebesar 60,87 % setelah proses pengeringan selama 4 hari. Penurunan kadar air disebabkan proses pengeringan yang menguapkan sebagian air pada bahan.

4.3 Hasil Fitokimia Ekstrak Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Uji kualitatif fitokimia bertujuan untuk mengetahui komponen kimia dari ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol. Uji kandungan kimia dilakukan melalui analisis fitokimia secara kualitatif. Menurut Rohyani *et al.* (2015), menyatakan bahwa uji fitokimia ini masih merupakan suatu metode pengujian awal dalam upaya mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan

obat lokal yang berperan penting dalam penyembuhan penyakit. Uji skrining fitokimia ini meliputi uji triterpenoid, uji flavonoid, uji tanin, uji alkaloid, uji fenol, dan uji saponin,. Adapun hasil uji fitokimia daun lindur dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Komponen bioaktif ekstrak kasar daun lindur

Parameter	Daun		
	N-heksan	Etil asetat	Metanol
Alkaloid	-	-	+
Saponin	-	+	-
Tanin	-	+	+
Flavonoid	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+
Steroid	+	+	+

Keterangan

- + : Mengandung senyawa atau terbentuk warna
- : Tidak mengandung senyawa atau terbentuk warna

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan hasil uji fitokimia dari ketiga pelarut yang digunakan. Berdasarkan data tersebut metabolit skunder yang dihasilkan lebih banyak pada ekstrak dari pelarut metanol dan etil asetat, Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang dominan dalam jaringan daun lindur merupakan senyawa yang bersifat polar dan semi polar. Pada ekstrak metanol positif terdapat senyawa tanin, alkaloid, steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Yang mana tanin dan flavonoid adalah senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Menurut penelitian Dia *et al.* (2015), menyatakan bahwa tanin, polifenol, dan flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan karena ketiga senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada cincin aromatik. Berikut adalah penjelasan uji skrining fitokimia yang memberikan tanda positif untuk masing – masing senyawa.

a) Senyawa alkaloid

Pada uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer diperoleh hasil positif dari ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza*. Menurut Mulyani *et al.* (2013), jika hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

b) Senyawa tanin

Pada uji senyawa tanin dari ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa tanin. Menurut sulistyawati *et al.* (2012), kadar tanin yang tinggi menyebabkan rasa sepat dan pahit pada bahan makanan. Senyawa ini bersifat karsinogenik apabila dikonsumsi dalam jumlah berlebih dan kontinyu namun dalam jumlah kecil dapat berfungsi sebagai antioksidan. Positif adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan. Menurut penelitian Harborne (1987) diperkirakan $FeCl_3$ bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Hasil reaksi inilah yang menimbulkan warna.

c) Senyawa flavonoid

Menurut Hudaya *et al.* (2013), Uji senyawa flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah atau jingga yang disebabkan oleh reduksi flavonoid oleh Magnesium dan HCl pekat. Pada uji flavonoid dengan ekstrak kasar daun *bruguiera gymnorrhiza* menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid setelah pemberian serbuk magnesium yakni terjadi perubahan warna merah atau jingga.

d) Senyawa triterpenoid dan steroid

Ekstrak kasar daun *bruguiera gymnorrhiza* dua – duanya membentuk warna merah atau ungu menandakan positif mengandung senyawa triterpenoid

dan membentuk warna hijau atau biru menandakan positif mengandung senyawa steroid. Menurut penelitian Kusuma (2011), uji steroid dan triterpenoid menunjukkan hasil positif terdeteksinya triterpenoid yang merupakan salah satu kelompok utama terpenoid dengan terbentuk warna ungu, setelah direaksikan dengan asam asetat (CH_3COOH) glasial dan asam sulfat (H_2SO_4) pekat.

4.3.1 Kadar Total Fenol Ekstrak Kasar Daun Lindur

Penetapan kadar total fenol dalam ekstrak kasar daun lindur menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dengan reagen Folin-Ciocalteu. Absorbansi larutan uji diukur dengan λ 765 nm. Menurut pernyataan Hazar (2014), fenolik merupakan metabolit sekunder yang tersebar dalam tumbuhan. Senyawa fenolik dalam tumbuhan berupa fenol sederhana, antraquinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid, lignin, dan tanin. Penentuan kandungan fenolik total dapat dilakukan dengan menggunakan prinsip Folin-Ciocalteu yang didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Kadar total fenol dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kadar total fenol ekstrak kasar daun lindur

Ekstrak	Total fenol (mg GAE/g ekstrak)
N-heksan	53,39 mg GAE/g
Etil asetat	62,39 mg GAE/g
Metanol	101,64 mg GAE/g

Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa fenolik pada masing-masing pelarut yakni metanol sebesar 101,64 mg GAE/g, etil asetat sebesar 62,39 mg GAE/g, dan n-heksan sebesar 53,39 mg GAE/g. Adanya perbedaan hasil senyawa total fenol dari ketiga pelarut tersebut disebabkan karena perbedaan jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi berpengaruh terhadap hasil kadar total fenol pada masing-masing ekstrak kasar daun lindur.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Widyawati *et al.* (2010) bahwa proses ekstraksi dan kepolaran pelarut yang berbeda dapat mengubah profil senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel.

Menurut penelitian Haq *et al.* (2011) menyatakan bahwa nilai total fenol ekstrak kasar metanol daun lindur sebesar 178,73 mg GAE/g, etanol sebesar 189,4 mg GAE/g, dan kloroform sebesar 13,13 mg GAE/g. Ekstrak etanol menunjukkan jumlah tertinggi senyawa fenol dan ekstrak kloroform daun lindur menunjukkan jumlah terendah. Sedangkan menurut Herawati (2012) menyatakan, kandungan total fenol dari *S. alba* dengan ketiga fraksi (n-heksan, kloroform, etil asetat) dan ekstrak metanol adalah 217,84 mg GAE/g, 156,310 mg GAE/g, 226,89 mg GAE/g, dan 249,56 mg GAE/g, berturut-turut untuk fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol menunjukkan kandungan tinggi total fenolik. Data tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa fenol dalam ekstrak kasar ada di fraksi etil asetat setelah fraksinasi.

4.4 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Uji toksisitas ekstrak daun lindur menggunakan metode *Brine Shrimp Lethal Test* (BSLT) dengan hewan uji larva udang *Artemia salina* L. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut yang mana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat yaitu rentang waktu 24 jam setelah pemberian dosis uji. Persentase kematian yang diperoleh masing-masing dirubah menjadi angka probit dengan persamaan garis $y=bx+a$ yang diperoleh dari grafik hubungan antara log konsentrasi dengan mortalitas probit menggunakan program Microsoft excel. Adapun persamaan regresi yang didapatkan dapat dilihat pada Lampiran 5.

Hasil uji menunjukkan konsentrasi ekstrak dalam membunuh larva *A. salina* berturut-turut dengan konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Jumlah kematian larva *A. salina* dengan perlakuan ekstrak kasar daun lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Data Uji Toksisitas

Perlakuan	Konsentrasi	Kematian <i>Artemia salina</i> Leach (ekor)		
		U1	U2	U3
M	0	0	0	0
	125	4	4	3
	250	7	5	5
	500	8	6	7
	1000	9	8	8
E	0	0	0	0
	125	4	2	4
	250	5	4	5
	500	8	7	7
	1000	10	8	8
N	0	0	0	0
	125	3	4	3
	250	5	5	6
	500	6	6	7
	1000	8	7	8

Keterangan:

- M = Pelarut metanol
- E = Pelarut etil asetat
- N = Pelarut n-heksan

Berdasarkan persamaan regresi didapatkan nilai LC_{50} pada ekstrak daun lindur menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Hasil uji toksisitas nilai LC_{50} dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Toksisitas Nilai LC_{50}

Perlakuan	Nilai LC_{50} (ppm)
M	353,046 ± 97,997
E	301,441 ± 126,653
N	443,633 ± 104,251

Keterangan:M = Ekstrak metanol (*Bruguiera gymnorrhiza*)E = Ekstrak etil asetat (*Bruguiera gymnorrhiza*)N = Ekstrak n-heksan (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Hasil ekstrak daun lindur *Bruguiera gymnorrhiza* masih tergolong bersifat toksik. Hal ini karena LC_{50} yang dihasilkan masih <1000 ppm sesuai dengan pernyataan Diastuti *et al.* (2008), melaporkan bahwa suatu ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} <1000$ ppm sedangkan untuk senyawa murni dikatakan toksik apabila $LC_{50} <200$ ppm. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak daun lindur terhadap larva *A. salina* dapat dilihat pada Lampiran.

Tingkat ketoksitas ditentukan berdasarkan pada nilai LC_{50} yang didapatkan. Suatu bahan dikatakan sangat toksik apabila nilai $LC_{50} < 30$ $\mu\text{g/mL}$, dikatakan toksik apabila nilai LC_{50} berkisar antara 30-1000 $\mu\text{g/mL}$, dan dikatakan tidak toksis apabila nilai $LC_{50} > 1000$ $\mu\text{g/mL}$ (Mayer *et al.* 1982).

Dari hasil uji toksisitas yang dilakukan dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan yakni konsentrasi 125, 250, 500, dan 1000 ppm, maka akan semakin banyak larva *A. salina* yang mati. Hal ini menunjukkan potensi ketoksikan ekstrak adalah tergantung dosis (Diastuti *et.al.*, 2008). Menurut penelitian Pradana *et al.* (2015), ekstrak kulit batang *R. mucronata* semuanya dikategorikan toksik atau aktif terhadap *A. salina* dengan toksisitas yang paling tinggi pada ekstrak etil asetat dan yang paling rendah pada ekstrak n-heksan. Perbedaan tingkat toksisitas tersebut disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak tersebut.

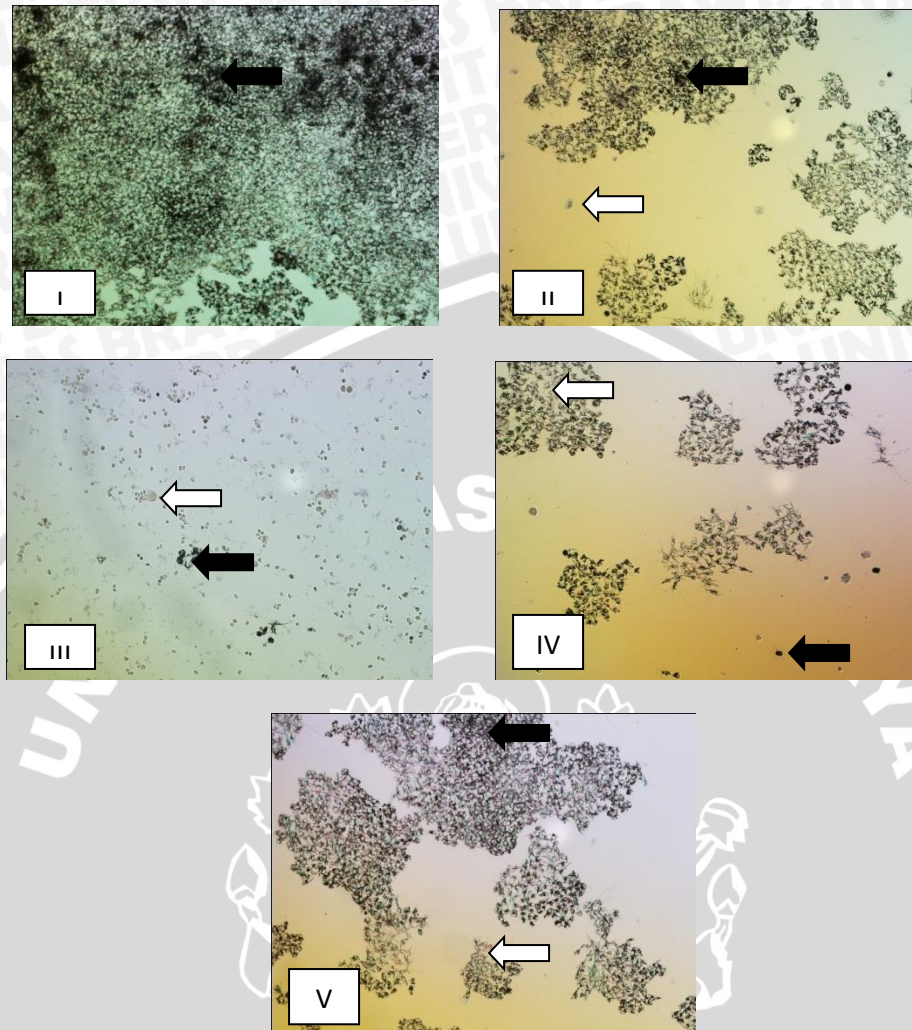
4.5 Hasil Uji Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Sel HeLa

4.5.1 Sel HeLa

Sel HeLa yang digunakan pada penelitian ini berasal dari laboratorium sentral biomedik (LSB) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini menggunakan tiga perlakuan yaitu kontrol pelarut, kontrol positif dan kontrol negatif. Pembuatan larutan induk membutuhkan ekstrak kasar daun lindur sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL ID water sebagai media sampel. Larutan induk digunakan untuk pembuatan dosis 31,25 ppm hingga 250 ppm. Pembuatan dosis 250, 125, 62,5, dan 31,25 ppm secara berturut-turut membutuhkan larutan induk sebanyak 50 μ l, 25 μ l, 12,5 μ l, dan 6,25 μ l dilarutkan dalam 300 μ l media sel. Adapun perhitungan dosis dapat dilihat pada Lampiran.

4.5.2 Persentase Sel Hidup

Pada penelitian ini terdiri dari tiga macam perlakuan, yaitu kelompok I sel HeLa tanpa diberi perlakuan ekstrak kasar daun lindur *B. gymnorrhiza* (sebagai kontrol negatif), kelompok II sel HeLa dipaparkan pelarut yang berbeda (metanol, etil asetat, dan n-heksan) (sebagai kontrol pelarut) dan kelompok III adalah sel HeLa yang di paparkan ekstrak kasar daun lindur *B. gymnorrhiza* (sebagai kontrol positif). Ketiga perlakuan diatas di paparkan selama 24 jam setelah itu dilakukan uji viabilitas sel HeLa dengan metode MTT. Metode MTT yang digunakan bertujuan untuk memberikan perbedaan warna antara sel yang masih hidup dengan sel yang sudah mengalami sitotoksik. Perbedaan intensitas warna ini diukur dengan alat *elisa reader* dengan absorbansi pada panjang gelombang 570-600 nm. Adapun hasil pewarnaan dengan metode MTT dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Sel HeLa hasil paparan pewarnaan dengan metode MTT. Gambar I merupakan kelompok sel HeLa tanpa perlakuan (kontrol negatif). Gambar II merupakan kelompok sel HeLa yang di paparkan pelarut yang berbeda (etil asetat) dengan konsentrasi yang sama yaitu 100 µg/ml (kontrol pelarut). Gambar III merupakan kelompok perlakuan yang di papar ekstrak metanol daun lindur *B. gymnorrhiza*. Gambar IV merupakan kelompok perlakuan yang di papar ekstrak etil asetat daun lindur *B. gymnorrhiza*. Sedangkan gambar V merupakan kelompok sel yang di beri paparan ekstrak n-heksan daun lindur *B. gymnorrhiza*.

Keterangan:

-  : Sel Hidup
-  : Sel Mati

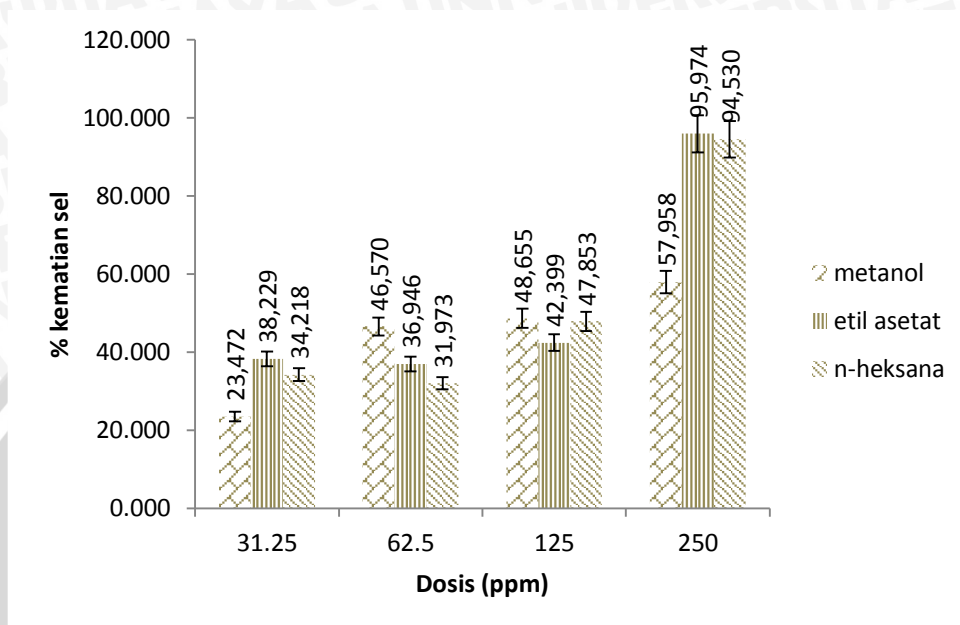
Gambar diatas menunjukkan bahwa warna hitam adalah kristal MTT yakni jumlah sel yang masih hidup, hal ini disebabkan karena reaksi antara

larutan MTT dengan membran sel hidup yang membentuk warna biru. Sedangkan untuk sel yang mengalami sitotoksitas ditunjukkan dengan tidak berwarna. Menurut penelitian Siregar dan Hadijono (2000), dasarnya adalah garam tetrazolium (MTT) yang larut dan berwarna kuning direduksi oleh enzim sel yang hidup menjadi kristal formazan yang tidak larut dan berwarna biru.

Gambar I adalah kontrol sel HeLa tanpa perlakuan paparan ekstrak daun lindur (*B. gymnorrhiza*), sedangkan gambar II adalah perlakuan yang di paparkan dengan pelarut yang berbeda (etil asetat). Gambar IV adalah perlakuan yang diberi paparan ekstrak etil asetat daun lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang menunjukkan tingkat kematian sel HeLa (sitotoksik) yang lebih tinggi dibandingkan gambar III dan V yang diberi paparan ekstrak metanol dan n-heksan daun lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). Adapun prinsip dari MTT assay adalah pemecahan cincin tetrazolium MTT oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk *formazan* biru keunguan yang tidak larut, mengendap pada sel. Mekanismenya adalah garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktifitas metabolik pada sitoplasma (Mezarini *et al.* 2005).

Berdasarkan perhitungan analisis keragaman ANOVA (*Analysis of Variance*) menunjukkan bahwa pelarut yang berbeda memberikan hasil F hitung lebih kecil dari F tabel ini artinya pemberian pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap kematian sel HeLa ($p > 0,05$), sedangkan perlakuan pemberian dosis menunjukkan hasil F hitung lebih besar dari F tabel ini artinya pemberian dosis berpengaruh nyata terhadap kematian sel HeLa ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan pada perlakuan dosis menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada konsentrasi 250 ppm. Menurut Radji *et al* (2010) persentase kematian sel semakin meningkat seiring pertambahan dosis, ini menandakan bahwa semakin lama sel HeLa berinteraksi dengan ekstrak uji. Adapun hasil yang didapatkan

dari setiap perlakuan dan perhitungan uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran. Adapun nilai rata-rata persentase kematian sel HeLa ekstrak kasar daun lindur *B. gymnorrhiza* dapat dilihat pada Grafik 1.



Grafik 1. Hasil perhitungan kematian sel HeLa

Gambar di atas menunjukkan bahwa persentase kematian sel akan mengalami peningkatan seiring meningkatnya dosis yang digunakan. Adapun hasil yang didapatkan pada penelitian ini yakni hasil tertinggi persentase kematian sel HeLa pada perlakuan dengan ekstrak etil asetat dengan dosis 250 ppm, sedangkan pada perlakuan terendah dengan ekstrak metanol dengan dosis 31,25 ppm. Ini artinya pada perlakuan dengan ekstrak etil asetat dengan dosis 250 ppm lebih berpengaruh terhadap kematian sel HeLa, ini menunjukkan bahwa aktivitas antikanker lebih tinggi apabila dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

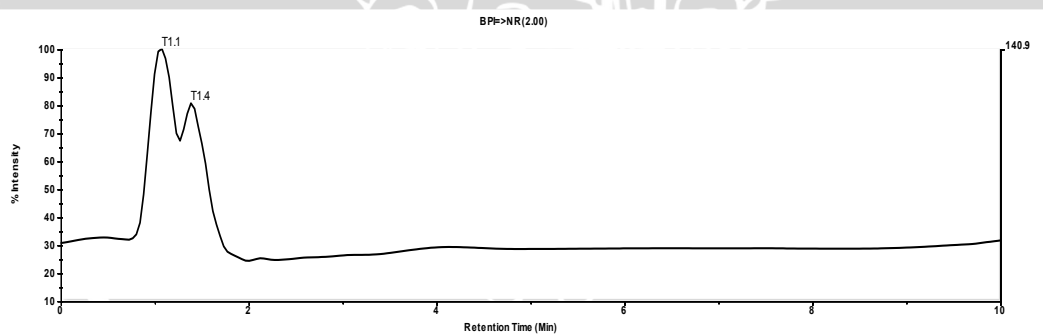
Hal ini diakibatkan karena pada ekstrak etil asetat banyaknya senyawa bioaktif yang terekstrak hal ini didukung oleh pernyataan Da'i (2007) bahwa ekstrak etil asetat memiliki potensi sitotoksik terbesar dibandingkan dengan ekstrak etanol dan kloroform. Kandungan fenolik ekstrak etanol relatif lebih tinggi

akan tetapi tidak menunjukkan bahwa senyawa fenol bukan merupakan penanda utama potensi sitotoksik suatu ekstrak.

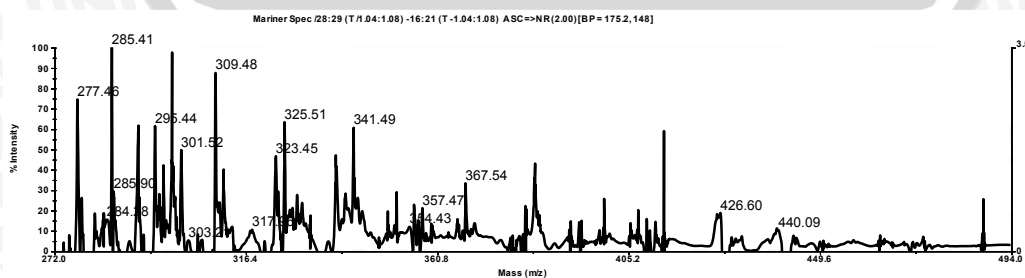
4.6 Hasil *Liquid Chromatograph - Mass Spectrometry*

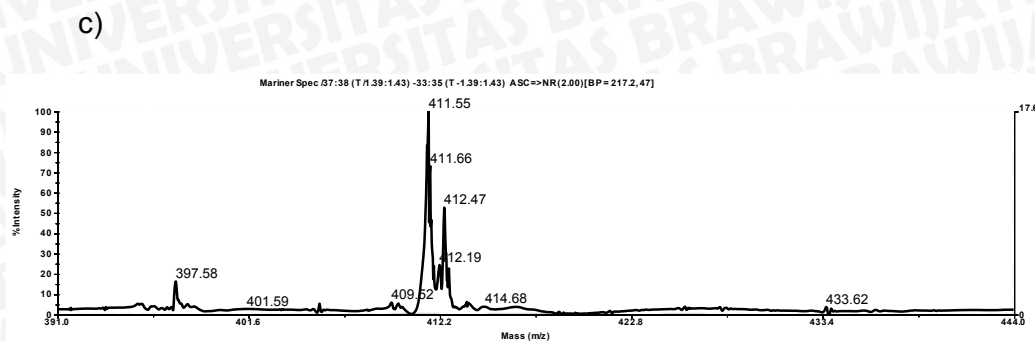
Analisa berikutnya untuk ekstrak kasar daun lindur *Bruguiera gymnorrhiza* yakni uji *Liquid Chromatograph - Mass Spectrometry* (LC-MS). Uji LC-MS adalah analisa yang digunakan dalam menentukan adanya senyawa dugaan dalam sampel berdasarkan berat molekul yang terbaca pada spektrometer massa. Adapun berat molekul yang terbaca ditampilkan dalam bentuk puncak dan disertai dengan waktu retensi. Hasil uji LC-MS akan memberikan informasi mengenai senyawa yang terdapat pada sampel melalui luas area puncak dan intensitas relatifnya serta berta molekul tersebut. Adapun data hasil uji LC-MS dapat dilihat pada Lampiran 12. Dibawah ini merupakan Gambar hasil uji LC-MS ekstrak kasar daun lindur *Bruguiera gymnorrhiza*.

a)



b)





Gambar 3. a) Kromatografi LC; b) Spektrum Massa untuk Waktu Retensi ke-1; c) Spektrum Massa untuk Waktu Retensi ke-2

Gambar (a) merupakan kromatografi LC dari ekstrak kasar daun lindur *Bruguiera gymnorrhiza* yang menunjukkan dua senyawa yang ditandai dengan terbentuknya dua puncak dengan waktu retensi yang berbeda yaitu puncak ke-1 memiliki waktu retensi 1,079 menit sedangkan puncak ke-2 memiliki waktu retensi 1,389 menit. Puncak ke-1 adalah senyawa yang lebih dominan dari pada puncak ke-2 karena memiliki luas area sebesar 701,51 dan puncak ke-2 sebesar 582.95.

Pada gambar (b) menunjukkan spektrum massa senyawa pada puncak ke-1 sedangkan gambar (c) menunjukkan spektrum massa senyawa pada puncak ke-2 ini ditampilkan dengan berat molekul serta intensitas relatifnya tiap spektra yang terbentuk. Senyawa-senyawa tersebut kemudian diidentifikasi dengan menggunakan *massbank* pada *website www.massbank.jp*. Dalam penelitian ini *data base servise* yang digunakan adalah *quick search* karena target senyawa yang diinginkan lebih cepat dan mudah ditemukan. Halaman *quick search* dapat dilihat pada Gambar 4.

Quick Search

Home | Spectrum | Quick | Peak | Substructure | Prediction | Browser | Batch | Browse | Index | MassBank ID: Go

Search by Keyword Search by Peak

Compound Name

AND Exact Mass Tolerance

AND Formula

(e.g. C₆H₇N₅, C₅H⁺N₅, C₅⁺)

Instrument Type

EI EI-B EI-EBEB GC-EI-QQ GC-EI-TOF

ESI CE-ESI-TOF ESI-ITFT ESI-ITTOF ESI-QTOF

MS Type

All MS MS1 MS2 MS3 MS4

Ion Mode

Positive Negative Both

Gambar 4. Halaman quick search

Quick Search Results

Home | Spectrum | Quick | Peak | Substructure | Prediction | Browser | Batch | Browse | Index | MassBank ID: Go

Search Parameters :
 Exact Mass of Compound: 442 (Tolerance: 0.3)
 Instrument Type: CE-ESI-TOF, ESI-ITFT, ESI-ITTOF, ESI-QTOF, LC-ESI-ITTOF, LC-ESI-IT, LC-ESI-Q, LC-ESI-QIT, LC-ESI-QQ, LC-ESI-QTOF
 MS Type: All
 Ion Mode: Positive [Edit / Resubmit Query](#)

Results : 1 Hit. (1 - 1 Displayed)

First Prev 1 Next Last (Total 1 Page) ▼ Results End

<input type="checkbox"/>	Name	Formula / Structure	ExactMass	ID
<input checked="" type="checkbox"/>	Cinobufagin 1 spectrum	C ₂₆ H ₃₄ O ₆ 	442.23554	

First Prev 1 Next Last (Total 1 Page) ▲ Results Top

Gambar 5. Hasil pencarian senyawa oleh massbank

Adapun hasil yang didapatkan dari pencarian menggunakan massbank menunjukkan identifikasi senyawa target dan disertai dengan berat molekul, struktur molekul dan golongan senyawa. Berdasarkan hasil identifikasi dari spektrum massa Gambar (b) maka spektra dengan berat molekul 443,612 m/z dipilih menjadi senyawa target karena pada spektra tersebut terdapat fragmen dengan berat molekul 442,235 m/z sebagai [M+H]⁺. Senyawa tersebut adalah cinobufagin. Berdasarkan hasil identifikasi massbank, melaporkan bahwa cinobufagin adalah senyawa turunan dari steroid. Cinobufagin merupakan

turunan dari senyawa steroid yang berfungsi sebagai antikanker. Menurut penelitian Sahid *et al.* (2013) menyatakan bahwa senyawa steroid berfungsi untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel dengan mengikat protein. Steroid bertindak pada penghambatan DNA topoisomerase II untuk mencegah siklus sel kanker. Selain itu menurut Herlina (2009) hasil isolasi dari daun *E. variegata* diperoleh senyawa turunan steroid yang menunjukkan adanya aktivitas antikanker terhadap sel payudara T47D.

Gambar (c) (keterangan gambar halaman 43) menampilkan spektra-spektra untuk puncak ke-2 dengan waktu retensi 1,389 menit. Berdasarkan spektrum massa yang terbentuk, setelah diidentifikasi maka spektra dengan berat molekul 751,615 m/z tidak menunjukkan adanya senyawa target yang diperoleh. Uji LC-MS yang digunakan untuk mendeteksi senyawa pada ekstrak daun lindur menggunakan metode ion positif dan sistem yang digunakan oleh LIPI adalah ESI (*Electrospray Ionisation*). Mode ion positif digunakan karena \pm 90% senyawa yang terdeteksi pada mode ion positif. Adapun hasil identifikasi dugaan senyawa ekstrak kasar daun lindur dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Senyawa dugaan hasil LC-MS ekstrak daun lindur (*B. gymnorrhiza*)

Waktu Retensi	Berat Molekul (m/z)	Senyawa Dugaan	Rumus Molekul	Golongan
1,079	442,612	Cinobufagin [M+H] ⁺	C ₂₆ H ₃₄ O ₆	Steroid

