



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA MAYOR  
DARI BIJI *Swietenia mahagoni***

**SKRIPSI**

Oleh:

**Yoshinta Debby**

**NIM 162210101123**

**BAGIAN KIMIA FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA MAYOR  
DARI BIJI *Swietenia mahagoni***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Yoshinta Debby**

**NIM 162210101123**

**BAGIAN KIMIA FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

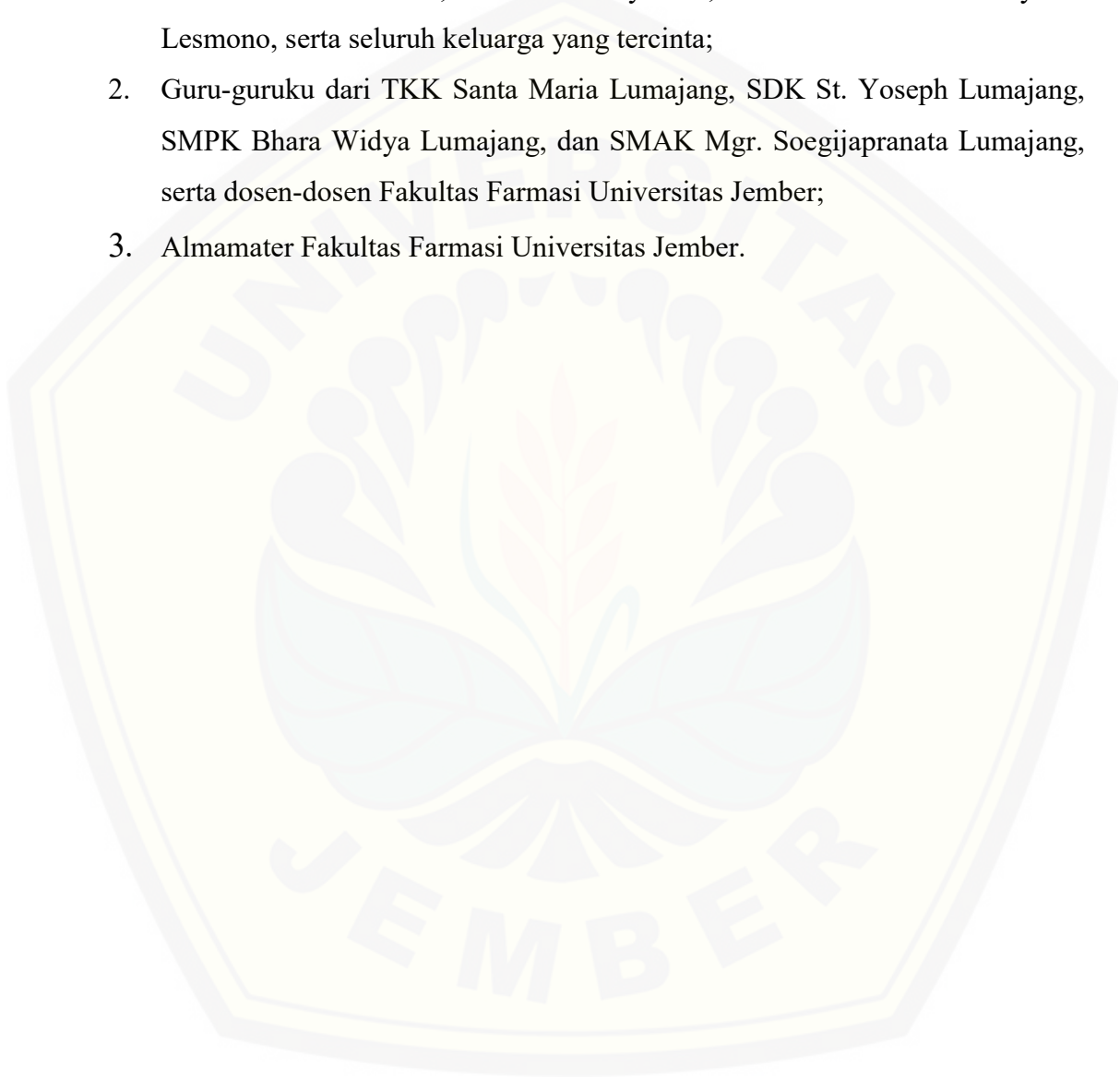
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Mama Gita Christanti, Nenek Sulistyowati, almarhum Kakek Hariyanto Lesmono, serta seluruh keluarga yang tercinta;
2. Guru-guruku dari TKK Santa Maria Lumajang, SDK St. Yoseph Lumajang, SMPK Bhara Widya Lumajang, dan SMAK Mgr. Soegijapranata Lumajang, serta dosen-dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



**MOTO**

“Mintalah, maka akan diberikan kepadamu; carilah, maka kamu akan mendapat;  
ketoklah, maka pintu akan dibukakan bagimu.”

(Matius 7:7)

“Serahkanlah hidupmu kepada Tuhan dan percayalah kepada-Nya, dan Ia akan  
bertindak”

(Mazmur 37:5)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Yoshinta Debby

NIM : 162210101123

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Mayor dari Biji *Swietenia mahagoni*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Juni 2020

Yang menyatakan,

Yoshinta Debby

NIM 162210101123

**SKRIPSI**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA MAYOR  
DARI BIJI *Swietenia mahagoni***

Oleh:

Yoshinta Debby

NIM 162210101123

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Ari S.N., SF., GDipSc., MSc-Res., PhD.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Mayor dari Biji *Swietenia mahagoni*” karya Yoshinta Debby telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 30 Juni 2020

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



apt. Ari S. N., SF., GDipSc., MSc-Res., PhD.  
NIP 197807212003121001



apt. Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc.  
NIP 198201292009121003

**Tim Penguji**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc.  
NIP 198504282009121004

apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm.  
NIP 198204062006042001

**Mengesahkan**

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm.

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Mayor dari Biji *Swietenia mahagoni*;** Yoshinta Debby, 162210101123; 2020: 61 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Malaria merupakan salah satu masalah kesehatan dunia yang mengancam jiwa manusia. Penyakit ini disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium* yang ditransmisikan melalui nyamuk *Anopheles*. Dari data WHO pada tahun 2018 menunjukkan terdapat 228 juta kasus malaria di seluruh dunia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menyatakan bahwa pada tahun 2017, terdapat 261.671 kasus malaria di Indonesia dengan tingkat kematian 0,04% dari jumlah kasus tersebut. Hambatan terbesar untuk mengeliminasi penyakit malaria ini karena adanya resistensi parasit terhadap obat antimalaria yang disebabkan adanya mutasi gen *Plasmodium*. WHO sendiri merumuskan dalam *Global Technical Strategy for Malaria 2016-2030* bahwa “pemanfaatan inovasi dan pengembangan riset” merupakan salah satu strategi untuk mengeliminasi malaria, mencakup juga dorongan untuk penemuan obat baru yang lebih efektif untuk mengatasi malaria.

Indonesia dengan kekayaan alamnya telah menghasilkan berbagai macam tanaman berkhasiat obat yang digunakan selama turun-temurun, termasuk tanaman obat antimalaria. Salah satunya adalah *Swietenia mahagoni* yang digunakan sebagai obat antimalaria oleh masyarakat Indonesia dengan cara mengunyah bijinya. Sampai sejauh ini belum ada penelitian mengenai senyawa mayor hasil isolasi dari biji *S. mahagoni* asli Indonesia dan penelitian mengenai aktivitas antimalariannya juga sangat terbatas, tetapi diketahui bahwa ekstrak metanol biji *S. mahagoni* memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 7,40  $\mu\text{g/mL}$  terhadap *Plasmodium falciparum*. Penelitian mengenai senyawa mayor dari biji *S. mahagoni* asli Indonesia yang masih sangat terbatas menarik minat peneliti untuk melakukan isolasi dan karakterisasi pada senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*.

Biji *S. mahagoni* yang sudah kering lalu diserbuk dan diekstraksi menggunakan metanol dengan metode maserasi ditambah pengadukan (*magnetic stirrer*). Ekstrak yang sudah didapatkan akan melalui proses fraksinasi dengan *n*-



heksana untuk menghilangkan minyak dan lemak. Fraksi ekstrak bebas minyak diisolasi menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* fase terbalik dengan teknik gradien elusi serta dua macam eluen yaitu air dan asetonitril. Didapatkan kondisi analisis yang paling optimum adalah gradien eluen 20-30 dengan laju alir eluen 2 mL/menit selama 35 menit eluasi dan panjang gelombang pengamatan 225 nm. Proses isolasi ini menghasilkan dua belas senyawa isolat pada *retention time* berbeda-beda. Senyawa isolat mayor yang dipilih untuk dianalisis lebih lanjut terdapat pada *retention time* 15:15 karena menghasilkan rendemen isolat yang paling besar yaitu seberat 88,2 mg dan murni. Struktur senyawa mayor ditentukan berdasarkan analisis spektra *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan *Mass Spectrometry* (MS). Data spektra yang diperoleh dari pengujian NMR berupa 1D-NMR ( $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR) dan 2D-NMR (gCOSY, gHSQC, gHMBC) yang selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak Mnova versi 14.1. Analisis NMR menggunakan pelarut aseton terdeprotonasi ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) dengan frekuensi 500 MHz untuk  $^1\text{H}$ -NMR dan 125 MHz untuk  $^{13}\text{C}$ -NMR.

Dari analisis spektra  $^1\text{H}$ -NMR dapat diketahui bahwa senyawa ini memiliki tiga puluh dua proton yang terbagi ke dalam dua puluh lima lingkungan pergeseran kimia dan integrasi yang berbeda. Dari analisis spektra APT  $^{13}\text{C}$ -NMR dan gHSQC dapat diketahui bahwa senyawa ini memiliki dua puluh tujuh karbon dengan rincian sembilan karbon kuartener (C), sembilan karbon tersier (CH), empat karbon sekunder ( $\text{CH}_2$ ), empat karbon primer ( $\text{CH}_3$ ), dan satu  $\text{CH}_3$  dari metoksi. Dari analisis spektra gHMBC dapat diketahui korelasi proton dan karbon dalam jarak dua sampai tiga ikatan pada struktur senyawa. Dari analisis data spektra NMR, dapat disimpulkan bahwa senyawa mayor pada biji *S. mahagoni* adalah Swietenolide monohidrat (golongan terpenoid kelas triterpenoid, berupa senyawa limonoid tipe mexicanolide) berbentuk kristal dan berwarna putih. Dari analisis spektra LR ESI-MS, didapatkan data  $[\text{M}+\text{H}]^+$  sebesar 487 m/z. Artinya massa molekul sebenarnya dari senyawa ini sebesar 486 amu dengan rumus molekul  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_8$ .

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Mayor dari Biji *Swietenia mahagoni*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak, maka dari itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Mama Gita Christanti, Christian Yoga Aji dan Christina Fushigi serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan moral dan materi.
2. Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan untuk menyelesaikan skripsi.
3. Bapak apt. Ari Satia Nugraha, SF., GDipSc., MSc-Res., PhD. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak apt. Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mendampingi, serta memberi fasilitas bagi penulis dalam menyusun skripsi.
4. Bapak apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc. dan Ibu apt. Nia Kristianingrum S.Farm., M.Farm. selaku Dosen Penguji atas segala kritik dan saran yang diberikan selama penyusunan skripsi.
5. Bapak apt. Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan bimbingan akademik selama penulis kuliah di Fakultas Farmasi Universitas Jember.
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan motivasi kepada penulis.
7. Ibu Wayan dan Mbak Hani yang telah membantu penulis saat melakukan penelitian di laboratorium.
8. Rekan kerja Malaria Project (Mas Tinton, Wilda, Naura, Vinna dan Zenna) yang telah berjuang bersama dalam menyelesaikan proyek malaria dan membantu penulis dalam melakukan penelitian serta penyusunan skripsi.

9. Levana Angela Rocelline yang selalu memberikan semangat, dukungan dan motivasi kepada penulis.
10. Lilla Nur Firli dan Chintya Permata Zahky Sukrisno Putri yang selalu memberikan semangat, dukungan dan motivasi kepada penulis.
11. Kris Nugraheni dan Milka Bella Savira Priyono yang selalu memberikan semangat, dukungan dan motivasi kepada penulis.
12. Wilda Nur Rohmatillah dan Aida Nur Afifa yang telah berjuang bersama menyusun LKTI dan selalu memberikan semangat kepada penulis.
13. Harinditha Pramana Putra dan Chintya yang sudah menjadi rekan praktikum dan tugas kelompok selama penulis menempuh kuliah.
14. Hong Event Organizer Squad (Ce Christine, Ko Sekio, Ce Cutek, Ce Della, Ce San, Ko Surya, Ce Maria, Ko Ikko, Meli, Milka, Bimo, Rahel, Janmadika, Irawan, Nike, Jia).
15. Teman-teman KKN 208 Abi, Brian, Elva, Lintang, Putri, Tetri, Tika, Yana, Yudha di Desa Tamansari, Sumbermalang, Situbondo.
16. Seluruh anggota grup riset *Drug Utilisation Discovery Reserch Group* (DUDRG).
17. Seluruh teman-teman Fakultas Farmasi angkatan 2016 “MORFIN”.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan penulis satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Tuhan.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak orang.

Jember, Juni 2020

Penulis

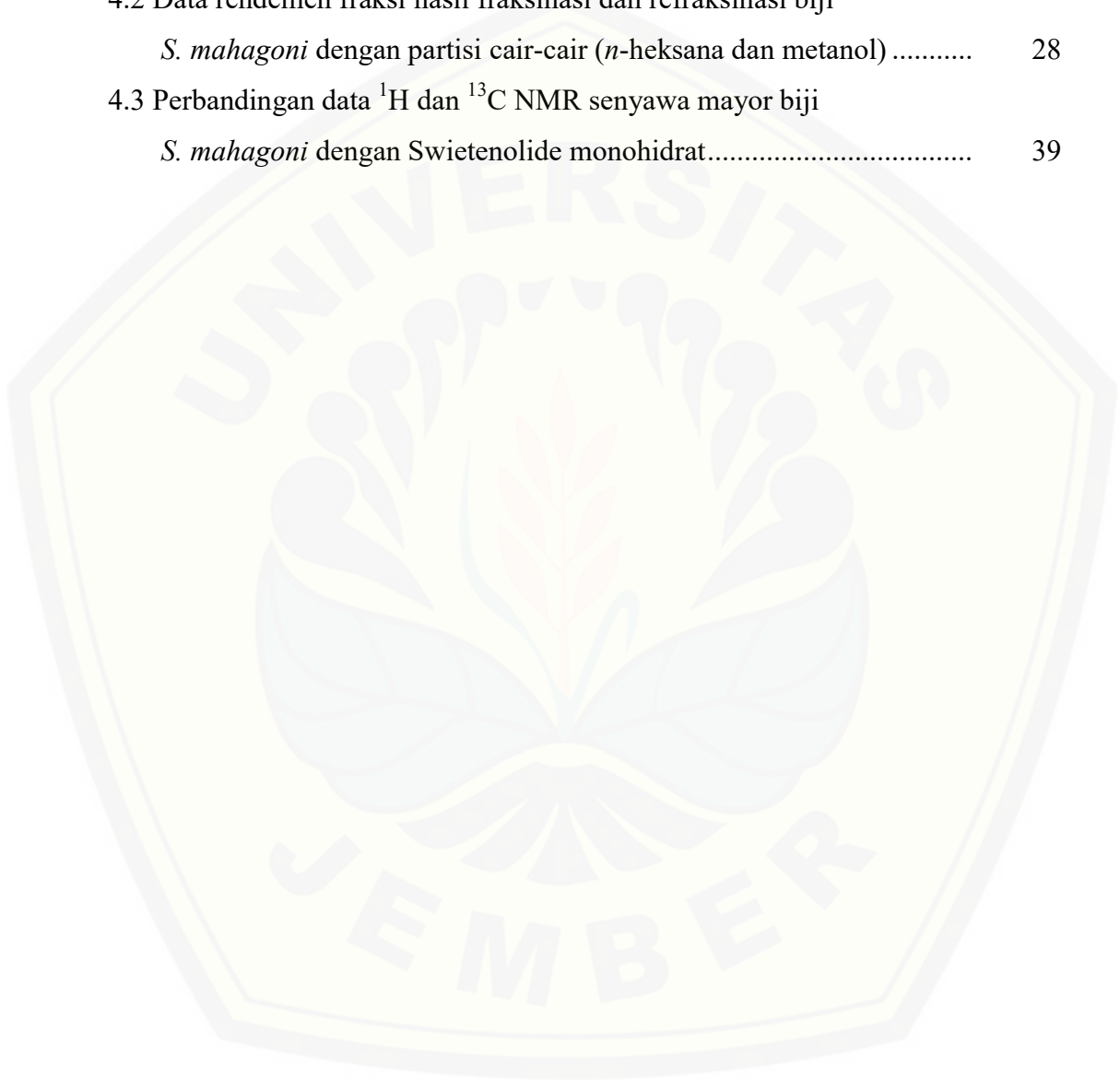
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Malaria.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Penyebaran Malaria di Dunia dan Indonesia .....	5
2.1.2 Patogenesis Malaria .....	6
2.1.3 Pengobatan dan Vaksin Malaria .....	8
<b>2.2 <i>Swietenia mahagoni</i>.....</b>	<b>9</b>
2.2.1 Taksonomi .....	9
2.2.2 Morfologi .....	9
2.2.3 Fitokimia.....	10
2.2.4 Etnobotani.....	11
2.2.5 Bioaktivitas .....	11
<b>2.3 Limonoid.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi.....</b>	<b>13</b>
2.4.1 Ekstraksi.....	13
2.4.2 Fraksinasi .....	15
<b>2.5 Isolasi.....</b>	<b>15</b>
<b>2.6 Karaterisasi .....</b>	<b>17</b>
2.6.1 <i>Mass Spectrometry (MS)</i> .....	17
2.6.2 <i>Nuclear Magnetic Resonance (NMR)</i> .....	18

<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	20
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	20
<b>3.3 Alat dan Bahan .....</b>	20
3.3.1 Alat.....	20
3.3.2 Bahan .....	21
<b>3.4 Rancangan Penelitian .....</b>	21
3.4.1 Skema Penelitian.....	21
<b>3.5 Prosedur Kerja .....</b>	22
3.5.1 Pembuatan Simplisia.....	22
3.5.2 Pembuatan Ekstrak .....	22
3.5.3 Pembuatan Fraksi Ekstrak Bebas Minyak .....	22
3.5.4 Isolasi Menggunakan <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	23
3.5.5 Perekaman Data Spektra Senyawa Menggunakan MS dan NMR .....	23
3.5.6 Penentuan Karakteristik Senyawa .....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
<b>4.1 Pembuatan Simplisia Biji <i>S. mahagoni</i> .....</b>	25
<b>4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Biji <i>S. mahagoni</i> .....</b>	26
<b>4.3 Isolasi.....</b>	28
<b>4.4 Karakterisasi .....</b>	32
4.4.1 Analisis Spektra <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR)	32
4.4.2 Analisis Spektra <i>Mass Spectrometry</i> (MS).....	41
<b>BAB 5. KESIMPULAN .....</b>	<b>42</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	42
<b>5.2 Saran .....</b>	42
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Data rendemen ekstrak hasil maserasi dan remaserasi biji <i>S. mahagoni</i> dengan pelarut metanol .....	27
4.2 Data rendemen fraksi hasil fraksinasi dan refraksinasi biji <i>S. mahagoni</i> dengan partisi cair-cair ( <i>n</i> -heksana dan metanol) .....	28
4.3 Perbandingan data <sup>1</sup> H dan <sup>13</sup> C NMR senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> dengan Swietenolide monohidrat.....	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Situasi malaria menurut kab/kota di Indonesia tahun 2017 .....	5
2.2 Patogenesis malaria.....	7
2.3 Daun, bunga dan biji <i>S. mahagoni</i> .....	10
2.4 Tipe limonoid pada genus Swietenia .....	13
3.1 Skema penelitian isolasi dan karakterisasi senyawa mayor dari biji <i>S. mahagoni</i> .....	21
4.1 Buah, kulit biji dan biji <i>S. mahagoni</i> .....	25
4.2 <i>Peak</i> senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> yang terpisah sempurna pada kromatogram dari kondisi analisis 20-30;2 mL/menit;35 menit; 225 nm .....	30
4.3 Senyawa isolat mayor dari biji <i>S. mahagoni</i> .....	31
4.4 Spektra <sup>1</sup> H-NMR senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> .....	32
4.5 Spektra APT <sup>13</sup> C-NMR senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> .....	34
4.6 Spektra gHSQC senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> .....	35
4.7 Analisis Spektra gHMBC senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> .....	36
4.8 Proses penyusunan struktur senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> dari tiap fragmen berdasarkan analisis spektra NMR .....	38
4.9 Korelasi proton dan karbon pada struktur senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> dari data analisis gHMBC .....	38
4.10 Stuktur dan kristal senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> .....	40
4.11 Data spektrometri massa senyawa mayor biji <i>S. mahagoni</i> .....	41


DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Perhitungan Rendemen Ekstrak, Fraksi dan Isolat Senyawa Mayor Biji <i>S. mahagoni</i> .....	51
2. Kromatogram Hasil Optimasi Kondisi Analisis untuk Isolasi Senyawa Mayor Biji <i>S. mahagoni</i> dengan HPLC .....	53
3. Spektra gCOSY dari Analisis NMR Senyawa Mayor Biji <i>S. mahagoni</i>	56
5. Multiplisitas, <i>Coupling Constant (J)</i> dan Integrasi Proton pada Spektra <sup>1</sup> H-NMR Senyawa Mayor dari Biji <i>S. mahagoni</i> .....	57
5. Spektra LR ESI-MS Keseluruhan dari Senyawa Mayor Biji <i>S. mahagoni</i> .....	61



**DAFTAR SINGKATAN**

AC	<i>Air Conditioner</i>
ANTI-PAF	<i>Angiotensin II Antagonist in Paroxysmal Atrial Fibrillation</i>
ACN	<i>Asetonitril</i>
APT	<i>Attach Proton Test</i>
<sup>13</sup> C-NMR	<i>Carbon Nuclear Magnetic Resonance</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
gCOSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
ELS	<i>Evaporative Light Scattering</i>
FRAP	<i>Ferric-Reducing Antioxidant Power</i>
FRSA	<i>Free Radical Scavenging Activity</i>
GSK	<i>Glaxo Smith Kline</i>
Hz	<i>Hertz</i>
gHMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
gHSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPSA	<i>Hydrogen Peroxide Scavenging Activity</i>
IC <sub>50</sub>	<i>Inhibition Concentration 50</i>
ITIS	<i>Integrated Taxonomic Information System</i>
LC-MS	<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>
LR ESI-MS	<i>Low Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
MHz	<i>Megahertz</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
1D-NMR	<i>One Dimensional Nuclear Magnetic Resonance</i>
PDA	<i>Photodiode Array</i>
<sup>1</sup> H-NMR	<i>Proton Nuclear Magnetic Resonance</i>



RI	<i>Refractive Index</i>
RP-HPLC	<i>Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
2D-NMR	<i>Two Dimensional Nuclear Magnetic Resonance</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet-Visible</i>
WFI	<i>Water for Injection</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
XOI	<i>Xanthine Oxidase Inhibition</i>
$\mu\text{L}$	mikroliter
$\mu\text{M}$	mikromolar
$\mu\text{m}$	mikrometer
$\mu\text{g/mL}$	mikrogram per mililiter
mg	miligram
mm	milimeter
mL	mililiter
mg/mL	miligram per mililiter
nm	nanometer
amu	<i>atomic mass unit</i>
m/z	<i>mass to charge</i>
ppm	<i>part per million</i>
rpm	<i>revolutions per minute</i>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Malaria adalah salah satu penyakit infeksius yang memiliki dampak besar bagi kehidupan manusia selama ribuan tahun karena mengancam jiwa. Gejala penyakit ini khas, yaitu demam naik turun yang teratur disertai menggigil, sakit kepala, anemia dan pembesaran limpa (Arsin, 2012). Penyebab dari malaria yaitu parasit bersel tunggal yang disebut Plasmodium. Plasmodium ditransmisikan oleh nyamuk Anopheles masuk kedalam darah manusia lalu menyebabkan penyakit (Phillips dkk., 2017).

*World Health Organization* (WHO) mencatat terdapat 219 juta kasus malaria pada tahun 2017. Afrika menduduki peringkat pertama dengan 92% kasus dan Asia Tenggara menempati tempat kedua dengan 5% kasus (WHO, 2018). Pada tahun 2017, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mencatat terdapat 261.671 kasus malaria dengan tingkat kematian 0,04% dari jumlah kasus tersebut. Sebagian besar endemik malaria di Indonesia berada di bagian timur, didominasi dengan dua spesies dominan parasit malaria yaitu *Plasmodium falciparum* (62%) dan *Plasmodium vivax* (33%) (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018).

Salah satu hambatan terbesar untuk eliminasi kasus malaria adalah resistensi parasit terhadap obat antimalaria yang disebabkan adanya mutasi gen Plasmodium. Beberapa obat antimalaria mengalami resistensi kurang dari lima tahun setelah dipasarkan, misalnya proguanil dan meflokuin (Calderon dkk., 2013). Di Indonesia sendiri resistensi obat antimalaria diperkirakan masih terbatas pada klorokuin, sulfadoksin-pirimetamin dan kuinin (Elyazar dkk., 2011).

Pada tahun 2015, WHO merumuskan *Global Technical Strategy for Malaria 2016-2030* dengan harapan pada tahun 2030 90% kasus malaria di dunia dapat dieliminasi (World Health Organization, 2015). Salah satu dari elemen pendukung yang tercantum dalam dokumen tersebut untuk strategi eliminasi malaria adalah “pemanfaatan inovasi dan pengembangan riset”. Elemen ini

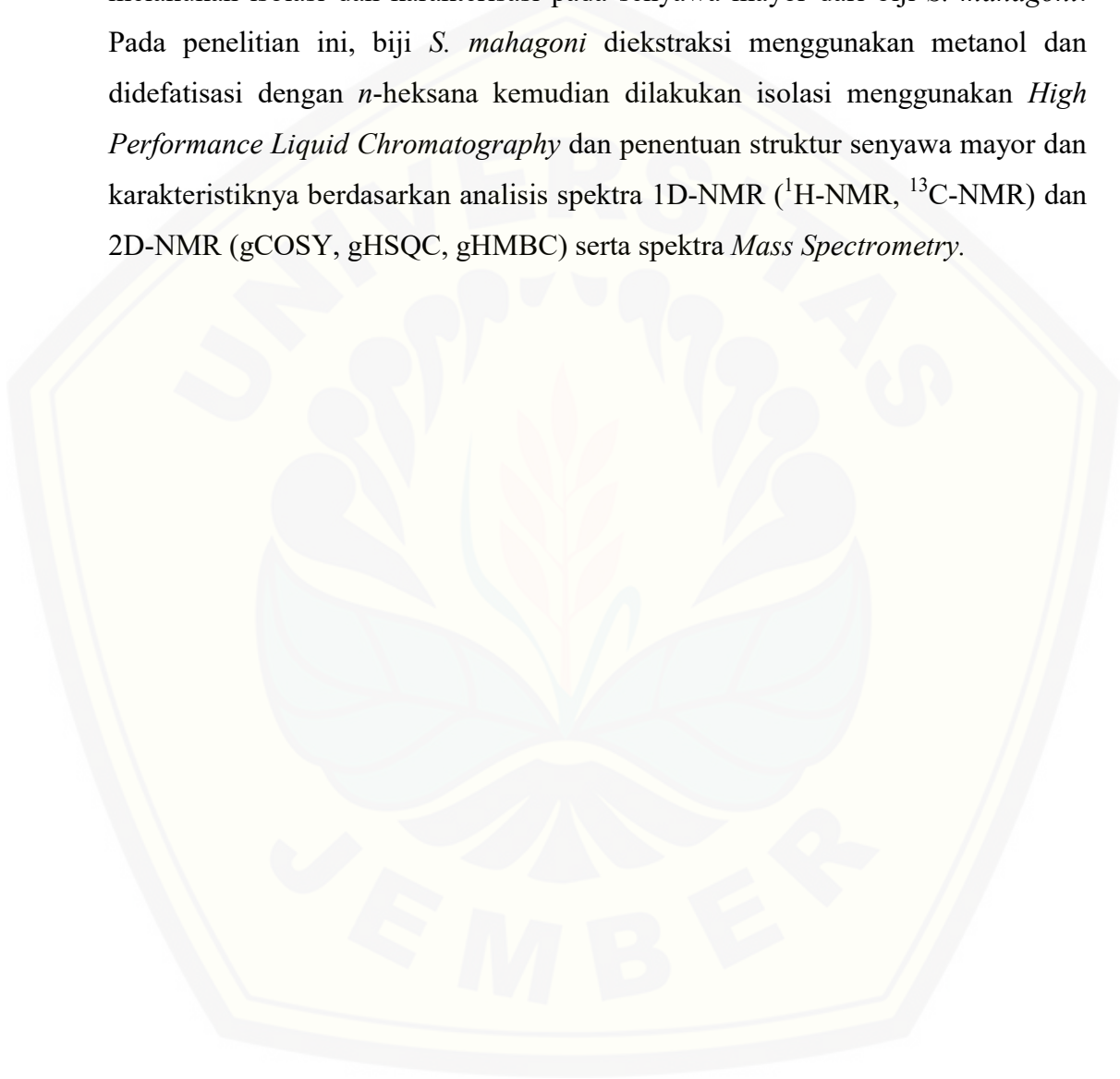
mencakup dorongan untuk penemuan obat baru yang lebih efektif untuk mengatasi malaria.

Penemuan obat antimalaria sendiri terkait erat dengan bahan alam. Kuinin pertama kali diisolasi dari pohon chincona pada tahun 1820 oleh seorang ilmuwan Eropa dan artemisinin pertama kali diisolasi dari *Artemisia annua* pada tahun 1971 oleh seorang ilmuwan Tiongkok (Chen, 2014; Tse dkk., 2019). Keberadaan tanaman obat di Indonesia cukup beragam. Beberapa tanaman obat Indonesia yang digunakan secara tradisional untuk pengobatan malaria dan sudah diteliti kandungannya antara lain, *Anthocephalus chinensis*, *Beilschmiedia madang* BL. dan *Brucea javanica* L. Merr dari Pulau Sumatera. *Alstonia scholaris* dari Pulau Jawa dan Lombok, *Fagara rhetza* dari Pulau Flores, *Eurycoma Longifolia* dan *Lansium domesticum* dari Pulau Kalimantan, *Caesalpinia crista* dan *Quassia indica* dari Pulau Sulawesi. Berdasarkan studi fitokimia dan farmakologi tanaman-tanaman di atas oleh Nugraha dan Keller (2011), telah dihasilkan senyawa antimalaria, misalnya Samaradine Y dari *Quassia indica* dengan  $IC_{50}$  0,014  $\mu$ M; lebih rendah dibandingkan dengan klorokuin ( $IC_{50}$  0,29  $\mu$ M), namun masih setengah dari potensi artemisinin ( $IC_{50}$  0,006  $\mu$ M).

Tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria dan belum diteliti adalah *Swietenia mahagoni* atau biasa disebut “mahoni”. Biji *S. mahagoni* digunakan secara tradisional oleh masyarakat Indonesia sebagai obat antimalaria, antidiabetes, antireumatik dan antihipertensi (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2000; Ghosh dkk., 2011; Situmorang dkk., 2015; Urooj dan Naveen, 2015). Berbeda dari *Swietenia macrophylla*, *S. mahagoni* tumbuh dengan ukuran daun yang lebih kecil. Menurut Moghadamtousi dkk. (2013), senyawa mayor hasil isolasi dari biji genus *Swietenia* berupa limonoid. Sejauh ini belum dilaporkan adanya data penelitian mengenai senyawa mayor hasil isolasi dari biji *S. mahagoni* asli Indonesia dan penelitian aktivitas antimalariannya juga sangat terbatas. Penelitian yang dilakukan Nugraha (2019) menyatakan bahwa ekstrak metanol biji *S. mahagoni* memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 7,40  $\mu$ g/mL terhadap *Plasmodium falciparum*. Nilai  $IC_{50}$  dibawah 100  $\mu$ g/mL

menandakan bahwa penelitian tersebut perlu untuk ditindaklanjuti (Cos dkk., 2006).

Penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi senyawa mayor dari biji *S. mahagoni* asli Indonesia yang masih sangat terbatas menarik minat peneliti untuk melakukan isolasi dan karakterisasi pada senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*. Pada penelitian ini, biji *S. mahagoni* diekstraksi menggunakan metanol dan didefatasi dengan *n*-heksana kemudian dilakukan isolasi menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* dan penentuan struktur senyawa mayor dan karakteristiknya berdasarkan analisis spektra 1D-NMR ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ) dan 2D-NMR (gCOSY, gHSQC, gHMBC) serta spektra *Mass Spectrometry*.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, masalah pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana cara mengisolasi senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*?
2. Bagaimana karakteristik senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui cara isolasi senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*.
2. Untuk mengetahui karakteristik senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin didapatkan dari penelitian ini antara lain:

1. Memberikan informasi tentang cara pengisolasian dan karakteristik senyawa mayor dari biji *S. mahagoni* serta menambah pengetahuan dibidang kesehatan dan pengetahuan alam.
2. Penelitian ini dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya, terutama penelitian tentang aktivitas antimalaria senyawa mayor dari biji *S. mahagoni*.

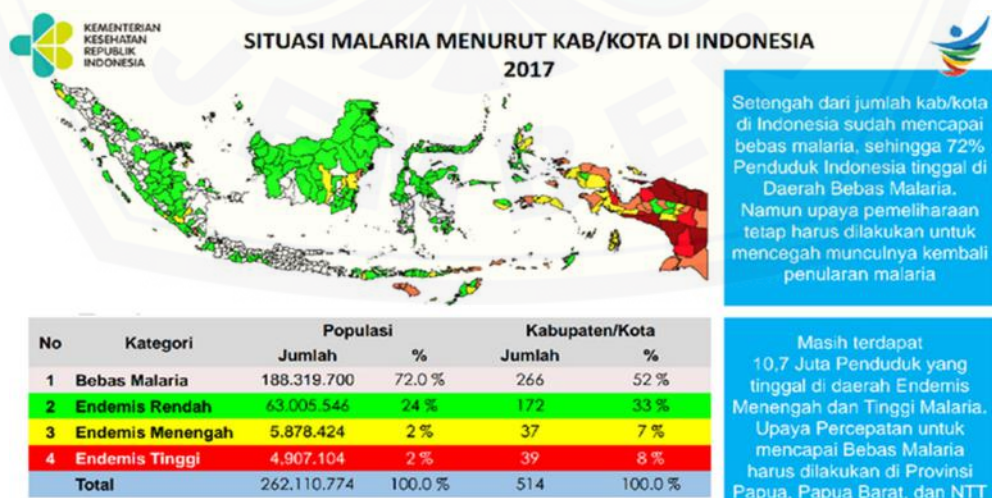
## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Malaria

#### 2.1.1 Penyebaran Malaria di Dunia dan Indonesia

Jaman dahulu, malaria dianggap sebagai penyakit kutukan dewa. Penyebabnya belum diketahui meskipun telah lama dikenal oleh masyarakat. Seiring berjalannya waktu dan perkembangan perdagangan pada masa itu, penyakit ini menyebar dari Cina sampai ke Roma. Penyakit malaria ini banyak ditemukan di daerah rawa yang mengeluarkan bau busuk disekitarnya. Atas dasar inilah penyakit tersebut dinamakan “malaria”, yang berasal dari bahasa Italia, tersusun dari dua suku kata, “mal” (buruk) dan “area” (udara) sehingga dapat diartikan bahwa malaria adalah udara busuk (*bad air*) (Arsin, 2012).

Di Indonesia, malaria mulai dikenal pada awal abad ke-19 sebagai penyakit yang dapat menular secara masal dan berbahaya. Penyakit ini menyerang anak-anak dan dewasa dengan tingkat kematian mencapai 10% dari total kasus yang ada, sehingga dianggap sebagai musuh negara karena memiliki pengaruh yang sangat besar pada kesejahteraan rakyat, daya kerja rakyat, serta pembangunan (Arsin, 2012). Sampai saat ini, wilayah Indonesia bagian timur masih menjadi salah satu daerah endemik malaria (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Situasi malaria menurut kab/kota di Indonesia tahun 2017  
 Sumber: Ditjen P2P Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2018)

Parasit malaria dalam darah ditemukan pada tahun 1880 oleh Alphonso Laveran pada saat mengotopsi pasien korban malaria. Ia menemukan parasit penyebab malaria yang dinamai *Oscillaria malariae* dan kemudian diganti menjadi Plasmodium. Penyebaran malaria diterantarai oleh nyamuk Anopheles. Terdapat sekitar 2.000 spesies Anopheles, 60 spesies diantaranya diketahui sebagai penular malaria. Nyamuk Anopheles memiliki ciri khas yang khusus dari nyamuk lain, dimana hidungnya lebih panjang dan ada sisik hitam dan putih pada sayapnya. Sifat masing-masing spesies berbeda-beda tergantung banyak faktor, seperti penyebaran geografis, iklim, dan tempat perindukannya (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2008).

### 2.1.2 Patogenesis Malaria

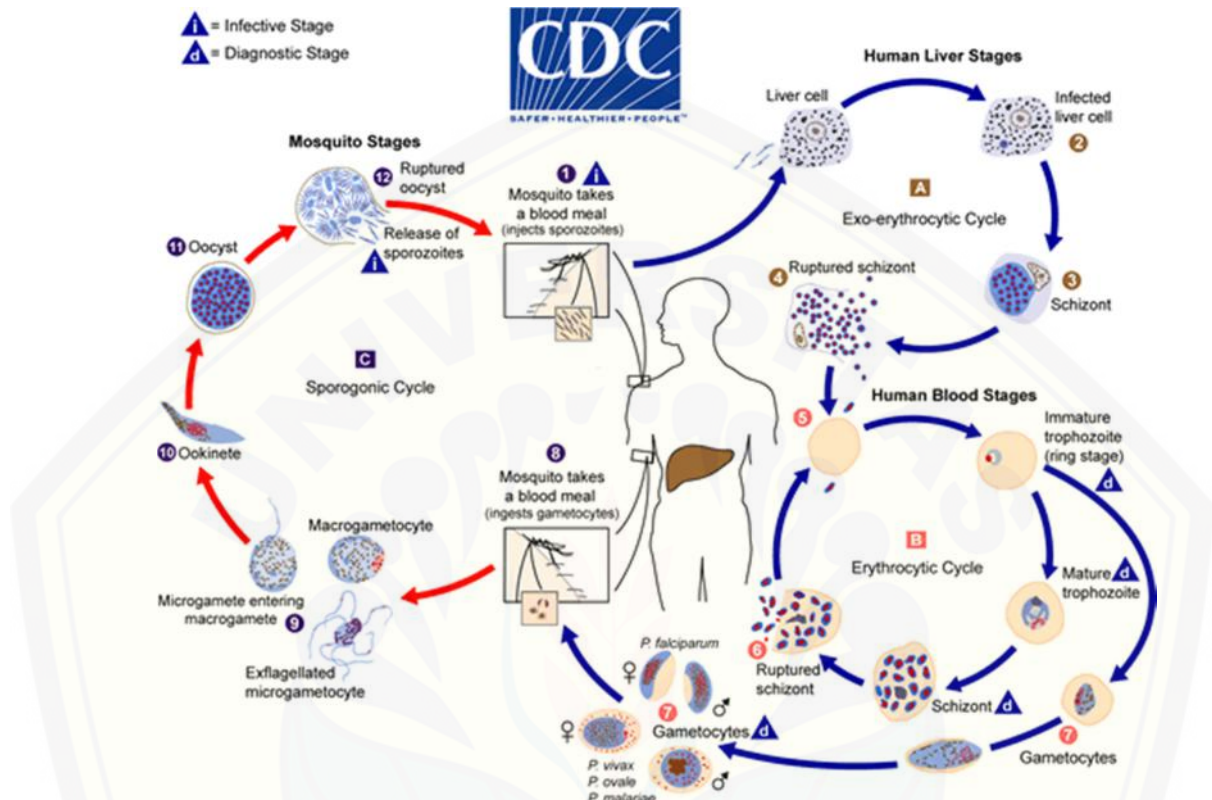
Proses patogenesis malaria sangat kompleks dan sama seperti infeksi oleh parasit seperti biasanya (Gambar 2.2). Menurut Phillips (2017) terdapat dua siklus hidup yaitu, siklus hidup aseksual dan siklus hidup seksual:

#### a. Siklus Hidup Aseksual (*Human Liver Stages*)

Siklus aseksual dimulai saat nyamuk Anopheles menggigit manusia dan mentransmisikan sporozoit yang terdapat pada air liurnya ke dalam pembuluh darah manusia. Dalam selang waktu 30 menit-1 jam, sporozoit masuk kedalam sel parenkim hati dan berkembang biak membentuk skizon hati yang mengandung ribuan merozoit. Proses tersebut disebut *intrahepatic schizogony* atau *pre-erythrocyte schizogony*, karena parasit belum masuk kedalam eritrosit. Skizon hati yang pecah mengeluarkan merozoit kedalam sirkulasi darah. Sebagian sporozoit akan membentuk hipnozoit dalam hati dimana nantinya akan mengakibatkan *relaps* pada malaria atau kambuhnya penyakit setelah tampak mereda selama periode tertentu. Fase eritrosit dimulai saat merozoit dalam sirkulasi menyerang sel darah merah dan membentuk trofozoit. Parasit malaria dapat tumbuh dengan mengonsumsi hemoglobin. Eritrosit yang mengandung parasit menjadi lebih elastis dan berbentuk lonjong. Setelah 36 jam menginvasi eritrosit, parasit akan membentuk skizon. Skizon yang pecah akan mengeluarkan 6-36 merozoit yang



siap menginfeksi eritrosit lain. Pengeluaran merozoit ini akan terjadi dua sampai tiga generasi, sebagian merozoit akan berubah menjadi bentuk seksual, gamet jantan dan gamet betina.



Gambar 2.2 Patogenesis malaria

Sumber: CDC – (Centers for Disease Control and Prevention) (2018)

#### b. Siklus Hidup Seksual (*Mosquito Stages*)

Siklus seksual dimulai pada saat nyamuk *Anopheles* menghisap darah manusia yang telah terinfeksi parasit malaria. Merozoit masuk dalam perut nyamuk dan mengalami proses pematangan mikrogametosis dan makrogametosis hingga terbentuk zygot. Zygot akan menembus dinding lambung nyamuk menjadi ookista. Ookista yang pecah akan melepaskan ribuan sporozoit dan bermigrasi mencapai kelenjar air liur nyamuk.

Infeksi dari *Plasmodium* bervariasi tingkat keparahannya tergantung pada spesies dan penderita, termasuk tingkat kekebalan inang. Malaria biasanya diklasifikasikan sebagai asimtomatik. Gejala awal yang khas adalah demam ringan, menggigil, nyeri otot, dan pada anak-anak terjadi gangguan pencernaan.

Gejala-gejala ini dapat muncul tiba-tiba, kemudian berkembang menjadi keringat, demam tinggi, dan mudan lelah. Gejala lanjutan malaria ini akan timbul setelah hemolisis sel darah merah yang diinfeksi oleh Plasmodium. Malaria berat hingga fatal dan disertai dengan anemia berat serta berbagai manifestasi kerusakan multi-organ. Komplikasi malaria yang parah adalah obstruksi mikrovaskular yang disebabkan oleh adanya parasit dalam sel darah merah pada kapiler.

### 2.1.3 Pengobatan dan Vaksin Malaria

Menurut Azlin (2016), aktivitas dari obat antimalaria ada lima:

1. Bekerja sebagai skizontosida jaringan pada awal siklus eritositik setelah berkembang di hati.
2. Bekerja sebagai skizontosida jaringan yang mencegah terbentuknya hipnozoit pada *P. vivax* dan *P. ovale*.
3. Bekerja sebagai skizontosida darah yang membunuh parasit pada siklus eritrositik.
4. Bekerja sebagai gametosida yang menghancurkan fase seksual dari semua spesies Plasmodium dan mencegah transmisi parasit.
5. Bekerja sebagai sporontosida yang menghambat perkembangan ookista dalam nyamuk dan mencegah transmisi parasit.

Penelitian vaksin malaria sudah dimulai sejak 1987 oleh peneliti di GSK (Glaxo Smith Kline). Vaksin malaria pertama dinamakan RTS,S/AS01 telah disetujui pada Juli 2015 oleh *European Medicines Agency* (EMA) untuk proteksi parsial malaria terhadap bayi berusia 5-17 bulan. Pada Oktober 2015, WHO merekomendasi untuk membuat skala penelitian yang lebih besar dan baru terlaksana pada tahun 2018 dengan melibatkan ribuan bayi di Ghana, Kenya dan Malawi. Alternatif penjadwalan vaksin untuk mendapatkan efektivitas yang lebih tinggi serta beberapa faktor keamanan masih dalam penelitian yang lebih lanjut (Centers for Disease Control and Prevention, 2019).

## 2.2 *Swietenia mahagoni*

### 2.2.1 Taksonomi

Taksonomi *S. mahagoni* berdasarkan ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*) (2011)

Kingdom	: Plantae ( <i>plants</i> )
Subkingdom	: Viridiplantae ( <i>green plants</i> )
Infrakingdom	: Streptophyta ( <i>land plants</i> )
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta ( <i>vascular plants</i> )
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae
Ordo	: Sapindales
Family	: Meliaceae
Genus	: <i>Swietenia</i>
Spesies	: <i>Swietenia mahagoni</i> (L.) Jacq.
Sinonim	: <i>Cedrela mahagoni</i> L. <i>Swietenia acutifolia</i> Stokes <i>Swietenia fabrilis</i> Salisb. <i>Swietenia mahagoni</i> var. <i>praecociflora</i> Hemsl. <i>Swietenia mahogani</i> C. DC. <i>Swietenia mahogoni</i> Lam.

### 2.2.2 Morfologi

*S. mahagoni* adalah tanaman berupa pohon dengan tinggi 5-25 meter. Batangnya berkayu, berbentuk bulat, bercabang dan berwarna coklat muda. Daunnya berwarna hijau, majemuk, menyirip genap, bulat telur dengan ujung dan pangkal yang runcing, panjangnya 3-15 cm. Bunganya berada di ketiak daun, ibu tangkai bunga silindris berwarna coklat muda, kelopak bunga lepas satu sama lain berbentuk seperti sendok berwarna hijau, mahkota berbentuk silindris berwarna

kuning kecoklatan, benang sari melekat pada mahkota, kepala sari berwarna putih kuning kecoklatan (Gambar 2.3a). Buahnya berbentuk bulat, berkeluk lima, berwarna coklat, didalam buah ada terdapat biji yang berbentuk pipih dengan ujung agak tebal dan berwarna putih tulang kecoklatan (Ahmad dkk., 2019) (Gambar 2.3b). Akar tunggang, berwarna coklat (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2000).



Gambar 2.3 Daun, bunga dan biji *S. mahagoni*  
(a) Daun dan bunga; (b) Biji  
Sumber: Surajit Koley (2015); Dokumentasi Pribadi

### 2.2.3 Fitokimia

Bagian tanaman *S. mahagoni* yang paling banyak digunakan adalah daun dan bijinya. Dalam Buku Inventaris Tanaman Obat Indonesia (2000), daun *S. mahagoni* mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Bijinya dilaporkan mengandung fenol, terpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Bera dkk., 2015). Biji *S. mahagoni* mengandung asam lemak yang cukup banyak sehingga beberapa penelitian untuk mengetahui kandungan fitokimia dari biji *S. mahagoni* melalui prosedur pembebasan minyak dan lemak dari ekstrak. Minyak biji *S. mahagoni* sendiri mengandung asam lemak tak jenuh umum seperti linoleat (32,6%), oleat (25,5%), linolenat (12,2%) dan asam lemak jenuh, yaitu stearat (14,1%) dan palmitat (13,0%) (Mohan dkk., 2016).

#### 2.2.4 Etnobotani

*S. mahagoni* berasal dari Hindia Barat, Meksiko dan Amerika Selatan namun banyak ditanam dan tumbuh di daerah tropis, seperti Indonesia, India, Malaysia, dan Cina Selatan (Geethaa Sahgal dkk., 2009). Di daerah asli tumbuhnya, penduduk lokal memanfaatkan beberapa bagian tanaman untuk mengobati penyakit, antara lain malaria, diabetes, diare, dan hipertensi. Bijinya memiliki aktivitas antihiperlipidemik yang kuat. Minyak bijinya digunakan oleh penduduk sebagai alternatif salep untuk menyembuhkan luka dan gatal. Rebusan kulit batang digunakan untuk meningkatkan nafsu makan, *energizer* dalam kasus tuberkulosis, mengobati anemia, diare, disentri, demam dan sakit gigi. Rebusan daun digunakan untuk mengobati gangguan saraf dan meredakan nyeri dada (Urooj dan Naveen, 2015).

Di Indonesia, biji *S. mahagoni* juga digunakan sebagai obat antimalaria dengan mengunyah bijinya (Abdillah dkk., 2015), namun belum ada penelitian lebih lanjut bagaimana aktivitas antimalaria dari biji *S. mahagoni* ini, perihal banyaknya biji yang dikonsumsi dan cara penggunaan yang lebih mendalam. Sebagai obat tekanan darah tinggi, obat encok, obat eksim dan obat masuk angin, dipakai ±8 gram biji segar, diseduh dengan 2 gelas air matang panas, kemudian disaring. Hasil saringan diminum sehari dua kali sama banyak pagi dan sore (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2000). Suku Karo di Sumatra Utara menggunakan biji *S. mahagoni* untuk mengobati diabetes. Biji mahoni dihancurkan sampai halus. Satu sendok serbuk biji mahoni direbus dalam 2 liter air sampai air tersisa 1,5 liter. Ekstrak dikonsumsi sekali hingga dua kali sehari (Situmorang dkk., 2015).

#### 2.2.5 Bioaktivitas

Dari beberapa bukti penggunaan biji *S. mahagoni* secara tradisional, banyak dilakukan penelitian mengenai bioaktivitasnya. Sebagai antibakteri, Ekstrak biji dalam kloroform menunjukkan aktivitas terhadap *Bacillus magaterium*, *Salmonella paratyphi* dan *Shigella dysenteriae* (Haque dkk., 2009).

Ekstrak biji juga memberikan efek inhibisi pada pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis* dan *Proteus mirabilis* dengan nilai *minimum inhibitory concentration* dan *minimum bactericidal concentration* 25 mg/mL sampai 50 mg/mL (G Sahgal dkk., 2009).

Kandungan fenol dan flavonoid pada ekstrak metanol biji memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro* terhadap uji *free radical scavenging activity* (FRSA), *xanthine oxidase inhibition* (XOI), *hydrogen peroxide scavenging activity* (HPSA) dan *ferric-reducing antioxidant power* (FRAP) (Geetha Sahgal dkk., 2009).

Kandungan asam lemak tak jenuh rantai panjang pada biji memiliki potensi yang besar sebagai pengobatan *peptic ulcer* yang disebabkan oleh *H. pylori* dengan mekanisme menghambat metabolisme dari bakteri (Jung dan Lee, 2016).

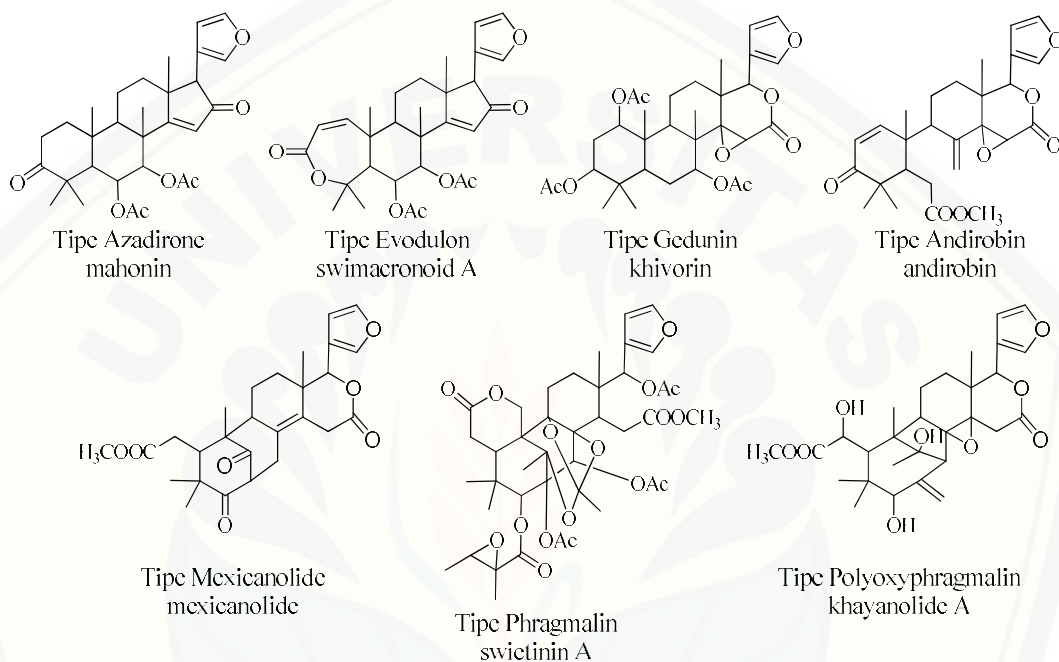
Ekstrak biji dalam air-metanol menunjukkan potensi sebagai antihiperlipidemia dengan menurunkan kadar gula darah tikus yang di-induksi streptozotocin sampai 75% dengan penggunaan selama 21 hari (De dkk., 2011).

### 2.3 Limonoid

Nama limonoid berasal dari senyawa pahit “limonin” yang diisolasi dari buah jeruk pada tahun 1841 (Drijfhout dan Morgan, 2010). Limonoid merupakan derivat dari tetrasiklik triterpenoid yang mengalami perubahan oksidatif pada rantai sampingnya menjadi cincin furan (tersubstitusi pada posisi  $\beta$ ) dan kehilangan empat karbon, sehingga dapat disebut juga sebagai tetranortriterpenoid dengan struktur kerangka steroid 4,4,8-trimetil-17-furanil (Moghadamtousi dkk., 2013). Limonoid bersifat semipolar, tidak dapat larut dalam air atau heksana namun dapat larut dalam pelarut hidrokarbon seperti metanol atau etanol (Oy dan Araf, 2006).

Limonoid banyak ditemukan sebagai metabolit sekunder mayor pada buah-buahan dari keluarga Rutaceae dan tanaman dari keluarga Meliaceae. Aktivitas farmakologi dari limonoid sendiri telah banyak dilaporkan sebagai

antimalaria, antifeedant, insektisida, antitumor, antikanker, antimikroba dan anti-HIV. Berdasarkan data yang dihimpun oleh Sun dkk., (2018), terdapat 164 limonoid yang telah berhasil diisolasi dari genus *Swietenia*. Secara struktural, sebagian besar limonoidnya diklasifikasikan sebagai tipe mexicanolide dan tipe phragmalin, tetapi terdapat banyak tipe lain dengan struktur yang bervariasi seperti pada Gambar. 2.4.



Gambar 2.4 Tipe limonoid pada genus *Swietenia*  
Sumber: Sun dkk., (2018)

## 2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

### 2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia dari tanaman atau bagian tanaman menggunakan pelarut dan metode yang sesuai agar senyawa aktif tidak hilang, berubah atau rusak (Sasidharan dkk., 2011). Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Beberapa faktor yang harus diperhatikan untuk menentukan metode ekstraksi seperti skala, karakteristik senyawa yang akan diekstrak (polaritas, termostabilitas, pengaruh pH), pelarut yang digunakan dan kondisi dari simplisia (Belwal dkk., 2018).

Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah maserasi. Pada proses maserasi, pelarut yang dipilih ditambahkan kedalam bahan yang akan diekstraksi lalu didiamkan selama waktu tertentu. Ekstraksi menggunakan metode maserasi cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil karena tidak digunakan pemanasan selama proses ekstraksi dan tidak memerlukan alat khusus. Biasanya ditambahkan proses pengadukan, baik secara manual maupun menggunakan *stirrer* untuk mempercepat proses maserasi. Selain itu, dapat meningkatkan kontak antara bahan dengan pelarut sebab pelarut yang ada di bawah cenderung lebih cepat jenuh karena lebih dekat dengan bahan. Kekurangan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang lebih banyak karena harus merendam semua bahan dan waktu menunggu yang lama. Pelarut yang biasanya digunakan adalah metanol, etanol atau campuran alkohol-air dengan perbandingan tertentu (Sasidharan dkk., 2011). Metanol lebih toksik daripada etanol tetapi mampu menarik senyawa lebih banyak. Metanol memiliki tetapan dielektrik 32,6; lebih besar dibanding etanol 22,4. Semakin besar tetapan dielektrik suatu pelarut, maka semakin polar dan semakin banyak senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini (Smallwood, 1996).

Maserat yang didapatkan dari proses maserasi harus dipisahkan antara pelarut dengan kandungan metabolitnya. Bisa dengan cara manual diuapkan pada suhu ruang, namun membutuhkan waktu yang lama untuk menunggu semua pelarut menguap. Alat yang dapat digunakan untuk mempermudah proses ini adalah *rotary evaporator*. Pelarut akan menguap dengan pengatuaran pemanasan pada suhu rendah (40-50°C) sehingga tidak merusak senyawa dan didapatkan ekstrak kental.



#### 2.4.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan suatu senyawa atau golongan senyawa yang terkandung dalam sebuah campuran senyawa menjadi beberapa bagian bergantung sifat fisika-kimia misalnya polaritas, kelarutan, titik didih, tetapan dielektrik atau ukuran molekulnya. Hasil dari fraksinasi selanjutnya disebut sebagai fraksi. Fraksinasi akan memudahkan proses isolasi senyawa murni yang sulit dilakukan jika hanya dengan ekstraksi saja (Sarker dkk., 2006).

Fraksinasi dapat dilakukan dengan berbagai teknik, salah satunya dengan partisi cair-cair. Prinsipnya dengan menggunakan dua cairan yang tidak saling bercampur sehingga terbentuk dua lapis cairan yang terpisah, dan senyawa akan larut dalam masing-masing cairan pelarut yang sesuai dengan polaritasnya atau *like dissolves like* (Houghton dan Raman, 1998). Metode ini sederhana untuk dikerjakan dan dapat memisahkan senyawa dalam jumlah banyak.

#### 2.5 Isolasi

Isolasi adalah sebuah proses yang digunakan memisahkan suatu senyawa dari campuran senyawa lain menggunakan berbagai teknik dan sifat fisika kimia senyawa agar didapatkan isolat murni (Sticher, 2008). Teknik isolasi yang dipilih pada penelitian ini adalah isolasi dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). HPLC menggunakan tekanan tinggi untuk memaksa pelarut melewati kolom tertutup dengan partikel berukuran mikrometer sehingga didapatkan pemisahan yang sempurna (Harris, 2012). HPLC merupakan jenis kromatografi preparatif, karena menggunakan kolom yang besar, jumlah sampel yang lebih besar dan laju aliran yang tinggi (Sarker dkk., 2006).

Pada kebanyakan HPLC menggunakan fase terbalik (RP-HPLC) dimana fase diam (kolom) yang dipakai bersifat non-polar dan fase gerak (eluen) polar. Kolom semi preparatif dapat menampung 2-1.000  $\mu\text{L}$  sampel. Kolom bekerja dibawah tekanan yang tinggi, maka diperlukan beberapa perlakuan khusus. Sampel harus disaring melewati membran filter 0,5-2  $\mu\text{m}$  untuk mencegah kontaminasi partikel pada kolom. Sampel yang telah dimasukkan dalam *syringe*

harus bebas gas agar tidak mempengaruhi detektor dan menghasilkan *peak* tajam (Harris, 2012).

Eluen yang akan digunakan pada HPLC harus murni, kompatibel dengan detektor, kompatibel dengan sampel, bebas gas dan viskositasnya rendah (Sarker dkk., 2006). Eluen yang digunakan pada penelitian ini adalah campuran air dan asetonitril dengan komposisi yang berubah-ubah selama proses eluasi (elusi gradien). Tujuan pengaturan komposisi pelarut ini berguna untuk sampel yang memiliki kisaran polaritas yang luas.

Detektor yang digunakan pada HPLC bermacam-macam seperti *photodiode array* (PDA), UV-Vis, Indeks Refraktif (RI), dan *Evaporative Light Scattering* (ELS) (Sarker dkk., 2006). Detektor yang digunakan pada HPLC ini adalah *photodiode array* (PDA). Detektor PDA dapat menampilkan kumpulan kromatogram secara simultan pada panjang gelombang yang berbeda dalam sekali proses. Detektor ini juga menampilkan spektrum UV tiap puncak yang terpisah sehingga dapat dijadikan acuan untuk memilih panjang gelombang maksimal (Swartz, 2010). Berbeda dengan detektor RI yang memiliki limit deteksi, tidak sensitif dan tidak dapat digunakan bila eluen diatur dalam metode gradien eluen. Detektor ELS hanya dapat digunakan bila partikel sampel dapat menghamburkan cahaya (Harris, 2012).

Pengumpulan isolat pada penelitian ini didasarkan pada adanya puncak suatu *peak*. Senyawa diambil, dicatat waktu puncaknya (*retention time*) dan pengambilan berhenti ketika *peak* menjadi dangkal. Isolat yang sudah dikumpulkan harus dihilangkan pelarutnya untuk mendapatkan isolat murni. Pelarut organik dapat dihilangkan dengan menguapkannya dan air dapat dihilangkan dengan *freeze drying*. Kemurnian isolat dipastikan kembali dengan menggunakan HPLC dan melihat hasil kromatogramnya (Sarker dkk., 2006).

## 2.6 Karakterisasi

### 2.6.1 *Mass Spectrometry* (MS)

*Mass Spectrometry* (MS) atau Spektrometri Massa adalah salah satu alat analisis yang diperlukan dalam bidang kimia, biokimia, farmasi, penemuan obat baru dan elusidasi struktur. MS dapat digunakan untuk mengidentifikasi massa dari senyawa dan penentuan rumus molekulnya (Gross, 2010). MS memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif meskipun konsentrasi analit yang diuji sangat rendah (Harris, 2012). Dengan menggunakan laju aliran yang rendah sekitar (200 nL/menit) secara signifikan dapat meningkatkan sensitivitasnya (Gale dan Smith, 1993).

Teknik yang digunakan pada analisis ini adalah *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) dengan metode ionisasi *electrospray ionization* (ESI). Teknik ini sesuai untuk sampel yang volumenya kecil dan sulit dianalisis, biomolekul yang berat molekulnya tinggi, termolabil dan senyawa yang tidak mudah menguap (Pavia dkk., 2010). Sampel berupa cairan pertama-tama akan dianalisis menggunakan *Liquid Chromatography* (kromatografi cair) untuk memisahkan komponen yang ada pada sampel. Komponen-komponen atau molekul yang telah terpisah akan dilanjutkan ke MS dengan metode ESI (Pitt, 2009).

Sampel dipompa melalui kapiler dan diubah menjadi tetesan yang berukuran sangat kecil. Tetesan-tetesan tersebut akan diubah menjadi fase gas dengan menggunakan panas dan nitrogen. Molekul sampel dalam bentuk gas akan ditembak oleh energi dengan elektron yang tinggi, sehingga menyebabkan elektron dari molekul yang terdapat dalam sampel akan menghasilkan ion organik yang memiliki muatan. Ion-ion tersebut akan melalui medan elektromagnetik, dimana pada medan ini terdapat *mass analyzer* yang akan memisahkan ion sampel berdasarkan rasio massa terhadap muatan ion ( $m/z$ ). Setelah ion-ion terpisah, detektor akan menghitung dan merekam sinyal. Sinyal akan disajikan dalam bentuk sistem data spektra massa terhadap grafik jumlah ion yang terdeteksi (Silverstein dkk., 2005; Pavia dkk., 2010).

### 2.6.2 Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Spektroskopi NMR adalah salah satu teknik untuk mengidentifikasi dan menganalisis senyawa organik berdasarkan putaran nuklir magnetik  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ . Namun  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  yang paling banyak dipakai karena penyusun utama senyawa organik adalah karbon dan hidrogen.  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  termasuk dalam 1D-NMR (*one dimensional*) dimana spektra disajikan dalam dua sumbu yang menggambarkan frekuensi berupa pergeseran kimia (*chemical shift*) dalam ppm dan intensitas (Balci, 2005).  $^1\text{H}$ -NMR memberikan informasi mengenai jenis, jumlah dan tipe atom hidrogen yang terkandung dalam senyawa, sehingga dibutuhkan pelarut yang tidak mengandung isotop  $^1\text{H}$  (pelarut inert) misalnya  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\text{CDCl}_3$ , atau  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Jumlah sinyal pada spektra memberikan informasi banyaknya atom hidrogen. *Chemical shift* (pergeseran kimia) menandakan jenis lingkungan kimia tempat atom. Integrasi sinyal (integral) memberikan gambaran jumlah atom hidrogen pada lingkungan kimia tertentu. Pemecahan puncak (multiplisitas) menggambarkan lingkungan kimia dari atom hidrogen yang berdekatan (Silverstein dkk., 2005).  $^{13}\text{C}$ -NMR akan memberikan informasi mengenai atom karbon yang terkandung dalam senyawa. Pemecahan sinyal dalam spektra  $^{13}\text{C}$ -NMR menggambarkan jumlah karbon yang tergantung dari jumlah atom hidrogen terikat, jenis karbon, serta pergeseran kimia pada tiap lingkungan kimia (Supratman, 2010). Data spektra  $^{13}\text{C}$ -NMR yang digabungkan dengan data spektra  $^1\text{H}$ -NMR akan sangat membantu dalam menentukan struktur suatu senyawa.

Pada 2D-NMR (*two dimensional*), terdapat tiga sumbu. Dimana satu sumbu mewakili satu pergeseran kimia, sumbu kedua mewakili rentang pergeseran kimia kedua, dan sumbu ketiga merupakan intensitas. Spektra hasil biasanya berupa plot kontur (Balci, 2005). Salah satu tipe 2D-NMR adalah spektroskopi korelasi H-H (*H-H correlation spectroscopy*), atau disingkat gCOSY. Dalam gCOSY, pergeseran kimia dari spektra proton diplot pada kedua sumbu. Dari spektra dapat diketahui proton-proton yang berdekatan pada suatu senyawa (Pavia dkk., 2010).

gHSQC (*heteronuclear single-quantum correlation*) akan mendeteksi korelasi antara proton dengan karbon dalam satu ikatan. Pergeseran dari hubungan karbon-proton berguna dalam elusidasi struktur karena memberikan jawaban inti  $^1\text{H}$  mana yang terikat pada inti  $^{13}\text{C}$  (Breitmaier, 2002). gHMBC (*heteronuclear multiple-bond correlation*) dapat mendeteksi korelasi antara proton dengan karbon dalam jarak dua sampai tiga ikatan sehingga secara tidak langsung dapat diketahui korelasi proton dan karbon dalam jarak tersebut (Balci, 2005).



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Mayor dari Biji *Swietenia mahagoni* adalah jenis penelitian *true experimental laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kelompok Riset *Drug Utilisation and Discovery Research Group*, Laboratorium Analisis Instrumen, Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember, Laboratorium *Center of Development of Advance Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember dan *University of Wollongong* Australia yang dimulai dari bulan September 2019 sampai Februari 2020.

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Erlenmeyer 500 mL (Pyrex), *beaker glass* 250 mL (Pyrex), vial berbagai ukuran, pipet tetes, spatula logam, corong, tabung reaksi (Iwaki), rak tabung reaksi, blender (Phillips), timbangan analitik (Sartorius), lemari pendingin, *magnetic stirrer*, labu alas bulat, *rotary evaporator* (Strike 300), lemari asam, corong pisah (Pyrex), statip, *syringe*, membran filter 0,45  $\mu\text{m}$ , *eppendorf*, *microsyringe*, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) CECIL (detektor CECIL CE4300; degaser CE4040; pompa CE4140; pengendali CE4900; kolom Dispere M80 10x250 mm 4 $\mu\text{m}$  80Å), *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) Shimadzu LC-2010, Bruker Avance 500 MHz Spektrometer 1D-NMR ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR) dan spektra 2D-NMR (gCOSY, gHSQC, gHMBC).

### 3.3.2 Bahan

Biji *S. mahagoni*, metanol *pro analisis* (Merck), *water for injection* (Otsuka), acetonitrile *pro analisis* (Merck), *n*-heksana *pro analisis* (Merck), kertas saring, aseton terdeprotonasi ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO)

## 3.4 Rancangan Penelitian

### 3.4.1 Skema Penelitian (Gambar 3.1)



Gambar 3.1 Skema penelitian isolasi dan karakterisasi senyawa mayor dari biji *Swietenia mahagoni*

### 3.5 Prosedur Kerja

#### 3.5.1 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan dengan mengumpulkan buah *S. mahagoni* dari Klaten, Jawa Tengah, kemudian disortasi untuk memisahkan biji dengan bagian yang lain. Biji yang sudah disortasi lalu dirajangi dan dikeringkan di bawah AC (*Air Conditioner*) selama 5 hari. Biji kering dihaluskan menggunakan blender sampai halus. Serbuk biji *S. mahagoni* yang didapatkan disimpan dalam plastik klip dan diletakkan di dalam freezer.

#### 3.5.2 Pembuatan Ekstrak

Serbuk biji *S. mahagoni* (100 gram) dilarutkan dalam metanol *pro analisis* (500 mL). Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* selama  $\pm 30$  menit tanpa pemanasan. Dilakukan remaserasi sebanyak 3x. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring dan ditampung dalam labu alas bulat. Ekstrak dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan kecepatan 1.000 rpm hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang didapatkan dihitung terhadap berat simplisia awal.

#### 3.5.3 Pembuatan Fraksi Ekstrak Bebas Minyak

Ekstrak dilarutkan dalam metanol (150 mL) dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Ditambahkan *n*-heksana (100 mL) ke dalam corong pisah kemudian dikocok dan diamkan sejenak sampai cairan memisah sempurna. Cairan akan terpisah menjadi 2 fraksi, fraksi ekstrak bebas minyak akan berada di bawah dan fraksi *n*-heksana berada di atas. Fraksi ekstrak bebas minyak ditampung dan disisihkan, demikian juga fraksi *n*-heksana. Fraksi ekstrak bebas minyak dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksana (100 mL) (*refraksinasi*) sampai didapatkan fraksi *n*-heksana yang cenderung jernih. Fraksi ekstrak bebas minyak dan fraksi *n*-heksana yang sudah ditampung dikeringkan secara manual sampai pelarut hilang. Berat masing-masing fraksi dihitung.



#### 3.5.4 Isolasi Menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

##### a. Preparasi Sampel

Fraksi ekstrak bebas minyak dilarutkan dalam asetonitril kemudian disaring menggunakan *syringe* dengan membran filter 0,45  $\mu\text{m}$  untuk menghilangkan partikel. Hasil saringan ditampung dalam tabung *eppendorf*. Sampel bebas partikel inilah yang nanti diinjeksikan ke dalam HPLC.

##### b. Optimasi Kondisi Analisis

Sebelum melakukan isolasi, kondisi analisis yang akan digunakan harus sesuai untuk mendapatkan pemisahan kromatogram yang baik. Optimasi kondisi analisis ini dilakukan dengan mengatur gradien eluen, laju alir eluen, waktu eluasi dan panjang gelombang pengamatan sampai didapatkan hasil pemisahan yang optimal. Eluen yang digunakan adalah *Pump A* (air) dan *Pump B* (asetonitril). Kondisi analisis dapat dibuat dengan perangkat lunak PowerStream™ sekaligus sebagai pengendali proses isolasi.

##### c. Proses Isolasi

Setelah didapatkan metode yang sesuai dari poin b, isolasi dilakukan dengan menyuntikkan sampel dengan volume 100  $\mu\text{L}$  sebanyak 30x agar mendapatkan jumlah isolat yang cukup untuk karakterisasi. Isolat akan didapatkan dalam eluen yang digunakan. Asetonitril dihilangkan dengan penguapan manual dalam lemari asam dan kemudian di *freeze drying* untuk menghilangkan air. Hasil akhir akan berupa serbuk kering yang akan digunakan untuk analisis selanjutnya.

#### 3.5.5 Perekaman Data Spektra Senyawa Menggunakan MS dan NMR

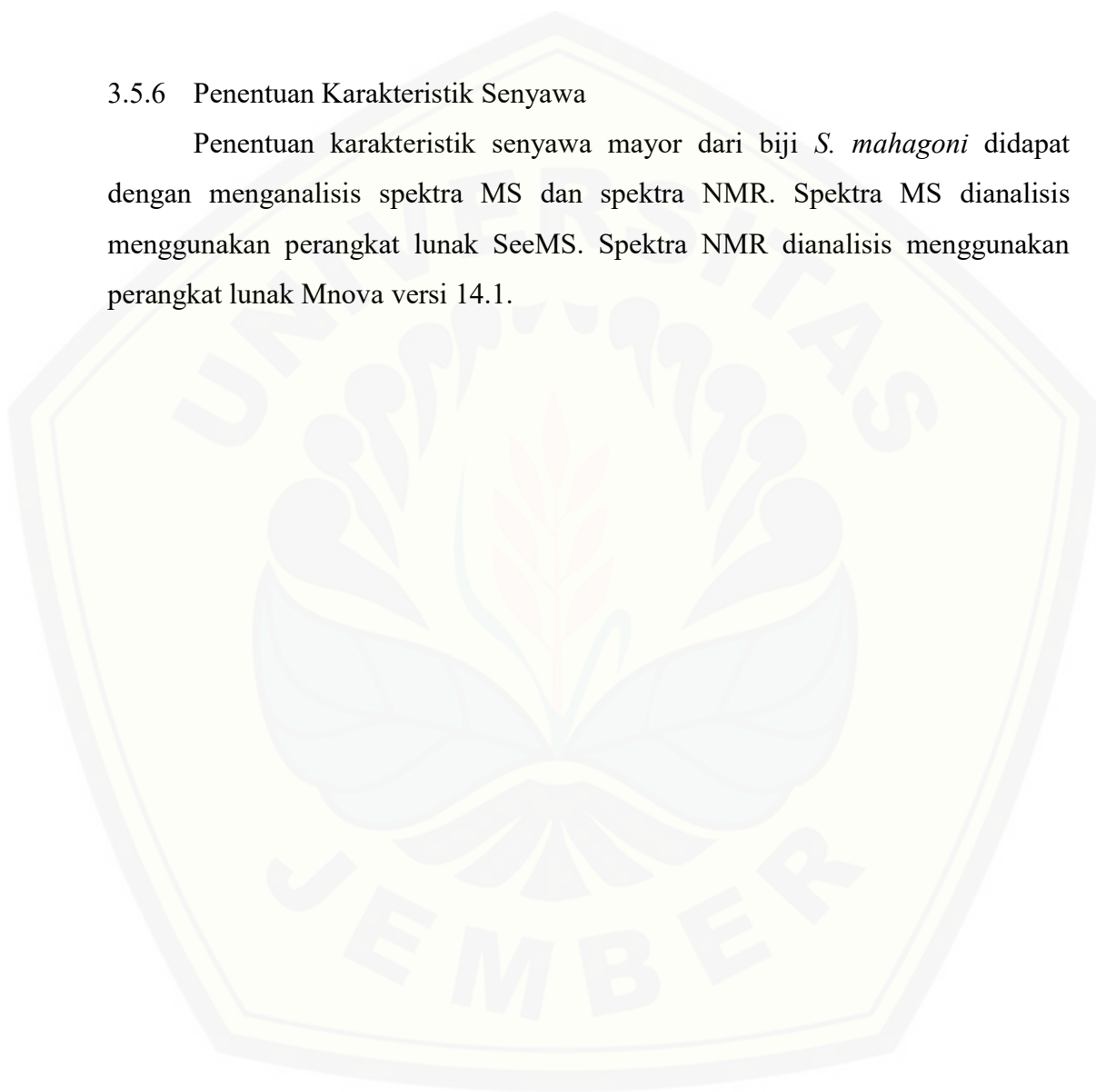
Perekaman data spektra menggunakan MS dengan mengirimkan sampel ke *University of Wollongong* Australia.

Perekaman data spektra menggunakan NMR dilakukan dengan mengambil sampel (5 mg) dilarutkan dalam  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (0,5 mL) kemudian diinjeksikan ke dalam

alat NMR (Bruker Avance 500 MHz). Spektra yang direkam adalah spektra 1D-NMR ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ) dan 2D-NMR (gCOSY, gHSQC, gHMBC). Perekaman spektra  $^1\text{H-NMR}$  menggunakan frekuensi 500 MHz dan untuk spektra  $^{13}\text{C-NMR}$  menggunakan frekuensi 125 MHz.

### 3.5.6 Penentuan Karakteristik Senyawa

Penentuan karakteristik senyawa mayor dari biji *S. mahagoni* didapat dengan menganalisis spektra MS dan spektra NMR. Spektra MS dianalisis menggunakan perangkat lunak SeeMS. Spektra NMR dianalisis menggunakan perangkat lunak Mnova versi 14.1.



## BAB 5. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, kesimpulan yang dapat diambil pada penelitian ini yaitu:

1. Senyawa mayor pada biji *S. mahagoni* dapat diisolasi menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fase terbalik menggunakan eluen air dan asetronitril dengan teknik elusi gradien. Kondisi analisis yaitu gradien eluen 20-30 dengan laju alir eluen 2 mL/menit selama 35 menit eluasi dan panjang gelombang pengamatan 225 nm. Senyawa mayor terdapat pada waktu retensi 15 menit 15 detik.
2. Berdasarkan analisis data spektra NMR dan LR ESI-MS, diketahui senyawa mayor dari biji *S. mahagoni* adalah Swietenolide monohidrat dengan rumus molekul  $C_{27}H_{34}O_8$  dan massa molekul 486 amu; berbentuk kristal dan berwarna putih.

### 5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan pengujian dengan eluen dan kondisi analisis lain yang lebih bervariasi untuk proses isolasi.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antimalaria dari Swietenolide monohidrat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, S., R. M. Tambunan, Y. Farida, N. M. D. Sandhiutami, dan R. M. Dewi. 2015. Phytochemical screening and antimalarial activity of some plants traditionally used in indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 5(6):454–457.
- Ahmad, A. R., V. Handayani, R. A. Syarif, A. Najib, dan L. Hamidu. 2019. *MAHONI ( Swietenia Mahagoni ( L .) Jacq ) Herbal Untuk Penyakit Diabetes*. Makassar: Nas Media Pustaka.
- Ahuja, S. dan Michael W. Dong. 2005. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. USA: Elsevier Inc. *Separation Science and Technology*.
- Ali, M. A., M. A. Sayeed, M. S. Islam, M. S. Yeasmin, G. R. M. A. M. Khan, dan I. I. Muhamad. 2011. Physicochemical and antimicrobial properties of trichosanthes anguina and swietenia mahagoni seeds. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*. 25(3):427–436.
- Arsin, A. . 2012. *Malaria Di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi*. Makassar: Masagena Press.
- Azlin, E. 2016. Obat anti malaria. *Sari Pediatri*. 5(4):150.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I (Jilid 1)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Balci, M. 2005. *Basic <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy*. Amsterdam: Elsevier B.V.
- Belwal, T., S. M. Ezzat, L. Rastrelli, I. D. Bhatt, M. Daglia, A. Baldi, H. P. Devkota, I. E. Orhan, J. K. Patra, G. Das, C. Anandharamkrishnan, L. Gomez-Gomez, S. F. Nabavi, S. M. Nabavi, dan A. G. Atanasov. 2018. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 100:82–102.

- Bera, T. K., K. Chatterjee, dan D. Ghosh. 2015. In-vitro antioxidant properties of the hydro-methanol extract of the seeds of *swietenia mahagoni* (l.) jacq. *Biomarkers and Genomic Medicine*. 7(1):18–24.
- Breitmaier, E. 2002. *Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry: A Practical Guide*. Edisi 3rd Revise. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd.
- Calderon, F., D. M. Wilson, dan F.-J. Gamo. 2013. *Antimalarial Drug Discovery: Recent Progress and Future Directions*. Dalam *Progress in Medicinal Chemistry*. Oxford: Elsevier.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2018. About Malaria - Biology. <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html> [Diakses pada November 3, 2019].
- Centers for Disease Control and Prevention. 2019. Malaria Worldwide - How Can Malaria Cases and Deaths Be Reduced? - Vaccines. [https://www.cdc.gov/malaria/malaria\\_worldwide/reduction/vaccine.html](https://www.cdc.gov/malaria/malaria_worldwide/reduction/vaccine.html) [Diakses pada October 31, 2019].
- Chen, C. 2014. Development of antimalarial drugs and their application in china: a historical review. *Infectious Diseases of Poverty*. 3(1):9.
- Clayden, J., N. Greeves, dan S. Warren. 2001. *Organic Chemistry*. Edisi Second Edi. New York: Oxford University Press.
- Cos, P., A. J. Vlietinck, D. Vanden Berghe, dan L. Maes. 2006. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro ‘proof-of-concept’. *Journal of Ethnopharmacology*. 106(3):290–302.
- De, D., K. Chatterjee, K. M. Ali, T. K. Bera, dan D. Ghosh. 2011. Antidiabetic potentiality of the aqueous-methanolic extract of seed of *swietenia mahagoni* (l.) jacq. in streptozotocin-induced diabetic male albino rat: a correlative and evidence-based approach with antioxidative and antihyperlipidemic activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* :

ECAM. 2011

- Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2008. *Pelayanan Kefarmasian Untuk Penyakit Malaria*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Drijfhout, F. P. dan E. D. Morgan. 2010. *Terrestrial Natural Products as Antifeedants*. Dalam *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*. Elsevier Ltd.
- Elyazar, I. R. F., S. I. Hay, dan J. K. Baird. 2011. Malaria distribution, prevalence, drug resistance and control in indonesia. *Advances in Parasitology*. 74:41–175.
- Gale, D. C. dan R. D. Smith. 1993. Small volume and low flow-rate electrospray ionization mass spectrometry of aqueous samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 7(11):1017–1021.
- Ghosh, D., D. De, K. Chatterjee, K. M. Ali, dan T. K. Bera. 2011. Antidiabetic potentiality of the aqueous-methanolic extract of seed of *swietenia mahagoni* (L.) jacq. in streptozotocin-induced diabetic male albino rat: a correlative and evidence-based approach with antioxidative and antihyperlipidemic activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011
- Gross, J. H. 2010. *Mass Spectrometry A Textbook*. Edisi 2nd. Heidelberg: Springer.
- Haque, M., M. O. Ullah, dan K. Nahar. 2009. In vitro antibacterial and cytotoxic activities of different parts of plant *swietenia mahagoni*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 12(7):599–602.
- Harris, D. C. 2012. *Exploring Chemical Analysis*. Edisi 5th. New York: W.H. Freeman & Co Ltd.
- Houghton, P. J. dan A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Edisi 1st. London: Chapman & Hall.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2011. ITIS Standard Report

Page: *Swietenia* *Mahagoni*.

[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=29026#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=29026#null) [Diakses pada August 29, 2019].

Jacobsen, N. E. 2007. *NMR Spectroscopy Explained: Simplified Theory, Applications and Examples for Organic Chemistry and Structural Biology*. Hoboken: Wiley-Interscience.

Jung, S. W. dan S. W. Lee. 2016. The antibacterial effect of fatty acids on *helicobacter pylori* infection. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 31(1):30–35.

Kadota, S., L. Marpaung, T. Kikuchi, dan H. Ekimoto. 1990. Constituents of the seeds of *swietenia mahagoni* jacq. 1. isolation, structures, and <sup>1</sup>h- and <sup>13</sup>c-nuclear magnetic resonance signal assignments of new tetranortriterpenoids related to swietenine and swietenolide. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 3(38):639–651.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. *Profil Kesehatan Indonesia 2017*. Jakarta: Kemenkes RI.

Khopkar, S. M. dan A. Saptorahardjo. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Koley, S. 2015. Medicinal Plants: *Swietenia Mahagoni*, Caoba, Mahoni. <http://medplants.blogspot.com/2015/04/swietenia-mahagoni-caoba-mahoni.html> [Diakses pada November 3, 2019].

Leksono, W. B., R. Pramesti, G. W. Santosa, dan W. A. Setyati. 2018. Jenis pelarut metanol dan n-heksana terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *gelidium* sp. dari pantai drini gunungkidul – yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*. 21(1):9.

Moghadamtousi, S. Z., B. H. Goh, C. K. Chan, T. Shabab, dan H. Abdul Kadir. 2013. Biological activities and phytochemicals of *swietenia macrophylla* king. *Molecules*. 18(9):10465–10483.

- Mohan, M. R., R. C. R. Jala, S. S. Kaki, R. B. N. Prasad, dan B. V. S. K. Rao. 2016. *Swietenia mahagoni* seed oil: a new source for biodiesel production. *Industrial Crops and Products*. 90:28–31.
- Mursiti, S., E. Fitriani Rahayu, Y. Maylia Rosanti, dan I. Nurjaya. 2019. Mahogany seeds oil: isolation and characterizations. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 509(1)
- Narender, T. dan T. Khaliq. 2008. <sup>13</sup>C nmr spectroscopy of d and b, d-ring seco-limonoids of meliaceae family. *Natural Product Research*. 22(9):763–800.
- Nugraha, A. S. dan P. A. Keller. 2011. Revealing indigenous indonesian traditional medicine: anti-infective agents. *Natural Product Communications*. 6(12):1953–1966.
- Nugraha, A. S., B. Triatmoko, D. K. Pratoko, A. N. W. Pratama, Y. D. Purnomo, dan T. A. Laksono. 2019. Preliminary Study on Antimalarial Agent from Indonesian *Swietenia Mahagoni* and *Kibatalia Arborea*. *The 10th International Conference on Green Technology*. 2019. Faculty of Science & Technology, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Oy, A. R. dan S. S. Araf. 2006. Limonoids : overview of significant bioactive triterpenes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29(2):191–201.
- Pavia, D. L., G. M. Lampman, G. S. Kriz, dan J. R. Vyvyan. 2010. *Introduction to Spectroscopy*. Edisi Fourth. USA: Brooks/Cole Cengage Learning.
- Phillips, M. A., J. N. Burrows, C. Manyando, R. H. van Huijsduijnen, W. C. Van Voorhis, dan T. N. C. Wells. 2017. Malaria. *Nature Reviews Disease Primers*. 3:17050.
- Pitt, J. J. 2009. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *The Clinical Biochemist. Reviews*. 30(1):19–34.
- Prasetyo dan E. Inorih. 2013. *PENGELOLAAN BUDIDAYA TANAMAN OBAT-*



*OBATAN (Bahan Simplisia)*. Bengkulu: Badan Penerbitan Farkultas Pertanian UNIB.

- Rahman, A. K. M. S., A. K. A. Chowdhury, H. A. Ali, S. Z. Raihan, M. S. Ali, L. Nahar, dan S. D. Sarker. 2009. Antibacterial activity of two limonoids from *swietenia mahagoni* against multiple-drug-resistant (mdr) bacterial strains. *Journal of Natural Medicines*. 63(1):41–45.
- Rubiyanto, D. 2017. *Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum Dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sahgal, Geethaa, S. Ramanathan, S. Sasidharan, M. N. Mordi, S. Ismail, dan S. M. Mansor. 2009. In vitro antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *swietenia mahagoni* seed extracts. *Molecules*. 14(11):4476–4485.
- Sahgal, G, S. Ramanathan, S. Sasidharan, M. N. Mordi, S. Ismail, dan S. M. Mansor. 2009. Phytochemical and antimicrobial activity of *swietenia mahagoni* crude methanolic seed extract. *Tropical Biomedicine*. 26(3):274–279.
- Salamah, N. dan E. Widyasari. 2015. AKTIVITAS antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*euphoria longan* (l) steud.) dengan metode penangkapan radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5(1):25–34.
- Sarker, S. D., Z. Latif, dan A. I. Gray. 2006. *Natural Products Isolation*. Totowa, NJ: Humana Press.
- Sasidharan, S., Y. Chen, D. Saravanan, K. M. Sundram, dan L. Y. Latha. 2011. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 8(1):1.
- Scott, R. P. W. 1995. *Techniques and Practice of Chromatography*. New York: Marcel Dekker, Inc.

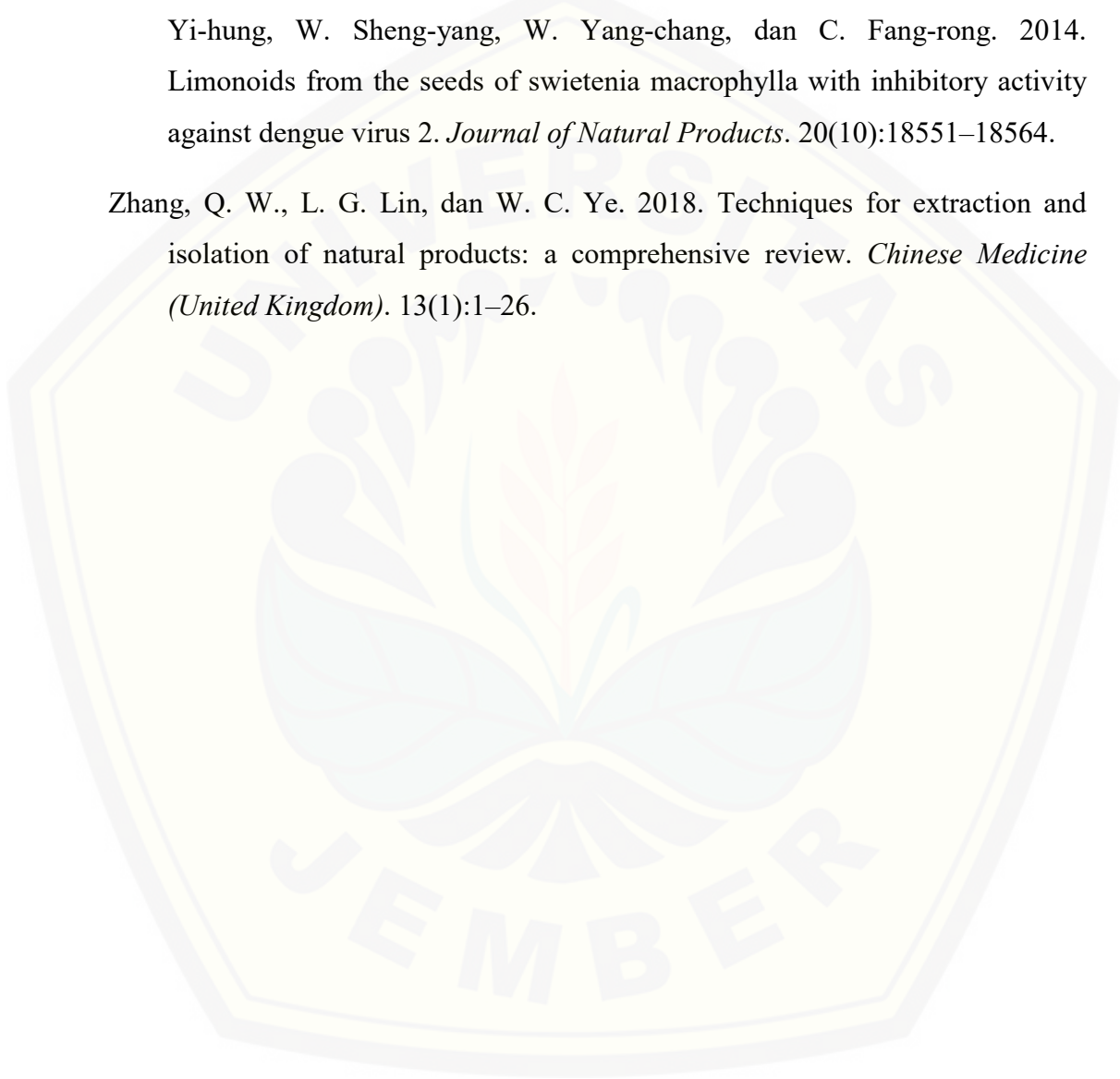
- Silverstein, R. M., F. X. Webster, dan D. J. Kiemle. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Edisi Seventh Ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Situmorang, R. O. P., A. H. Harianja, J. Silalahi, dan P. City. 2015. Karo ' s local wisdom: the use of woody plants for. *Indonesian Journal of Forestry Research*. 2(2):121–130.
- Smallwood, I. M. 1996. *Handbook of Organic Solvent Properties*. London: ARNOLD.
- Smith, S. L. 1972. *Solvent Effects and NMR Coupling Constants*. Dalam *Nonaqueous Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag.
- Snyder, L. R., J. J. Kirkland, dan J. W. Dolan. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- Sticher, O. 2008. Natural product isolation. *Natural Product Reports*. 25(3):517.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sun, Y., W. Jin, Y. Wang, Gang Wang, S. L. Morris-natschke, J. Liu, Guo-kai Wang, dan K. Lee. 2018. Chemical structures and biological activities of limonoids from the genus swietenia ( meliaceae ). *Molecules*. 23:1–17.
- Supratman, U. 2010. *ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA ORGANIK*. Edisi. Bandung: Widya Padjadjaran.
- Swartz, M. 2010. HPLC detectors: a brief review. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 33(9–12):1130–1150.
- Tse, E. G., M. Korsik, dan M. H. Todd. 2019. The past, present and future of anti-malarial medicines. *Malaria Journal*. 18(1):93.
- Urooj, A. dan Naveen. 2015. Phytochemical, proximate composition and antioxidant potential of swietenia mahagoni leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*. 5(3):161–166.

WHO. 2018. *World Malaria Report 2018*. Luxembourg: WHO.

World Health Organization. 2015. *Global Technical Strategy for Malaria 2016–2030*. Geneva: World Health Organization.

Yuan-bin, C., C. Yi-ting, L. Jin-ching, T. Chin-kai, W. Hui-chun, L. I-wen, W. Yi-hung, W. Sheng-yang, W. Yang-chang, dan C. Fang-rong. 2014. Limonoids from the seeds of *swietenia macrophylla* with inhibitory activity against dengue virus 2. *Journal of Natural Products*. 20(10):18551–18564.

Zhang, Q. W., L. G. Lin, dan W. C. Ye. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. 13(1):1–26.



## LAMPIRAN

**Lampiran 1. Perhitungan Rendemen Ekstrak, Fraksi dan Isolat Senyawa Mayor Biji *S. mahagoni*****1. Rendemen Ekstrak Metanol Biji *S. mahagoni***

Berat serbuk kering biji *S. mahagoni* = 100,16 gram

Berat wadah + ekstrak kering = 223,19 gram

Berat wadah kosong = 219,08 gram

Ekstrak kering = 4,11 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak metanol biji } S. \text{ mahagoni} &= \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat serbuk awal}} \times 100\% \\ &= \frac{4,11 \text{ gram}}{100,16 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 4,10 \%\end{aligned}$$

**2. Rendemen Fraksi Ekstrak Bebas Minyak**

Berat ekstrak untuk fraksinasi = 4,11 gram

Berat wadah + fraksi ekstrak bebas minyak = 11,49 gram

Berat wadah kosong = 9,56 gram

Fraksi ekstrak bebas minyak = 1,93 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi ekstrak bebas minyak} &= \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak untuk fraksinasi}} \times 100\% \\ &= \frac{1,93 \text{ gram}}{4,11 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 46,96\%\end{aligned}$$

**3. Rendemen Fraksi *n*-heksana**

$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak untuk fraksinasi} &= 4,11 \text{ gram} \\
 \text{Berat wadah + fraksi } n\text{-heksana} &= 10,47 \text{ gram} \\
 \text{Berat wadah kosong} &= 9,64 \text{ gram} \\
 \text{Fraksi } n\text{-heksana} &= 0,83 \text{ gram} \\
 \text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} &= \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak untuk fraksinasi}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,83 \text{ gram}}{4,11 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 20,19\%
 \end{aligned}$$

**4. Rendemen Residu Fraksinasi**

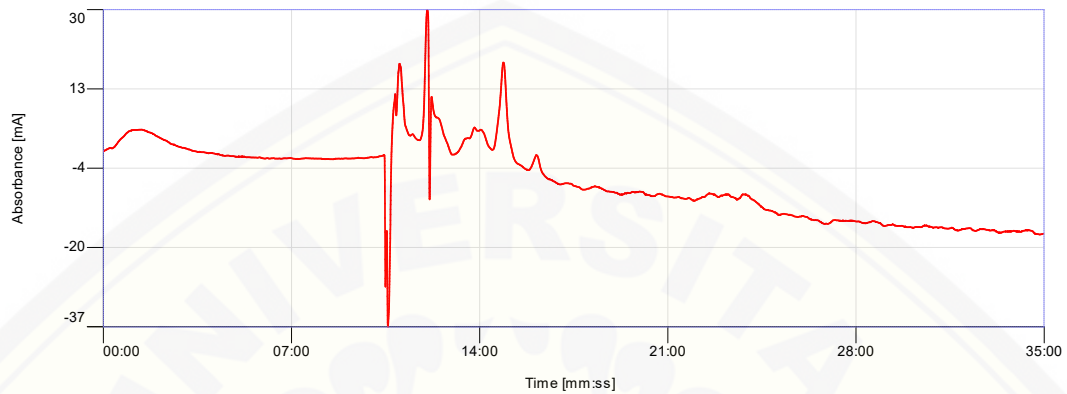
$$\begin{aligned}
 \text{Residu} &= 4,11 \text{ gram} - (\text{Berat Total Fraksi}) \\
 &= 4,11 - (1,93 + 0,83) = 1,35 \text{ gram} \\
 \text{Rendemen residu fraksinasi} &= \frac{1,35 \text{ gram}}{4,11 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 32,85\%
 \end{aligned}$$

**5. Rendemen Isolat**

$$\begin{aligned}
 \text{Berat fraksi bebas minyak untuk isolasi} &= 1,93 \text{ gram} \\
 \text{Berat wadah + isolat mayor} &= 6,58 \text{ gram} \\
 \text{Berat wadah kosong} &= 6,49 \text{ gram} \\
 \text{Isolat mayor} &= 88,20 \text{ mg} \\
 \text{Rendemen isolat mayor biji } S. \text{ mahagoni} &= \frac{\text{Berat isolat mayor}}{\text{Berat fraksi ekstrak bebas minyak}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0882 \text{ gram}}{1,93 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 4,57\%
 \end{aligned}$$

## Lampiran 2. Kromatogram Hasil Optimasi Kondisi Analisis untuk Isolasi Senyawa Mayor Biji *S. mahagoni* dengan HPLC

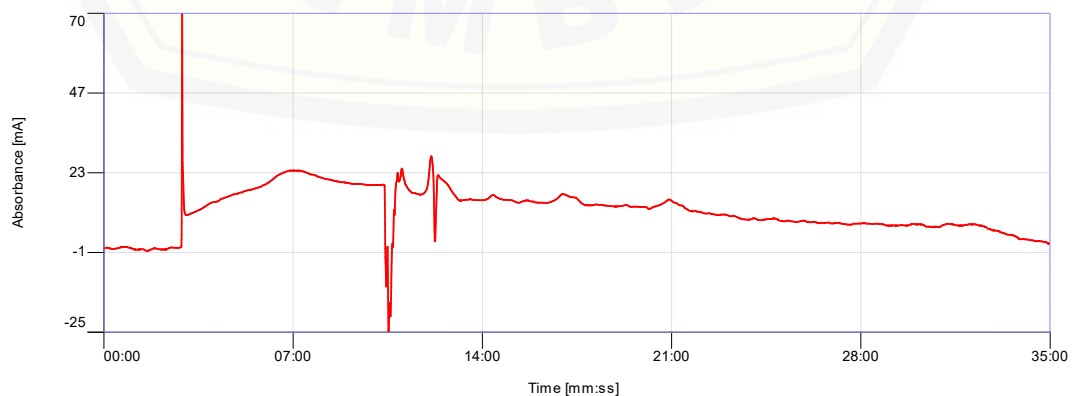
1. Gradien eluen 40-100; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 254 nm.



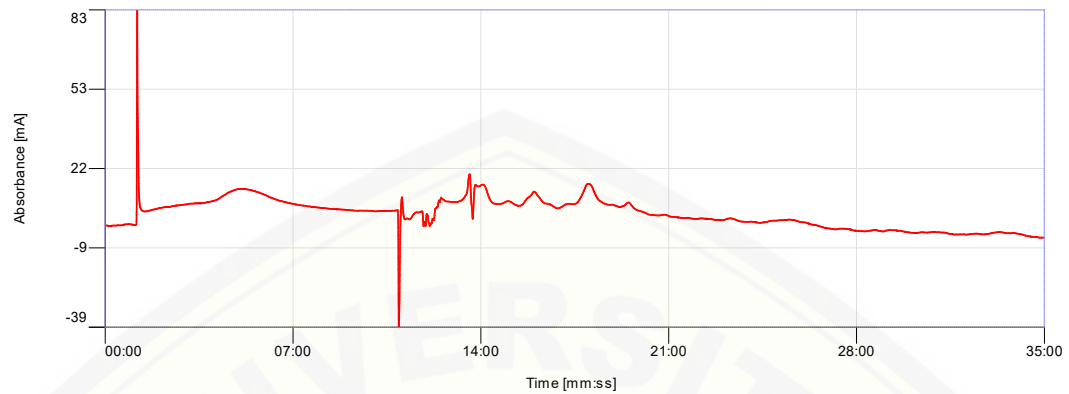
2. Gradien eluen 40-80; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 254 nm.



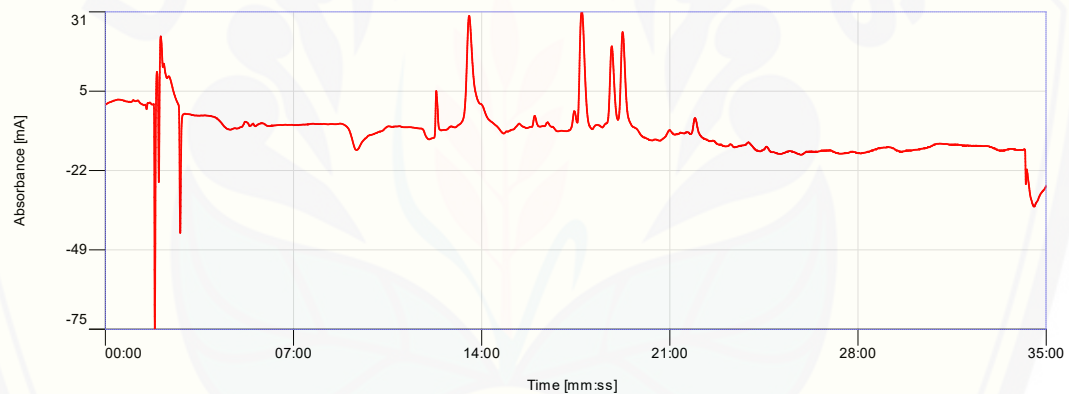
3. Gradien eluen 40-60; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 254 nm.



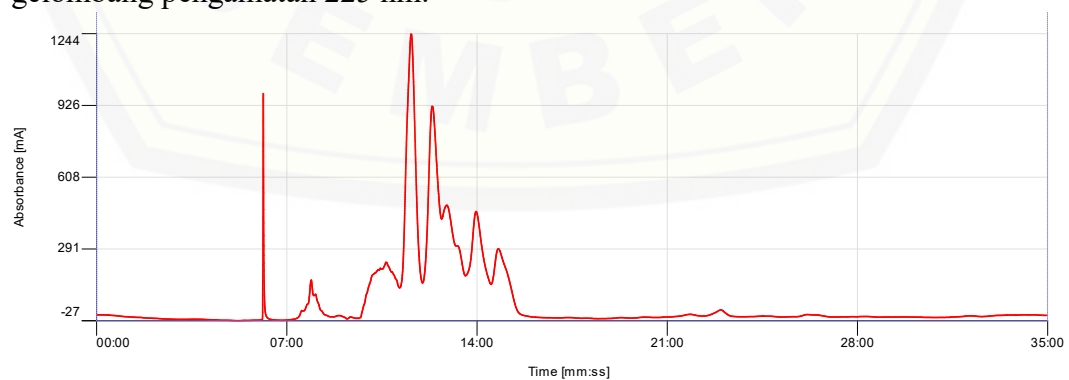
4. Gradien eluen 20-100; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 254 nm.



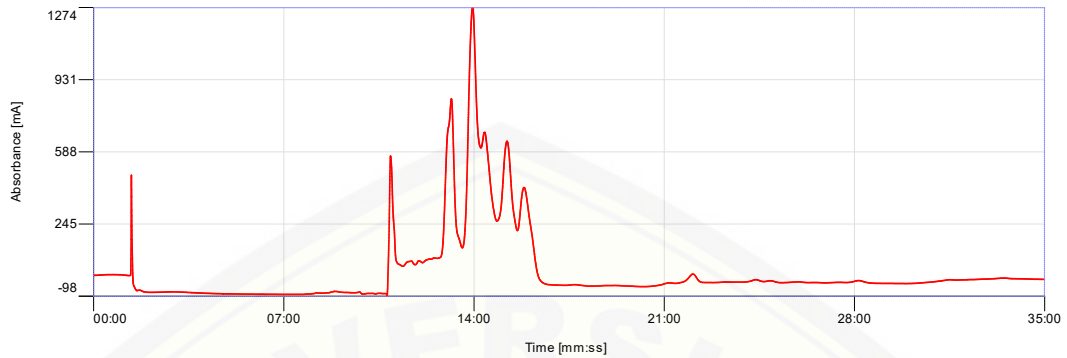
5. Gradien eluen 10-90; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 254 nm.



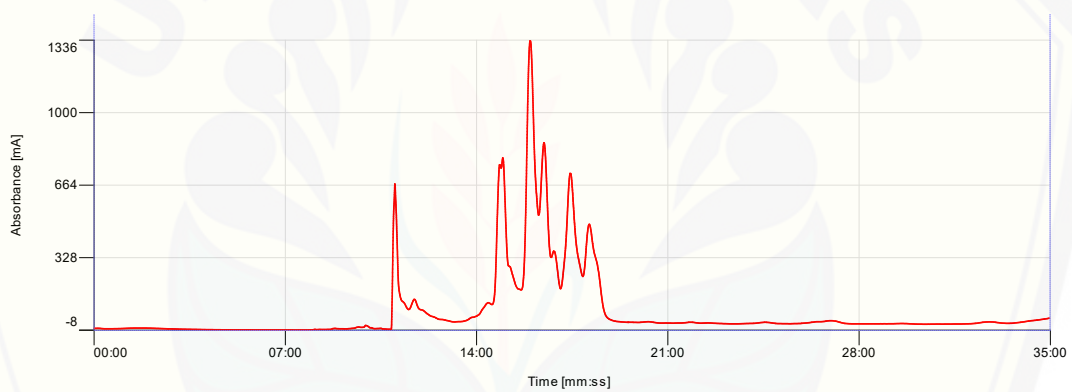
6. Gradien eluen 40-60; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 225 nm.



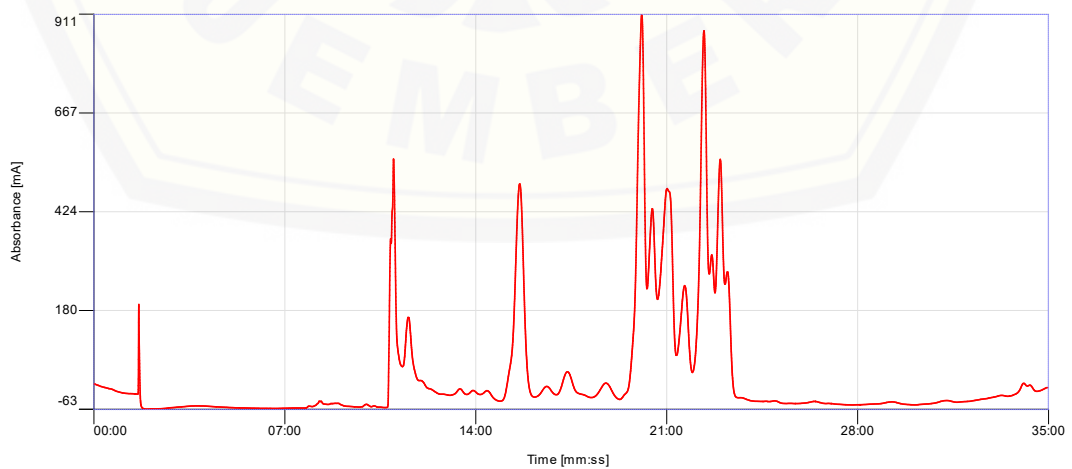
7. Gradien eluen 20-80; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 225 nm.



8. Gradien eluen 20-50; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 225 nm.



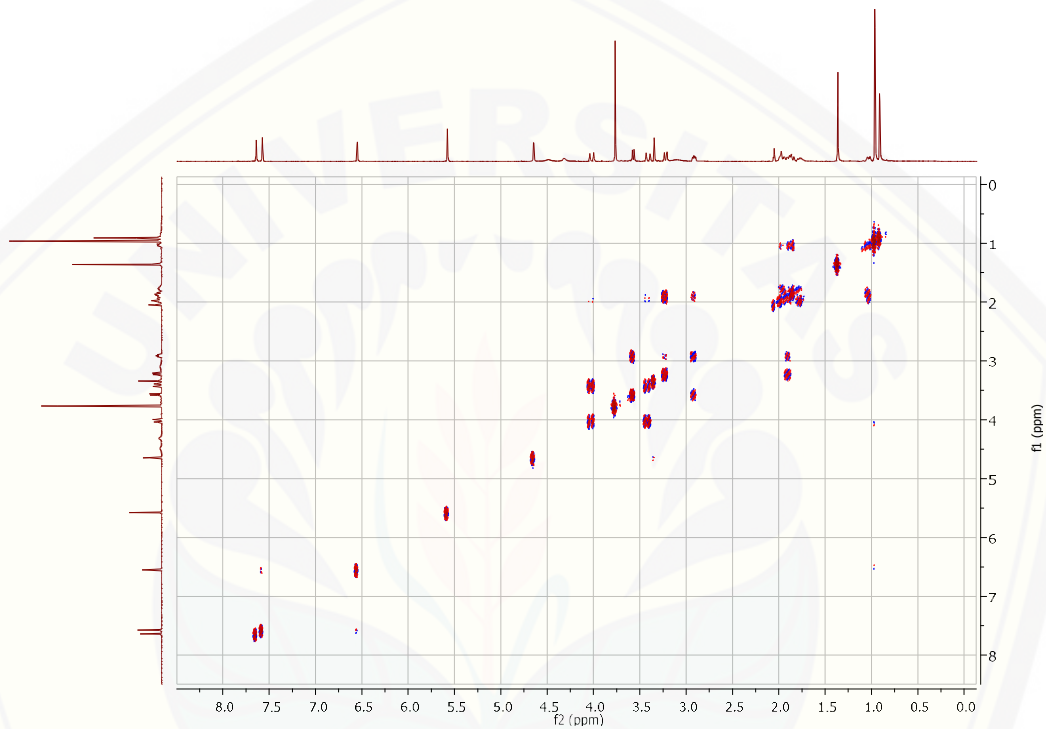
9. Gradien eluen 20-30; laju alir eluen 2 mL/menit; 35 menit eluasi; panjang gelombang pengamatan 225 nm.



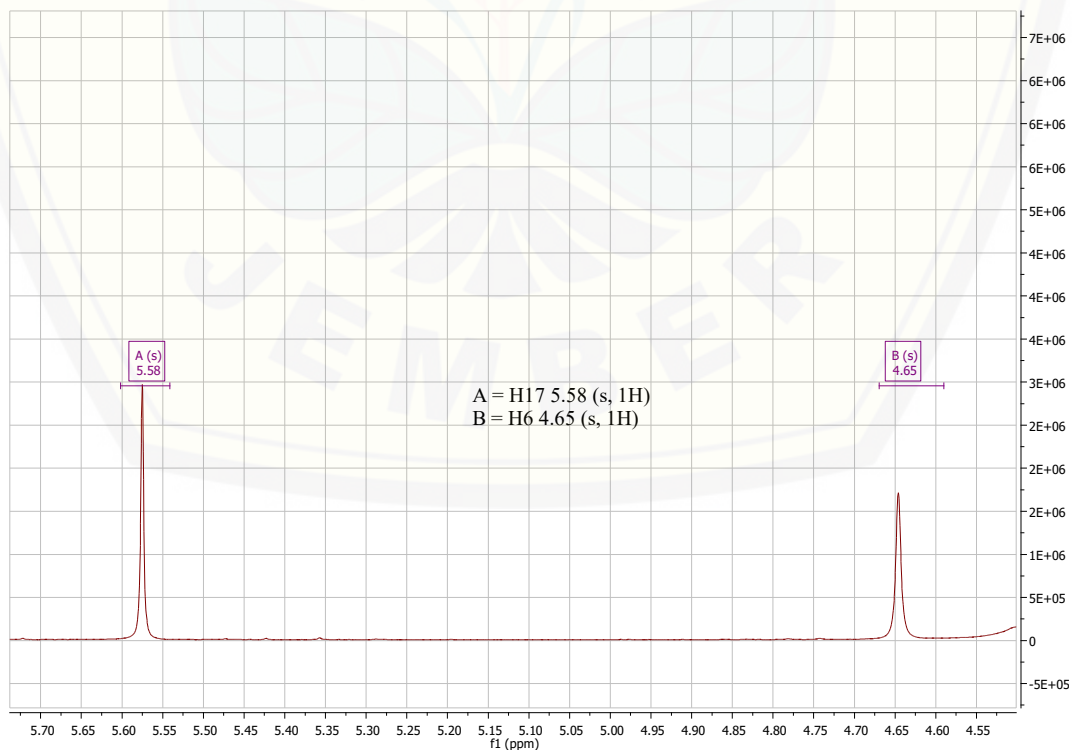
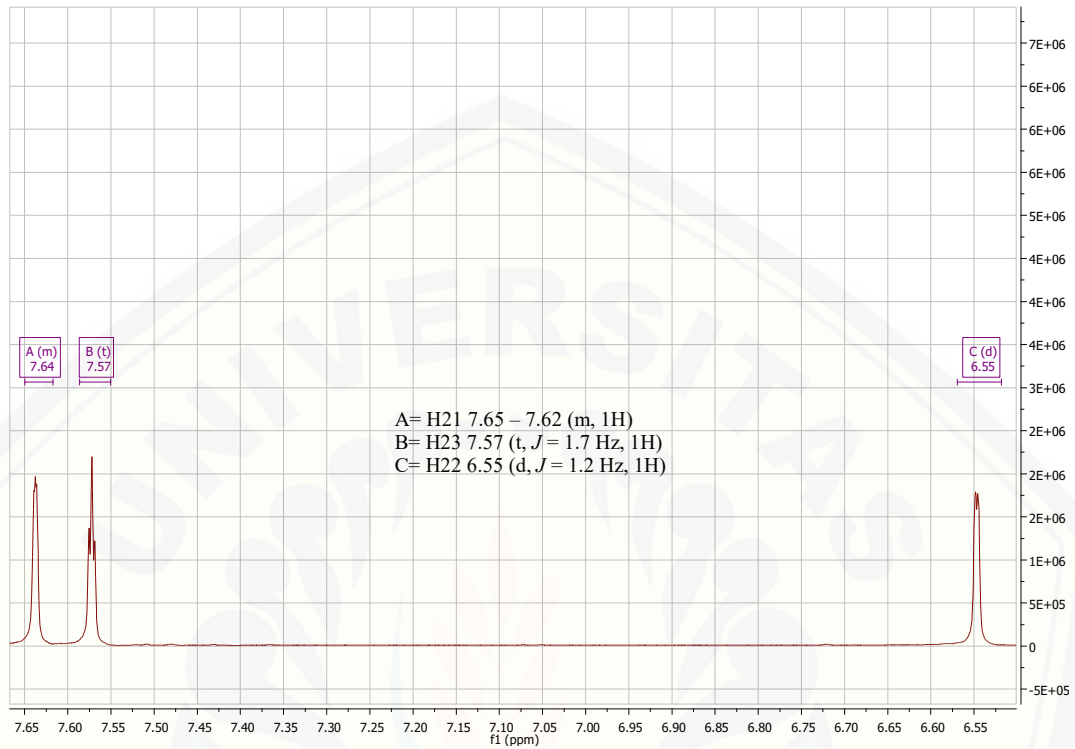


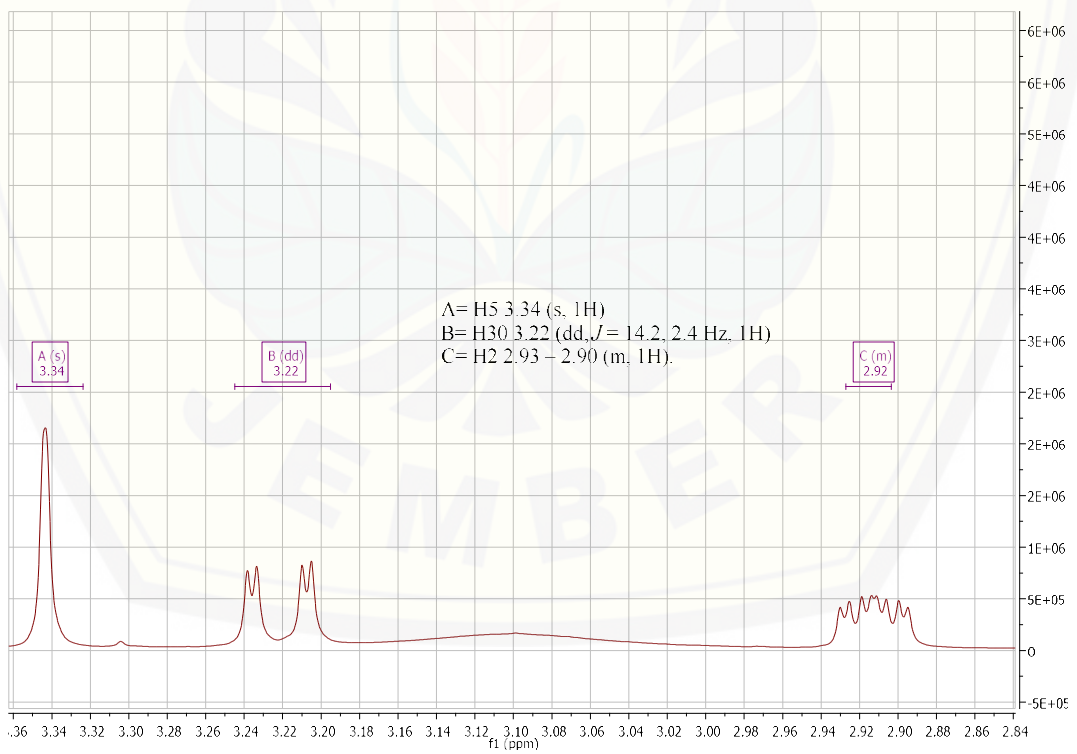
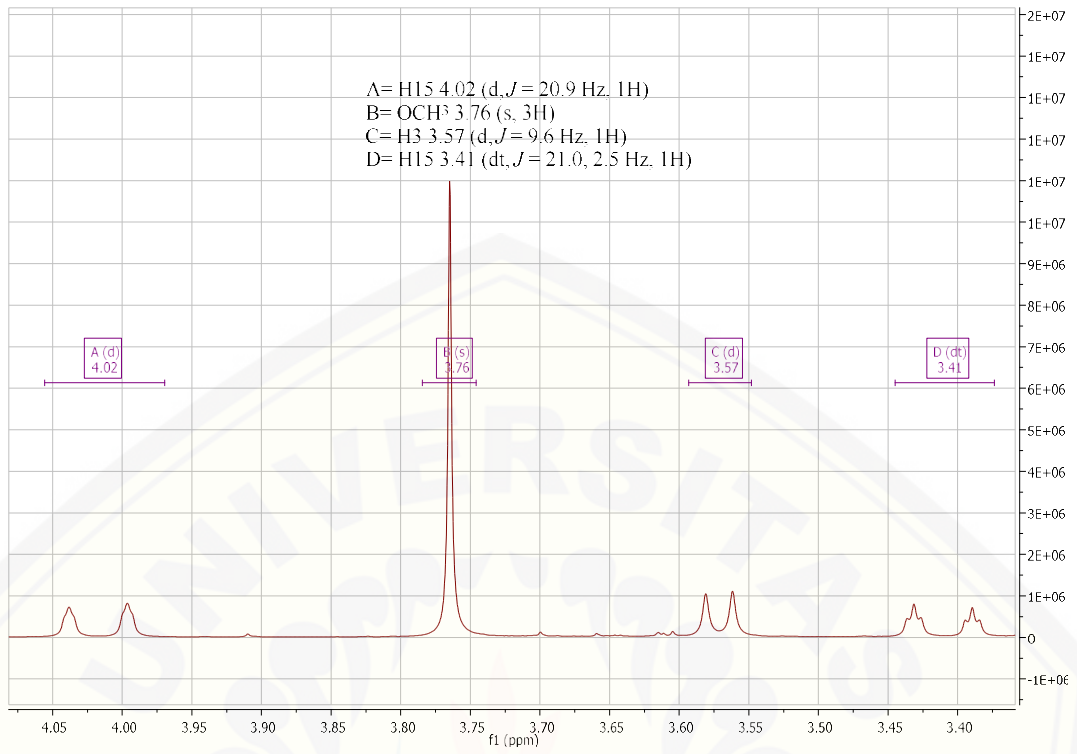
**Lampiran 3. Spektra gCOSY dari Analisis NMR Senyawa Mayor Biji *S. mahagoni***

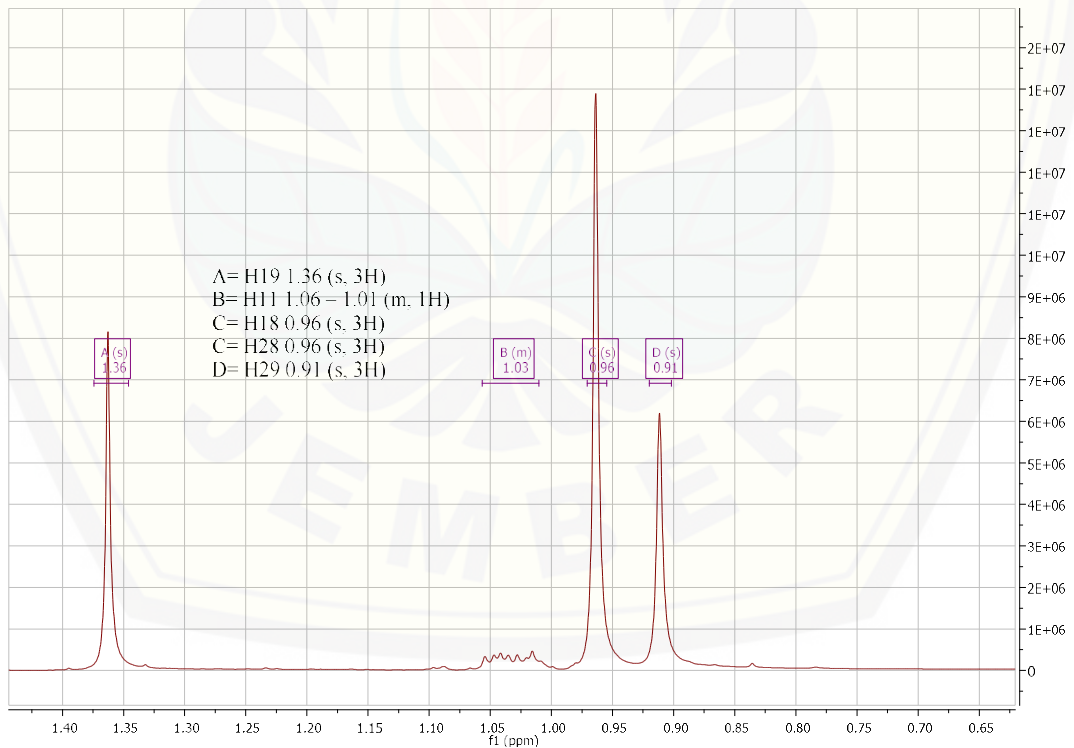
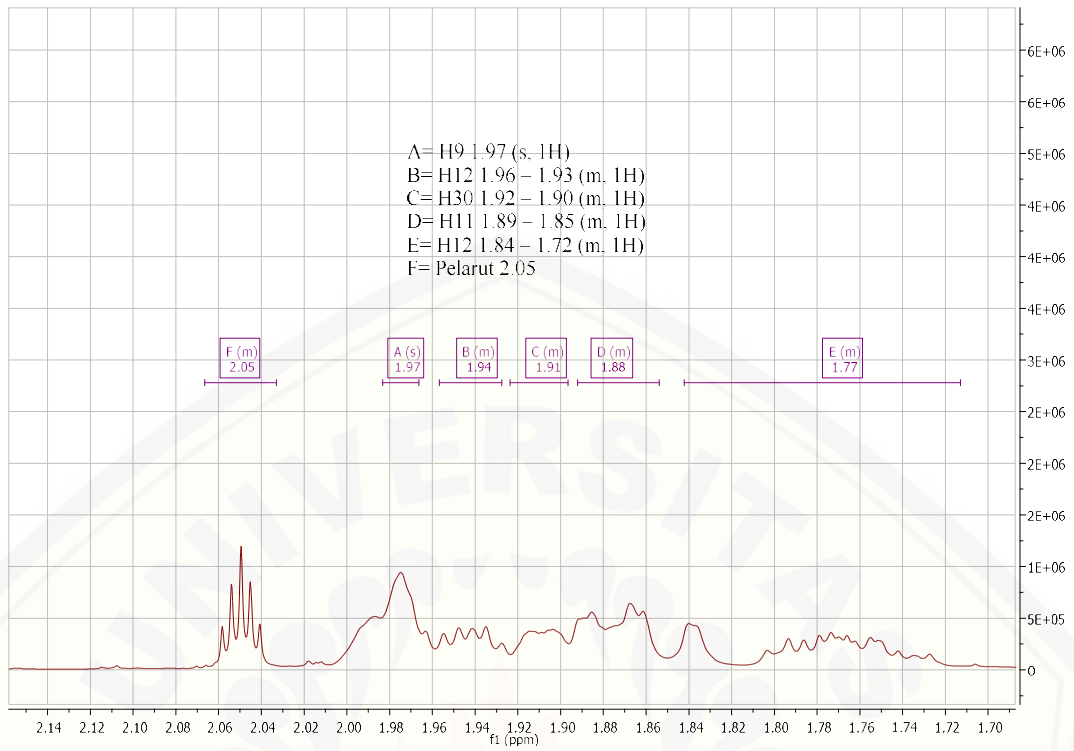
Spektra gCOSY merupakan 2D-NMR dengan *plotting* spektra proton pada kedua sumbunya. Dari spektra gCOSY dapat diketahui proton-proton pada suatu senyawa yang berada dalam satu ikatan.



**Lampiran 4. Multiplisitas, *Coupling Constant* (*J*) dan Integrasi Proton pada Spektra <sup>1</sup>H-NMR Senyawa Mayor dari Biji *S. mahagoni***







Keterangan singkatan multiplisitas pada Tabel 4.3 dan Lampiran 4:

*s = singlet*

*d = doublet*

*t = triplet*

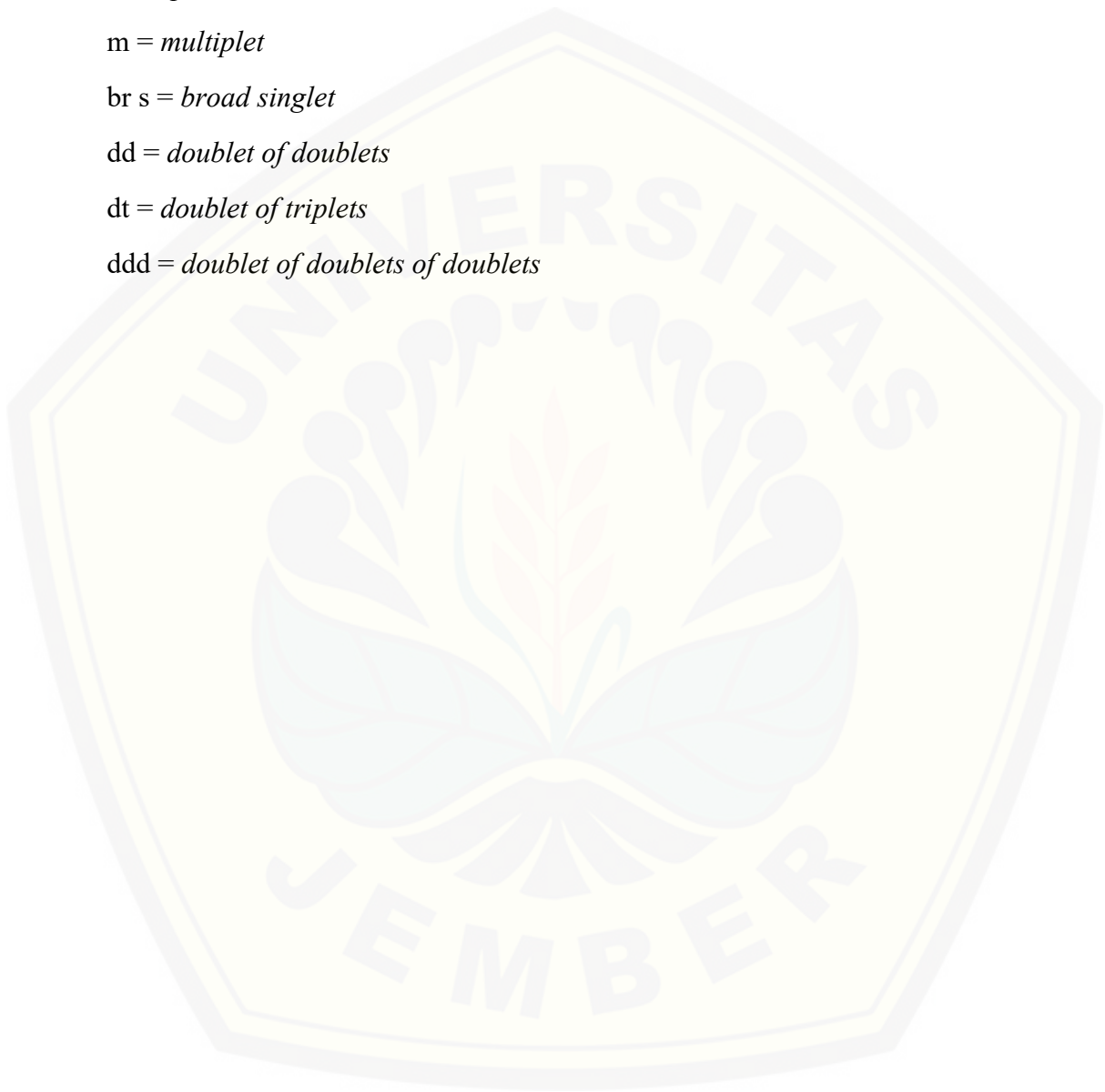
*m = multiplet*

*br s = broad singlet*

*dd = doublet of doublets*

*dt = doublet of triplets*

*ddd = doublet of doublets of doublets*



**Lampiran 5. Spektra LR ESI-MS Keseluruhan dari Senyawa Mayor Biji *S. mahagoni***

