

**IDENTIFIKASI DAN ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIOKSIDAN
DARI KULIT BATANG TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora*
(L.) Pers.) MENGGUNAKAN PENDEKATAN METABOLOMIK
BERBASIS LC-MS/MS**

(Skripsi)

Oleh

HABIBAH MONANISA RHESTIANI

NPM 1617011098



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND ISOLATION BIOACTIVE ANTIOXIDANT COMPOUNDS FROM THE STEAM BARK OF WHITE TURI (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) USING METABOLOMIC APPROACH BASED ON LC-MS/MS

By

Habibah Monanisa Rhestiani

White turi (*S. grandiflora*) is one of native Indonesian plants that can be used as an antioxidant. The aim of the study is to obtain bioactive antioxidant compounds isolated from *S. grandiflora* through metabolomic approach based on LC-MS/MS. Isolations compounds obtained through extraction method with three variations solvent: 75% MeOH:EtOAc, 50% MeOH:EtOAc I and 25% MeOH:EtOAc whereas antioxidant activity was tested by DPPH method. Highest antioxidant activity obtained on 25% MeOH:EtOAc extract with IC₅₀ values of 40.52 µg/mL. The result of LC-MS/MS showed 92 known compounds and 183 unknown compounds. Steam bark extracts can be grouped based on variations of extracting solvents using principal component analysis (PCA) with a total primary component (PC) of 96%. LC-MS/MS data of peak area were correlated with antioxidant activity using partial least square (PLS). The result of PLS showed that compound A (α, α - trehalose), B (Citric acid), C (Caffeic acid), D (Ferulic acid), E (Azelaic acid), F (Unknown-82), G ((6E)-7-(2H-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl) hept-6-en-1-one), H (Unknown-159), I (Unknown-166), J (Unknown-178) dan K (Unknown-183) is a metabolites prediction that contributed major as antioxidant activity to the white turi extract and provided information that 25% methanol solvent is the best extracting solvent for isolation antioxidant compounds. The Purified compound have been successfully isolated from 25 % MeOH:EtOAc extract through several steps of fractionation and separation using Vacuum Liquid Chromatography (VLC) and Column Chromatography (CC) repetitively. The isolated compound aquired in the yellow crystal solid as much 2.2 mg and it showed the antioxidant activity with IC₅₀ 49.33 µg/mL. Compound identification is made based on the results of LC-MS/MS data analysis and TLC chromatogram comparison with the previous isolated compound. The isolated compound is predicted as sesbagrandidflorain B atau 4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde.

Keywords: *S. grandiflora*, metabolomic, antioxidant, LC-MS/MS, PCA, PLS

ABSTRAK

IDENTIFIKASI DAN ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIOKSIDAN DARI KULIT BATANG TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) MENGGUNAKAN PENDEKATAN METABOLOMIK BERBASIS LC-MS/MS

Oleh

Habibah Monanisa Rhestiani

Turi putih (*S. grandiflora*) merupakan salah satu tumbuhan asli Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan senyawa bioktif antioksidan dari hasil isolasi yang dilakukan berdasarkan pendekatan metabolomik berbasis LC-MS/MS. Senyawa hasil isolasi didapatkan melalui metode ekstraksi dengan 3 variasi konsentrasi pelarut MeOH:EtOAc 75%, 50% dan 25%, sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak diuji dengan metode DPPH. Aktivitas antioksidan paling baik diperoleh dari ekstrak MeOH:EtOAc 25% dengan nilai IC_{50} sebesar 40,52 $\mu\text{g/mL}$. Dari hasil analisis LC-MS/MS 92 senyawa *known* dan 183 senyawa *unknown*. Ekstrak sampel kulit batang turi dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan pelarut pengeksrak melalui analisis *principal component analysis* (PCA) dengan total *primary component* (PC) 96%. Data LC-MS/MS yang berupa luas puncak dikorelasikan dengan aktivitas antioksidan menggunakan *partial least square* (PLS). Hasil analisis PLS menunjukkan bahwa senyawa A (α, α - *trehalose*), B (*Citric acid*), C (*Caffeic acid*), D (*Ferulic acid*), E (*Azelaic acid*), F (*Unknown-82*), G (*(6E)-7-(2H-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl) hept-6-en-1-one*), H (*Unknown-159*), I (*Unknown-166*), J (*Unknown-178*) dan K (*Unknown-183*) merupakan senyawa atau metabolit penciri yang diprediksi berkontribusi *major* (utama) pada aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang turi putih, serta memberikan informasi bahwa pelarut MeOH:EtOAc 25% merupakan pelarut pengeksrak antioksidan terbaik untuk isolasi senyawa. Senyawa murni berhasil diisolasi dari ekstrak MeOH:EtOAc 25% melalui beberapa tahapan pemisahan dan pemurnian dengan teknik kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom grafitasi (KKG) secara berulang. Isolat yang diperoleh berupa kristal kuning sebanyak 2,2 mg dan menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 49,33 $\mu\text{g/mL}$. Identifikasi senyawa dilakukan berdasarkan hasil analisis data LC-MS/MS dan perbandingan kromatogram KLT dengan senyawa hasil isolasi sebelumnya. Senyawa hasil isolasi diprediksi sebagai sesbagrandidflorain B atau *4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde*.

Kata kunci: *S. grandiflora*, metabolomik, antioksidan, LC-MS/MS, PCA, PLS.

**IDENTIFIKASI DAN ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIOKSIDAN
DARI KULIT BATANG TUMBUHAN TURI PUTIH (*Sesbania grandiflora*
(L.) Pers) MENGGUNAKAN PENDEKATAN METABOLOMIK
BERBASIS LC-MS/MS**

Oleh
Habibah Monanisa Rhestiani

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS

pada
Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : IDENTIFIKASI DAN ISOLASI SENYAWA
BIOAKTIF ANTIOKSIDAN DARI KULIT
BATANG TUMBUHAN TURI PUTIH
(*Sesbania grandiflora* (L.) Pers)
MENGUNAKAN PENDEKATAN
METABOLOMIK BERBASIS LC-MS/MS

Nama Mahasiswa : *Habibah Monanisa Rhestiani*

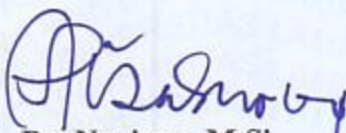
Nomor Pokok Mahasiswa : 1617011098

Jurusan : Kimia

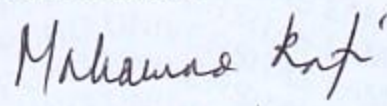
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I


Dr. Noviany, M.Si.
NIP 197311191998022001

Pembimbing II


Dr. Mohamad Rafi, M.Si.
NIP 197703162006041010

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung


Mulyono, Ph.D
NIP 197406112000031002

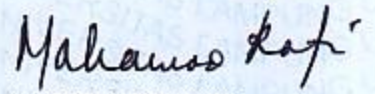
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Noviany, M.Si.



Sekretaris : Dr. Mohamad Rafi, M.Si.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Sonny Widiarto, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Dr. Eng. Ariprio Dwi Yuwono, S.Si., M.T.
NIP. 197407052000031001**

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 05 Agustus 2021

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Habibah Monanisa Rhestiani
NPM : 1617011098
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:
**“Identifikasi dan Isolasi Senyawa Bioaktif Antioksidan dari Kulit Batang
Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Menggunakan
Pendekatan Metabolomik Berbasis LC-MS/MS”** adalah benar karya saya
sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan
jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau
program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum
dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 13 Agustus 2021

Yang menyatakan,



Habibah Monanisa Rhestiani

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Habibah Monanisa Rhestiani, dilahirkan di Gisting Atas pada tanggal 28 Februari 1998, sebagai anak pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak Rohmanu dan Ibu Endang Sri Wahyuni Ekawati. Penulis mengawali Pendidikan formal pertama kali di TK Aisyiah Gisting yang diselesaikan pada tahun 2003. Penulis melanjutkan pendidikan di SD Muhammadiyah Gisting yang selesai pada tahun 2010, pendidikan SMP di MTs Al-Muhsin Metro yang diselesaikan pada tahun 2013 dan dilanjutkan dengan 3 tahun pendidikan SMA di MA Al-Muhsin Metro yang selesai pada tahun 2016. Pada tahun 2016, penulis diterima sebagai Mahasiswa di Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Sejak memasuki dunia kampus, penulis pernah berkontribusi pada organisasi internal dan eksternal kampus. Organisasi internal yang pernah diikuti penulis adalah Himpunan Mahasiswa Kimia sebagai Kader Muda periode (2016-2017) dan UKM-U English Society (ESo) pada tahun yang sama, kemudian UKM-F ROIS FMIPA sebagai anggota bidang kaderisasi pada periode (2016/2017 – 2017/2018). Organisasi eksternal kampus yang pernah diikuti penulis adalah Muslimah Mahasiswa Pencinta Islam (MPI) Lampung yang pernah menjabat sebagai Ketua Divisi Syiar pada periode 2017-2018 dan penulis terpilih menjadi Ketua Umum Muslimah MPI Lampung pada periode (2018/2019 – 2019/2020). Kiprah penulis pada organisasi ini berlanjut dengan menjadi steering committee pada tahun 2020-2021 sampai sekarang. Selama menempuh perkuliahan, penulis juga pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah pendidikan agama islam di

jurusan proteksi tanaman pada tahun ajaran 2017-2018 dan di jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan pada tahun ajaran 2018-2019. Pada tahun ajaran 2019/2020, penulis pernah menjadi asisten praktikum kimia organik I jurusan Biologi FMIPA, asisten praktikum kimia dasar I jurusan Fisika FMIPA dan asisten praktikum kimia organik II serta kimia dasar II di jurusan Kimia FMIPA.

Di luar kegiatan organisasi dan perkuliahan, penulis juga aktif di bidang pergerakan dunia pendidikan dan sosial. Penulis menjadi pengurus juga tenaga pengajar di Pesantren Mahasiswa Al-Huda Putri, serta saat ini penulis telah berhasil mendirikan dan merintis Yayasan Pendidikan bernama “Yayasan Baitun Najaah Aisyah” yang telah memiliki 2 program pendidikan yaitu Lembaga Markazul Qur’an untuk anak usia dini serta Lembaga Privat dan Bimbel untuk tingkat SD/SMP/SMA. Penulis juga pernah mencapai capaian prestasi selama menempuh pendidikannya. Pada tahun 2017, penulis pernah meraih Juara 2 Lomba Fahmil Qur’an pada acara HIMASAKTA tingkat Universitas Lampung. Pada tahun 2019, penulis menjadi peraih piala tetap Fahmil Qur’an pada ajang MTQ-M tingkat Universitas Lampung dan di tahun yang sama penulis terpilih untuk mengikuti perlombaan Fahmil Qur’an pada ajang Musabaqoh Tilawatil Qur’an Mahasiswa Nasional (MTQ-MN) yang diadakan oleh RISETDIKTI di Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh dan pada tahun 2021 penulis menjadi juara 1 bidang Fahmil Qur’an pada ajang MTQ-M ke-XVII tingkat Universitas Lampung.

MOTTO

Barangsiapa bertakwa kepada Allah, maka dia akan menjadikan jalan keluar baginya dan memberikan rezeki dari jalan yang tidak ia sangka, dan barang siapa yang bertawakal kepada Allah, maka cukuplah Allah baginya.

Sesungguhnya Allah melaksanakan kehendak-Nya. Sungguh Allah telah mengadakan ketentuan bagi setiap sesuatu.

(Q.S At-talaq: 2-3)

Hidup bukan untuk perlombaan, apapun yang telah kamu lakukan jangan pernah merasa terlambat dan tidak sempurna. You're exactly where you need to be. Just trust the timing in your life, do the best and let God (Allah) to the rest.

Karena kita hanya sebagai pelaku atas apa yang Allah inginkan bukan apa yang kita inginkan.

(Habibah Monanisa R.)

Wisuda itu panggung bukan bukti.

Karena pembuktian tidak hanya sebatas toga dan ijazah, tapi dengan usaha dan jerih payah dan itu dimulai hari ini hingga nanti sampai Allah katakan berhenti.

(Habibah Monanisa R.)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT kupersembahkan karya kecil ini kepada:

Ayahanda dan Ibundaku tercinta yang telah menyayangi dan merawatku dengan penuh kasih tulus, selalu mendidik dan mengajarkan kebaikan, serta selalu mendoakan keberhasilanku dalam setiap hembus nafas dan sujud.

Adikku beserta keluarga besarku yang selalu memberikan motivasi dan semangat serta doa-doa terbaiknya.

Pembimbing penelitianku Dr. Noviany, M.Si., Dr. Mohamad Rafi, M.Si., Dr. Sonny Widiarto, M.Sc. dengan segala rasa hormat terimakasih atas ilmu, nasihat dan kesabaran dalam membimbing selama ini.

Segenap Dosen dan staff akademika yang telah mendidik dan memberi teladan baik selama menempuh pendidikan sarjana ini.

Sahabat dan seluruh teman-temanku yang saling memberi semangat dan kebahagiaan.

Dan almameter tercinta Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillah bi ni'matihi tatimush-shalihat. Segala puji hanya milik Allah Rabb semesta alam, dzat yang Maha Sempurna dan tidak ada sesembahan yang berhak disembah dengan benar kecuali Allah *Azza wa Jalla. La hawla wala quwwata illa billah*, atas berkat pertolongan dan izin Allah yang Maha Agung, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam penulis juga hanturkan kepada Rasulullah Muhammad *Shalallahu alaihi wa sallam*, beserta keluarganya, sahabatnya, para tabi'in, tabi'ut tabi'in dan para pengikut yang senantiasa istiqomah di jalan sunnahnya hingga akhir zaman. Skripsi dengan judul **“Identifikasi dan Isolasi Senyawa Bioaktif Antioksidan dari Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Menggunakan Pendekatan Metabolomik Berbasis LC-MS/MS”** ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

Penulis sangat menyadari bahwa selama perjuangan dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, motivasi dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Insan yang paling berharga dalam hidupku dan yang kucintai karena Allah; Ibunda Endang Sriwahyuni Ekawati dan Ayahanda Rohmanu yang telah mendidik dan merawatku dengan cinta yang begitu tulus serta tidak pernah sedikitpun lelah memberikan kasih sayang, pengorbanan yang tidak menilai harganya. Terimakasih atas segala doa, arahan, support dan motivasi yang telah diberikan kepadaku. Semoga Allah memberi keberkahan umur, kebahagiaan dunia akhirat dan mempersatukan kita kembali di Jannah-Nya kelak.

2. Adiku satu-satunya Emilda Rom Rahmayanti yang shalihah dan kucintai karena Allah, terimakasih atas segala bentuk motivasinya kepadaku. Semoga kelak kita akan menjadi anak yang bermanfaat untuk ummat dan agama.
3. Ibu Dr. Noviany, M. Si selaku Pembimbing 1 yang begitu sabar dalam membimbing, mendidik, mengarahkan, dan memotivasi serta memberikan banyak pelajaran baru yang begitu berharga kepada penulis sejak awal penelitian hingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan beliau dengan kebaikan di dunia maupun di akhirat, serta diberikan kesehatan dan kebahagiaan selalu.
4. Bapak Dr. Mohamad Rafi, M.Si. selaku Pembimbing II yang begitu baik dalam mengajarkan hal baru dalam penelitian ini dan sabar dalam membimbing penyelesaian skripsi ini, serta terimakasih atas segala bentuk motivasi berharga yang diberikan kepada penulis. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan beliau dengan kebaikan di dunia maupun di akhirat, serta senantiasa diberikan kesehatan dan kebahagiaan selalu.
5. Bapak Dr. Sonny Widiarto, M.Sc. selaku Pembahas yang banyak memberikan motivasi, masukan dan arahan yang membangun kepada penulis. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan beliau dengan kebaikan di dunia maupun di akhirat serta diberikan kesehatan dan kebahagiaan selalu.
6. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi berharga dan arahan selama perkuliahan hingga penyelesaian skripsi ini. Semoga Allah membalas segala bentuk kebaikan beliau dengan kebaikan di dunia maupun di akhirat serta diberikan kesehatan dan kebahagiaan selalu.
7. Bapak Mulyono, Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu Dosen Kimia FMIPA, terimakasih penulis ucapkan atas ilmu-ilmu yang telah diberikan dan pelajaran hidup beserta keteladanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung

10. Para Staff dan Laboran yang ada di Jurusan Kimia, terimakasih penulis ucapkan atas segala bentuk bantuan yang telah diberikan.
11. Keluarga kakek Supi'i terimakasih atas kasih sayangnya, doanya dan bantuannya baik moril maupun materil kepada penulis. Semoga Allah senantiasa memberikan kebaikan di dunia maupun di akhirat dan bisa berkumpul kembali di Surga-Nya kelak.
12. Guru-guruku yang amat kumuliakan ummi Fatmi, Ummi Indah, Ummi Khaira Nova, Ummi Ida Kurniati, Mba Megasari, Mba Sari, Ustadz Nurdin, Ustadz Iqbal, Ustadz Rahmat, *Jazakumullah Khayran* telah hadir dalam hidup penulis yang selalu mengingatkan dalam kebaikan dan pelajaran hidup yang amat berharga beserta motivasi yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di kampus.
13. Sahabat-sahabatku yang istimewa yang kucintai karena Allah; Dea Yusrina Hanifati, Elma Munika, Novita Andriyani, Syifa Ulyanida dan Putri Kuswedari. Terimakasih telah menjadi bagian dari hidupku yang berharga dalam suka dan duka, serta motivasi yang diberikan kepada penulis selama ini. Semoga Allah senantiasa memberikan kalian kesuksesan serta kebahagiaan dan mengumpulkan kita kembali di Surga-Nya.
14. Kakak-kakaku yang kusayangi karena Allah; Tri Andayani, Mega Deviana, S.Kom, Tri Fatmasari, S.Si, Mentari Bella Wahyudinie, S.Pd. Terimakasih atas segala bentuk perhatian, semangat dan motivasi kepada penulis. Semoga persaudaraan karena iman ini akan terus terjalin dan bertahan hingga nanti kita bertemu di Surga.
15. Teman kecilku Dwi Tio Nurpahlevi, terimakasih atas doa, motivasi dan dukungannya selama ini. Semoga Allah senantiasa memberkahi dan memberikan kebahagiaan di dunia maupun di akhirat. Sukses untuk segala pencapaian yang ingin kamu wujudkan dan semoga hubungan ini akan terus terjalin sampai ke Surga-Nya.
16. Teman-teman manajemen Yayasan Baitun Najaah; Denti Septi, Yuni Sugihati, Nadila Endar dan Riska Famelia. Terimakasih atas segala kebaikan yang diberikan. Semoga kita akan selalu kompak untuk apa yang telah kita bangun.

17. Keluargaku Alumni dan BPD Muslimah MPI Lampung yang berperan besar dalam mengisi hari-hari penulis dengan banyak kebaikan dan semangat. *Huna nabda' wa naltaqi fi Jannah In Syaa Allah.*
18. Rekan-rekan Noviany Research Group (NRG); Kak Hanif, Kak Arif, Uswatun, Candra Hardiyanto, Azizah, Aulia, Dita, Feni. Terimakasih atas segala bentuk kebaikan dan dukungannya. Tetap semangat, karena kita adalah pemenang atas waktu kita masing-masing.
19. Keluarga penghuni Laboratorium Kimia Organik yang tidak bisa kusebutkan satu-satu terimakasih telah mengisi hari-hariku selama penelitian di Laboratorium Kimia Organik tercinta.
20. Keluarga Pema Al-Huda Putri yang memberikan banyak ilmu, keceriaan dan pengalaman berharga.
21. Keluargaku kimia 2016. Terimakasih atas segala kenangan indah yang telah kita lakukan bersama-sama. Semoga kita menjadi orang-orang sukses di kemudian hari.
22. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Mohon maaf jika penulis tidak bisa sebutkan satu-satu. Semoga Allah membalas semua kebaikan mereka, Amiin. Dalam penulisan skripsi ini, tentu penulis menyadari banyak sekali kekurangan, sehingga kritik dan saran sangat diharapkan penulis untuk perbaikan dalam penelitian selanjutnya. Penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat, serta dapat menjadi acuan bagi peneliti selanjutnya yang berfokus pada bidang yang sama. Aamin.

Bandar Lampung, 13 Agustus 2021

Penulis,

Habibah Monanisa Rhestiani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	6
C. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Fabaceae	7
B. Turi Putih (<i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Pers.)	8
C. Kandungan Fitokimia Turi Putih	9
D. Senyawa Metabolit Sekunder dari Hasil Isolasi Tumbuhan Turi Putih	10
E. Efek Farmakologi Turi Putih	12
F. Radikal Bebas	13
G. Antioksidan.....	14
H. Metode DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>).....	16
I. Metabolomik.....	18
J. <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS).....	19
K. Analisis Multivariat PCA (<i>Principle Component Analysis</i>).....	21

L. Analisis PLSR (<i>Partial Least Squares Regression</i>).....	21
M. Isolasi Senyawa Bioktif Antioksidan Turi Putih.....	22
1. Ekstraksi.....	22
2. Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi.....	24
N. Spektrofotometri UV-Vis	26
III. METODE PENELITIAN	29
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
B. Alat dan Bahan.....	29
C. Prosedur Penelitian.....	30
1. Persiapan Sampel.....	30
2. Prosedur Preparasi untuk Uji Antioksidan dan Analisis LC-MS/MS	31
3. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....	31
4. Identifikasi Metabolit dan Analisis Multivariat berbasis LC-MS/MS ...	33
5. Analisis PLSR (<i>Partial Least Squares Regression</i>).....	34
6. Isolasi Senyawa Bioktif	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
A. Preparasi Sampel.....	37
B. Ekstraksi Sampel Melalui Pendekatan Metabolomik.....	37
C. Uji Bioktivitas Antioksidan	39
D. Identifikasi Profil Metabolit <i>S. grandiflora</i> oleh LC-MS/MS	41
E. Analisis Multivariat PCA (<i>Principle Component Analysis</i>).....	43
F. Korelasi Aktivitas Antioksidan dan LC-MS/MS menggunakan PLS.....	45
G. Isolasi Senyawa Bioktif Antioksidan	47
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	59
A. Simpulan.....	59
B. Saran.....	60

DAFTAR PUSTAKA.....	62
----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	71
----------------------	-----------

Lampiran 1. Bagan Penelitian Pendekatan Metabolomik	72
---	----

Lampiran 2. Bagan Penelitian Isolasi Senyawa Bioaktif Antioksidan	73
---	----

Lampiran 3. Hasil determinasi tumbuhan turi putih	75
---	----

Lampiran 4. Pembuatan Larutan yang diperlukan pada Uji Antioksidan	76
--	----

Lampiran 5. Data Absorbansi dan % Inhibisi.....	78
---	----

Lampiran 6. Perhitungan Nilai IC ₅₀ dan	80
--	----

Lampiran 6. Data senyawa <i>known</i> dari analisis LC-MS/MS	88
--	----

Lampiran 7. Data senyawa <i>unknown</i> dari analisis LC-MS/MS.....	91
---	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pengujian antioksidan asam askorbat dengan metode DPPH.....	40
2. Nilai IC ₅₀ ekstrak kulit batang turi putih dan asam askorbat	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian-bagian tanaman turi putih.....	9
2. Struktur senyawa 1-4 yang telah diisolasi dari akar turi putih	10
3. Struktur senyawa sesbagrandiflorain A dan B (Noviany, 2021)	11
4. Struktur senyawa sesbagrandiflorain C	11
5. Senyawa 3- β -hidroksi-28-p-hidroksifenoksiolen-12-en	12
6. Struktur dari senyawa DPPH (Tirzitis dan Bartosz, 2010)	16
7. Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan.....	17
8. Teknik kompresi data dengan PLS	22
9. Maserasi sampel metabolomik	38
10. Ekstrak kulit batang turi putih	39
11. Perubahan warna ekstrak.....	39
12. Kromatogram LC-MS/MS ekstrak metanol 25%, 50% dan 75%.....	42
13. Hasil analisis PCA ekstrak metanol 25%	44
14. Plot skor <i>X-Y relation</i> korelasi dengan DPPH	45
15. Plot skor <i>regression coefficient</i>	46
16. Kromatogram ekstrak kasar metanol 25%	48
17. KCV ekstrak metanol 25% menggunakan eluen <i>n</i> -heksan/EtOAc	48

18. Kromatogram KLT fraksi KCV 1 dan 2	49
19. Kromatogram KLT fraksi gabungan KCV 1 dan 2	50
20. Kromatogram KLT fraksi utama KCV 1 dan 2	51
21. Plat KLT sebelum dan sesudah disemprot DPPH	51
22. Kromatogram KLT fraksi G dengan 4x elusi.....	52
23. Proses kromatografi kolom.....	52
24. Kromatogram subfraksi FG.1-FG.34	53
25. Plat KLT FG.1-FG.34 setelah disemprot DPPH.....	53
26. Kromatogram KLT kristal FG.3	54
27. Kromatogram subfraksi FH.1-FH.21	55
28. Kromatogram kristal FH.16.....	55
29. Plat KLT kristal FH.16 setelah disemprot DPPH.....	56
30. Kromatogram LC-MS/MS dari kristal FH.16	57
31. <i>Peak</i> senyawa sesbagrandidflorain B pada PLS	58
32. Kristal hasil isolasi	58

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan zaman, pemakaian obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang pesat. Hal tersebut disebabkan karena obat yang berasal dari tanaman mempunyai efek samping (*side effect*) yang lebih kecil dibandingkan dengan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia (Prapanza dan Marianto, 2003). Konsep hidup *back to nature* dibuktikan dengan adanya rekomendasi dari badan kesehatan dunia (WHO) untuk menggunakan obat tradisional atau obat herbal guna pemeliharaan kesehatan masyarakat dan pencegahan penyakit, terutama dalam penyembuhan penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker (DepKes RI, 2007). Maka dari itu, eksistensi dari obat herbal masih berakar kuat dalam kehidupan masyarakat hingga kini.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan biodiversitas sumber daya alam. Berdasarkan data PT. Sido Muncul (2015) dari total banyaknya 40.000 spesies tumbuhan yang terkenal di dunia, 30.000 spesiesnya disinyalir berada di Indonesia. Akan tetapi dari banyaknya spesies tumbuhan yang telah terdata tersebut, Indonesia hanya memiliki sekitar 9000 spesies tumbuhan yang diduga memiliki khasiat sebagai obat dan baru 5% yang dimanfaatkan sebagai bahan fitofarmaka oleh industri obat herbal di Indonesia. Data tersebut menunjukkan bahwa masih banyak potensi tumbuhan di Indonesia yang belum dimanfaatkan atau diketahui secara optimal sebagai bahan baku obat herbal. Salah satu parameter dalam pencarian sumber baru serta pengendalian mutu suatu bahan alam yang bisa dijadikan sebagai obat herbal dapat dilakukan dengan melihat

tingginya aktivitas biologis yang dimunculkan seperti antioksidan yang terkandung dalam bahan alam tersebut untuk menurunkan aktivitas radikal bebas dalam tubuh.

Dewasa ini, istilah antioksidan dan radikal bebas merupakan istilah yang lazim di dunia kesehatan profesional dan kalangan para ahli gizi. Istilah tersebut dikaitkan dengan dunia kesehatan karena sebagian besar penyakit yang terjadi disebabkan adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh yang dapat menyebabkan gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, dan bahkan mengakibatkan mutasi genetik. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu timbulnya berbagai penyakit berbahaya seperti kanker, penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular dan penyakit degeneratif seperti diabetes, darah tinggi serta reumatik (Barhe dan Tchouya, 2014). Oleh sebab itu peran obat herbal yang berfungsi sebagai antioksidan sangat diperlukan, karena antioksidan adalah substansi yang diperlukan untuk menetralkan atau menetralsisir radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektrolit yang dimiliki radikal bebas penyebab stress oksidatif (Prakash, 2001).

Salah satu tanaman yang diprediksi memiliki potensi sebagai antioksidan adalah turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers). Studi fitofarmakologi yang telah dilakukan peneliti sebelumnya melaporkan bahwa turi putih yang telah diisolasi mengandung senyawa metabolit sekunder yang termasuk ke dalam golongan sterol, saponin, tanin, fenol dan flavonoid. Senyawa-senyawa ini ada yang bermanfaat bagi kesehatan dan juga telah dilaporkan memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antijamur, antiinflamasi, antiurolitik, antikonvulsan dan yang paling utama adalah potensinya sebagai antioksidan yang baik bagi tubuh (Hasan *et al.*, 2012 ; Septiana, 2018). Kajian tersebut diperkuat dengan penelitian terkini oleh Noviany *et al* (2018) yang telah melaporkan bahwa senyawa fenolik hasil isolasi kulit batang turi putih yaitu sesbagrandidflorain A dan B menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Selain itu, telah dilaporkan isolasi senyawa fenolik

jenis arilbenzofuran baru yang dinamai sesbagrandiflorain C dan beberapa senyawa hasil modifikasi sesbagrandiflorain A yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa, HepG2, and MCF-7 (Noviany *et al.*, 2020; 2021). Berdasarkan hasil penelitian tersebut telah cukup membuktikan bahwa turi putih mengandung senyawa golongan fenolik dan flavonoid yang telah diketahui secara luas memiliki pengaruh besar terhadap aktivitas antioksidan.

Akan tetapi, kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan baku obat memerlukan adanya jaminan terhadap mutu dan keamanannya, karena senyawa metabolit tersebut yang akan memberikan efek farmakologis pada suatu bahan alam. Kualitas atau mutu suatu bahan alam yang akan dijadikan sebagai bahan baku obat dapat ditunjukkan dengan senyawa aktif atau sifat bioaktivitasnya dan sifat bioaktivitas tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi dan komponen kimia yang berbeda-beda pada suatu bahan alam. Komposisi dan konsentrasi komponen kimia tersebut dipengaruhi oleh perbedaan asal tumbuh, iklim (suhu, kelembapan, cahaya, dan angin), kondisi geografis, waktu panen, metode pengolahan, dan penyimpanan, bahkan konsentrasi dan pelarut pengestrak juga dapat mempengaruhi senyawa yang terambil dari suatu bahan alam (Rafi, 2013). Sementara kandungan metabolit sekunder pada suatu bahan alam sangat beragam sehingga memiliki polaritas dan karakteristik kimia yang berbeda (Sultana *et al.*, 2009).

Perbedaan tersebut menimbulkan masalah dalam menentukan bagian tumbuhan yang memiliki potensi tinggi untuk dijadikan sebagai sumber obat baru yang berkhasiat, khususnya antioksidan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini perlu adanya suatu teknik analisis yang dapat mengevaluasi serta mengidentifikasi keragaman profil metabolit dan perbedaan bioaktivitas dari suatu tumbuhan untuk mendapatkan aktivitas biologis konsisten yang berkontribusi pada keaktifannya. Salah satu analisis dan evaluasi yang dapat dilakukan adalah dengan pendekatan metabolomik.

Pendekatan metabolomik merupakan pendekatan terbaru dalam analisis profil metabolit tanaman secara menyeluruh yang memungkinkan dapat mendeteksi ratusan metabolit dengan data yang berkualitas tinggi (Dunn *et al.*, 2005). Kajian terkini yang dilakukan oleh Amrulloh (2020) pada penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa jaringan tumbuhan turi putih yang paling berpotensi sebagai sumber antioksidan adalah kulit batang dibandingkan dengan daun dan akarnya. Uji antioksidan tersebut dilakukan menggunakan tiga variasi metode uji yaitu menggunakan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2-azino-bis (etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) yang dikorelasikan dengan spektrum FTIR. Dari hasil penelitian tersebut dilaporkan bahwa gugus fungsi dari senyawa antioksidan yang diprediksi berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan pada metode DPPH adalah gugus fungsi C=C dan C=O, sedangkan dengan metode FRAP adalah gugus fungsi C=C aromatik dan O-H (Amrulloh, 2020).

Berdasarkan pemaparan tersebut, pada penelitian ini jaringan tumbuhan turi putih yang dipilih adalah kulit batang, karena potensi aktivitas antioksidannya lebih tinggi dibandingkan jaringan lainnya. Kulit batang turi putih akan diekstraksi dengan tiga variasi konsentrasi pelarut yang berbeda untuk diuji aktivitas antioksidannya. Variasi pelarut pengestrak ini dilakukan untuk menentukan pelarut terbaik yang dapat mengekstrak senyawa metabolit antioksidan lebih tinggi. Aktivitas antioksidan pada kulit batang turi putih kemudian akan dikorelasikan dengan profil metabolit hasil analisis LC-MS/MS untuk mengetahui senyawa aktif yang berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan. Instrumen LC-MS/MS ini dipilih karena memiliki teknik analisis tinggi yang mampu memisahkan dan mendeteksi molekul dengan kisaran yang luas serta dapat digunakan untuk analisis struktural dengan sensitivitas yang baik, sehingga dapat memberikan pendekatan yang sangat berguna dalam menentukan profil suatu metabolit tanaman (Theoridoridis *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, analisis metabolit LC-MS/MS telah banyak digunakan dalam menentukan keragaman metabolit

Angelica gigas yang diambil dari 3 lokasi yang berbeda di Korea (Kim *et al.*, 2011), klasifikasi metabolit taksoid dari tanaman *Taxus chinensis* varberdasarkan variasi perbedaan umur tanaman (Tanaka *et al.*, 2011), serta kendali mutu *Fuzi* (akar *Aconitum carmichaelii* Debx) yang umum digunakan sebagai bahan baku obat tradisional Cina yang diamati berdasarkan tahap preparasinya (Sun *et al.*, 2012).

Pendugaan identifikasi metabolit tanaman turi putih pada penelitian ini, dilakukan dengan cara mencocokkan nilai m/z yang terdeteksi dari tabel *mass array* dengan nilai massa akurat senyawa metabolit genus *Sesbania* yang dipublikasikan pada *Dictionary of Natural Products* (DNP). Data *mass array* dihasilkan dari pengolahan perangkat lunak *MZmine* yang berfungsi untuk penanganan kompleksitas data yang diperoleh dari analisis LC-MS/MS, kemudian data *mass array* tersebut ditelaah lebih lanjut dengan analisis multivariat PCA menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler*. Analisis PCA ini bertujuan mengelompokkan sampel turi putih berdasarkan variasi konsentrasi pelarutnya serta menentukan metabolit penciri yang berkaitan erat dengan sifat bioaktivitas senyawa antioksidan (Chew *et al.*, 2004). Setelah mengetahui informasi dari variasi metabolit penciri dan mengetahui variasi konsentasi pelarut pengektak terbaik, maka selanjutnya dilakukan isolasi senyawa bioaktif antioksidan. Berdasarkan pemaparan latar belakang tersebut, serta belum banyaknya penelitian yang mengkaji tentang senyawa aktif antioksidan pada turi putih melalui pendekatan metabolomik sebagai parameter kendali mutu obat herbal, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan nilai aktivitas antioksidan kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) dari perbedaan konsentrasi pelarut pengekstrak menggunakan metode DPPH.
2. Menentukan senyawa aktif yang berkontribusi dalam aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari korelasi antara spektrum LC-MS/MS dan nilai antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik.
3. Menentukan pelarut pengekstrak terbaik yang paling berpotensi sebagai sumber antioksidan berdasarkan hasil korelasi antara spektrum LC-MS/MS dan nilai antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik.
4. Mengisolasi senyawa bioaktif antioksidan dari bagian kulit batang tanaman turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) .

C. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai metabolit penciri atau *variable important* yang berkontribusi *major* pada aktivitas antioksidan.
2. Memberikan penjelasan tentang kualitas tumbuhan turi putih berdasarkan keterkaitan profil metabolit dengan perbedaan konsentrasi pelarut pengekstrak dan aktivitas antioksidan yang dapat digunakan dalam kontrol kualitas bahan baku obat herbal serta autentifikasi obat-obatan herbal yang didasarkan pada sifat antioksidannya untuk industri obat tradisional/farmasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Fabaceae

Famili Fabaceae merupakan anggota dari bangsa Fabales yang mempunyai karakteristik dengan buah bertipe polong (Simpson, 2010). Fabaceae juga merupakan salah satu dari tiga famili tumbuhan terbesar setelah Asteraceae dan Orchidaceae dalam divisi Angiospermae atau tumbuhan berbungayang terdistribusi secara luas di seluruh dunia dan terdiri atas 19.400 jenis yang tercakup dalam 730 genus (Tjitrosoepomo, 2013). Berdasarkan morfologi biji dan bunga terkhusus pada kelopaknya, suku Fabaceae dikelompokan menjadi tiga subfamili oleh ahli botani yaitu Caesalpinioideae, Faboideae, dan Mimosoideae (Lewis *et al.*, 2005).

Famili Fabaceae memiliki karakteristik tanaman berbunga yang indah dengan nilai ekonomi yang tinggi, sehingga famili Fabaceae ini banyak dibudidayakan sebagai tanaman pangan, penghasil buah, tanaman hias, tanaman obat, penutup lahan, penghasil kayu, minyak, gom, pewarna alami, insektisida, pengontrol erosi, dan pereklamasi tanah. Berdasarkan penelitian dan kajian farmakologi menyatakan bahwa famili Fabaceae memiliki kandungan metabolit primer seperti lectin, kitin, dan inhibitor α -amilase serta memiliki kandungan metabolit sekunder contohnya alkaloid, terpenoid, tanin, dan senyawa fenolik (Agostini-Costa, 2012).

B. Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.)

Turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) merupakan jenis tanaman yang termasuk dalam famili Fabaceae, dengan ukuran tanaman yang relatif kecil dengan tinggi berkisar 5-12 meter. Karakteristik umum dari tanaman turi putih ini adalah pohon yang berumur pendek, dengan kulit luar berwarna kelabu hingga kecoklatan, berkayu lunak, batang yang dimiliki berlendir dan berair (Agromedia, 2008). Daun pada tanaman turi putih memiliki ciri yaitu daun majemuk menyirip dan letak daun tersebar dengan panjang tangkai daun berukuran 20-30 cm serta memiliki 20-40 pasang anak daun bertangkai pendek (Bahera *et al.*, 2012).

Sementara bunganya berbentuk seperti bulan sabit dengan mahkota bunga yang menggantung seperti lonceng dan jika bunga tersebut mekar, maka akan berbentuk seperti kupu-kupu. Berdasarkan varietasnya, bunga turi memiliki 2 jenis warna yaitu berbunga putih dan berbunga merah. Buah dan biji tanaman turi berbentuk polong yang menggantung seperti pita dengan panjang 20-55 cm. Ketika buah masih muda berwarna hijau, dan setelah tua berwarna kuning.

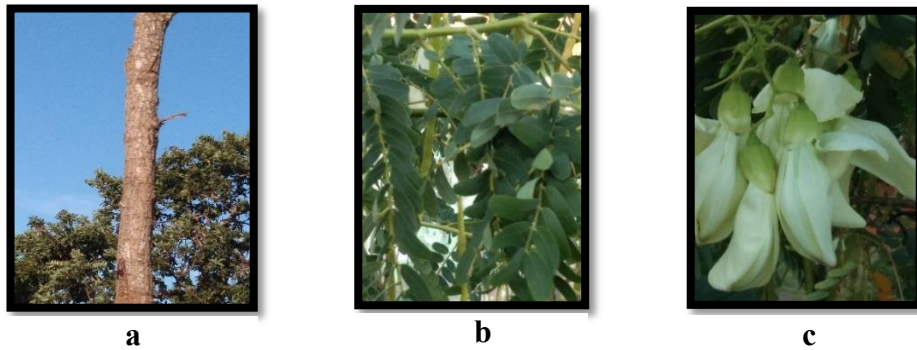
Secara taksonomi, tanaman turi putih dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae (Suku polong-polongan)
Sub Famili	: Papilionoideae
Genus	: <i>Sesbania</i>
Spesies	: <i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Pers

(Bahera *et al.*, 2012).

Berikut bagian-bagian tanaman turi putih (*Sesbania grandiflora* L.) tertera dalam

Gambar 1.



Gambar 1. Bagian-bagian tanaman turi putih **(a)** batang, **(b)** daun, **(c)** bunga

Sesbania grandiflora (L.) Pers banyak tersebar di berbagai belahan dunia seperti Myanmar, Indonesia, Filipina, Malaysia, dan India, akan tetapi tanaman ini diyakini berasal dari Asia Tenggara dan Asia Selatan. Di Indonesia tanaman ini memiliki kekhasan nama yang berbeda-beda di setiap daerah, diantaranya di daerah Sumatera tanaman ini dikenal dengan nama turi, sedangkan di Bali dan Nusa Tenggara Timur dikenal dengan gala-gala atau tuwi, lalu di Jawa, Sunda dan Madura dikenal dengan nama turi dan torroy, di Sulawesi dikenal dengan nama tuli, turineg dan suri. Sementara di luar Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama *cork wood tree*, *west Indian pea* (Hariana, 2006).

C. Kandungan Fitokimia Turi Putih

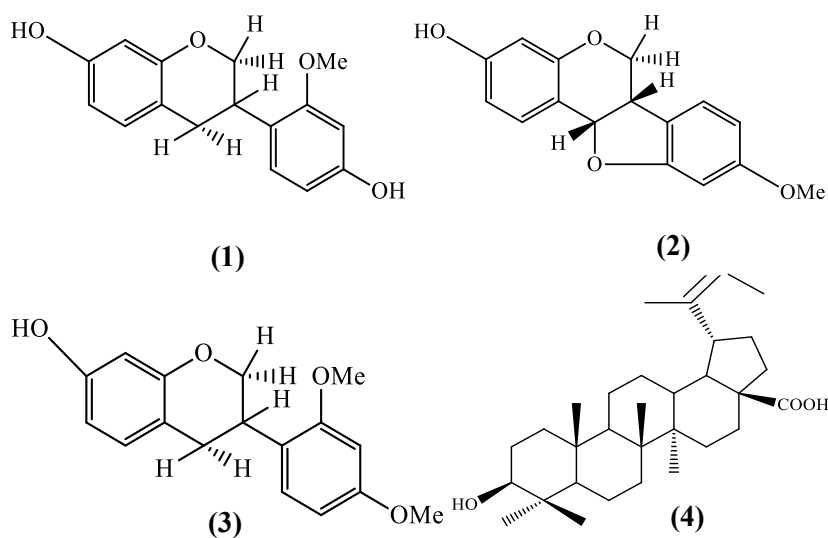
Daun turi putih diketahui memiliki senyawa yang berasal dari golongan alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, steroid, protein, karbohidrat, saponin, glikosida amino, vitamin B dan C kompleks, dan kumarin. Bunganya memiliki senyawa berupa karbohidrat, protein, asam amino, flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol, saponin, asam oleanolat, dan kamferol-3-rutinosida. Pada buah dan polong dari *S. grandiflora* (L.) Pers juga menghasilkan kandungan senyawa berupa alkaloid, glikosida, saponin, tanin, flavonoid, karbohidrat, protein, sterol, saponin, dan

sesbanimida. Sementara pada biji turi putih mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, dan kuinon (Ismiyarto dkk., 2006).

D. Senyawa Metabolit Sekunder dari Hasil Isolasi Tumbuhan Turi Putih

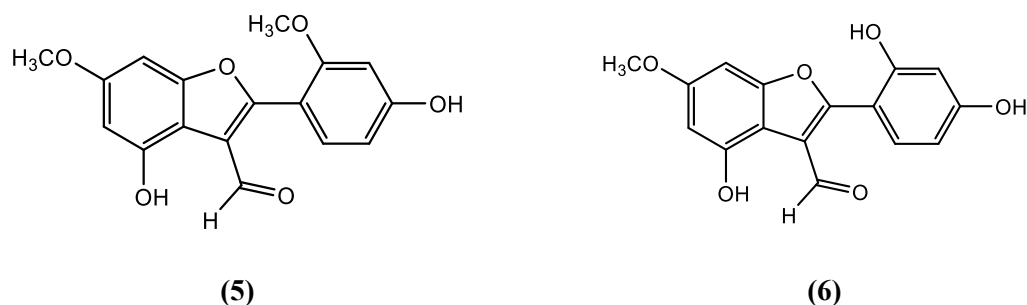
Turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pres) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang cukup banyak dan beragam. Setiap jaringan pada tumbuhan turi putih memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda. Tumbuhan ini memiliki potensi antioksidan yang tinggi. Berdasarkan uji pendahuluan penelitian yang telah dilakukan dari hasil ekstraksi turi putih ini menunjukkan bahwa kandungan antioksidan yang paling tinggi dari tiga jaringan tumbuhan yaitu akar, daun dan kulit batang adalah pada jaringan kulit batangnya. Baru-baru ini telah dilakukan skrining fitokimia pada kulit batang turi dan dilaporkan bahwa kulit batang turi mengandung senyawa golongan flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, dan fenolik (Rasyidi dkk., 2015).

Dari fraksi metanol dan aseton akar turi putih telah berhasil diisolasi senyawa golongan flavonoid dengan kerangka isoflavan seperti *isovestitol* (1), *medicarpin* (2), *sativan* (3), *betulinic acid* (4) (Noviany *et al.*, 2012).



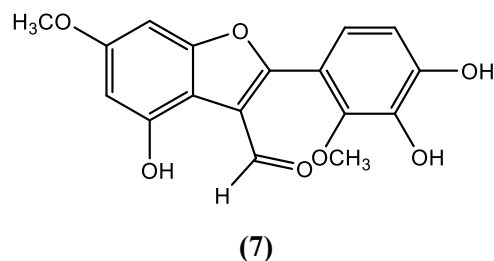
Gambar 2. Struktur senyawa 1-4 yang telah diisolasi dari akar turi putih (Noviany *et al.*, 2012)

Senyawa fenolik dari jenis 2-aril benzofuran juga telah berhasil dipisahkan dari fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan turi putih (Noviany *et al.*, 2018). Senyawa-senyawa tersebut diidentifikasi sebagai 6-metoksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehida) atau sesbagrandidflorain A (**5**) dan (6-hidroksi-2-2'3'-dihidroksi-5-metoksifenil-1-benzofuran-3-karbaldehid) atau sesbagrandidflorain B (**6**) (Gambar 3). Uji aktivitas antioksidan kedua senyawa tersebut menggunakan metode DPPH menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan kuat karena memiliki nilai IC_{50} dibawah 50 ppm yaitu sebesar 46.61 dan 49.33 ppm (Septiana, 2018).



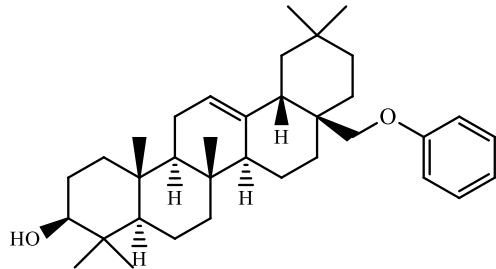
Gambar 3. Senyawa sesbagrandidflorain A dan B (Noviany, 2021)

Selain itu, satu senyawa baru yang termasuk 2-aril benzofuran juga telah berhasil diisolasi dari ekstrak kulit batang turi pada fraksi etil asetat oleh Noviany *et al* (2020) yaitu sesbagrandidflorain C (**7**) dan senyawa tersebut dilaporkan menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa, HepG2, dan MCF-7. Struktur senyawa tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Struktur senyawa sesbagrandidflorain C

Senyawa terpenoid dari golongan triterpenoid yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan turi putih adalah 3- β -hidroksi-28-p-hidroksifenoksilen-12-en (Gambar 5) (Das and Tripathi, 1999).



Gambar 5. Senyawa 3- β -hidroksi-28-p-hidroksifenoksiolen-12-en

E. Efek Farmakologi Turi Putih

Tanaman turi putih merupakan salah satu rujukan tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan oleh masyarakat Indonesia karena mempunyai potensi sebagai bahan obat tradisional atau herbal yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit dan di setiap jaringan yang ada pada tanaman ini memiliki efek farmakologi yang berbeda-beda. Penelitian yang telah dilakukan oleh Doddala *et al* (2008) menyatakan bahwa jus dari daun tanaman turi dapat digunakan sebagai pemecah batu ginjal yang efektif, selain itu juga daun turi dapat mengatasi keputihan, memperbanyak produk ASI dan meredakan demam (Kasture *et al.*, 2002). Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Ramesh *et al* (2010) juga telah menyatakan bahwa daun turi yang dijadikan sebagai suplemen untuk tubuh dapat menunjukkan pencegahan oksidasi yang dapat merusak paru-paru, ginjal dan hati.

Bunga turi mempunyai efek farmakologi sebagai obat pencahar, sementara pada kulit batang memberi efek farmakologi sebagai analgetik atau untuk mengurangi rasa sakit, penurun panas, meredakan disentri hingga dapat mengobati cacar air. Kulit batang turi juga merupakan bagian tanaman yang memiliki efek antioksidan

yang tinggi sehingga dapat mengatasi penyakit-penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas. Efek antioksidan yang dimiliki oleh tanaman turi putih ini disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid yang mampu menangkap radikal bebas melalui donor proton hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid (Amic *et al.*, 2003). Sedangkan pada akar tanaman turi putih, berdasarkan investigasi yang dilakukan Shareef *et al* (2012) menyatakan bahwa akar turi juga memiliki efek farmakologi yang hampir sama dengan kulit batang turi yaitu sebagai antioksidan, antiinflamasi, analgesik serta antiseptik.

F. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa reaktif yang tidak stabil karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan untuk mengembalikan kestabilannya, maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Wahdaningsih dkk., 2011).

Senyawa radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh dapat merusak berbagai sistem dalam tubuh yang akan menimbulkan berbagai penyakit yang serius. Contohnya, radikal bebas dapat menyebabkan penyakit mata katarak, karena radikal bebas dapat merusak protein yang ada pada mata. Pada membran sel, radikal bebas dapat merusak komponen penyusun membran sel, misalnya pada asam lemak. Radikal bebas dapat merusak pembuluh darah sehingga memudahkan terjadinya pengendapan kolesterol, yang akan menyebabkan penyakit obesitas atau aterosklerosis. Tidak hanya itu, radikal bebas juga dapat menyebabkan DNA mengalami mutasi karena DNA teroksidasi sehingga menjadi pemicu penyakit degeneratif seperti kanker. Keadaan tersebut terjadi karena radikal bebas akan terus mencari elektron dari molekul-molekul disekitarnya untuk bereaksi dan apabila tidak dapat dikendalikan, maka reaksi berantai ini akan

berlangsung secara terus-menerus dan menimbulkan efek negatif pada kesehatan (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

Sumber-sumber pemicu radikal bebas ada yang bersifat internal (dari dalam tubuh) dan ada yang bersifat eksternal (dari luar tubuh).

1. Radikal Bebas Internal

Radikal bebas internal ini bersumber dari oksigen yang kita hirup. Oksigen yang biasa kita hirup merupakan penopang utama kehidupan, karena dapat menghasilkan banyak energi, namun hasil samping dari reaksi pembentukan energi tersebut menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas ini terbentuk saat proses sintesis energi oleh mitokondria atau proses detoksifikasi yang melibatkan enzim sitokrom P-450 di hati (Lehninger, 1982).

2. Radikal Bebas Eksternal

Radikal bebas eksternal ini bersumber dari: polusi udara, alkohol, rokok, stress atau depresi yang dimiliki, radiasi sinar ultraviolet, obat-obatan tertentu seperti anastesi, pestisida, sinar X dan kemoterapi. Radikal bebas juga dihasilkan oleh proses pengolahan makanan yang berlebihan dalam kehidupan sehari-sehari seperti menggoreng, membakar dan memanggang makanan yang mengandung kadar lemak yang tinggi, sehingga makanan-makanan seperti gorengan, *junk food* tidak sehat apabila dikonsumsi berlebihan (Desrorier, 1998). Minyak goreng yang sering dipakai berkali-kali hingga berwarna kehitaman dan berbau tengik juga dapat menimbulkan radikal bebas. Hal ini disebabkan oleh terlepasnya senyawa peroksida dan epoksida yang karsinogen pada minyak goreng tersebut (Ketaren, 2005).

G. Antioksidan

Menurut Dai dan Mumper (2010), timbulnya penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas, dapat dicegah dengan senyawa antioksidan.

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi dan kerusakan sel dalam tubuh. Antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif yang dapat menimbulkan berbagai macam penyakit degeneratif pada tubuh, seperti penyakit jantung dan kanker. Penyakit degeneratif tersebut disebabkan oleh antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas (Filbert *et al.*, 2014).

Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya. Penggunaan bahan alam asli Indonesia sebagai antioksidan diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau (Giacco F and Brownlee M., 2013). Senyawa antioksidan diantaranya adalah asam fenolik, flavonoid, karoten, vitamin E (tokoferol), vitamin C, asam urat, bilirubin dan albumin. Zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium juga berperan sebagai antioksidan (Tirzitis, G and G. Bartosz., 2010).

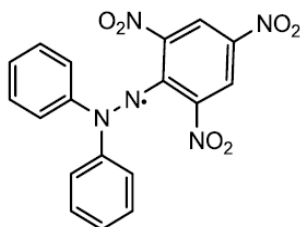
Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan target dengan cara:

- a. Memusnahkan (*scavenge*) radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung.
- b. Mengurangi pembentukan radikal bebas.
- c. Mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies yang reaktif (transferin, albumin).
- d. Memperbaiki kerusakan sasaran.
- e. Menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan molekul baru

H. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal/antioksidan. DPPH adalah radikal bebas yang stabil yang digunakan untuk mengevaluasi perendaman radikal bebas pada bahan alam. Prinsip pengujian dari metode DPPH ini adalah pengukuran nilai absorbansi dari radikal DPPH yang mengalami penurunan akibat adanya senyawa antioksidan dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya (Thangaraj, 2016).

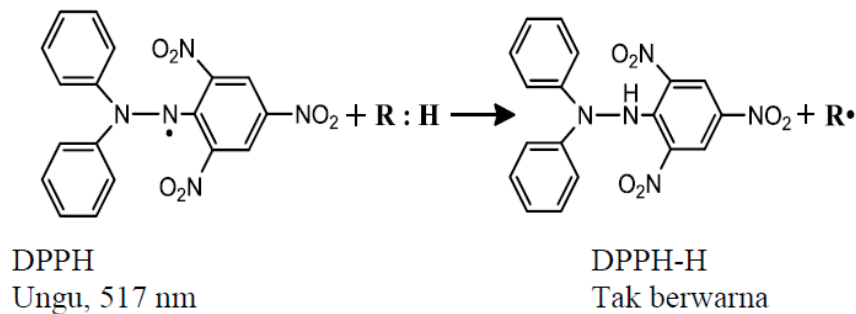
Uji peredaman radikal bebas berdasarkan metode DPPH merupakan uji yang sering digunakan dalam penelitian untuk menentukan seberapa besar aktivitas antioksidan yang terdapat dalam suatu sampel dengan cara melihat kemampuan senyawa tersebut dalam menangkal radikal bebas yang berasal dari DPPH (Molyneux, 2004). Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas (Molyneux, 2004). Berikut struktur senyawa dari DPPH terdapat dalam **Gambar 6**:



Gambar 6. Struktur senyawa DPPH (Tirzitis, G and G. Bartosz., 2010)

Gugus kromofor dan ausokrom pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm sehingga menimbulkan warna ungu. Prinsip pengujiannya adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenilpikrilhidrazin yang ditunjukkan oleh perubahan warna. Kemampuan penangkapan radikal berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan elektron atau hidrogen. Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau

hidrogen akan bereaksi dan akan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa antioksidan. Konsentrasi DPPH pada akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkap radikal (Tirzitis, G and G. Bartosz., 2010). Berikut adalah mekanisme reaksi perendaman radikal bebas oleh DPPH terdapat dalam **Gambar 7**.



Gambar 7. Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan (Prakash, *et al.*, 2001)

Aktivitas penghambatan radikal bisa dihitung dengan rumus persentase inhibisi (kemampuan meredam radikal) DPPH sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = 100 - \frac{\text{absorbansi sampel} - \text{absorbansi blanko}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100$$

Selanjutnya dilakukan perhitungan IC_{50} yang merupakan konsentrasi sampel untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari perpotongan garis antara 50% daya inhibisi dengan konsentrasi sampel.

Hasil persentase inhibisi tersebut dimasukkan dalam persamaan linier dengan persamaan:

$$Y = aX + b$$

Dengan:

Y = persentase inhibisi.

a = gradien.

X = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$).

b = Konstanta.

Untuk menghitung nilai IC_{50} , persamaannya menjadi:

$$50 = aX + b$$

$$X = \frac{50 - b}{a}$$

Harga X adalah IC_{50} dengan satuan $\mu\text{g/mL}$. IC_{50} merupakan konsentrasi larutan. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Berdasarkan standar tingkat aktivitas antioksidan, senyawa yang termasuk kategori sangat tinggi memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kategori tinggi bila memiliki nilai $IC_{50} 10 - 100 \mu\text{g/mL}$, dan kategori tidak aktif bila nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (Minami *et al.*, 1998).

Pada penelitian ini uji antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa kelebihan yaitu cara kerjanya mudah dan cepat, dapat langsung diaplikasikan pada sampel yang akan diuji tanpa harus menambahkan reagen atau penambahan senyawa atau pereaksi lain, tidak membutuhkan biaya mahal, tidak memerlukan temperatur tinggi dalam pengujiannya sehingga sangat cocok untuk senyawa yang tidak tahan terhadap panas seperti senyawa flavonoid serta memiliki hubungan yang linear antara konsentrasi dan penurunan absorbansi yang dihasilkan (Singh *et al.*, 2010).

I. Metabolomik

Penggunaan bahan baku tanaman yang digunakan sebagai rujukan dalam pembuatan obat haruslah melewati proses kendali mutu dan jaminan keamanan. Jaminan kendali mutu dan keamanan bahan baku alam tersebut dapat dilakukan dengan pendekatan metabolomik. Metabolomik merupakan salah satu cabang penelitian terkait “omik” yang difokuskan pada karakterisasi molekul metabolit dalam matriks biologis secara keseluruhan melalui identifikasi profil metabolit total dalam suatu organisme (Krastanov, 2010).

Pendekatan metabolomik merupakan teknik analisis tingkat tinggi yang dapat mengidentifikasi dan mengkuantifikasi ratusan profil metabolit dalam tanaman, sehingga pendekatan metabolomik ini dapat mencakup berbagai hal yang mungkin dapat terkandung dalam sampel sebagai acuan untuk mengamati kualitas sampel tersebut. Tidak hanya dalam bidang kesehatan atau kendali mutu obat, pendekatan metabolomik juga dapat diaplikasikan dalam bidang industri pangan, mikrobiologi, dan diagnostik. Keuntungan lain yang dapat diperoleh dari cara ini juga adalah pola pengenalan algoritma yang dapat dimanfaatkan untuk memberikan pengetahuan baru yang tidak diduga sebelumnya (Choi *et al.*, 2010).

Dalam kajian metabolomik, jumlah data dan kualitas data dapat diklasifikasikan menjadi 3 yaitu analisis metabolit bertarget, pemprofilan metabolit, dan sidik jari metabolit. Analisis metabolit bertarget didasarkan pada deteksi dan kuantifikasi sekelompok kecil metabolit maupun senyawa target tunggal. Profil metabolit didasarkan pada deteksi, identifikasi, dan hipotesis kuantifikasi sekelompok besar metabolit yang dikaitkan dengan jalur biosintesis yang spesifik. Sementara sidik jari metabolit merupakan pengukuran cepat yang dilakukan dengan analisis spektra dari komposisi total *biochemical fingerprint* untuk diskriminasi sampel yang berbeda tanpa harus melalui tahap identifikasi metabolit (Krastanov, 2010). Instrumen yang sering digunakan pada analisis metabolomik antara lain spektroskopi inframerah transformasi *Fourier* (FTIR), GC-MS, LC-MS, CE-MS, dan ¹H-NMR (Theodoridis *et al.*, 2008).

J. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*

Pada penelitian ini, instrumen LC-MS/MS akan digunakan dalam analisis metabolomik yang akan dikorelasikan dengan aktivitas antioksidan tanaman turi putih untuk prediksi senyawa aktif antioksidannya. Ekstrak yang dianalisis dari pelarut pengestrak yang berbeda, lalu dilakukan profil metabolit menggunakan

kromatografi cair-spektroskopi massa atau LC-MS/MS. Kunci dalam penemuan yang lebih jauh dalam rangka menentukan profil suatu metabolit adalah penggunaan sistem pemisahan dengan resolusi yang lebih tinggi dan LC-MS/MS merupakan salah satu alternatif pendekatan yang sangat berguna dalam menentukan profil suatu metabolit sampel tersebut. LC-MS/MS memiliki kemampuan dalam mengidentifikasi sampel yang kompleks, sehingga kelebihan tersebut bisa memisahkan dan mendeteksi molekul dengan kisaran yang luas, serta dapat digunakan untuk analisis kuantitatif maupun analisis struktural, dengan sensitivitas mencapai ukuran pg/mL^{-1} , sehingga analisis LC-MS/MS ini banyak digunakan pada bidang bioanalisis (Theodoridis *et al.*, 2012).

Selain itu, LC-MS/MS cocok dalam analisis senyawa yang tidak stabil pada suhu tinggi dan memiliki polaritas atau bobot molekul yang tinggi (Rouessac dan Rouessac., 2007). Hasil yang diperoleh dari analisis LC-MS/MS adalah spektrum massa yang memberikan informasi terkait fragmentasi bobot molekul yang spesifik untuk mengidentifikasi atau mengkonfirmasi senyawa yang diprediksi, struktur, identitas, kuantitas, dan kemurnian sampel sehingga dapat meningkatkan kualitas hasil yang diperoleh pada analisis kuantitatif dan kualitatif (Lee dan Kerns., 1999).

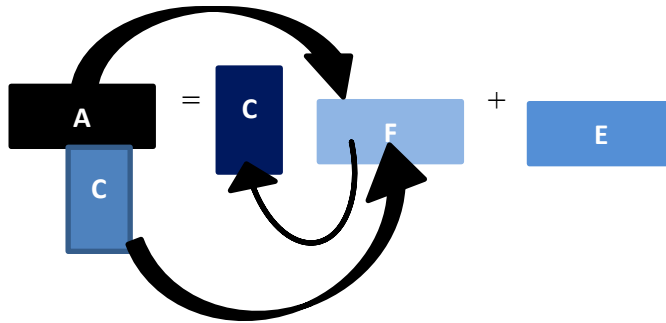
Data yang diperoleh dari analisis LC-MS/MS menghasilkan data yang sangat kompleks dengan puncak-puncak yang terdeteksi pada sampel. Penanganan kompleksitas data dapat dilakukan dengan otomatis melalui perangkat lunak. Perangkat lunak yang digunakan pada penelitian ini adalah *MZmine* dan *The Unscrambler*. *MZmine* merupakan tahapan awal dalam pemrosesan kromatogram LC-MS/MS yang mengolah kromatogram LC-MS/MS menjadi bentuk *mass array*. *Mass array* adalah matriks tiga dimensi yang mengandung informasi mengenai nilai m/z , waktu retensi, luas puncak, dan intensitas puncak (Theodoridis *et al.*, 2008).

K. Analisis Multivariat PCA (*Principle Component Analysis*)

Analisis multivariat merupakan salah satu teknik analisis kemometrik yang paling banyak digunakan untuk mengenali pola dari suatu data sehingga data dapat dikelompokkan berdasarkan persamaan polanya (Brereton, 2003). Analisis multivariat ini bertujuan untuk menganalisis matriks kompleks dan analisis multikomponen pada sistem yang sederhana, dimensi data akan direduksi dan akan memberikan gambaran dalam pengelompokan data melalui penentuan komponen utama (PCA) sehingga visualisasi pengelompokan data dan evaluasi kesamaan antar kelompok menjadi lebih mudah (Theodoridis *et al.*, 2012). Selain itu, teknik analisis ini dapat menemukan alasan atau faktor di balik pola yang teramati melalui korelasi berdasarkan sifat kimia atau fisika dari sampel yang dianalisis. Dapat disimpulkan secara keseluruhan bahwa penggunaan analisis multivariat PCA adalah untuk mengklasifikasi sampel menjadi grup yang umum, mendeteksi adanya pencilan (*outliers*), melakukan pemodelan data, serta menyeleksi variabel untuk klasifikasi maupun untuk pemodelan (Brereton, 2003).

L. Analisis PLSR (*Partial Least Squares Regression*)

Metode Analisis PLSR (*Partial Least Squares Regression*) digunakan untuk mendeteksi senyawa penciri atau *important variable* pada suatu sampel, karena analisis ini merupakan metode yang paling relevan dalam memprediksi dan menginterpretasikan sebuah data. Analisis PLSR menggunakan kombinasi linear untuk menduga variabel bebas dari variabel asli. Teknik dalam mengkompres data PLSR ditunjukkan pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Teknik kompresi data dengan PLS (Ayu, 2017)

Tujuan dari analisis PLSR adalah untuk membentuk model linear antara matriks C (konsentrasi kandungan kimia) dengan matriks A (*spectra*). Matriks F (Komponen utama) merupakan faktor untuk mewakili matriks A dan C. Selanjutnya, masing-masing bobot dihitung dengan memaksimalkan kovarian matriks A dan C yang kemudian akan menghasilkan *regression coefficient* berupa matrik S. Informasi terkait dekomposisi spektrum, selanjutnya akan digunakan untuk mengitung persamaan regresi, guna memperoleh model yang kuat dalam memprediksi kandungan kimia atau senyawa penciri yang diinginkan (Amrulloh, 2020).

M. Isolasi Senyawa Biaktif Antioksidan Turi Putih

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan komponen senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan. Prinsip ekstraksi adalah perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut yang dimulai dari pelapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan tingkat polaritasnya (Harborne, 1998). Teknik ekstraksi senyawa organik bahan alam terdiri dari beberapa metode, seperti maserasi, perkolasi, sokhletasi, refluks dan destilasi uap.

Efektifitas dalam pemilihan metode ekstraksi pada sebuah penelitian tergantung dari sifat bahan dan senyawa target yang akan diisolasi, sehingga sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu seperti pengelompokan bagian tumbuhan, pemilihan pelarut pengekstrak dan lama perendamannya (Sarker, 2006).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruang. Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode sokhlet karena dikhawatirkan ada golongan senyawa flavanoid yang tidak tahan panas. Proses maserasi ini sangat menguntungkan dalam proses ekstraksi bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur waktu perendaman yang dilakukan pada sampel tersebut. Proses ini biasanya dilakukan beberapa kali, lalu ekstrak sampel disatukan dan diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum atau *rotary evaporator* (Markham, 1988).

Untuk memperoleh ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi, maka pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi merupakan faktor yang penting. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus memiliki kemampuan menarik komponen aktif dari campuran dan faktor-faktor yang perlu dilakukan dalam pemilihan pelarut antara lain adalah selektivitas, sifat pelarut, kemampuan mengekstraksi, tidak bersifat racun, mudah diuapkan, dan memiliki harga yang relatif murah (Gamse, 2002).

2. Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi

Kromatografi merupakan salah satu proses dalam isolasi bahan alam untuk proses pemisahan senyawa yang didasarkan pada perbedaan distribusi dua komponen campuran yaitu fase diam dibawah pengaruh gerakan dari fase gerak. Teknik kromatografi bertujuan untuk pemisahan dan pemurnian zat-zat dari campurannya. Dasar-dasar terjadinya pemisahan pada kromatografi adalah adsorpsi, partisi, filtrasi, dan suhu kritik (Mulja, M dan Suharman., 1995). Beberapa metode kromatografi diantaranya adalah kromatografi cair vakum (KCV) kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT).

a. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi Cair Vakum merupakan teknik kromatografi yang didasarkan pada kondisi vakum khusus menggunakan silika gel sebagai adsorbennya. Kelebihan KCV dibandingkan dengan kromatografi kolom terletak pada efisiensi waktu yang digunakan. Karena dalam prosesnya pengelusan dipercepat dengan cara memvakumkan kolom serta dapat memaksimalkan pemisahan senyawa dalam jumlah yang banyak. Teknik KCV ini harus dilakukan pada kondisi vakum secara terus- menerus, guna memperoleh kerapatan kemasan yang maksimal menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju alir fasa geraknya. Dalam proses KCV pemilihan silika gel merupakan faktor penting yang perlu diperhatikan untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik. Ukuran partikel silika gel yang terlalu kecil akan menyebabkan proses elusi berjalan lambat, adapun urutan eluen yang digunakan dalam proses KCV, dimulai dari eluan yang memiliki tingkat kepolaran rendah, kemudian ditingkatkan secara bertahap. (Hostettmann *et al.*, 1986).

b. Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom merupakan teknik pemisahan dan pemurnian suatu senyawa dalam proses isolasi senyawa bahan alam. Pemisahan suatu komponen senyawa campuran yang digunakan pada KK dilakukan dengan cara mengalirkan eluen (fasa gerak) yang sesuai terhadap sampel yang diteliti dalam sebuah kolom kaca vertikal yang berisikan adsorben (fasa diam). Pada KK fasa diam yang digunakan berupa silika gel, sementara fasa geraknya dapat diawali dengan pelarut non polar yang tingkat kepolarannya dinaikan secara bertahap (Stahl, 1969).

Laju elusi yang terjadi pada KK ini disebabkan oleh gaya gravitasi, sehingga kromatografi kolom dikenal juga sebagai kromatografi kolom gravitasi. Pada KKG ini akan terjadi kesetimbangan antara zat terlarut yang diadsorpsi dan pelarut yang melewati kolom, sehingga terbentuk pola pemisahan pada masing-masing komponen senyawa yang kemudian dapat ditampung berdasarkan pola pemisahannya (Helfman, 1983). KK pada prinsipnya sama aja dengan metode KCV, hanya saja sistem kerja pada kromatografi kolom ini tidak menggunakan vakum seperti KCV. Sebelum menggunakan kromatografi kolom, biasanya sebagian kecil sampel dipisahkan menggunakan KLT terlebih dahulu untuk menentukan pelarut yang cocok digunakan (Hajnos *et al.*, 2011).

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode kromatografi padat-cair, dengan fase diam yang biasanya berupa adsorben polar dan fase geraknya yang berupa satu jenis pelarut atau berupa campuran pelarut (Sastrohamidjojo, 2002). Teknik kromatografi lapis tipis memiliki kelebihan yaitu murah, sederhana dalam analisisnya, sehingga dapat dengan cepat memisahkan senyawa organik bahan

alam maupun non organik dengan waktu beberapa menit menggunakan alat sederhana dan tidak terlalu mahal.

Pada prinsip kerjanya, metode KLT ini didasarkan pada perpindahan analit pada fasa diam yang dipengaruhi oleh fasa geraknya, proses ini disebut dengan elusi. Data yang diberikan pada KLT ini adalah bentuk harga R_f senyawa dalam sistem eluen tertentu, sehingga semua zat dengan fase diam dan fase gerak yang berbeda akan memiliki harga R_f yang berbeda pula (Gritteret *et al.*, 1991). Menurut Sastrohamidjojo (2002) nilai R_f ini merupakan nilai faktor retensi suatu senyawa yang nilainya berupa angka desimal. Nilai R_f ini dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh sampel}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

Pendeteksian bercak hasil pemisahan dapat dilakukan dengan berbagai cara. Bagi senyawa tak berwarna cara yang paling sederhana adalah melakukan pengamatan pada sinar ultraviolet (UV). Beberapa senyawa organik akan berfluorensi atau bersinar jika disinari UV pada Panjang gelombang 365 nm atau gelombang pendek 254 nm. Apabila dengan cara tersebut tidak terdeteksi maka dapat dilakukan pendeteksian dengan penyemprotan reagent pereaksi yang dapat membuat bercak tersebut nampak setelah dilakukan pemanasan (Gritter *et al.*, 1991; Stahl, 1969).

N. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang dapat melakukan pengukuran interaksi antara radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Spektroskopi UV memiliki panjang gelombang dengan kisaran sinar 200-400 nm, sementara sinar tampak memiliki

panjang gelombang dengan kisaran sinar 400-900 nm dan spektroskopi ini biasanya digunakan untuk analisis kuantitatif maupun kualitatif (Sudjadi, 1985). Sinar ultraviolet dan sinar tampak adalah suatu energi yang ketika mengenai elektron-elektron yang terkandung dalam suatu sampel maka akan menyebabkan terjadinya eksitasi elektron dari keadaan dasar ke keadaan yang lebih tinggi (Suhartati, 2017).

Serapan sampel dapat dilakukan dengan perhitungan *Lambert-Beer* sebagai berikut:

$$T = I_t/I_0 = 10^{-\epsilon \cdot c \cdot b}$$

$$A = \log I_0/I_t = \epsilon \cdot c \cdot b \text{ atau } \epsilon = \frac{A}{b \cdot c}$$

dimana: A = Absorbansi

a = Daya Serap

b = Tebal sel (cm)

c = Kadar (g/L)

ϵ = Absorbtivitas molar ($\text{mol} \cdot \text{cm} \cdot \text{L}^{-1}$)

I_0 = Intensitas sinar datang

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

Absorbansi (A) diperoleh dari data spektrum yang terdapat pada puncak-puncak serapannya. Tabel sel adalah ketebalan sel dalam alat yang digunakan, sedangkan konsentrasi (c) dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi (c)} = \frac{\text{mol}}{\text{L}} = \frac{\text{g}}{\text{BM} \cdot \text{L}}$$

Keterangan: g = masa senyawa hasil isolasi (gr)

BM = berat molekul relatif (gr/mol)

L = volume larutan yang digunakan (L)

(Ibrahim dan Sitorus, 2013)

Senyawa yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor, yaitu gugus dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Gugus kromofor akan mengabsorpsi radiasi sinar UV dan Vis jika diikat oleh

senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (ausokrom). Gugus ausokrom yaitu gugus yang mempunyai elektron non-bonding dan tidak menyerap radiasi UV jauh contohnya $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$ dan $-\text{X}$.

Beberapa faktor yang mempengaruhi spektrum serapan diantaranya adalah jenis pelarut (polar dan non-polar), pH larutan, kadar larutan, dimana jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan λ maksimum berubah sama sekali atau harga $I_0 < I_a$, dan tebal larutan jika digunakan kuvet dengan tebal berbeda akan memberikan spektrum serapan yang berbeda (Harmita, 2006).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2020 –Juni 2021, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Lampung. Analisis spektroskopi yang digunakan meliputi spektroskopi ultraungu-tampak (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis LC-MS/MS dilakukan di Unit Laboratorium Riset Unggulan.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas dengan berbagai macam jenis dan ukuran, seperangkat alat destilasi, evaporator putar, oven, neraca analitik, spatula dan pipet tetes, lampu UV 256 nm dan 365 nm, satu set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom (KK), pengukur titik leleh (*Melting Point Apparatus Gallenkamp*) MP-10 Stuart, spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis) Agilent Carry 50, Vanquish Flex UHPLC-Q Exactive Plus Orbitrap-High Resolution Mass Spectrometer, perangkat

keras komputer, serta perangkat lunak *The Unscrambler X* versi 10.1 (CAMO, Norwegia).

2. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan utama yang digunakan adalah kulit batang tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) yang didapat dari daerah Gisting Bawah blok.5, Kecamatan Gisting, Kabupaten Tanggamus pada 30 Agustus 2020 yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sampel adalah metanol:etil asetat (75%, 50% dan 25%). Bahan kimia yang digunakan adalah metanol (MeOH), etil asetat (EtOAc), *n*-heksan ($n\text{-C}_6\text{H}_{14}$), aseton ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$), akuades (H_2O), klorofom (CH_2Cl_2), diklorometan (CH_2Cl_2), silika gel Merck G-60 untuk impregnasi, silika gel GF 254 (35-70 Mesh), plat KLT, kertas saring, *reagent* DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan asam askorbat.

C. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Sampel

Determinasi tumbuhan turi putih dilakukan di Herbarium Bogoriensis bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Kulit batang turi dicuci bersih dengan air dan diiris kecil-kecil, lalu dikeringkan dengan dijemur di bawah panas sinar matahari sampai kering. Kulit batang yang telah kering lalu digiling hingga menjadi serbuk halus. Serbuk ini yang kemudian digunakan sebagai sampel dalam penelitian.

2. Prosedur Preparasi untuk Uji Antioksidan dan Analisis LC-MS/MS

a. Ekstraksi Sampel

Pada penelitian ini sampel turi putih akan diekstrak dengan 3 variasi pelarut yang akan digunakan sebagai data pendekatan metabolomik, yang hasilnya akan dikorelasikan dengan hasil dari uji antioksidan untuk mengkonfirmasi senyawa bioaktif yang ada pada turi putih dari masing-masing pelarut pengekstrak yang digunakan. Variasi pelarut yang digunakan untuk mengestrak sampel turi putih tersebut adalah metanol/etil asetat (75%, 50% dan 25%).

Pada penelitian ini, serbuk halus kulit batang tanaman turi putih yang diperoleh memiliki berat sebesar ± 750 gr. Kemudian, dari total berat sampel tersebut masing-masing ditimbang seberat 50 gr dengan 5 kali pengulangan untuk diekstrak dalam 3 variasi pelarut. Sampel tersebut dimaserasi dengan metanol/etil asetat (75%, 50% dan 25%) dengan perbandingan 1:4 selama 1x24 jam. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring, lalu filtrat hasil maserasi tersebut selanjutnya dipekatkan dengan penguap putar vakum atau *rotary evaporator* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 40°C. Ekstrak pekat yang diperoleh lalu ditimbang yang akan digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dan analisis LC-MS/MS.

3. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Reagen DPPH yang digunakan sebagai uji antioksidan dibuat dengan cara 0,5 μ M DPPH dilarutkan dalam pelarut metanol/etil asetat (75%, 50% dan 25%) dalam labu takal 100 mL dan dicukupkan dengan pelarut metanol hingga mencapai tanda batas.

b. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko digunakan sebagai kontrol negatif pada uji antioksidan. Larutan blanko dibuat dengan cara sebanyak 2 mL *reagent* DPPH dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 mL metanol/etil asetat (75%, 50% dan 25%) dan dihomogenkan. Selanjutnya, diuji spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang serapan 517 nm.

c. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan cara 50 mg dari masing-masing sampel ekstrak pekatnya diencerkannya dengan pelarut metanol/etil asetat (75%, 50% dan 25%) sebanyak 50 mL dalam labu takar dan dicukupkan hingga tanda batas, lalu dibuat variasi konsentrasi menjadi 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm dan 20 ppm dari larutan stok 1000 ppm melalui proses pengenceran bertingkat (Rismayani, 2019).

d. Pembuatan Larutan Asam Askorbat

Pembuatan asam askorbat, digunakan sebagai larutan pembanding atau kontrol positif pada uji antioksidan. Larutan asam askorbat dibuat dengan cara 50 mg asam askorbat diencerkannya dengan pelarut metanol/etil asetat (75%, 50%, dan 25%) 50 mL dalam labu takar dan dicukupkan hingga tanda batas, lalu dibuat variasi konsentrasi yang sama seperti larutan uji melalui pengenceran bertingkat dari larutan stok 1000 ppm menjadi 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, dan 20 ppm.

e. Pengujian Antioksidan (Mayara, *et al.*, 2016)

Uji antioksidan dilakukan dengan cara mencampurkan 2 mL larutan DPPH dengan 2 mL larutan sampel dari variasi konsentrasi yang telah dibuat. Campuran dibiarkan bereaksi dalam suhu ruang selama 30 menit. Setelah itu, masing-masing campuran diukur serapannya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian antioksidan dengan prosedur yang sama seperti pada pengujian sampel juga dilakukan pada larutan blanko dan kontrol positif asam askorbat.

4. Identifikasi Metabolit dan Analisis Multivariat berbasis LC-MS/MS

Ekstrak sampel seberat 0,1 gr ditimbang lalu dilarutkan dalam 4 mL metanol. Ekstrak terlarut kemudian difilter dengan PTFE 0,22 μm . Sebanyak 2,0 μL filtrat sampel diinjeksikan ke dalam instrument LC-MS/MS sebanyak 5 kali pengulangan untuk setiap ekstrak sampel. Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Vanquish Flex UHPLC-Q Exactive Plus Orbitrap-High Resolution Mass Spectrometer*. Kolom yang digunakan adalah Accucore C₁₈ dengan dimensi (100 \times 2,1 mm, 1,5 μm). Fase gerak yang digunakan berupa 0.1% asam format dalam air (A) dan 0,1% asam format dalam asetonitril (B) menggunakan metode elusi 0 - 25 menit (20-60% B), 25-30 menit (60-75 % B) dan 30-40 menit (75-100 % B). Laju alir yang digunakan sebesar 0,2 mL/menit.

Data spektrum yang diperoleh dari analisis LC-MS/MS kemudian dikorelasikan dengan data yang diperoleh dari uji antioksidan yang telah dilakukan. Pendugaan identifikasi metabolit dilakukan dengan membandingkan nilai massa akurat puncak terdeteksi hasil *mass array* dengan nilai massa akurat pasti senyawa yang ada pada sampel tanaman. Data LC-MS/MS dari ekstrak kulit batang berupa *mass array* kemudian dilakukan analisis multivariat dengan teknik PCA menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler*. Analisis multivariat dengan metode PCA

dilakukan untuk melihat pengelompokkan metabolit kulit batang turi putih berdasarkan perbedaan pelarut pengekstrak tersebut (Rafi, 2013).

5. Analisis PLSR (*Partial Least Squares Regression*)

Identifikasi senyawa yang berkontribusi signifikan atau *important variable* pada sampel tumbuhan turi putih dilakukan dengan membuat pemodelan dari hasil analisis PLSR (*Partial Least Squares Regression*) melalui program *The Unscrambler*. Metode analisis ini digunakan untuk pembentukan model korelasi antara aktivitas antioksidan dengan data hasil analisis LC-MS/MS. Pembentukan model PLSR dilakukan dengan dua set data, yaitu *retention time variable* (RT) sebagai variabel bebas (X) dan nilai IC₅₀ sebagai variabel respon (Y). Tujuan akhir pada proses ini adalah untuk mengidentifikasi *important variable* dari komponen sampel penelitian yang menjadi *biomarker* penyebab antioksidan serta dapat memberi informasi terkait pelarut pengekstrak antioksidan terbaik yang akan menjadi fokus penelitian untuk tahap isolasi senyawa bioaktif antioksidan (Theodoridis *et al.*, 2008).

6. Isolasi Senyawa Bioktif

a. Ekstraksi

Serbuk halus kulit batang tanaman turi putih sebanyak 1200 gr, diekstraksi melalui proses maserasi dengan menggunakan pelarut yang paling baik dari hasil analisis multivariat yang diperoleh. Proses maserasi dilakukan selama 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring, lalu maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary*

evaporator. Ekstrak pekat yang diperoleh, lalu ditimbang untuk mengetahui berat sampel tersebut.

b. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak pekat yang diperoleh dari hasil evaporasi kemudian difraksinasi melalui proses KCV dengan tujuan untuk pemisahan ekstrak sampel dalam jumlah yang banyak. Prinsip metode KCV ini adalah pendistribusian partikel pada fasa diam. Pada penelitian ini, fasa diam yang digunakan adalah silika gel halus dengan jumlah sebanyak 10 kali berat sampel. Dalam prosesnya, terlebih dahulu silika gel halus dikemas kering ke dalam kolom dengan keadaan vakum menggunakan alat vakum hingga bisa dipastikan silika halus tersebut padat dan tidak ada rongga sedikitpun. Kemudian eluen yang memiliki kepolaran terendah, dimasukkan ke permukaan silika halus untuk membasahi silika supaya lebih padat kerapatannya, lalu dihisap menggunakan alat vakum kembali.

Proses selanjutnya adalah menyiapkan sampel yang akan difraksinasi. Ekstrak kasar tanaman turi putih dilarutkan dalam aseton kemudian diimpregnasikan dalam silika gel kasar yang berjumlah sebanyak 2 kali berat sampel, kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam. Setelah itu kolom siap digunakan, maka dilakukan proses pengelusan menggunakan eluen EtOAc/*n*-heksan 0% sampai dengan EtOAc/*n*-heksan 100%. Kolom dihisap dengan vakum sampai kering pada setiap penambahan eluen (tiap kali elusi dilakukan). Kemudian fraksi-fraksi yang diperoleh dikumpulkan berdasarkan pola fraksinasi dan setelah itu dilakukan monitoring menggunakan metode KLT (Pratiwi dan Ersam, 2013).

c. Kromatografi Lapis Tipis

Metode KLT dilakukan untuk memonitoring fraksi-fraksi yang diperoleh dari proses KCV dan kromatografi kolom untuk mengidentifikasi senyawa melalui

pola pemisahannya dan noda yang dihasilkan dari metode KLT ini. Metode KLT dilakukan dengan sistem campuran eluen menggunakan kombinasi pelarut yang sesuai yaitu berupa *n*-heksan, etil asetat, metanol, kloroform dan diklorometan. Dalam prosesnya, fraksi-fraksi dari sampel turi putih di totolkan pada plat KLT dan dielus dengan kombinasi pelarut yang sesuai, bercak atau noda untuk melihat pola pemisahan dan untuk mengidentifikasi senyawa dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm (Wulandari, 2011).

Noda pada plat KLT dapat ditampilkan pada kromatogram dengan cara disemprot dengan menggunakan reagen yang sesuai, dan biasanya menggunakan serum sulfat. Nilai R_f dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat, lalu untuk setiap fraksi yang memiliki pola pemisahan dengan R_f yang sama pada kromatogram disatukan dan dipekatkan, sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan digunakan untuk fraksinasi lebih lanjut yaitu fraksinasi menggunakan kromatografi kolom (KK).

d. Kromatografi Kolom (KK)

Setelah diperoleh fraksi-fraksi dengan jumlah yang lebih sedikit, tahapan fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan metode kromatografi kolom. Dalam prosesnya, adsorben silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Campuran tersebut diaduk hingga terbentuk suatu *slurry*. *Slurry* dari silika gel dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom, fasa diam diatur hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan pada silika gel ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Pada saat sampel dimasukkan, kolom diusahakan tidak kering atau kehabisan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Gritter *et al.*, 1991)

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada uji antioksidan, nilai rata-rata IC_{50} yang diperoleh dari masing-masing variasi pelarut pengekstrak kulit batang turi putih adalah metanol 25% sebesar $40,62 \mu\text{g/mL}$, metanol 50% sebesar $50,97 \mu\text{g/mL}$ dan metanol 75% sebesar $42,75\%$.
2. Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh dari masing-masing variasi pelarut pengekstrak, ekstrak metanol 25% memiliki tingkat antioksidan kategori sangat kuat dan ekstrak metanol 50% dan 75% memiliki tingkat antioksidan dengan kategori kuat.
3. Penggunaan analisis PCA berhasil mengklasifikasikan ekstrak kulit batang *S.grandiflora* dengan visualisasi dua dimensi yang baik berdasarkan pelarut pengekstraknya dan memiliki total komponen utama sebesar 96%.
4. Berdasarkan analisis PLS melalui *X-Y relation* diperoleh informasi pelarut pengekstrak antioksidan terbaik yaitu pelarut metanol 25%.
5. Berdasarkan analisis PLS melalui *coefficient regression* diperoleh informasi senyawa metabolit penciri yang diduga berkontribusi aktif terhadap antioksidan yaitu senyawa A ($\alpha, \alpha - trehalose$), B (*Citric acid*), C (*Caffeic acid*), D (*Ferulic acid*), F (*Unknown-82*), G (*((6E)-7-(2H-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl) hept-6-en-1-one*)), H (*Unknown-159*), I (*Unknown-166*), J (*Unknown-178*) dan K (*Unknown-183*).
6. Senyawa bioaktif antioksidan yang berhasil diisolasi dari ekstrak metanol 25%

dari kulit batang turi putih adalah kristal FH.16 berupa padatan kristal berwarna kuning yang diidentifikasi sebagai senyawa sesbagrandiflorain B atau *4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde*. Akan tetapi senyawa ini, bukan termasuk variable important yang berkontribusi tinggi terhadap antioksidan.

7. Struktur senyawa sesbagrandiflorain B dikonformasi dari data LC-MS/MS dengan nilai m/z sebesar 300,06287 yang sesuai dengan rumus molekul $C_{16}H_{12}O_6$.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Perlu dilakukan isolasi lebih lanjut terhadap fraksi lainnya yang diduga memiliki antioksidan pada fraksi KCV yang diperoleh dari penelitian ini.
2. Perlu dilakukannya pemantauan dari fraksi-fraksi yang aktif antioksidan dengan LC-MS/MS selama proses isolasi, agar bisa mendapatkan isolat yang merupakan variable important terhadap aktivitas antioksidan.
3. Perlu dilakukannya isolasi senyawa biaktif yang lain selain antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik, seperti antikanker atau antidiabetes
4. Data analisis LC-MS/MS perlu ditambah jenis atau jumlah sampelnya sehingga dapat meningkatkan kemampuan dalam pembentukan model PLS.
5. Perlu dilakukannya pemodelan lain dari PLS yaitu OPLS (*Orthogonal Partial Least Square*) untuk mengetahui korelasi yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agostini- Costa, T. S., Viera, R. F., Bizzo, H. R., Silveria, D., and Gimenes, M. A. 2012. *Secondary Metabolite*. Embrapa Genetic Resources and Biotechnology. Brazil.
- Agromedia. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat: 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Amic, D., D. D. Amic, D. Beslo, and N. Trinajstic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationship of Flavanoid. *Croatica Chemica Acta*. **76**. Hlm 55-61.
- Amrulloh, H. 2020. Korelasi Antara Spektrum FTIR dan Aktivitas Antioksidan Daun, Kulit Batang dan Akar Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Menggunakan Kemometrik. [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung.
- Bahera, M., R. Karki, and C. Shekar. 2012. Preliminary Phytochemical Analysis of Leaf and Bark Methanolic Extract of *Sesbania grandiflora*. *The Journal of Phytopharmacology*. **1**(2). Hlm 10-20.
- Banwell, C. N. and E. M. McCash. 1994. *Fundamental Molecular Spectroscopy*. Mc-Graw Hill Book Company. London. Hlm 1204-1206.
- Barhe, C. A. and Tchouya, G. R. 2014. Comparative Study of the Antioxidant Activity of the Total Polyphenols Extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L., Merr., Yellow Tea and Red Wine Trough Reaction with DPPH Free Radical . *Arabian Journal of Chemistry*. Vol 9. Hlm 1-8.

- Brereton, R. G. 2003. *Chemometrics: Data Analysis for The Laboratory and Chemical Plant*. John Willey & Sons. England.
- Chew, O. S., Hamdan, M. R., Ismail, Z., Ahmad, M. N. 2004. Assessment Herbal Medicines by Chemometric-Assisted FTIR Spectra. *J Anal Chem. Acta*, in press.
- Choi, M.Y., Choi, W., Park, J. H., Lim, J., Kwon, S.W. 2010. Determination of Coffee Origins by Integrated Metabolomic Approach of Combining Multiple Analytical Data. *Food Chemistry* 121: 1260-1268.
- Dai, J., Mumper, R. J. 2010. Plant phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 15: 7313-7352.
- Das, K. C., and Tripathi, A. K. 1999. A New Triterpenoid of *Sesbania grandiflora*. *Oriental J. Chem.* **15** (3) : 561-562.
- DepKes RI. 2007. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Desrorier, N. W. 1998. *Teknologi Pengawetan Makanan*. UI Press. Jakarta. Hlm 369.
- Doddola, Sujatha., H. Pasupulati., B. Koganti., Koganti V., S. R. G. Prasad. 2008. Evaluation of *Sesbania grandiflora* for Antiurolithiatic and Antioxidant Properties. *J Nat Med.* 62. Hlm 300–307.
- Dunn, W. B., Ellis, D. I. 2005. Metabolomics: Current Analytical Platforms and Methodologies. *Trends in Analytical Chemistry* 24: 285–294. doi: 10.1016/j.trac.2004.11.021.
- Fessenden, R. J. dan J. S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik Jilid I*. Erlangga. Jakarta. Hlm 525.

- Filbert, H. S. J., Koleangan, M. R. J. Runtuwene, and V. S. Kamu. 2014. Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀ Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*). *J. MIPA.UNSRAT*. **3**(2):149-154.
- Gamse, T. 2002. *Liquid-Liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction. Institute of Thermal Process and Enviromental Engineering*. Graz University of Technology. Hlm 2-24.
- Gauglitz, G and T. Vo-Dinh. 2003. *Handbook of Spectroscopy*. Willey-VCH. Weinheim. Hlm 89;125;129; dan 347.
- Giacco, F and Brownlee, M. 2013. Oxidative Stress and Diabetic Complication. *Article Circ Res*. 107:1058-1070.
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., and Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. ITB Press. Bandung.
- Halliwel, B and Gutteridge J.M.C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York. p. 34.
- Harborne, J. B. 1998. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. ITB. Bandung. Hlm 9-71.
- Hajnos, M. W., Waksmundzka, and Sherma, J. 2011. *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical. Analysis*. CRC Press Taylor and Francis Group. Boca Raton. Hlm 13-15.
- Hariana. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harmita. 2006. *Analisis Fisikokimia*. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Depok.
- Hasan, N., H. Osman, S. Mohamad, W. K. Chong. 2012. The Chemical Components of *Sesbania grandiflora* Root and Their Antituberculosis

Activity. *Pharmaceuticals*. **5**. Hlm 882-889.

- Helfman, E. 1983. *Fundamental and Application of Chromatographic and Electrophoretic Methods*. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. Hlm 136-160.
- Hostettman, K., M. Hostettman. and A. Manson. 1986. *Preparative Chromatography Techniques: Applications in Natural Product Isolation*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York. Pp 146.
- Ibrahim, S. and M. Sitorus. 2013. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Graha Ilmu. Yogyakarta. Hlm 20-23.
- Ismiyarto, S. A., Halim, dan P. J. Wibawa. 2006. *Identification of Fatty Acid Compositon in Turi Seed Oil (Sesbania grandiflora (L) Pers)*. Organic Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Mathematic and Natural Science Faculty of Diponegoro University. Semarang. JSKA. **9**. No.1..
- Kasture V. S., V. K. Deshmukh., and C. T. Chopde. 2002. Anxiolytic an Anticonvulsive Activity of *Sesbania grandiflora* Leaves in Experimental Animals. *Phytother. Res.* **16**. Hlm 455–460.
- Ketaren, S. 2005. *Minyak dan Lemak Pangan*. UI Press. Jakarta. Hlm 184.
- Kim, J., Choi, J. N., Kang, D., Son, G. H., Kim, Y.S., Choi, H. K., Kwon, D.Y., Lee, C. H. 2011. Correlation between antioxidative activities and metabolite change during cheonggukjang fermentation. *J Agric Food Chem.* **75** (4): 732–739. doi: 10.1271/bbb.100858.
- Krastanov A. 2010. Metabolomic-the state of art. *Biotechnol & Biotechnol.* **24**: 1537-1543.
- Lee, M. S., Kerns, E. H. 1999. LC-MS Application in Drug Development. *Mass Spectrometry Reviews* **18**: 187-279.

- Lehninger, A. L. 1982. *Principles of Biochemistry*. Worth Publisher. New York.
- Lewis, E. G., Schrire, B. and Mackinder, B. 2005. *Legume of The World*. Kew Publishing. London.
- Mahadik, V. J., K. M. Patil and K. A. Wadkar. 2017. *Sesbania grandiflora* (Agastya): A Review on Its Phytochemical and Pharmacological Profile. *J. BioPharm. Res.* **9** (1): 1-6.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifiki Flavanoid*. ITB. Bandung. Hlm 117.
- Mayara, T., Castile, D., Serrao, C., Lobato, A., and Silva, R. 2016. Antioxidant Effect of Plant Extracts of the Leaves of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray on the Free Radical DPPH. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. **8** (8): 1182-1189.
- Minami, H., Kinoshita, M., Fukuyama, Y., Kodama, M., Yoshizawa, T., Suigura, M., Nakagawa, K., and Tago, H. 1998. Antioxidant Xanthenes from *Garcinia Subelliptica*. *Phytochemistry*. Vol 36. Hlm 501-506.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. **26** (2): 211-219.
- Mulja, M dan Suharman. 1995. *Analisis Intrumental*. Universitas Airlangga. Surabaya. Hlm 26-34.
- Noviany, N., Nurhidayat, A., Hadi, S., Suhartati, T., Azis, M., Purwitasari, N. and Subasman, I. 2018. Sesbaniagrandidflorain A and B: Isolation of Two New 2 arylbenzofurans from the Steam Bark of *Sesbania grandiflora*. *Nat. Prod. Res.* Pp. 1-7.
- Noviany, N., A. Samadi., Yuliyanan, N., Hadi, S., Aziz, M., Purwitasarie, N., Mohamad, S., N. N. Ismail., K. P. Gablec and Mahmud, T. 2020. Structure Characterization and Biological Activity of 2-arylbenzofurans from

an Indonesian Plant *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Phytochemistry Letters*. 35 (2020): 211-215.

- Noviany, N., A. Samadi., Yuliyanan, N., Hadi, S., Aziz, M., Purwitasarie, N., Mohamad, S., N. N. Ismail., K. P. Gablec and Mahmud, T. 2021. Structural Revision of Sesbigrandiflorins A and B and Synthesis and Biological Evaluation of 6-methoxy-2-arylbenzofuran Derivatives. *Journal of Natural Medicine*. Vol 75:66-75
- Paputungan, Z., D. Wonggo, and B.E. Kaseger. 2017. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Buah Mangrove *Sonneratia Alba* di Desa Nunuk Kecamatan Pinolosian. *J. Media. Teknol. Hasil. Perikanan*. 5(3): 190–195.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity: Medallion Laboratories. *Analytical Progress*. 19 (2): 1-4.
- Prapanza, I. dan L. A. Marianto, S.P. 2003. Khasiat dan Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Penyakit. Agromedia. *Journal Fitofarmaka*. Vol. 1 No.2.
- Pratiwi, A. dan Ersam, T. 2013. Uji Kemurnian Dua Senyawa dari Ekstrak Metanol Kayu Batang *Garcinia cylindrocarpa*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1) ; 1-4.
- PT. Sido Muncul. 2015. *Delivering The Vision*. PT. Sido Muncul. Jakarta.
- Rachmawati, S. 2012. Kajian Metabolomik Rimpang Temu Lawak Menggunakan Kromatografi Cair Spektroskopi Massa. [*Skripsi*]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rafi, M. 2013. Quality Control Methods for Some *Zingiberaceous* Plants from Indonesia using Liquid Chromatography Combined with Chemometrics. [*Disertasi*]. Gifu university. Gifu (JP).
- Ramesh, T., Sureka, C., Bhuvana, S., and Hazeena, B. V. 2010. *Sesbania grandiflora* Diminishes Oxidative Stress and Ameliorates Antioxidant

Capacity in Liver and Kidney of Rats Exposed to Cigarette Smoke. *J. Phys. Pharm.* 61. Hlm 467.

Rasyidi, R. D. G., Noviany., A. Nurhidayat, dan A. Setianingrum. 2015. *Skrining Fitokimia dan Uji KLT Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan yang Berpotensi Sebagai Obat Tradisional di Lampung*. Prosiding Nasional Sains & Teknologi VI Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hlm 685-695.

Rismayani, W. 2019. Korelasi Spektrum Inframerah Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Menggunakan Kemometrik. [*Skripsi*]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Rouessac, F and A. Rouessac. 2007. *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques, edition 2nd*. John Wiley and Sons. Chichester.

Sarker, V. 2006. *Natural Product Isolation 2nd Totawa*. Humana Press Inc. New Jersey. Hlm 6-10.

Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. Hlm 35-36.

Septiana, R. 2018. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Serta Uji Aktivitas Antioksidan. [*Skripsi*]. Universitas Lampung. Lampung.

Shareef, H., G. H. Rizwani, M. Zia-Ul-Haq, S. Ahmad, and H. Zahid. 2012. Tocopherol and Phytosterol Profile of *Sesbania grandiflora* (Linn.) Seed Oil. *Journal of Medical Plants Research*. 6(18). Hlm 3478-3481.

Silverstein, R. M., Webster, F. X. and Kiemle, D. J. 2005. *Spectromic Identification of Organic Compounds*. John Wiley and Sons, Inc. New York. Hlm 191-195.

Simpson, M. G. 2006. *Plant Systematics*. Elsevier Academic Press. USA. Pp 603.

- Singh, S. K., Jha, S. K., Chaundary, A., Yadava, R. D. S., Rai, S. B. 2010. Quality control of herbal medicine by using spectroscopic techniques and multivariate statistical analysis. *Pharm Biology* 48: 134-141.
- Stahl, E. 1969. *Thin-Layer Chromatography*. Springer-Verlag. Berlin. Pp 1023.
- Sudjadi, 1985. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hlm 283.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. CV Anugrah Utama Raharja Anggota IKAPI. Bandar Lampung.
- Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. 2009. Effect of Extraction Solvent or Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Journal of Molecules*. 12: 2167–2180. doi: 10.3390/molecules14062167.
- Sun, H., Ni Bei, Zhang, A., Wang Mo, Dong, H., Wang, X. 2011. Metabolomics Study in Fuzi and its Processed Products Using Ultra-Performance Liquid Chromatography/Electrospray-Ionization Synapt High-Definition Mass Spectrometry Coupled with Pattern Recognition Analysis. *Analyst* 137: 170-185.
- Tanaka, K., Morikawa, K., Nobukawa, T., Kadota, S. 2011. Analysis Biosynthetic Fluctuation of Cultured Taxus Seedlings Using a Metabolomic Approach. *Phytochemistry* 72: 1760-1766.
- Thangaraj, P. 2016. *Pharmacological Assay of Plant-Based Natural Products*. Springer International Publisher. Switzerland. Pp. 58-61.
- Theodoridis, G., Helen, G. G., Wilson. I. D. 2008. LC-MS-Based Methodology for Global Metabolite Profiling in Metabonomics/metabolomics. *Trends in Anal Chem*. 27: 251-260.
- Theodoridis, G. A., Gika, H. G., Want, E. J., Wilson, I. D. 2012. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Based Global Metabolite Profiling: a Review. *Analytica Chimica Acta* 711: 7-16.

- Tirzitis, G. and G. Bartosz. 2010. Determination of Antiradical and Antioxidant Activity : Basic Principles and New Insights. *J. Acta. Biochim. Polo.* **57**(1):139–142.
- Tjitrosoepomo, G. 2013. Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan. Univeritas Gajah Mada. Yogyakarta. Hlm. 447.
- Varmuza, K. 2002. *Applied Chemometrics: From Chemical Data Torelevant Information 1st Converences On Chemistry*. CRC Press. Kairo (RE).
- Wahdaningsih, S. and E. P. Setyowati, and S. Wahyuono. 2011. AktivitasPenangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca J. Sm*). *Maj. Ob. Trad.* **16**(3):156–160.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Persindo. Jember.