

**Penelusuran Metabolit Sekunder Fraksi Nonpolar Kulit
Batang Tumbuhan Mahoni (*S. Mahagoni* jacq)**

SKRIPSI

oleh:

UDRIKA LAILATUL QODRI

105090207111003



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**Penelusuran Metabolit Sekunder Fraksi Nonpolar Kulit
Batang Tumbuhan Mahoni (*S. Mahagoni jacq*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh:

**UDRIKA LAILATUL QODRI
105090207111003**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Penelusuran Metabolit Sekunder Fraksi Nonpolar Kulit Batang Tumbuhan Mahoni (*S. Mahagoni* jacq)

oleh:

Udrika Lailatul Qodri
105090207111003

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada Agustus 2014
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Masruri, S.Si.,M.Si.,Ph.D
NIP. 197310202002121001

Dr. Edi Priyo Utomo, MS
NIP. 195712271986031003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Edi Priyo Utomo, MS
NIP. 195712271986031003

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Udrika Lailatul Qodri
NIM : 105090207111003
Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul:
Penelusuran Metabolit Sekunder Fraksi Nonpolar Kulit Batang
Tumbuhan Mahoni (*S. Mahagoni jacq*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata skripsi yang saya tulisterbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima. Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2014
Yang menyatakan,

(Udrika Lailatul Qodri)
105090207111003

Penelusuran Metabolit Sekunder Fraksi Nonpolar Kulit Batang Tumbuhan Mahoni (*S. Mahagoni* Jacq)

ABSTRAK

Mahoni spesies *Swietenia mahagoni* Jacq. merupakan tanaman yang banyak tumbuh dan telah dibudidayakan di Indonesia, namun masih sangat terbatas kajian terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder sebagai penyusunnya. Tujuan penelitian ini adalah melakukan isolasi senyawa fraksi non-polar dari bagian kulit batangnya, serta melakukan analisis terhadap senyawa-senyawa penyusun dari fraksi ini. Metode yang digunakan untuk mencapai tujuan pertama adalah ekstraksi yang dilanjutkan dengan kromatografi menggunakan kolom. Sedangkan untuk menganalisis senyawa-senyawa adalah dengan spektrofotometri FTIR, UV-Vis, dan gas kromatografi-spektrometri massa (GCMS). Hasil isolasi didapat fraksi non-polar berupa cairan pekat berwarna kuning sebanyak 1,13 gram. Fraksi ini memberi indikasi positif adanya metabolit sekunder golongan alkaloid. Pemisahan dengan kolom kromatografi diperoleh 6 fraksi. Analisis fraksi IV diperoleh spektra FTIR ada indikasi gugus fungsi karbonil dan amina, dari spektrum UV-Vis mempunyai λ_{maks} 213,50 dan 270 nm. Sedangkan analisis dengan GCMS memberikan kemiripan dengan senyawa *5-(3,4-Dihydro-2-naphthalenyl)-3-[(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)methyl]pyridazine* memiliki nilai SI sebesar 100% dan Analisis dengan LCMS mengarah pada senyawa *erucic acid* (Area:12,84 %), *1-(1,5-dimethyl-4-hexyl-4-methyl) benzene* (Area:4,49%), *o-decyl hydroxylamine* (Area:2,19%), *2,4-bis (1,1-dimethylethyl)phenol* (Area:1,77%), *dodecanoic acid* (Area: 13,52%).

Kata kunci: mahoni, *swietenia mahagoni*, alkaloid, fitokimia, metabolit sekunder.

Investigation of Secondary Metabolite of Non-polar Fraction from Mahoni's Bark (*Swietenia mahagony* Jacq.)

ABSTRAK

Mahagony species (*Swietenia mahagony* Jacq.) in Indonesia has been grown and become an important commodity in forestry. However, information toward its phytochemistry was not fully reported yet. This research focused to isolate the non-polar secondary metabolite composed the bark, and also analyzed the chemicals including its structures. Extraction and chromatography was applied to isolate the secondary metabolite, meanwhile structure elucidation was undergone by means of infra red (FTIR) and ultra violet-visible (UV-Vis) spectrophotometry, as well as gas chromatography-mass spectrometry (GCMS). The result provided non-polar fraction in 1.13 gram as a yellow concentrated liquid. This fraction showed a positive indication for alkaloid using Dragendorff reagent. Further separation under column chromatography provided 6 sub-fractions. Farther analysis was undertaken only for the four fraction. It has carbonyl and amine groups from FTIR spectra, and also provides λ_{maks} 230,13 nm dan 270 nm from UV-Vis spectrum. Moreover, the GCMS spectra matched to the 5-(3,4-Dihydro-2-naphthalenyl)-3-[(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)methyl]pyridazine. The spectra has 100% similarity index (SI) with it. Analysis with LCMS leads to compound *erucic acid* (Area:12,84 %), *1-(1,5-dimethyl-4-hexyl-4-methyl)benzene* (Area:4,49%), *o-decyl hydroxylamine* (Area:2,19%), *2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol* (Area:1,77%), *dodecanoic acid* (Area : 13,52%).

Keywords: mahagony, *swietenia mahagony*, alkaloid, phytochemistry, secondary metabolite.

KATA PENGANTAR

Puji syukur senantiasa terucap atas kehadiran Allah yang dengan berkah dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "Penelusuran Metabolit Sekunder Fraksi Nonpolar Kulit Batang Tumbuhan Mahoni (*S. Mahagoni* jacq)", sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang.

Terselesaikannya skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bantuan, serta bimbingan dari berbagai pihak. Dengan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Masruri, S.Si,M.Si,Ph.D selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan banyak bimbingan serta arahan selama proses penyusunan proposal skripsi, pelaksanaan penelitian, hingga selesainya penulisan skripsi.
2. Dr. Edi Priyo Utomo, MS selaku Dosen Pembimbing II dan yang telah banyak memberikan masukan dan bantuannya selama penelitian hingga penulisan skripsi.
3. Semua dosen, staf pengajar serta semua karyawan Universitas Brawijaya yang telah membantu penulis selama masa studi.
4. Teman-teman dan semua pihak yang telah memberi dukungan serta doa hingga selesainya skripsi ini

Penulis persembahkan tulisan ini teruntuk kedua orang tua yang telah mendukung penuh segala aktivitas penulis selama studi. Tugas akhir ini tentunya masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik serta saran dalam penyempurnaan tugas akhir ini.

Malang, Agustus 2014

Penulis,

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan masalah	2
1.3 Batasan masalah	2
1.4 Tujuan penelitian	2
1.5 Manfaat penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Mahoni	4
2.2 Metabolit sekunder	5
2.3 Penelitian terkait kandungan mahoni	5
2.4 Spektrofotometer <i>fourier transform infra red</i> (FTIR)	9
2.5 Spektrofotometer UV-vis	9
2.6 Kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS)	9
2.7 Kromatografi cair-spektrometri massa (LC-MS)	10
2.8 Kromatografi lapis tipis (KLT)	10
2.9 Metode ekstraksi	10
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan tempat Penelitian.....	12
3.2 Alat penelitian	12
3.3 Sampel dan bahan penelitian.....	12
3.4 Tahapan penelitian	12
3.5 Prosedur kerja.....	13
3.5.1 Preparasi sampel.....	13
3.5.2 Ekstraksi soxhlet	13
3.5.3 Analisis fitokimia sampel kulit batang.....	13
3.5.4 Partisi untuk mendapatkan fraksi nonpolar	14

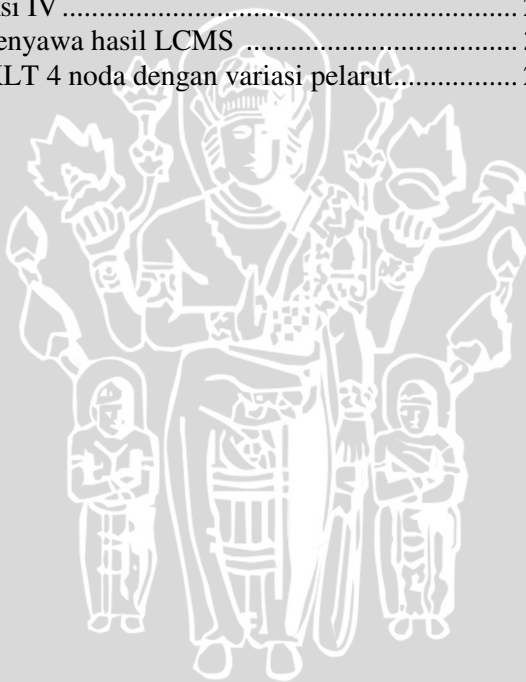
3.5.5 Pemisahan senyawa nonpolar.....	14
3.5.5.1 Pemisahan senyawa isolat dengan kromatografi lapis tipis (KLT).....	14
3.5.5.2 Pemisahan senyawa isolat dengan kromatografi kolom.....	14
3.5.5.3 Pemisahan dengan KLT preparatif.....	15
3.5.6 Analisis senyawa	15
3.5.6.1 Analisis dengan spektrofotometer FTIR	15
3.5.6.2 Analisis dengan UV-vis	15
3.5.6.3 Analisis GCMS	15
3.5.6.4 Analisis LCMS.....	16
BAB IV PEMBAHASAN	17
4.1 Preparasi sampel.....	17
4.2 Ekstraksi soxhlet.....	17
4.3 Analisis fitokimia sampel kulit batang	17
4.4 Isolasi senyawa nonpolar.....	18
4.5 Hasil kromatografi kolom, KLT, UV-vis, IR, GCMS dan LCMS.	20
4.6 KLT preparatif.....	28
V PENUTUP	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1: Pohon mahoni.....	4
Gambar 2.2: Senyawa bioaktif serbuk batang kulit batang mahoni	6
Gambar 2.3: Struktur 3,4,5-trietil-6-metoksi-2-metil-1,2-dihidropiridin.....	6
Gambar 2.4: Struktur 3,6,7-trimethoxy-4-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline.....	6
Gambar 4.1: Reaksi antara senyawa alkaloid dengan reagen Dragendrof yang membentuk kompleks Bismut-alkaloid	19
Gambar 4.2: Hasil KLT fraksi IV.....	22
Gambar 4.3: Spektrum UV-Vis dari sampel fraksi IV	22
Gambar 4.4: Spektra IR fraksi IV.....	22
Gambar 4.5: Kromatogram dan spektra senyawa fraksi IV analisis dengan GCMS.....	23
Gambar 4.6: Kromatogram LCMS sampel fraksi IV	25
Gambar 4.7: Spektra massa hasil LCMS.....	26
Gambar 4.8: Struktur hasil analisis senyawa.....	28
Gambar 4.9: Spektra IR noda 1	30

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1: Analisis senyawa ekstrak metanol tumbuhan <i>T. Connaroides</i> famili Meliaceae.....	7
Tabel 4.1: Hasil analisis fitokimia kulit batang kayu mahoni	18
Tabel 4.2: Hasil analisis fitokimia fraksi n-heksan.....	19
Tabel 4.3: Variasi pelarut untuk kromatografi kolom fraksi nonpolar kulit batang mahoni	20
Tabel 4.4: Analisis KLT tiap tabung hasil kolom kromatografi.....	21
Tabel 4.5: Tabulasi senyawa dari library GCMS	24
Tabel 4.6: Tabulasi waktu retensi dan persen area kromatogram LCMS fraksi IV	25
Tabel 4.7: Tabulasi senyawa hasil LCMS	27
Tabel 4.8: Hasil uji KLT 4 noda dengan variasi pelarut.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Diagram Alir.....	36
A.1 Preparasi larutan	36
A.2 Uji fitokimia sampel kulit batang	36
A.2.1 Uji saponin.....	36
A.2.2 Uji flavonoid.....	36
A.2.3 Uji fenolik Hidrokuinon	37
A.2.4 Uji triterpenoid	37
A.2.5 Uji tanin	37
A.2.6 Uji alkaloid	38
A.3 Ekstraksi soxhlet.....	38
A.4 Partisi untuk mendapatkan senyawa nonpolar...	38
A.5 Kromatografi kolom	39
A.6 KLT preparatif.....	39
LAMPIRAN B. Preparasi larutan.....	40
B.1 Pembuatan larutan HCL 2M.....	40
B.2 Pembuatan larutan NaOH 1M.....	40
B.3 Pembuatan larutan FeCl ₃ 1%	40
LAMPIRAN C. Analisis LCMS.....	41
C.1 Kromatogram	41
C.2 Spektra massa	43
LAMPIRAN D. Dokumentasi Penelitian	47
D.1 Preparasi Sampel	47
D.2 Ekstraksi soxhlet.....	47
D.3 Partisi mendapatkan fraksi nonpolar	48
D.4 Uji fitokimia ekstrak metanol	48
D.5 Uji fitokimia ekstrak n-heksan	49
D.6 Uji KLT fraksi I,II,III,dan IV	49
D.7 KLT preparatif fraksi IV.....	50
C.8 KLT dengan variasi pelarut noda 1.....	50
D.9 Hasil KLT Preparatif	51
C.10 Hasil ekstrak pekat metanol dan n-heksan.....	51

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang berada dikawasan daerah tropis. Keanekaragaman tumbuhan sangat berlimpah di indonesia. Berbagai tumbuhan ini dapat bermanfaat sebagai obat-obatan tradisional dan sebagai sumber bahan-bahan kimia alami yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan-bahan industri. Pada umumnya bioaktivitas senyawa kimia dari tumbuhan terdapat sebagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid dan lain-lain.

Sejak 20 tahun terakhir, tanaman mahoni banyak dibudidayakan masyarakat Indonesia karena potensi kayunya mempunyai nilai ekonomis yang tinggi. Mahoni ditanam dalam skala besar, terutama di daerah-daerah kering di wilayah Indonesia. Di Pulau Jawa, jumlah pohon mahoni yang ditanam masyarakat mencapai 40 juta batang pertahun, sedangkan diluar Pulau Jawa jumlahnya mencapai 5,3 juta batang pertahun [1]. Kulit dan biji mahoni digunakan secara tradisional sebagai bahan baku obat [3]. Namun masih banyak yang belum dieksplorasi.

Beberapa tanaman yang satu famili dengan mahoni, yaitu *Meliaceae* telah banyak diteliti dan menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder bioaktif [4]. Hasil uji pendahuluan menunjukkan sampel kulit mahoni (*S. mahagoni* Jacq) yang diambil dari tanaman mahoni lokal asal Malang, memberi indikasi bahwa ekstrak kulit mahoni mengandung senyawa metabolit sekunder golongan saponin, alkaloid dan fenolik. Hasil ini identik dengan yang dilaporkan oleh Suhesti, dkk [5] dan Falah, dkk [17], terhadap mahoni spesies *Swietenia macrophylla* yang diketahui mengandung metabolit sekunder golongan triterpenoid, saponin, fenolik, flavonoid, tanin, katekin, dan epikatekin.

Penelitian terkait spesies *Swietenia macrophylla* banyak dilaporkan kandungan bioaktivitas *crude* ekstrak etanol ataupun metanolnya, terutama menggunakan sampel tanaman dari daerah Asia Selatan, seperti India [7-8], dan Bangladesh [9], serta dari Malaysia [10-11]. Lebih detil mengenai uji bioaktivitas *crude* ekstrak

antara lain dilaporkan oleh Rahman, dkk. [9] yang menguji ekstrak etanol dari *S. mahagoni* sebagai antinosisseptik dan neurofarmakologis . Penelitian lain oleh Sahgal, dkk [10] yang menguji toksisitas ekstrak metanol *S. mahagoni* terhadap larva udang, serta aktivitas antioksidannya [11]. Dari hasil penelitian-penelitian diatas, terutama untuk sampel tanaman *S. mahagoni* asal Indonesia belum banyak dilaporkan. Sehingga usulan penelitian ini mencoba menelusuri metabolit sekunder senyawa penyusunnya, terutama dari fraksi non-polar.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas, serta hasil uji pendahuluan terhadap ekstrak kulit batang mahoni (*S. mahagoni*) menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder golongan saponin, alkaloid dan fenolik. Penelitian ini difokuskan pada penelusuran senyawa pada fraksi non-polar, maka rumusan permasalahan adalah:

1. Bagaimana isolasi senyawa pada fraksi non-polar?
2. Senyawa apa saja yang terkandung dalam fraksi non-polar?

1.3 Batasan Masalah

1. Fraksi non-polar diambil dari ekstrak metanol yang telah diambil fraksi alkaloidnya dengan cara penambahan asam.
2. Isolasi fraksi non polar diambil dengan cara partisi menggunakan n-heksana (fraksi n-heksana).

1.4 Tujuan Masalah

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Melakukan isolasi senyawa fraksi non-polar dari kulit batang kayu mahoni dengan metode ekstraksi dan kromatografi kolom (*S. mahagoni* Jacq).
2. Melakukan analisis senyawa penyusun fraksi nonpolar kulit batang kayu mahoni (*S. mahagoni* Jacq).

1.3 Manfaat Masalah

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah didapatkan informasi senyawa penyusun fraksi non-polar dari kulit batang kayu mahoni (*S. mahagoni* Jacq.), serta dalam jangka panjang penelitian ini adalah terbukanya peluang pemanfaatan kulit batang kayu mahoni secara maksimal dalam pembuatan obat atau jenis industri lainnya.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Mahoni

Mahoni merupakan tanaman asli dari Meksiko (Yucatan), bagian tengah dan utara Amerika Selatan (Wilayah Amazona). Penanaman secara luas terutama di Asia Selatan dan Pasifik, juga di Afrika Barat [12]. Sedangkan di Indonesia, menurut Martawijaya, dkk [3], pohon mahoni menyebar di seluruh Pulau Jawa. Mahoni merupakan jenis pohon yang tumbuh pada tipe iklim A sampai D, yaitu daerah bermusim kering atau basah. Ketinggian tempat yang sesuai untuk tanaman ini berkisar antara 0 – 1.000 m dpl. Tinggi tanaman ini mencapai 40 m dengan diameter batang mencapai lebih dari 100 cm . Pohon akan berbuah setelah tanaman berumur 12 tahun atau lebih, pada bulan Juli-Agustus. Buah yang masak berwarna coklat hingga coklat [3].



Gambar 2.1: Pohon mahoni

Mahoni diklasifikasikan dalam famili Meliaceae dan mempunyai berbagai macam spesies. Dua spesies yang banyak ditanaman dibudidayakan di Indonesia adalah *Swietenia macrophylla* King (mahoni daun besar) dan *Swietenia mahagoni* Jacq (mahoni daun kecil) [3]. Mahoni (*S. Mahagoni* Jacq) diklasifikasikan sebagai berikut [13]:

Divisio : Spermatophyta Famili : Meliaceae
Sub divisi: Angiospermae Subfamili : Swietenidae

Kelas : Dikotiledonae

Genus : *Swietenia*

Ordo : Rutales

Spesies : *Swietenia mahagoni* Jacq

2.2 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan produk metabolisme yang ditemukan pada suatu kelompok taksonomi organisme tertentu, bukan senyawa esensial untuk hidup dan tumbuh, dan dibiosintesis dari satu atau lebih metabolit primer dengan jalur biosintesis yang berbeda dibanding jalur metabolisme pada umumnya. Penggolongan metabolit sekunder selain didasarkan pada struktur senyawanya juga didasarkan pada jalur biosintesis metabolit sekunder itu terbentuk. Beberapa golongan metabolit sekunder utama adalah terpenoid, poliketida, fenilpropanoid, flavonoid, stilbenoid dan alkaloid. Pembentukan metabolit sekunder terjadi melalui proses biosintesis yang menggunakan prekursor senyawa-senyawa metabolit primer [14].

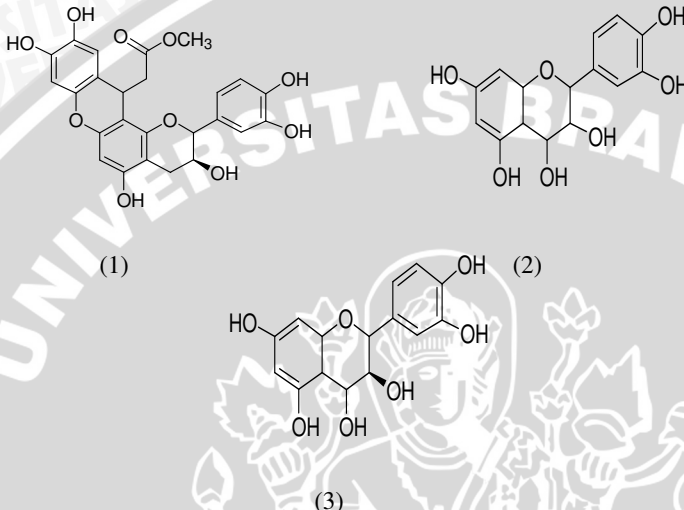
2.3 Penelitian Terkait Kandungan Mahoni

Beberapa tumbuhan dari famili Meliaceae yang telah diteliti menunjukkan bahwa tumbuhan tersebut mengandung senyawa bioaktif. Kandungan kimia mahoni dipengaruhi oleh iklim dan cuaca serta habitat masing-masing mahoni. Penelitian oleh Falah, dkk (2010)[4] mengenai kulit batang tumbuhan mahoni (*Swietenia macrophylla* King) diekstraksi dengan metanol. Hasil fitokimia dari ekstrak metanol kulit kayu mahoni ini mengungkapkan adanya flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin dan alkaloid [4].

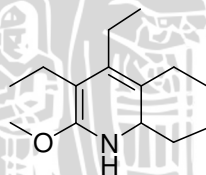
Penelitian mengenai kulit kayu mahoni *Swietenia macrophylla* King telah dilakukan oleh Falah, dkk. (2008) dari ekstrak aseton serta pengujian aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan kulit kayu mahoni mengandung senyawa katekin, epikatekin, dan krofilanin, (gambar 2.2) serta ekstrak senyawa flavonoidnya aktif sebagai antioksidan [18].

Isolasi dan identifikasi senyawa alkaloid pada biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) ekstrak metanol-asam nitrat yang dilakukan oleh Mursiti, dkk [15] memberikan laporan adanya kandungan alkaloid pada ekstrak metanol-asam nitrat biji mahoni yaitu dengan rumus kimia 3,4,5-trietil-6-metoksi-2-metil-1,2-

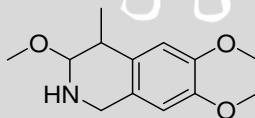
dihidro-piridin (Gambar 2.3). Hal yang serupa juga dilaporkan oleh Ayuni dan Sukarta pada tahun 2013 [16] dalam penelitiannya yaitu ekstra metanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) mengandung alkaloid dengan rumus molekul 3,6,7-trimethoxy-4-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline (Gambar 2.4).



Gambar 2.2: Senyawa bioaktif serbuk kulit batang mahoni. (1) swietemakrofilanin, (2) katekin, (3) epikatekin (Falah, dkk) [18]



Gambar 2.3: Struktur 3,4,5-triethyl-6-metoksi-2-metil-1,2-dihidropiridin (Mursiti, dkk)[15]



Gambar2.4: Struktur 3,6,7-trimethoxy-4-methyl-1,2,3,4- tetrahydro-isoquinoline(Ayuni dan Sukarta)[16]

Pada penelitian yang dilakukan oleh Senthilkumar,dkk [29] melaporkan senyawa-senyawa bioaktif hasil analisis dengan GCMS-MS pada tumbuhan satu famili dengan *S. Mahagoni* Jacq. Terhadap ekstrak metanolnya. Diperoleh senyawa-senyawa dengan berat molekul seperti pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1: Analisis senyawa ekstrak metanol tumbuhan *T. Connaroides* famili Meliaceae [29]

No.	Waktu Retensi	Nama Senyawa	Berat Molekul	Rumus Molekul
1	5,457	Methyl 1 1',13'-dioxo-12'-aza-[4,4,3]-pro	325	C ₁₉ H ₁₉ NO ₄
2	5,609	4a,8a(methaniminomethano)naphthalene-9,11	275	C ₁₈ H ₁₃ NO ₂
3	6,022	Naphthalene	128	C ₁₀ H ₈
4	6,562	7-Tetradecene	196	C ₁₄ H ₂₈
5	6,990	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one,2,6,6-trimet	152	C ₁₀ H ₁₆ O
6	7,473	Isotridecanol	200	C ₁₃ H ₂₈ O
7	7,623	Octane	114	C ₈ H ₁₈
8	8,603	1-bromo-2-chloro-1,1-difluro-2-tridecan (Hexacosane)	330	C ₁₃ H ₂₂ BrClF ₂
9	9,024	Tetrahydroxy myrcenol	158	C ₁₀ H ₂₂ O
10	9,742	Dodecyl acrylate(Oleic acid)	240	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
11	9,868	Benzene,1-(1,5-dimethyl-4-hexyl-4-methyl	202	C ₁₅ H ₂₂
12	10,032	17-pentatriacontane	490	C ₃₅ H ₇₀
13	10,182	Phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	206	C ₁₄ H ₂₂ O
14	10,448	Silane-trichlorodocosyl	442	C ₂₂ H ₄₅ C ₁₃ Si
15	10,716	2-Undecanethiol,2-methyl	202	C ₁₂ H ₂₆ S
16	10,865	Pentadecane	212	C ₁₅ H ₃₂
17	10,988	Undecane	156	C ₁₁ H ₂₄

18	11,078	Decane	142	C ₁₀ H ₂₂
19	11,318	Hydroxylamine,o-decyl	173	C ₁₀ H ₂₃ NO
20	11,628	Dodecanoic acid	200	C ₁₂ H ₂₄ O ₂
21	12,103	2-Hexyl-1-octanol	214	C ₁₄ H ₃₀ O
22	13,374	Germacrane-B	210	C ₁₅ H ₃₀
23	13,389	Erucic acid	338	C ₁₅ H ₃₀
24	14,392	Phthalic acid, cyclobetyl octyl ester	332	C ₂₀ H ₂₈ O ₄
25	14,961	Nonadecane	268	C ₁₉ H ₄₀
26	15,187	Hexadecanoic acid methyl ester (palmitic acid)	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
27	15,256	Serverogenin acetate	544	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₀
28	15,256	Dotriacontane	450	C ₃₂ H ₆₆
29	15,256	Isochiapin B	346	C ₁₉ H ₂₂ O ₆
30	15,256	Phytol	296	C ₂₀ H ₄₀ O
31	16,052	Oleic acid	282	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
32	18,345	Ethyl linoleate	308	C ₂₀ H ₃₄ O ₂
33	18,427	Ethyl oleate	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
34	20,162	2-(3-Innoxyl 3-5- aminopyridol (2,3- dipyrimidine)	261	C ₁₅ H ₁₁ N ₅
35	20,990	O,O' - Biphenol,4,4',6,6' - Tetra-Butyl	410	C ₂₈ H ₄₂ O ₂
36	21,711	Eicosane	282	C ₂₀ H ₄₂
37	23,657	Phthalic acid octyl tridec- 2-yn-1-yl ester	456	C ₂₉ H ₄₄ O ₇
38	27,482	6,10,14,18,22-Tetra Cosa pentane 2-ol, 3- Bromo,2,6,10,15	506	C ₃₀ H ₅₁ BrO
39	27,485	Solanesol	630	C ₄₅ H ₇₄ O
40	27,481	Lycopersen	546	C ₄₀ H ₆₆

2.4 Tinjauan terkait Spektrofotometri *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Prinsip kerja spektrofotometer FTIR yaitu suatu sumber infra merah akan mengemisikan radiasi energi infra merah dan berjalan melalui bagian optik dari spektrofotometer. Kemudian gelombang sinar akan melewati interferometer dan sinar ini dipisahkan dan digabungkan kembali untuk menghasilkan suatu pola interferensi. Hasil dari detektor adalah interferogram, yaitu suatu daerah waktu yang menggambarkan pola interferensi. FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsional yang ada pada suatu senyawa. Kemudian interferogram diubah menjadi suatu pita spektrum tunggal (*single beam spectrum*) oleh FFT *Fast Fourier Transform*) [19].

2.5 Tinjauan terkait Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri ultraviolet-visibel adalah metode analisis kimia dengan pengukuran jumlah serapan radiasi senyawa pada panjang gelombang 200-800 nm terhadap radiasi UV-Vis. Radiasi ini akan diserap oleh kromofor ataupun gugus fungsi dari senyawa yang dianalisis untuk terjadinya transisi elektronik. Perpindahan atau transisi elektronik ini secara umum spesifik pada gugus fungsi atau kromofor tertentu dari molekul organik. [20].

2.6 Tinjauan terkait Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS)

GCMS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa secara kualitatif. Gas kromatografi merupakan salah satu teknik kromatografi yang menggunakan prinsip perbedaan interaksi komponen-komponen dalam campuran terhadap fase diam dan fase bergerak dalam kolom [20]. Sedangkan prinsip spektroskopi massa (MS) yaitu senyawa yang dianalisis ditembak dengan elektron yang berenergi tinggi (sekitar 70 eV), sehingga akan terpecah menghasilkan fragmen-fragmen ion positif, fragmen netral, dan ataupun fragmen radikal. Dalam instrumen, hanya fragmen-fragmen ion yang bermuatan tersebut dapat dipisahkan menurut massanya (massa per muatan atau sering disingkat dengan m/z) [21].

2.7 Tinjauan terkait Kromatografi LCMS

Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LCMS) merupakan teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Analisis LCMS digunakan untuk penelitian biosintesis. Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah atau mengidentifikasi ion menurut massa. Sistem LCMS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang disesuaikan dengan jenis kepolaran suatu senyawa yang dilakukan analisis [30].

2.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan kromatografi cair-cair dengan menggunakan eluen organik sebagai larutan pengembang dalam bejana KLT. KLT banyak digunakan untuk pemisahan senyawa kimia yang larut dalam lipid, yaitu steroid, karotenoid, kuinon sederhana, dan klorofil, karena cepat dan peka terhadap senyawa kimia yang memiliki sifat yang hampir sama berdasarkan gugus fungsi dari senyawa tersebut. KLT terdapat 2 jenis, yaitu KLT analitik dan KLT preparatif. KLT analitik digunakan untuk uji kualitatif dengan penjerap tipis berkisar 0,10 – 0,25 mm, sedangkan KLT preparatif digunakan untuk sampel agar mudah dikerok yaitu dengan ketebalan silika antara 0,5 – 2,0 mm dan ukuran pelat sekitar 20 x 20 cm dan 40 x 40 cm [23] yaitu lebih lebar dari pada KLT analitik.

2.9 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode isolasi penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Pada umumnya simplisia yang mengandung senyawa aktif dapat larut pada pelarut-pelarut organik bersifat volatil dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein. Senyawa-senyawa aktif dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Senyawa aktif yang diketahui dalam simplisia mempermudah dalam pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. [24]. Hasil yang diperoleh dari hasil ekstraksi simplisia nabati atau simplisia hewani disebut sebagai ekstrak. Ekstrak bisa dalam bentuk kering, kental dan cair. [25].

Fitokimia adalah cabang kimia organik bahan alam dan biokimia tumbuhan, serta yang berkaitan erat dengan keduanya. Bidang perhatian dari fitokimia adalah aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimia, biosintesis, perubahan serta metabolismenya, penyebaran secara ilmiah, dan fungsi biologisnya. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, saponin, dan kuinon, serta senyawa kimia lainnya dapat dilakukan uji pendahuluan terhadap tanaman dengan uji fitokimia [26].



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Maret sampai Juni 2014 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Sampel dan Bahan Penelitian

Sampel kulit batang mahoni (*S. mahagoni* Jacq.) diperoleh dari tanaman disekitar kampus UB dan dari tanaman rakyat di Kabupaten Malang. Sampel dari mahoni sebelumnya telah dilakukan uji taksonomi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya oleh Dr. Djati Batoro, MS.

Bahan solven yang digunakan mempunyai grade teknis dan digunakan setelah melalui proses re-distilasi. Sedangkan bahan yang lain seperti yang tertulis. natrium hidoksida (Bratachem), besi(III) klorida (Smart Lab), asam sulfat pekat (SAP), asam klorida (Smart Lab), aquades, metanol (Smart Lab), n-hexan (Smart Lab), diklorometan (Smart Lab), klorida asetat (Smart Lab), magnesium sulfat (Bratachem), kloroform (Bratachem), pre-coated TLC GF₂₅₄(Merck), silika gel 60 (column chromatography grade, Merck).

3.3 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan antara lain seperangkat alat ekstraktor soxhlet, *rotary evaporator vacuum* (Buchi), *hot plate*, oven (MEMMERT), kromatografi kolom (diameter 5 cm, panjang 40 cm dengan solven reservoir), spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu 1601), spektrofotometer inframerah (Shimadzu FTIR QP8400S), GCMS (Shimadzu QP2010S), LCMS (Asella 1250), neraca analitik (Ohaos), dan seperangkat alat gelas.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yang meliputi:

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi soxhlet
3. Analisis fitokimia sampel kulit batang

4. Partisi untuk mendapatkan fraksi non-polar
5. Kromatografi kolom
6. KLT preparatif
7. Analisis senyawa
8. Pelaporan hasil penelitian

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Preparasi sampel

Kulit kayu tumbuhan mahoni (*Swietenia mahagoni* jacq) dipotong kecil- kecil. Potongan dikeringkan didalam Oven dengan suhu 100 °C, setelah kering kulit kayu digiling hingga mendapatkan serbuk kulit kayu mahoni sebanyak 8 Kg.

3.5.2 Ekstraksi Soxhlet

Penelitian yang dilakukan oleh Brazdovicova, dkk [2], Sebanyak 200 g serbuk kulit kayu mahoni dimasukkan dalam ekstraktor soxhlet, kemudian ditambahkan 1 L pelarut metanol [28,17]. Selanjutnya dilakukan ekstraksi selama 15 jam. Ekstrak yang diperoleh dievaporasi dengan rotary evaporator vakum hingga pelarut habis menguap sehingga didapatkan ekstrak pekat metanol (*Crude extract*).

3.5.3 Analisis fitokimia sampel kulit batang

Prosedur ini dilakukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Falah, dkk [4] yang dilakukan beberapa uji pada analisis fitokimia yaitu :

1. Uji saponin: Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambahkan dengan 2 mL air dan dipanaskan selama 5 menit. Campuran tersebut didinginkan, dikocok atau diaduk. Jika membentuk busa yang permanen maka menunjukkan adanya saponin.
2. Uji flavonoid: ekstrak 0,1 g direndam dengan 2 mL metanol dan dipanaskan. Filtrat ditambahkan dengan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan pembentukan warna merah.
3. Uji fenolik hidrokuinon: ekstrak 0,1 g direndam dengan 2 mL metanol, dipanaskan dan disaring. Filtrat ditambahkan dengan 1 tetes NaOH 1 M. Adanya fenolik hidrokuinon ditandai dengan pembentukan warna merah.

4. Uji triterpenoid: ekstrak 0,1 g ditambahkan dengan 2 mL kloroform, reagen *Lieberman Burchard* (3 tetes dikloroasetat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat) Adanya triterpenoid ditandai dengan warna ungu kemerahan.
5. Uji tanin: ekstrak 0,1 g ditambahkan dengan 2 mL H₂O dan dipanaskan selama beberapa menit. Campuran disaring dan filtrat ditambahkan dengan FeCl₃ 1% (b/v). Adanya tannin ditandai dengan pembentukan biru gelap atau warna hitam kehijauan.
6. Uji alkaloid: ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes reagen Dragendrof. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat

3.5.4 Partisi Untuk Mendapatkan Fraksi Non Polar

Ekstrak metanol (*Crude extract*) yang diperoleh dari proses ekstraksi dan evaporasi diatas ditambahkan dengan HCl 2 M yaitu dalam 50 g ekstrak pekat metanol ditambah 100 mL HCl dan 100 mL aquades menggunakan corong pisah 250 mL. Fasa organik yang terbentuk disuspensi dengan n-heksan sehingga membentuk dua lapisan. Lapisan organik ditampung dalam erlenmeyer 250 ml dan dievaporasi dengan rotari evaporator vakum. *Crude* n-heksan disebut sebagai fraksi non-polar atau fraksi n-heksan kemudian ditampung dalam botol sampel untuk penelitian lebih lanjut, antara lain dilakukan uji KLT dan kromatografi kolom.

3.5.5 Pemisahan senyawa non-polar

3.5.5.1 Pemisahan senyawa isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan dengan KLT digunakan plat KLT dengan ukuran 3x6 cm. Ekstrak n-heksan ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat KLT menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan di udara dan dielusi sampai jarak 8 cm dalam bejana kaca. Eluen yang digunakan adalah campuran larutan n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (7:3).

3.5.5.2 Pemisahan senyawa isolat dengan kromatografi kolom

Pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan absorbent silika gel. Dibuat *slurry* silika gel dengan solven n-heksan:etil asetat. Kemudian dimasukkan dalam kolom, dan dibiarkan hingga kolom

terisi silika dan tidak ada gelembung udara dalam kolom. Sampel dimasukkan dalam kolom. Kemudian pelarut ditambahkan secara bergradien mulai dari n-heksan 100% dilanjut menaikkan kepolaran n-heksan:etil asetat 2%, 5%, 10% dan seterusnya hingga 60% (100:0 - 0:100 n-heksan/etil asetat). Disaat bersamaan kolom dialirkan dan fraksi ditampung dalam tabung reaksi. Pengambilan fraksi dilakukan setiap 15 mL larutan yang keluar dari kolom. Kemudian setiap fraksi yang didapat dilakukan uji KLT.

3.5.5.3 Pemisahan dengan KLT preparatif

Pemisahan dengan KLT preparatif digunakan plat KLT dengan ukuran 20x10 cm. Sampel ditotolkan pada jarak 1,5 cm dari tepi bawah plat KLT menggunakan pipa kapiler. Pelarut yang digunakan adalah yang menghasilkan pemisahan terbaik yaitu pelarut diklorometan:n-heksan (6:4). Noda dalam plat KLT yang terbentuk dikerok dan dilarutkan dalam pelarut. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi atau penyaringan, filtrat yang diperoleh dilakukan identifikasi.

3.5.6 Analisis Senyawa

3.5.6.1 Analisis dengan Spektrofotometer FTIR

Sampel dianalisis dengan metode *thin film*, yaitu sampel dalam pelarut kloroform ditetaskan pada plat natrium klorida. Kemudian dianalisis spektra inframerahnya pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} . Spesifikasi alatnya adalah Shimadzu 8400S, interferometer tipe Michelson, sistem optik sinar tunggal, sumber inframerah keramik globular, S/N rasio 20000:1, scanning range 400 – 4000 cm^{-1} , media sampel adalah NaCl plate.

3.5.6.2 Analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Sebanyak 2 mL filtrat senyawa dibuat dalam larutan, kemudian dimasukkan dalam kuvet untuk dilakukan analisis dengan alat spektrofotometer UV-Vis.

3.5.6.3 Analisis dengan GCMS

Sampel diambil secukupnya kedalam botol vial kemudian ditambahkan pelarut diklorometan sebanyak 2 ml untuk dilakukan analisis GCMS.

Kondisi operasional GCMS-QP2010S SHIMADZU yang dipakai ialah :

Jenis kolom	: Restek Rtx-5MS
Fasa diam	: Diklometan
Temperatur injeksi	: 310,00 °C
Temperatur oven kolom	: 180,0 °C
Tekanan	: 13,7 kPa
Total alir	: 53,1 mL/min
Kolom alir	: 0,31 mL/min
Linear velocity	: 21,5 cm/sec
Split ratio	: 158,4
Ion Source Temperature	: 250,00 °C
Interface Temperature	: 300,00 °C

3.5.6.4 Analisis dengan LCMS

Sampel diambil secukupnya kedalam botol vial kemudian ditambahkan pelarut diklorometan sebanyak 2 ml untuk dilakukan analisis LCMS. Kondisi operasional LCMS Asella 1250 yang dipakai adalah :

Jenis kolom	: Hypersil Gold 100mm × 2.1mm × 1,9µm
Fase Gerak	: 0.1 % asam formiat dalam Air dan 0.1 % asam formiat dalam acetonitrile.
Volume injeksi	: 10 µL
Scan	: 200-650 m/z
Scan Time	: 0.13
Spray voltage	: 3200
Durasi	: 10 min
Ionisasi	: ionisasi electrospray (ESI) mode positif

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Pada tahap ini sampel kulit batang tumbuhan mahoni spesies *S. mahagoni* Jacq yang diambil di daerah sekitar Universitas Brawijaya dikeringakan dibawah sinar matahari untuk menghilangkan kandungan air sebelum dilakukan pemotongan. Pemotongan dilakukan untuk mempermudah proses penggilingan kulit kayu mahoni sehingga dihasilkan serbuk sebanyak 8 kg. Kulit kayu mahoni memiliki struktur kayu yang keras sehingga proses pengeringan, pemotongan dan penggilingan dapat memaksimalkan untuk menghasilkan serbuk halus kulit kayu mahoni.

4.2 Ekstraksi Soxhlet

Hasil ekstraksi dari 200 g simplisia kering kulit batang kayu *S. mahagoni* Jacq. dengan metode soxhletasi dihasilkan ekstrak kental sebanyak 21,75 g. Jumlah total serbuk kulit kayu mahoni yang telah diekstraksi adalah 8 kg sehingga menghasilkan ekstrak pekat metanol 873,841 g. Dalam setiap proses soxhletasi terjadi 6 kali sirkulasi yang berlangsung selama 10 jam sehingga memaksimalkan telarutnya senyawa-senyawa yang larut pada pelarut metanol. Pemilihan metode ekstraksi dengan cara soxhletasi karena memungkinkan dapat menarik senyawa-senyawa yang terkandung dari kulit batang *S. mahagoni* Jacq tersebut secara maksimal. Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak adalah metanol. Dari penelitian sebelumnya, metanol lebih banyak melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder dibandingkan etanol, kloroform ataupun air [28]. Hasil ekstraksi mahoni dengan metanol dievaporasi vakum untuk menghilangkan pelarut metanolnya sehingga memperoleh ekstrak pekat metanol. Proses evaporasi vakum dilakukan pemanasan pada suhu 55⁰C sehingga metanol dapat menguap secara keseluruhan.

4.3 Analisis Fitokimia Sampel Kulit Batang

Analisis fitokimia sampel kulit batang kayu mahoni dilakukan pada ekstrak pekat metanol. Hasil pemeriksaan melalui analisis fitokimia dapat disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1: Hasil Analisis Fitokimia Kulit Batang Kayu Mahoni

No	Uji	Ekstrak Metanol
1	Alkaloid	Positif
2	Flavonoid	Positif
3	Saponin	Positif
4	Triterpenoid	Negatif
5	Tanin	Positif
6	Fenolik	Positif

Tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kayu *Swietenia Mahagoni* Jacq mengandung alkaloid yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat melalui penambahan reagen Dragendrof. Uji flavonoid juga positif dengan memberikan hasil warna merah ketika ditambah asam sulfat pekat. Pada uji saponin terbentuk busa saat dikocok dengan air. Uji tanin memberikan sinyal positif dengan menghasilkan warna hijau kehitaman pada penambahan FeCl_3 1% (b/v). Uji fenolik juga positif yang ditunjukkan dengan warna merah pada penambahan NaOH 10% (b/v). Sedangkan pada uji triterpenoid tidak terbentuk warna ungu kemarahan tetapi warna coklat muda sehingga diasumsikan ekstrak metanol kulit batang kayu mahoni tidak mengandung triterpenoid. Pada hasil tersebut berkaitan dengan jenis pelarut yang digunakan dimana pelarut metanol yang digunakan untuk mengekstraksi tumbuhan dapat melarutkan senyawa-senyawa seperti tanin, saponin, polifenol, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid [6].

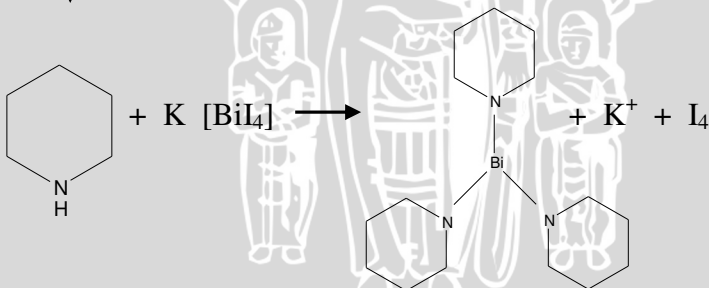
4.4 Isolasi Senyawa Non Polar

Ekstrak metanol yang diperoleh dari proses soxhletasi kemudian diambil fraksi alkaloidnya dengan metode pengasaman (menggunakan asam klorida 2 M) yang membentuk endapan berwarna coklat tua. Endapan ini yang merupakan fraksi alkaloid, sedangkan pada bagian fasa organik dipisahkan dan ditambah dengan n-heksan. Dari 873,841 g ekstrak pekat metanol dapat menghasilkan 1,13 gram *crude* fraksi n-heksan yang berwarna kuning dan lengket.

Tabel 4.2: Hasil Analisis Fitokimia fraksi n-heksan

No	Uji	Ekstrak Metanol
1	Alkaloid	Positif
2	Flavonoid	Negatif
3	Saponin	Negatif
4	Triterpenoid	Negatif
5	Tanin	Negatif
6	Fenolik	Negatif

Analisis fitokimia dari fraksi n-heksan yang diperoleh disajikan pada Tabel 4.2. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksan adalah senyawa golongan alkaloid. Keberadaan senyawa ini memberi respon positif pada fraksi dengan terbentuknya endapan berwarna coklat hingga oranye ketika direaksikan dengan penambahan reagen Dragendrof (campuran antara bismut nitrat dan kalium iodida. Penambahan kalium iodida berlebih secara *in situ*). Model reaksi alkaloid dengan reagen ini seperti pada gambar 4.1.



Endapan coklat-oranye

Gambar 4.1: Reaksi antara senyawa alkaloid dengan reagen Dragendorf yang membentuk kompleks bismut-alkaloid.

4.5 Hasil Kromatografi Kolom

Ekstrak n-heksan diperiksa dengan KLT menghasilkan 6 noda menggunakan penampak noda yaitu sinar UV 254 nm dan penampak noda sinar UV 366 nm. Dari hasil KLT menunjukkan masih banyaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksan. Untuk memisahkannya dilakukan kromatografi kolom.

Ekstrak n-heksan sebanyak 1gram dipisahkan dengan kromatografi Kolom menggunakan fase gerak n-heksan: etil asetat secara gradien dari perbandingan 100:0 sampai perbandingan 0:100 dengan menggunakan fase diam silika gel sebanyak 100 g. Variasi pelarut pada proses pemisahan menggunakan kromatografi kolom dapat disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3: Variasi pelarut untuk kromatografi kolom fraksi non-polar kulit batang mahoni

No.	n-Heksan (ml)	Etil Asetat (ml)	Perbandingan pelarut
			n-heksan : Etil. A.
1	300	-	10:0
2	270	30	9:1
3	240	60	8:2
4	210	90	7:3
5	180	120	6:4
6	150	150	5:5
7	120	180	4:6
8	90	210	3:7
9	60	240	2:8
10	30	270	1:9
11	-	300	0:10

Hasil kolom ditampung setiap 15 ml dalam botol vial, setiap variasi pelarut menghasilkan 20 fraksi atau 20 botol vial. Masing-masing fraksi diperiksa dengan KLT menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (7:3) dengan penampak bercak sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Setelah diidentifikasi dengan KLT diperoleh noda-noda seperti yang dirangkum pada tabel 4.4.

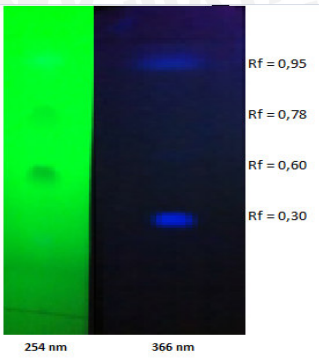
Tabel 4.4: Hasil analisis KLT* tiap tabung hasil kolom kromatografi

Fraksi	No tabung	UV 366 nm**	UV 254 nm**	Berat (mg)
I	1-20	ND	ND	-
II	21-40	2 noda (c,c)	1 noda(c)	60
III	41-60	2 noda (b,b)	4 noda (c,c,b,b)	210
IV	61-80	2 noda (a,c)	2 noda (b,b)	290
V	81-100	2 noda (c,c)	4 noda (c,c,b,b)	140
VI	101-200	ND	ND	-

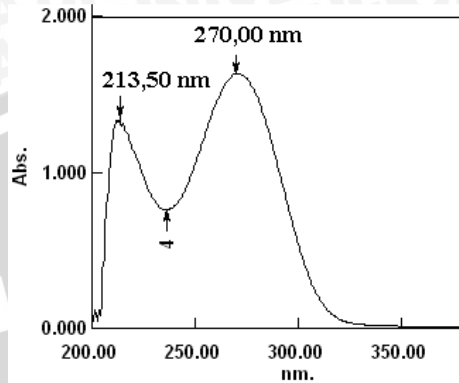
Keterangan: *Pelarut KLT adalah etil asetat:n-heksan (3:7). Kategori ** (a) Terang, ** (b) Sedang, ** (c) Samar. ND: tidak ada noda yang terdeteksi. Hasil uji KLT terdapat pada lampiran C.3

Visualisasi hasil KLT untuk fraksi IV ditunjukkan pada gambar 4.2 yang memiliki berat lebih besar dari pada fraksi II,III, dan V serta menunjukkan warna noda yang lebih menonjol (kategori a)dari pada noda dari fraksi II,III, dan V . Hasil ini juga terlihat bahwa fraksi IV mengandung minimal 4 senyawa yang terdeteksi. Yaitu senyawa dengan nilai R_f 0,95; 0,78; 0,60; dan 0,30 menggunakan eluen dikorometan:n-heksan (6:4) karena menghasilkan pemisahan dengan perbedaan jarak R_f yang lebih jelas (Gambar 4.2) . Dua senyawa dapat dideteksi dengan penyinaran lampu UV pada gelombang 254 nm, yaitu senyawa R_f 0,78 dan 0,60. sedangkan dua senyawa yang lain terdeteksi pada lampu UV gelombang 366 nm, yaitu senyawa R_f 0,95 dan 0,30.

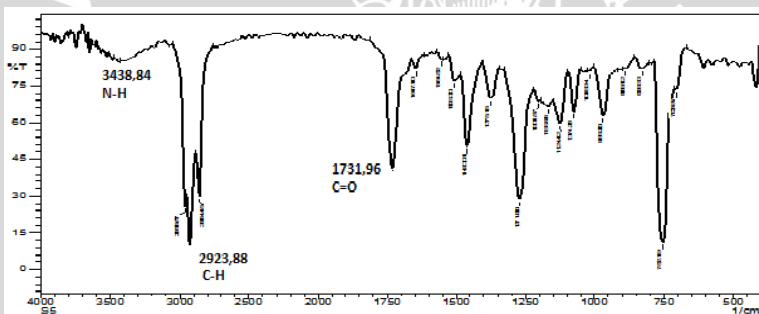
Analisis lebih lanjut dari fraksi IV ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan 2 nilai panjang gelombang maksimum (Gambar 4.3). Yaitu λ_{maks} di 213,50 dan 270,00 nm. Diperkirakan λ_{maks} di 213,50 nm adalah transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$, sedangkan λ_{maks} di 270,00 nm adalah adanya transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ dari gugus kromofor senyawa penyusun fraksi IV.



Gambar 4.2: Hasil KLT fraksi IV pelarut DCM:n-heksan (6:4)



Gambar 4.3: Spektrum UV-Vis dari sampel fraksi IV

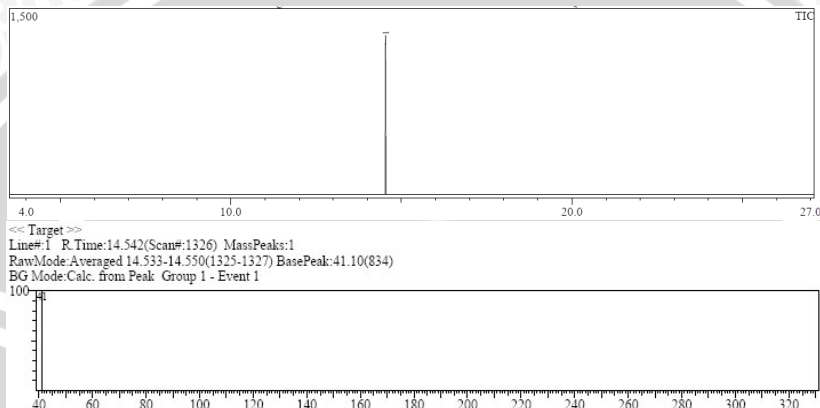


Gambar 4.4: Spektra IR fraksi IV

Hasil analisis dengan spektrofotometer FTIR diperoleh spektra seperti pada gambar 4.4. Spektra tersebut menunjukkan adanya serapan pada $34380,84 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan di daerah ini adalah karakteristik untuk vibrasi ulur gugus N-H dari senyawa golongan amina, alkaloid. Bergeser ke kanan dari pita ini adalah serapan pada rentang $2923,67$ hingga $2864,45 \text{ cm}^{-1}$. Daerah ini adalah karakteristik untuk daerah vibrasi ulur C-H dari gugus metil, metilen. Sedangkan serapan medium pada $1731,96 \text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah serapan untuk vibrasi ulur gugus karbonil (C=O). Puncak serapan yang lemah pada daerah $1074,28 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-N. Sehingga dapat digabung dari sebelumnya dapat disimpulkan bahwa struktur

senyawa yang berhasil diisolasi adalah golongan alkaloid yang mengandung gugus N-H, C=O, serta C-N.

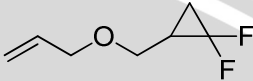
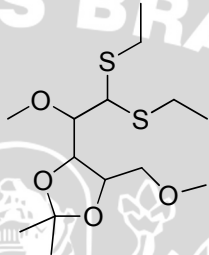
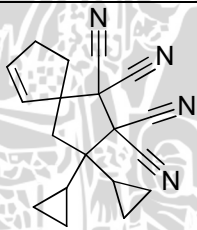
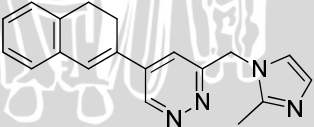
Fraksi IV ini juga dilakukan analisis lebih lanjut dengan GCMS. Data kromatogram beserta spektra massanya disajikan pada gambar 4.5.



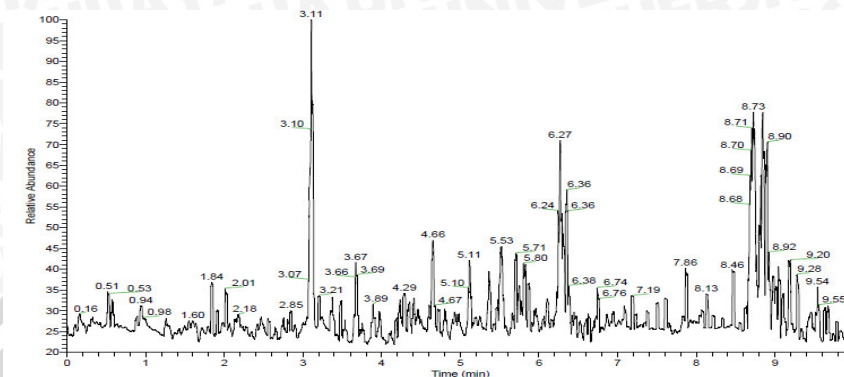
Gambar 4.5: Kromatogram (atas) dan spektra massa (bawah) senyawa fraksi IV hasil analisis dengan GCMS

Instrumen GCMS ternyata memberikan kromatogram dengan 1 puncak, yaitu puncak dengan waktu retensi 14,538 menit. Pencacahan spektra massa dari puncak tersebut memberikan data spektra massa dibawahnya. Hasil analisis kemiripan atas spektra massa dengan Library GCMS (Wiley7.LIB) memberikan arah pada senyawa seperti pada Tabel 4.5. Berdasarkan data ini serta penelusuran indeks kemiripan (SI), serta informasi dari data spektra yang lain. Usulan senyawa alkaloid sebagai penyusun fraksi IV yang teridentifikasi dari GCMS adalah *5-(3,4-dihidro-2-naftalenil)-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)metil]piridazin*.

Tabel 4.5: Tabulasi senyawa dari library GCMS

Library	Rumus Molekul	Struktur
Wiley7.LIB		
Senyawa 1 (SI 100%)	$C_7H_{10}F_2O$ BM :148	 <i>2-Propenyl (2,2-Difluorocyclopropyl)-methyl Ether</i>
Senyawa 2 (SI 100%)	$C_{14}H_{28}O_4S_2$ BM: 324	 <i>4-[-2,2-Bis(ethylsulfanyl)-1-methoxyethyl]-5-(methoxymethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolane</i>
Senyawa 3 (SI 100%)	$C_{19}H_{18}N_4$ BM : 302	 <i>3,3-(Dicyclopropyl)spiro[4.4]non-6-ene-1,1,2,2-tetracarbonitrile</i>
Library ChemSpider [28]	$C_{19}H_{18}N_4$ BM : 302	 <i>5-(3,4-Dihidro-2-naftalenil)-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)metil]-piridazin</i>

Hasil analisis LCMS dari fraksi IV diperoleh kromatogram dan tabulasi persen areanya (Gambar 4.6 dan Tabel 4.6)

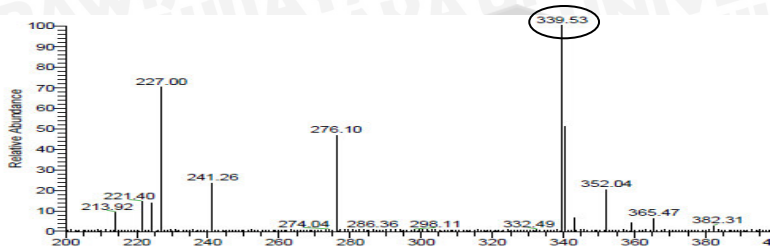


Gambar 4.6: Kromatogram LCMS sampel fraksi IV

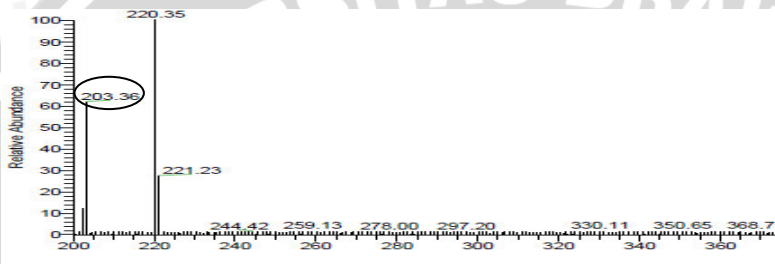
Tabel 4.6: Tabulasi waktu retensi dan persen area kromatogram LCMS fraksi IV

No	RT (min.)	Area	Area (%)	No	RT (min.)	Area	Area (%)
1	0,17	498	0,48	19	5,83	1368	1,33
2	0,51	1145	1,11	20	5,87	1428	1,39
3	0,96	533	0,52	21	6,27	9502	9,23
4	1,8	388	0,38	22	6,37	5468	5,31
5	1,84	1718	1,67	23	6,45	508	0,49
6	2,01	1237	1,20	24	6,73	1752	1,70
7	2,58	207	0,20	25	7,21	1390	1,35
8	2,83	1010	0,98	26	7,63	1062	1,03
9	3,11	13218	12,84	27	7,86	1827	1,77
10	3,49	1263	1,23	28	8,13	1197	1,16
11	3,67	2791	2,71	29	8,46	590	0,57
12	3,8	1176	1,14	30	8,73	13914	13,52
13	4,29	1341	1,30	31	8,85	9454	9,18
14	4,66	3319	3,22	32	8,9	7055	6,85
15	4,81	778	0,76	33	9,2	2321	2,25
16	5,11	2398	2,33	34	9,28	1861	1,81
17	5,53	4621	4,49	35	9,55	1496	1,45
18	5,71	2253	2,19	36	9,67	847	0,82

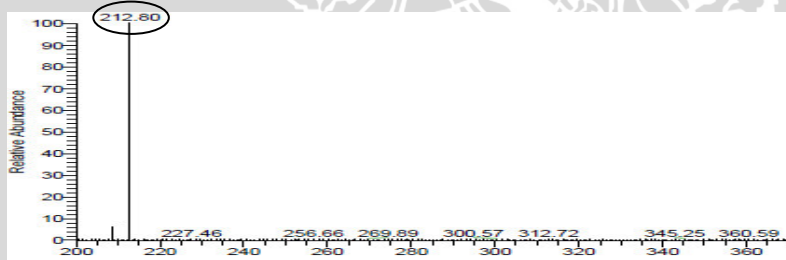
RT: 3,11



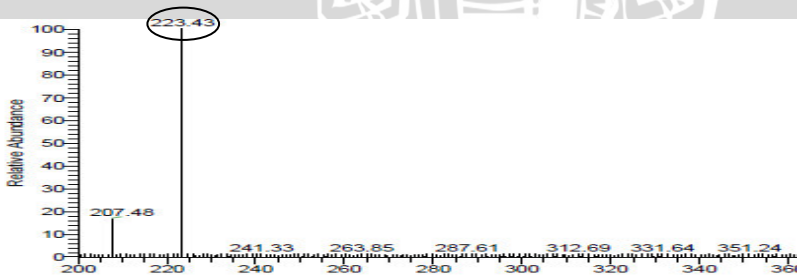
RT: 5,53



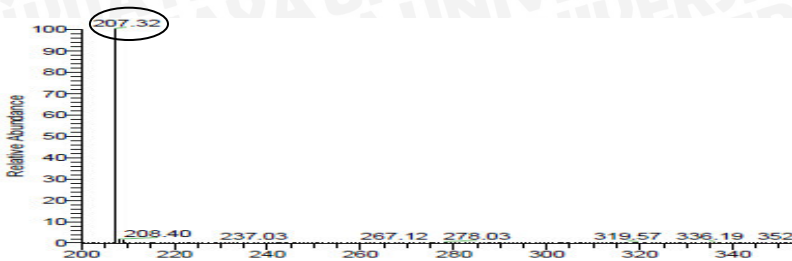
RT: 5,71



RT: 7,86



RT: 8,73



Gambar 4.7: Spektra massa hasil LCMS.

Hasil analisis dengan LCMS pada kromatogram memberikan serapan yang sangat banyak sedangkan untuk spektra massanya diperoleh berat molekul senyawa untuk setiap waktu retensi. Tabulasi senyawa masing-masing waktu retensi dan nama senyawanya dapat dilihat pada tabel 4.7.

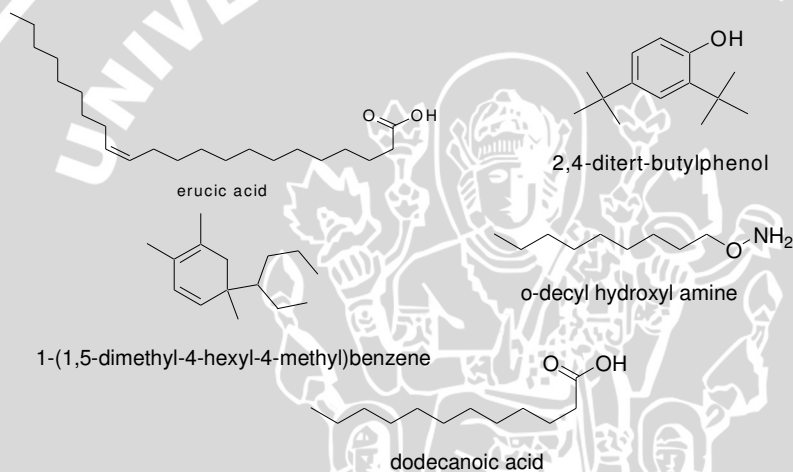
Tabel 4.7: Tabulasi senyawa hasil LCMS

Waktu Retensi	m/z	M+1	M+23	M+39	% Area	Analisis Senyawa*
3,11	338,53	339,53			12,84	<i>Erucic acid</i> (C ₂₂ H ₄₂ O ₂)
5,53	202,36	203,36			4,49	<i>1-(1,5-dimethyl-4-hexyl-4-methyl)Benzene</i> , (C ₁₅ H ₂₂)
5,71	173,80			212,80	2,19	<i>o-Decyl Hydroxylamine</i> , (C ₁₀ H ₂₃ NO)
7,86	206,32	207,32			1,77	<i>2,4-bis (1,1-dimethylethyl) Phenol</i> (C ₁₄ H ₂₂ O)
8,73	200,43		223,43		13,52	<i>Dodecanoic acid</i> (C ₁₂ H ₂₄ O ₂)

*Senthilkumar,dkk (2012)[29]

Tabel 4.7 merupakan hasil senyawa yang dilaporkan dari penelitian yang telah dilakukan oleh Senthilkumar, dkk [29],

tumbuhan yang diteliti yaitu satu family dengan *S. Mahagoni* Jacq. dimana hasil penelitian ini telah dimuat pada tinjauan pustaka tabel 2.1. Berat molekul yang berhasil dianalisis menggunakan LCMS dilakukan pengurangan proton (M+1), atom Na (M+23), atau atom K (M+39), dimana M adalah berat molekul senyawa. Tujuan pengurangan berat molekul atom N dan K karena dikhawatirkan adanya kontaminan pada sampel. Hal ini dikarenakan sampel yang dianalisis merupakan sampel tumbuhan sehingga diduga sampel mengandung mineral-mineral yang berasal dari tumbuhan itu sendiri. Struktur senyawa yang telah dianalisis dapat dilihat pada gambar 4.8.



Gambar 4.8: Struktur hasil analisis senyawa

4.6 KLT Preparatif

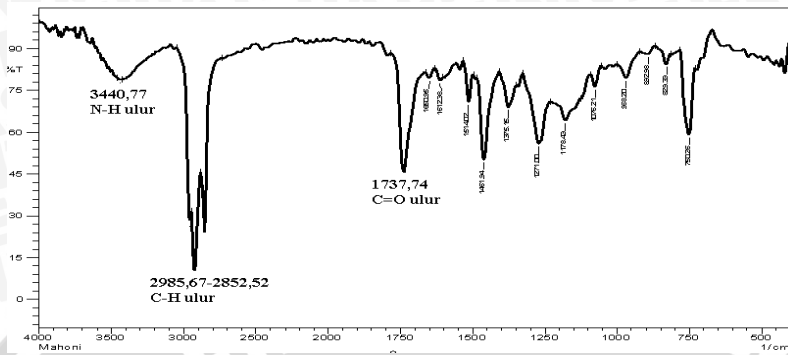
Pemisahan dengan metode KLT preparatif digunakan perbandingan eluen diklorometan:n-heksan (6:4) pada fraksi IV hasil kolom kromatografi dimana pemisahan pada metode ini digunakan plat KLT ukuran 20x10 cm dengan jarak batas tolan sampel (batas bawah) dan batas eluen (batas atas) adalah 7,5 cm. Empat noda pada fraksi IV (Gambar 4.2) masing-masing dikerok serta ditampung dalam botol kemudian disaring dengan pelarut diklorometan untuk memisahkan serbuk silika gel dengan senyawa yang menempel pada silika gel tersebut. Hasil saringan setiap noda dilakukan uji KLT

dengan variasi pelarut untuk memastikan kemurniannya. Hasil uji KLT dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8: Hasil uji KLT 4 noda dengan variasi pelarut

No	Nomer botol	Rf (cm)	Variasi pelarut	Jumlah noda
1	Noda 1	0,3	Diklorometan:n-heksan (6:4)	1
			Diklorometan:n-heksan (4:6)	1
			Etil asetat:n-heksan(3:7)	1
			Etil asetat:n-heksan (5:5)	1
			Etanol:diklorometan (2:8)	1
2	Noda 2	0,6	Diklorometan:n-heksan (6:4)	1
			Diklorometan:n-heksan (4:6)	2
3	Noda 3	0,78	Diklorometan:n-heksan (6:4)	1
			Diklorometan:n-heksan (4:6)	2
4	Noda 4	0,95	Diklorometan:n-heksan (6:4)	1
			Diklorometan:n-heksan (4:6)	3

Hasil uji KLT yang dipaparkan pada Tabel 4.8 menunjukkan bahwa noda 1 dengan Rf 0,3 tetap dihasilkan 1 noda dalam 5 eluen yang berbeda jenis pelarut dan perbandingan pelarutnya. Hasil isolasi KLT preparatif Noda 1 ini dihasilkan berat 1,5 mg dengan warna kuning bening. Sedangkan dari spektra IR noda 1 pada gambar 4.9 dihasilkan puncak yang mirip dengan hasil IR fraksi IV (Gambar 4.4). terkait kemiripan spektra IR tersebut diduga noda 1 merupakan salah satu senyawa dari hasil analisis dengan LCMS (Tabel 4.7).



Gambar 4.9: Spektra IR Noda 1



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Isolasi senyawa pada fraksi non-polar dari kulit batang kayu mahoni (*S. mahagoni* Jacq) telah berhasil dilakukan. Pada proses ekstraksi diperoleh fraksi non-polar pekat berwarna kuning sebesar 1,13 g dari 873,841 g fraksi polar. Analisis fitokimia fraksi non-polar ini menunjukkan adanya alkaloid sebagai senyawa penyusunnya. Pemisahan dengan kromatografi kolom dari fraksi ini menghasilkan 4 fraksi. Hanya fraksi IV yang jumlahnya cukup banyak untuk diidentifikasi yaitu sebanyak 290 mg dan berupa padatan kuning bening.
2. Hasil analisis Fraksi IV menggunakan spektrometer UV-Vis dan FTIR mendukung data hasil yang diperoleh dari analisis GCMS yang mengarahkan pada senyawa *5-(3,4-dihidro-2-naftalenil)-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)metil]piridazin* dan analisis LCMS yang memberikan indikasi terhadap senyawa dengan persen area *erucic acid* (12,84 %), *1-(1,5-dimethyl-4-hexyl-4-methyl) benzene* (4,49%), *o-decyl hydroxylamine* (2,19%), *2,4-bis (1,1-dimethylethyl)phenol* (1,77 %), *dodecanoic acid* (13,52%)

5.2 Saran

Melihat jumlah fraksi yang diperoleh sebagai penyusun fraksi non-polar sangat kecil (dibawah 10 mg), untuk keperluan elusidasi struktur yang komprehensif maka kedepan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut langsung terhadap fraksi n-heksan ini dengan menggunakan sampel kulit kayu mahoni (*S. mahagoni* Jacq) yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sukadaryati, 2006, **Potensi hutan Rakyat di Indonesia dan Permasalahannya**, *Prosiding Seminar Hasil Litbang Hasil Hutan: 20* Bogor, 49-57, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan, Bogor.
- [2] Brazdovicova, B., Kostalova, D., Tomko, J., & HWANG, Y. J., 1980, **Isolation and identification of alkaloids from fruits of *Berberis thunbergii* DC**, *Chemicke Zvesti*, 34, 259-262.
- [3] Martawijaya A, I Kartasujana, Kadir K, dan Prawira SA, 1981, **Atlas Kayu Indonesia Jilid I**, Pusat Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Bogor.
- [4] Falah, S., Safithri, M., Katayama, T., dan Suzuki, T., 2010, **Hypoglycemic Effect of Mahogany (*Swietenia macrophylla* King) Bark Extracts in Alloxan-induced Diabetic Rats**, *Wood Research Journal*, 1, 89-94.
- [5] Suhesti TS, Dhadhang WK, Nuryanti, 2007, **Penjaringan senyawa antikanker pada kulit batang kayu mahoni (*Swietenia mahogani* Jacq) dan uji aktivitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* Leach**, *Jurnal Ilmiah Keperawatan*, 3, 155-162.
- [6] Prashant Tiwari, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, Harleen Kaur, 2011, **Phytochemical Screening and Extraction: A Review**, *International Pharmaceutica Scientia*, 1, 99-105.
- [7] T. R. Govindachari, B. Banumathy, Geetha Gopalakrishnan, G. Suresh, 1999, **6-Desoxyswietenine, a tetranortriterpenoid from *Swietenia mahogani***, *Fitoterapia*, 70, 106-108.
- [8] S Dewanjee, M Kundu, A Maiti, R Majumdar, A Majumdar, and SC Mandal, 2007, ***In Vitro* Evaluation of Antimicrobial Activity of Crude Extract from Plants *Diospyros peregrina*, *Coccinia grandis* and *Swietenia macrophylla***, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 6 (3): 773-778.
- [9] Md. Atiqur Rahman, Pollobi Akther, Debashish Roy, A. K. Das, 2010, **Antinociceptive and neuropharmacological activities of *swietenia mahogani* (L.) Jacq.**, *Pharmacology Online*, 3, 225-234.

- [10] Geethaa Sahgal, Surash Ramanathan, Sreenivasan Sasidharan, Mohd. Nizam Mordi, Sabariah Ismail, and Sharif Mahsufi Mansor, 2010, **Brine shrimp lethality and acute oral toxicity studies on *Swietenia mahagoni* (Linn.) Jacq. seed methanolic extract**, *Pharmacognosy Research*, 2 (4), 215–220.
- [11] Geethaa Sahgal, Surash Ramanathan, Sreenivasan Sasidharan, Mohd Nizam Mordi, Sabariah Ismail, and Sharif Mahsufi Mansor, 2009, ***In Vitro* Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seed Extracts**, *Molecules*, 14, 4476-4485.
- [12] Nurhasybi dan D. Sudrajat, 2001, **Informasi singkat benih: *Agathis loranthifolia* R.A. Salisbury**, Indonesia Forest Seed Project, Bandung.
- [13] Heyne, K., 1950, **Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III**, diterjemahkan oleh: Pengembangan dan Pusat Penelitian Kehutanan, Kementrian Kehutanan, Jakarta.
- [14] Raharjo, Tri Joko, 2013, **Kimia Hasil Alam**, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- [15] Mursiti, S., Matsjeh, S., Jumina, Mustofa, 2013, **Isolasi, Identifikasi, dan Elusidasi Struktur Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Metanol-Asam Nitrat dari Biji Mahoni Bebas Minyak (*S. Macrophylla*, King)**, *Jurnal MIPA*, 36 (2), 169-177.
- [16] Ayuni ,Putu Sri, Sukarta, Nyoman, 2013, **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid pada Biji Mahoni (*S. Mahagoni* Jacq)**, *Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA III*, 308-395, Singaraja.
- [17] Abu Arra Basma, Zuraini Zakaria, Lacimanan Yoga Latha, Sreenivasan Sasidharan, 2011, **Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of The Methanol Extracts of *Euphorbia hirta* L**, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 386-390.
- [18] S. Falah, T. Suzuki and T. Katayama, 2008, **Chemical Constituents from *Swietenia macrophylla* Bark and Their Antioxidant Activity**, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 (16), 2007-2012.

- [19] Khopkar, S.M., 1990, **Konsep Dasar Kimia Analitik**, UI-Press, Jakarta.
- [20] Christian, G.D., 2004, **Analytical Chemistry**, 6th ed, John Wiley and Sons, Inc, New York.
- [21] Silverstein, R.M., X. W. Francis, dan J.K. David, 2005, **Spectrometry Identification of Organic Compound 7^h edition**, John Willey and Sons Inc, USA.
- [22] Silverstein, R. L., Leung, L. L. K., Harpel, P. C., and Nachman, R. L, 1984, **Complex formation of platelet thrombospondin with plasminoge**, *Journal of Clinical Investigation*. 74, 1625-1633.
- [23] Nur, M., H. Adijuwana, 1989, **Teknik Pemisahan Dalam Analisis Biologis**, Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, IPB, Bogor.
- [24] Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (POM) Republik Indonesia, 2000, **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**, Halaman 1, 10-12, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- [25] Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (POM) Republik Indonesia, 1979, **Farmakope Indonesia**, Edisi III, Halaman 227, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- [26] Harborne, K., 1987, **Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**, Ed. Ke-2, diterjemahkan oleh: K. Padmawinata dan F. Soediro, ITB-Press, Bandung.
- [28] Struktur kimia dikutip dari labrary Chemspider.com, nomorID:8241316,<http://www.chemspider.com/ChemicalStructure.8241316.html?rid=6627d413-7306-41ea-a327-51b8c4875bcf>.diakses pada tanggal 5 Agustus 2014.
- [29] Senthikumar, N., Murugesan, S., B., Vijayalakshmi, K., 2012, **GC-MS-MS Analysis of *Trichilia connaroids* (Wight and Arn.) Benth (Meliaceae): A tree of ethnobotanical Records**, *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2 (2), 207-211.

- [30] Karisma Ginting, Maris, 2012, **Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa Asam Trans, Trans-Mukonat, Asam 4-Metil Hippurat Dalam Urin Sebagai Biomarker Paparan Benzena**, *Skripsi*, Fakultas MIPA/S1, Universitas Indonesia, Depok.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LAMPIRAN A. Diagram Alir

A.1 Preparasi Sampel

Kulit Kayu Mahoni

- Dipotong kecil-kecil
- Dikeringkan dibawah sinar matahari
- Kulit kayu mahoni digiling
- Serbuk kulit Kayu Mahoni

Hasil

A.2 Analisis Fitokimia Sampel Kulit Batang

A.2.1 Uji saponin

0,1 g ekstrak

- Ditambah 2 mL H₂O
- Dipanaskan 5 menit
- Didinginkan
- Dikocok
- Membentuk busa

Hasil

A.2.2 Uji flavonoid

0,1 g ekstrak

- Direndam dengan 2 mL Metanol
- Dipanaskan
- Disaring
- Filtrat ditambah 1 tetes H₂SO₄
- Membentuk pigmen merah

Hasil

A.2.3 Uji fenolik hidrokuinon

0,1 g ekstrak

- Direndam dengan 2 mL Metanol
- Dipanaskan
- Disaring
- Filtrat ditambah 1 tetes NaOH 1M
- Membentuk warna merah

Hasil

A.2.4 Uji triterpenoid

0,1 g ekstrak

- Ditambah dengan 2 mL kloroform
- Ditambah dikloroasetat
- Ditambah H₂SO₄
- Membentuk warna ungu kemerahan

Hasil

A.2.5 Uji tanin

0,1 g ekstrak

- Ditambah 2 mL H₂O
- Dipanaskan
- Disaring
- Filtrat ditambah FeCl₃
- Terbentuk Warna biru gelap atau hitam kehijauan

Hasil

A.2.6 Uji Alkaloid

0,1 g ekstrak

- ditambah metanol
- ditambah dengan reagen Dragendrof
- terbentuk endapan berwarna coklat

Hasil

A.3 Ekstraksi Soxhlet

Serbuk kulit batang

- Ditimbang 200 g
- Dimasukkan dalam ekstraktor soxhlet
- Ditambah 1 L metanol
- Dilakukan ekstraksi selama 15 jam
- Dilakukan Evaporasi untuk memperoleh ekstrak pekat (*Crude Metanol*)

Hasil

A.4 Partisi Untuk Mendapatkan Fraksi Nonpolar

E. pekat metanol

- Ditambah dengan HCL 2M untuk memisahkan alkaloidnya
- Fasa non alkaloid ditambah pelarut n-heksan dalam corong pisah
- Dikocok beberapa menit
- Ditampung fasa organik yang terbentuk
- Fasa organik dievaporasi untuk mendapatkan *crude n-heksan*

Hasil

Crude n-heksan

- Uji fitokimia
- Uji KLT dengan eluen n-heksan dan etil asetat (7:3)

Hasil

A.5 Kromatografi kolom

Kromatografi

- Fasa gerak yaitu etil asetat dan n-heksan dengan perbandingan 100:0–0:100
- Tetesan filtrat ditampung setiap 5 ml.
- Dilakukan uji KLT pada setiap fraksi yang diperoleh
- Filtrat yang mempunyai hasil KLT sama digabung menjadi fraksi
- Dilakukan analisis UV, IR, H-NMR, dan GC-MS

Hasil

A.6 KLT Preparatif

Plat KLT

- Dipotong ukuran 20x20 cm
- Tanda batas bawah totolan sampel 1 cm
- Jarak antara batas totolan sampel (batas bawah) dan batas pelarut (batas atas) 7,5 cm
- Eluen yang digunakan diklorometan:n-heksan (6:4)

Hasil

LAMPIRAN B. Preparasi Larutan

B.1 Pembuatan HCL 2M dari larutan HCL 32 %

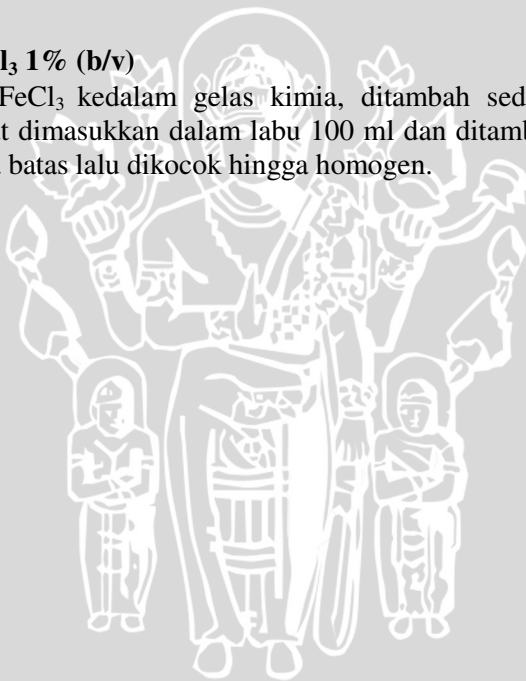
Dipipet 19,2 ml HCL pekat kedalam labu takar 1 L kemudian ditambah aquades hingga tanda batas pada labu takar lalu dikocok hingga homogen.

B.2 Pembuatan Larutan NaOH 1M

Ditimbang 4 gram NaOH kedalam gelas kimia kemudian ditambah sedikit aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu ditambah aquades hingga tanda batas serta dikocok hingga homogen.

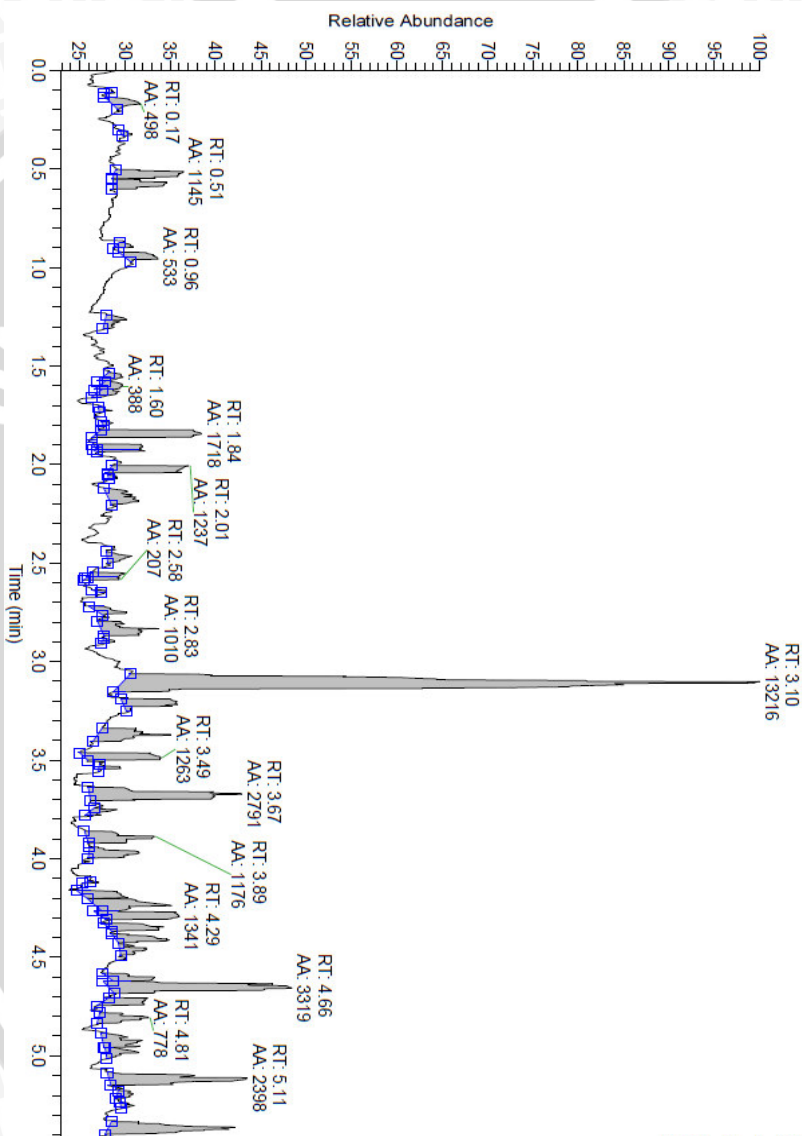
B.3 Pembuatan FeCl₃ 1% (b/v)

Ditimbang 1 gram FeCl₃ kedalam gelas kimia, ditambah sedikit aquades. Setelah larut dimasukkan dalam labu 100 ml dan ditambah aquades hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen.



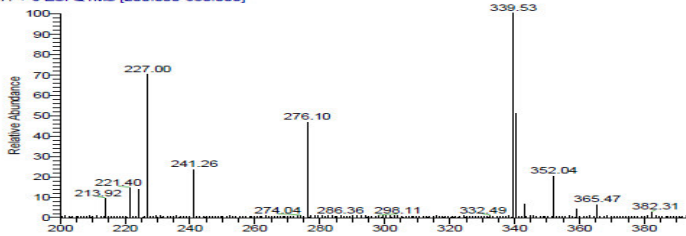
LAMPIRAN C. Analisis LCMS

C.1 Kromatogram



C.2 Spektra Massa

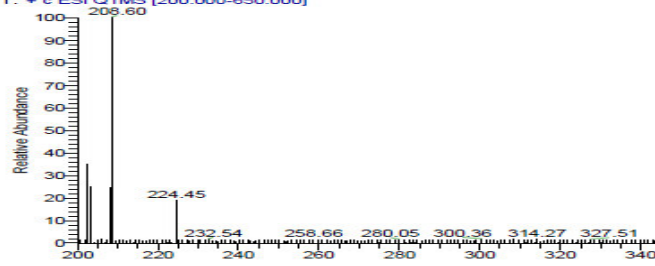
Alkaloids_200_600_inj_2 #1232-1265 RT: 3.05-3.14 AV: 34 NL: 6.77E2
T: + c ESI Q/TMS [200.000-650.000]



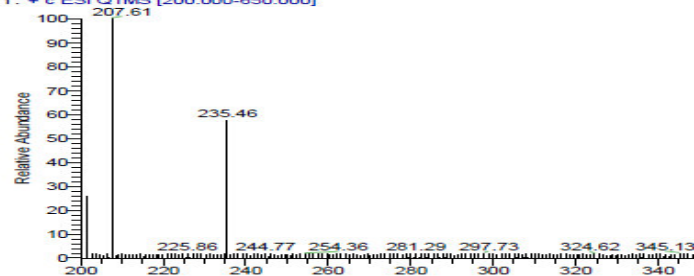
Alkaloids_200_600_inj_2 #1471-1504 RT: 3.65-3.73 AV: 34 NL: 1.97E2
T: + c ESI Q/TMS [200.000-650.000]



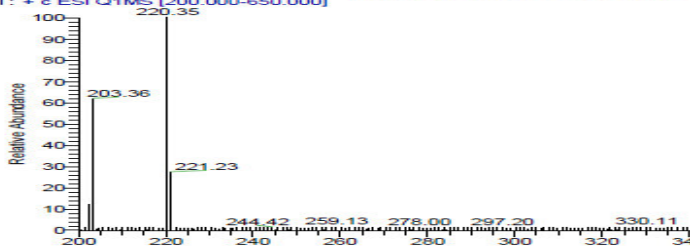
Alkaloids_200_600_inj_2 #1855-1888 RT: 4.60-4.68 AV: 34 NL: 3.69E2
T: + c ESI Q/TMS [200.000-650.000]



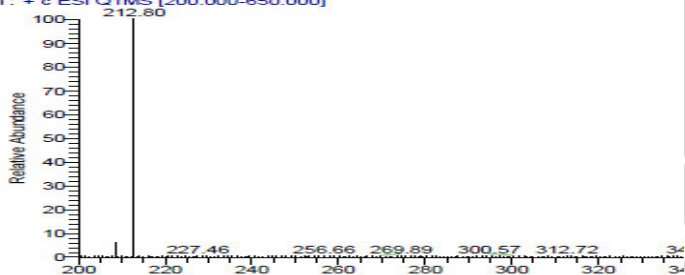
Alkaloids_200_600_inj_2 #2047-2075 RT: 5.07-5.14 AV: 29 NL: 2.91E2
T: + c ESI Q/TMS [200.000-650.000]



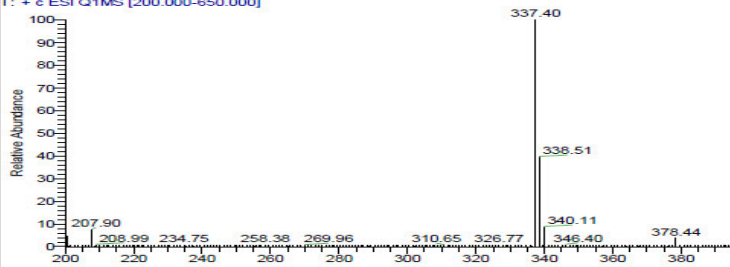
Alkaloids_200_600_inj_2 #2207-2244 RT: 5.47-5.56 AV: 38 NL: 3.77E2
T: + c ESI Q1MS [200.000-650.000]



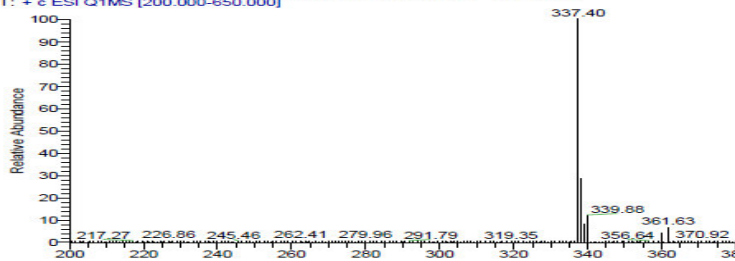
Alkaloids_200_600_inj_2 #2296-2305 RT: 5.69-5.71 AV: 10 NL: 1.50E3
T: + c ESI Q1MS [200.000-650.000]

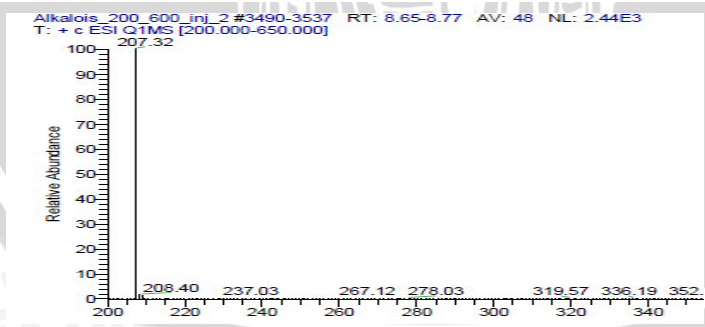
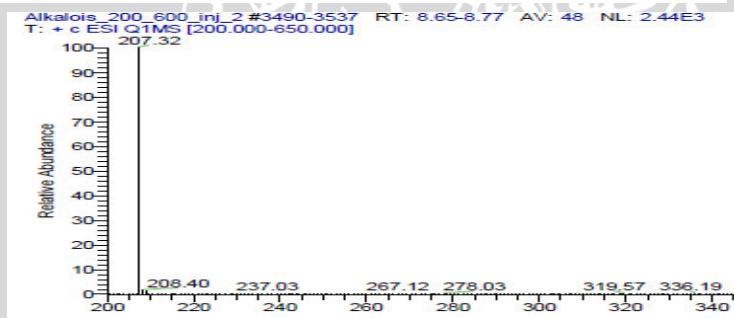
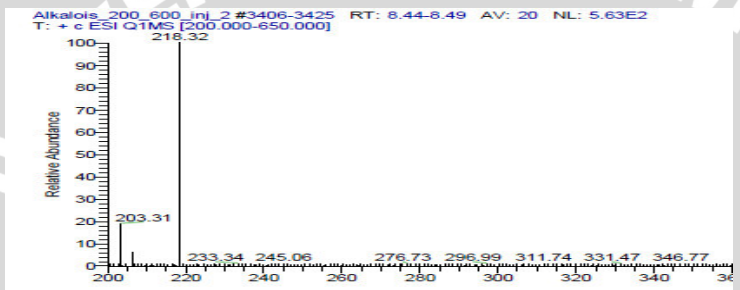
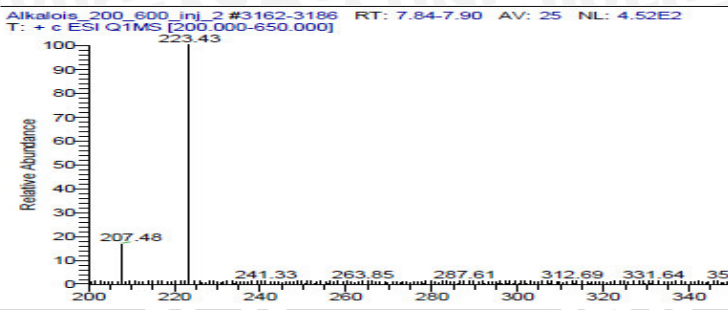


Alkaloids_200_600_inj_2 #2507-2558 RT: 6.21-6.34 AV: 52 NL: 8.51E2
T: + c ESI Q1MS [200.000-650.000]

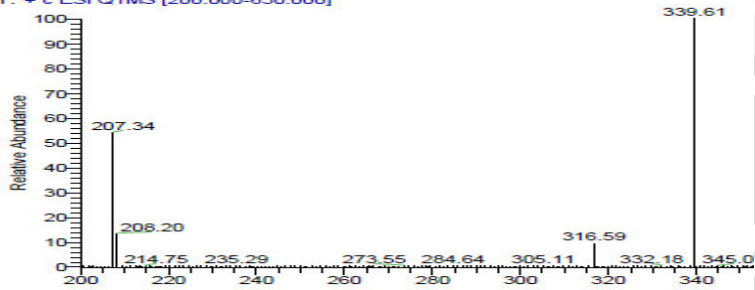


Alkaloids_200_600_inj_2 #2554-2572 RT: 6.33-6.37 AV: 19 NL: 1.14E3
T: + c ESI Q1MS [200.000-650.000]

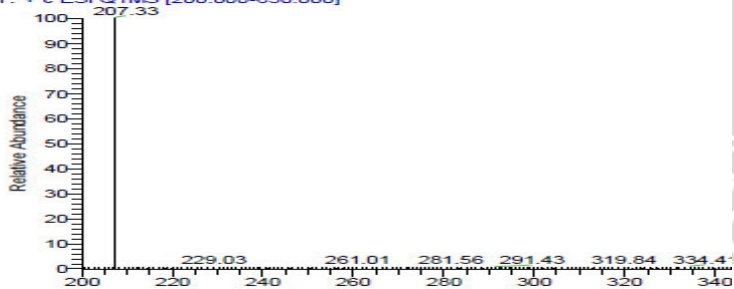




Alkaloids_200_600_inj_2 #3579-3593 RT: 8.87-8.91 AV: 15 NL: 1.44E3
T: + c ESI Q1MS [200.000-650.000]



Alkaloids_200_600_inj_2 #3697-3706 RT: 9.16-9.19 AV: 10 NL: 8.59E2
T: + c ESI Q1MS [200.000-650.000]



LAMPIRAN D. Dokumentasi Penelitian

D.1 Preparasi Sampel Kulit Kayu Mahoni



A: potongan kulit kayu

B: Pengeringan

C: Penggilingan

D: Serbuk

D.2 Ekstraksi Soxhlet dan Evapoasi



Ekstraksi soxhlet



Evaporasi

D.3 Partisi Mendapatkan Fraksi Nonpolar



Ekstraksi cair-cair



Evaporasi

D.4 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol

a



b



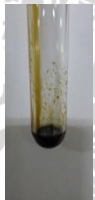
c



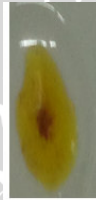
d



e

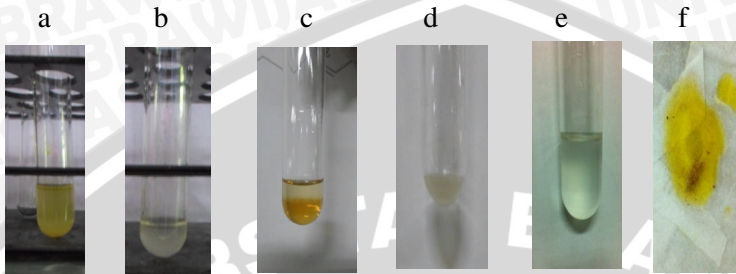


f



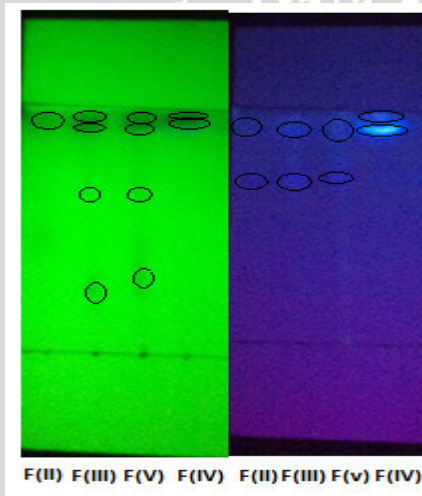
a:saponin(+), b:fenolik hidrokuinon(+), c:flavonoid(+),
d:triterpenoid(-), e:tanin(+), f:alkaloid(+)

D.5 Uji Fitokimia Fraksi Nonpolar



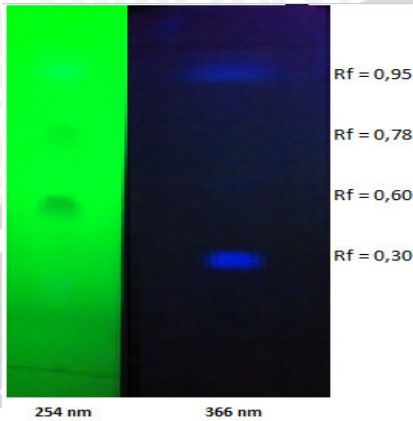
a:saponin(-), b:fenolik hidrokuinon(-), c:flavonoid(-),
d:triterpenoid(-), e:tanin(-), f:alkaloid(+)

D.6 Uji KLT Fraksi II, III, IV, dan V

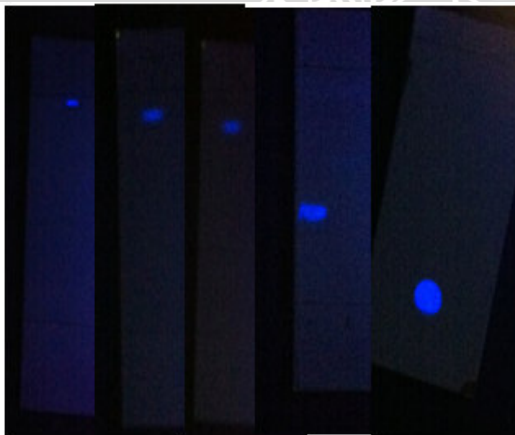


Keterangan : F: fraksi

D.7 KLT Preparatif Fraksi IV



D.8 KLT dengan Variasi Pelarut Noda 1



D.9 Hasil KLT Preparatif



D.10 Ekstrak Pekat Metanol dan n-heksan



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

