

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI PARSIAL SENYAWA STEROID KORTEKS
MAJA (*Aegle marmelos* Correa.)****ISOLATION AND PARTIAL CHARACTERIZATION THE STEROID
COMPOUNDS OF CORTEX MAJA (*Aegle marmelos* Correa.)**

Hengki Wijaya Supta, Puguh Novi Arsito
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia
Hengkiwijaya1524@gmail.com

INTISARI

Aegle marmelos Correa adalah tanaman yang berbentuk pohon termasuk dalam famili *Rutaceae*, mempunyai nama daerah Maja (Jawa). Tanaman ini digunakan sebagai tanaman obat tradisional. Di pulau Jawa tanaman maja tumbuh di kawasan yang beriklim kering di dataran rendah. Beberapa penelitian mengenai *Aegle marmelos* Correa telah dilaporkan sejumlah senyawa yang terkandung di dalamnya, seperti: flavonoid, alkaloid, tanin, turunan triterpen, stigmasterol, sitosterol, aegelin, skimmiamin dan marmin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil isolasi senyawa steroid fraksi n-heksan: etil asetat dari ekstrak etanol 96% korteks *Aegle marmelos* Correa menggunakan metode kromatografi kolom dan mengetahui panjang gelombang absorpsi maksimal fraksi steroid menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan mengetahui berat molekul senyawa steroid hasil isolasi dari korteks *Aegle marmelos* Correa berdasarkan nilai indeks kemiripan (*Similarity Index*) menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectra* (GC-MS).

Pada penelitian ini digunakan Maja yang tumbuh di Kulon Progo, Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan desain eksploratif, dengan serbuk kering korteks Maja diekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96%. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak dipisahkan dengan metode fraksinasi kromatografi kolom gravitasi dengan serbuk silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam dan n-heksan: etil asetat sebagai fase gerak dengan perbandingan 2:1. Senyawa yang diperoleh dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis, *TLC Scanner*, spektrofotometer UV-Vis dan *Gas Chromatography-Mass Spectra* (GC-MS).

Isolasi senyawa fraksi n-heksan: etil asetat (2:1) dari ekstrak etanol 96% menggunakan metode kromatografi kolom menghasilkan 9 fraksi cair terdiri dari fraksi A, B, C, D, E, F, G, H, I. Didapatkan fraksi B sebagai fraksi yang lebih murni setelah dianalisis kualitatif menggunakan KLT. Hasil analisis menggunakan KLT fraksi B menunjukkan spot berwarna ungu kemerahan setelah dilakukan penyemprotan pereaksi Liebermann-Burchard dan memiliki nilai R_f 0,95 dan R_f 1,0. Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis fraksi B memiliki panjang gelombang absorpsi maksimal λ 447 nm dan nilai absorpsi 0,121. Analisis menggunakan GC-MS memiliki 3 puncak kromatogram dengan indeks kemiripan (*Similarity Index*) 93 dengan *9-octadecenamide* yang merupakan senyawa golongan amida dan memiliki berat molekul 281 g/mol, indeks kemiripan (*Similarity Index*) 82 dengan lupeol yang merupakan senyawa golongan steroid dan memiliki berat molekul 426 g/mol dan indeks kemiripan (*Similarity Index*) 76 dengan *3-hexanone* yang merupakan senyawa golongan keton yang digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi kolom.

Kata Kunci: lupeol, *9-octadecenamide*, steroid, korteks, *Aegle marmelos* Correa

ABSTRACT

Aegle marmelos Correa is a plant in the form of a tree that is included in Rutacea family. It has a local name of Maja (Java). This plant is used as a traditional medicine. In Java, this plant grows in dry lowland. The habitat is around Mojokerto, in the area that was used to be Majapahit Kingdom. Several researches on *Aegle marmelos* Correa indicated several compounds that it contained, such as: flavonoid, alkaloid, tannin, triterpen derivation, stigmasterol, aegelin, skimmiamin, and marmin. The research aimed is to know the result of isolation steroid compound of n-hexane: ethyl acetate fraction from ethanol extract 96% cortex *Aegle marmelos* Correa using column chromatography method and to know the maximum absorption wavelength of steroid fraction using UV-Vis spectrophotometry and to know molecular weight of resultant steroid compound isolation of the *Aegle marmelos* Correa cortex based on similarity index values (SI) using Gas Chromatography-Mass Spectra (GC-MS).

The research used Maja that grew in Kulon Progo, Yogyakarta. The research used explorative design. Maja cortex powder was extracted maserasi with 96% ethanol. The compound contained in the extract was then separated using gravity colum chromatography fractionation using silica gel powder GF₂₅₄ as static phase and n-heksan: ethil acetate as dynamic phase with the comparison of 2:1. The compound obtained was then analyzed using thin layer chromatography, TLC Scanner, spektrofotometer UV-Vis and Gas Chromatograph-Mass Spectra (GC-MS).

Isolation steroid compound of the n-hexane: ethyl acetate fraction (2: 1) from the ethanol 96% extract of *Aegle marmelos* Correa cortex using column chromatography method result 9 liquid fractions composed of fractions A, B, C, D, E, F, G, H, I and obtained fraction B as a pure fraction after qualitative analysis using TLC. TLC from B fraction detected using Liebermann-Burchard. The result was spot with reddish-purple colour and has R_f value 1,0 and R_f 0,95. The result isolation of *Aegle marmelos* Correa steroid fraction has a maximum absorption wavelength of λ 447 nm and absorbance value 0,121. Analysis using GC-MS has 3 peaks of chromatogram with similiary index 93 with 9-octadecenamide which is amide group compound and has molecular weight 281 g/mol, similarity index 82 with lupeol which is a steroid group compound and has a molecular weight of 426 g/mol and similarity index 76 with 3-hexanone which is a ketone group compound used as a mobile phase in column chromatography.

Keywords: lupeol, 9-octadecenamide, steroid, cortex, *Aegle marmelos* Correa.

1. PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara tropis yang terkenal akan kekayaan rempah-rempah dan berbagai jenis tanaman. Dari dulu hingga sekarang tanaman herbal ataupun tanaman obat dapat mencegah penyakit-penyakit tertentu (Achmad, *et al*, 2009). Dalam satu tanaman dapat ditemukan berbagai senyawa aktif pada bagian bunga, daun, batang, kulit batang,

akar, kulit akar, dll. Senyawa aktif tersebut berkhasiat sebagai obat atau bahkan sebagai penuntun dalam penemuan obat baru. Kandungan senyawa di dalam tanaman dapat berupa senyawa metabolit primer seperti protein, karbohidrat, lemak yang digunakan sendiri oleh tanaman tersebut untuk pertumbuhannya, maupun sebagai sumber senyawa metabolit sekunder

seperti steroid/terpenoid, kumarin, flavonoid dan alkaloid (Lenny, 2006).

Senyawa steroid terdapat pada hewan, tanaman tingkat tinggi bahkan terdapat pula pada beberapa tanaman tingkat rendah seperti jamur (*fungi*), fungsi steroid antara lain untuk meningkatkan laju perpanjangan sel tumbuhan serta merangsang pertumbuhan pucuk tumbuhan, menghambat proses gugurnya daun dan menstimulasi perpanjangan sel di pucuk tumbuhan. Steroid banyak terdapat di alam tetapi dalam jumlah yang terbatas dan mempunyai aktivitas biologis. Dalam tubuh manusia hormon steroid memiliki banyak fungsi, seperti glukokortikoid atau kortisol berperan sebagai pengatur dalam proses metabolisme termasuk pembentukan glukosa dari asam amino dan asam lemak. Kortisol juga membantu menjaga tekanan darah tetap normal dan mempunyai efek anti-inflamasi dan immunosupresif. Selanjutnya mineralokortikoid atau aldosteron berperan dalam menjaga keseimbangan air dan garam mineral dalam tubuh (Aria, 2009).

Salah satu tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai obat salah satunya adalah maja (*Aegle marmelos* Correa) famili *Rutaceae*. Di Indonesia *Aegle marmelos* dikenal dengan nama Maja. Selain dikenal dengan nama Maja, dalam bahasa lain juga disebut *Bel*, *Bilwa*, *Bilva*, *Beli fruit*, *Wood apple*, *Stone apple*, atau *Koovalam* (Backer and Brink, 1965; Bentley and Trimen, 1983). Tanaman maja tumbuh dikawasan yang beriklim kering didataran rendah. Di pulau Jawa habitat tanaman maja berada dikawasan sekitar Mojokerto.

Daun, akar dan kulit batang dari maja (*Aegle marmelos* L.) telah diidentifikasi mengandung saponin,

disamping itu akar dan kulit batangnya mengandung flavonoid dan polifenol dan daunnya juga mengandung tanin. Ekstrak kering bunga *Aegle marmelos* Correa memiliki aktifitas sebagai anti-inflamasi (Kumari *et al.*, 2014). Pada penelitian Arul *et al.*, 2005 menyatakan bahwa ekstrak serial daun *Aegle Marmelos* Correa memiliki sifat anti-inflamasi, antipiretik dan analgesik. Begitu juga ekstrak metanol dari daun *Aegle marmelos* Correa mempunyai aktivitas anti-inflamasi (Shankharanath, 2007). Pada identifikasi dan uji bioaktivitas lupeol dan marmin yang dipisahkan dari korteks *Aegle marmelos* dilaporkan lupeol bersifat signifikan sitotoksik terhadap sel kanker *T-lymphoblastic leukemia*, sedangkan marmin mempunyai efek yang lemah (Riyanto *et al.*, 2001).

Aegle marmelos Correa mempunyai senyawa diantaranya *lupenon*, *stigmasterol* dan *sitosterol* yang diisolasi dari korteks dan *skimmianine* yang diisolasi dari akar tanaman (Riyanto *et al.*, 2000). Dalam penelitian Chairul Saleh yang berjudul isolasi dan identifikasi senyawa steroid dari kulit batang tumbuhan maja *Aegle marmelos* (L) Correa, menyebutkan bahwa terdapat senyawa golongan steroid pada kulit batang maja yaitu stigmasterol.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksploratif laboratoris dengan tema Biologi Farmasi menggunakan metode ekstraksi maserasi dan teknik pemisahan kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis spektrofotometri UV-Vis dan Gas Chromatography-Mass Spectra (GC-MS).

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi Gelas pengaduk, Gelas ukur (Iwaki Pyrex[®]), Pipet tetes, Pipet volume (Iwaki Pyrex[®]), Bejana, Kertas saring, *Rotary Evaporator* (IKA[®]) RV 10, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu[®]), Corong pisah (HERMA[®]), Erlenmeyer (Iwaki Pyrex[®]), pipet kapiler, Beaker glass (Iwaki Pyrex[®]), Waterbath (Memmert[®]), Cawan porselen, Tabung kolom (Iwaki Pyrex[®]), penyangga kolom, tabung reaksi (Iwaki Pyrex[®]), rak tabung reaksi, TLC Scanner 4 (Camag[®]), GCMS QP2010S (Shimadzu[®]).

Bahan yang digunakan adalah kulit batang *Aegle marmelos* Correa yang berasal dari Wates Kulonprogo, etanol 96% (One Med[®]), pelarut n-heksan (PT. BRATACO), etil asetat (PT. BRATACO), aluminium foil, HCl (Merck[®]), Kloroform (PT. BRATACO), asam asetat anhidrat (Merck[®]), asam sulfat pekat (Merck[®]), NaOH PT. BRATACO, Silika gel serbuk (Merck[®]), glaswool, Plat KLT Silika gel GF₂₅₄ (Merck[®]).

2.2. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Korteks maja dipanen pada bulan April 2016 diambil dari daerah Wates, Kulonprogo, Yogyakarta. korteks dibersihkan dan dipisahkan dengan batangnya, selanjutnya dikeringkan dengan cara dijemur pada sinar matahari dengan ditutup kain berwarna hitam, setelah kering kemudian korteks maja dihaluskan dengan mesin penghalus sampai menjadi serbuk.

2.3. Identifikasi Senyawa Steroid

Identifikasi senyawa steroid dilakukan dengan cara membuat ekstrak korteks maja dengan perbandingan berbagai pelarut, pelarut yang digunakan

adalah kloroform, n-heksan, etanol 96% dan etil asetat. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi dalam jumlah kecil menggunakan tabung reaksi selama 2 jam dengan dilakukan penggojokan setiap 30 menit. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring, kemudian angin-anginkan ekstrak untuk membuat ekstrak yang lebih pekat. Masing-masing ekstrak dianalisis menggunakan KLT dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan: etil asetat hasil optimasi fase gerak. Kemudian plat KLT dilakukan penyemprotan pereaksi *Liebermann-Burchard* untuk mengidentifikasi steroid.

2.4. Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan membuat perbandingan dua fase gerak atau eluen antara n-heksan: etil asetat (1:1) dengan n-heksan: etil asetat (2:1). Untuk mengetahui perbandingan eluen yang baik dari kedua perbandingan diujikan dengan melihat hasil pemisahan bercak senyawa ekstrak pada plat KLT. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dalam jumlah kecil menggunakan tabung reaksi selama 2 jam dengan dilakukan penggojokan setiap 30 menit. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring, kemudian angin-anginkan ekstrak untuk membuat ekstrak yang lebih pekat. Proses elusi dilakukan sampai eluen mencapai batas pada plat KLT.

2.5. Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96% dalam bejana tertutup rapat. Tahap Maserasi dilakukan selama 2 hari

disertai pengadukan secara periodik untuk memberi kesempatan zat aktif berdifusi kedalam pelarut. Setelah maserasi selama 2 hari, dilakukan penyaringan dan ampas dimaserasi kembali dengan memakai cairan penyari yang baru. Hasil maserasi pertama digabungkan dengan maserasi kedua, ekstraksi ini menghasilkan cairan atau maserat. Cairan atau maserat tersebut selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental.

2.6. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Ekstrak korteks maja yang sudah dikentalkan dilakukan pemisahan dengan cara kromatografi kolom gravitasi dengan menggunakan fase diam berupa silika gel serbuk dan fase gerak campuran n-heksan: etil asetat (2:1) secara bergradien. Kromatografi kolom dilakukan dengan cara tabung yang digunakan sebagai kolom diberi glasswol pada bagian bawah kolom yang berfungsi sebagai penyaring dan penghambat fase diam supaya tidak terbawa fase gerak, kemudian masukkan silika gel serbuk kedalam kolom sebagai fase diam. Lakukan penjenahan fase diam dengan cara masukkan fase gerak kedalam kolom kemudian tunggu sampai fase gerak turun dan membasahi seluruh silika gel didalam kolom. Tahap berikutnya adalah memasukkan ekstrak yang sudah dilarutkan dengan etanol 96% kedalam kolom. Teknik pemisahan pada kromatografi kolom berdasarkan warna yang dilihat secara visual dan pada sinar UV. Hasil pemisahan ditampung pada tabung reaksi berdasarkan warna yang terpisah.

2.7. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraksi hasil dari tahap kromatografi kolom sebelumnya selanjutnya diuji pada KLT dengan menggunakan silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam dan n-heksan: etil asetat (2:1) sebagai fase gerak. KLT dilakukan dengan cara menotolkan masing-masing fraksi hasil kromatografi kolom pada plat KLT menggunakan pipet kapiler, kemudian elusi menggunakan fase gerak yang sudah dijenuhkan. Elusi dihentikan pada saat fase gerak mencapai batas atas pada plat KLT. Hasil dari masing-masing fraksi pada plat KLT kemudian dilakukan pembacaan menggunakan sinar UV 254 dan UV 366.

2.8. Analisis dengan TLC Scanner

TLC scanner berfungsi untuk melihat hasil pemisahan dari senyawa yang dipisahkan oleh kromatografi lapis tipis. Hasil yang ditampilkan berupa kurva grafik dan angka didalam tabel dengan cara hasil dari KLT yang telah didapatkan pada plat silika diletakkan pada alat *TLC scanner* kemudian dilakukan pembacaan sampai hasil keluar pada monitor yang terhubung pada alat scanner data.

2.9. Analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis

Analisis spektrofotometri UV-Vis bertujuan untuk menetapkan panjang gelombang absorpsi maksimum (λ_{maks}) dan nilai absorbansi dengan cara fraksi sampel senyawa steroid hasil kromatografi kolom diletakkan pada kuvet kemudian dilakukan *scanning menggunakan* spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 300-800 nm. Blanko yang digunakan adalah aquadest.

2.10. Analisis dengan Gas Chromatography-Mass Spectra (GC-MS)

Analisis dengan GCMS dilakukan dengan menginjeksi 1 μ L larutan ke dalam tempat injeksi. Uap cuplikan ini kemudian dibawa oleh gas pembawa masuk kedalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen steroid sehingga dapat dideteksi oleh detektor dan dihasilkan suatu kromatogram. Identifikasi komponen-komponen senyawa kimia dalam steroid korteks maja menggunakan instrumen GC-MS pada kondisi yang ditentukan sebagai berikut:

Kolom : AGILENT HP 1MS
 Panjang : 30 meter
 ID : 0,25 mm
 Gas pembawa : Helium
 Suhu kolom : 70,0 $^{\circ}$ C
 Suhu injeksi : 310 $^{\circ}$ C
 Mode injeksi : Split
 Tekanan : 13,7 kPa
 Total gelombang : 20,0 mL/menit

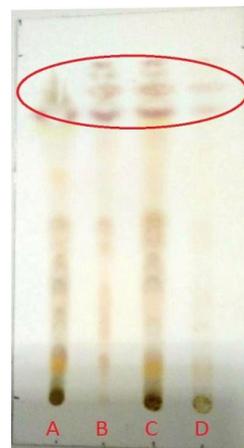
Fase gerak yang digunakan berupa gas pembawa helium dengan kecepatan 0,50 ml/menit. Sistem pemanasan diatur dari suhu 70 hingga 300 $^{\circ}$ C dengan peningkatan sebesar 5 $^{\circ}$ C setiap menit. Dalam instrumen spektra massa digunakan energi ionisasi sebesar 70 Ev. Hasilnya akan diamati melalui spektra yang diinterpretasikan berdasarkan berat molekul dan waktu retensi senyawa yang dituju.

3. HASIL dan PEMBAHASAN

3.1. Identifikasi Steroid

Identifikasi steroid merupakan langkah awal untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa steroid pada korteks maja. Identifikasi steroid dilakukan menggunakan KLT dengan

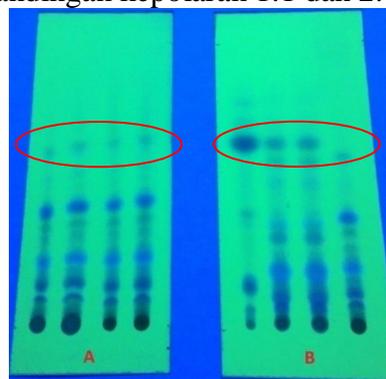
penyemprotan pereaksi *Liebermann-Burchard* (Kristanti, dkk., 2008).



Gambar 1. Profil kromatogram steroid setelah penyemprotan, (A) ekstrak kloroform, (B) ekstrak n-heksan, (C) ekstrak etanol 96%, (D) ekstrak etil asetat

3.2. Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan menggunakan ekstrak hasil ekstraksi dengan cara maserasi. Ekstraksi menghasilkan ekstrak korteks maja berwarna coklat kekuningan yang kemudian di totolkan pada plat KLT dengan silika gel GF₂₅₄ sebagai fase diam dan dielusi menggunakan fase gerak n-heksan: etil asetat dengan dua perbandingan kepolaran 1:1 dan 2:1.



Gambar 2. KLT optimasi fase gerak UV 254 nm (a) n-Heksan: etil asetat (1:1); (b) n-Heksan: etil asetat (2:1).

3.3. Ekstraksi

Proses maserasi korteks maja dilakukan selama 2 hari disertai dengan pengadukan secara periodik. Pengadukan dilakukan untuk mempercepat kontak pelarut dengan sampel sehingga proses ekstraksi berjalan lebih cepat. Setelah 2 hari proses maserasi dipisahkan antara residu dan filtrat dengan cara penyaringan menggunakan kain flanel dan kertas penyaring. Residu yang diperoleh diremaserasi untuk mengoptimalkan proses maserasi, karena kemungkinan komponen aktif masih banyak yang tertinggal didalam residu. Proses maserasi menghasilkan ekstrak cair yang selanjutnya diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* sampai menghasilkan bentuk kental berwarna coklat kekuningan.

3.4. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Pada pemisahan kromatografi kolom ini didapatkan pemisahan sebanyak 38 tabung reaksi.



Gambar 3. Hasil pemisahan kromatografi kolom

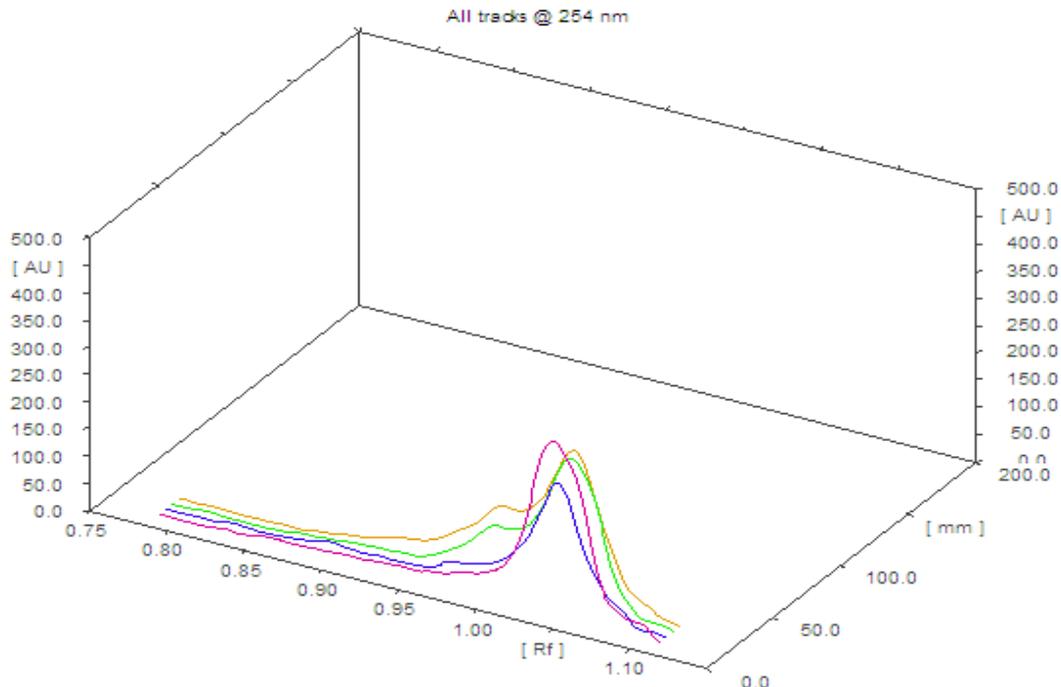
Tabel 1. Hasil pemisahan larutan berdasarkan warna

Fraksi	Tabung Rx	Warna
A	1-18	Bening
B	19-22	Kuning
C	23-24	Orange
D	25-26	Merah muda
E	27-28	Merah pekat
F	29-30	Hijau muda
G	31-36	Hijau pekat
H	37	Hijau muda
I	38	Bening

Dari hasil sembilan fraksi yang diperoleh dari hasil pemisahan kromatografi kolom dipilih fraksi pertama yang terbentuk warna, yaitu fraksi B yang terdiri atas 4 tabung reaksi kemudian dianalisis dengan KLT.

Tabel 2. Hasil perhitungan Rf KLT fraksi B

Sampel(Fraksi)	Spot	Rf
B1	1	1,0
B2	1	1,0
B3	1	1,0
B4	1	0,95
	2	1,0

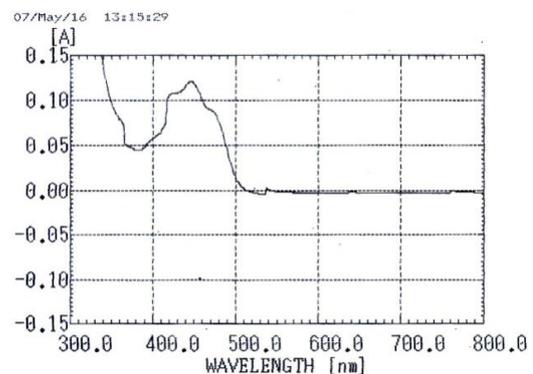


Gambar 4. Kurva hasil pengukuran puncak *TLC scanner* korteks maja

Pada kurva pemisahan sampel setelah dianalisis menggunakan alat *TLC scanner* menghasilkan puncak tunggal kromatogram pada sampel B1, B2, dan B3, sedangkan pada sampel B4 terlihat dua puncak kromatogram.

3.5. Identifikasi dengan Spektrofotometri UV-Vis

Identifikasi dilakukan menggunakan sampel fraksi B yang telah didapatkan dari proses pemisahan kromatografi kolom. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang 300-800 nm.



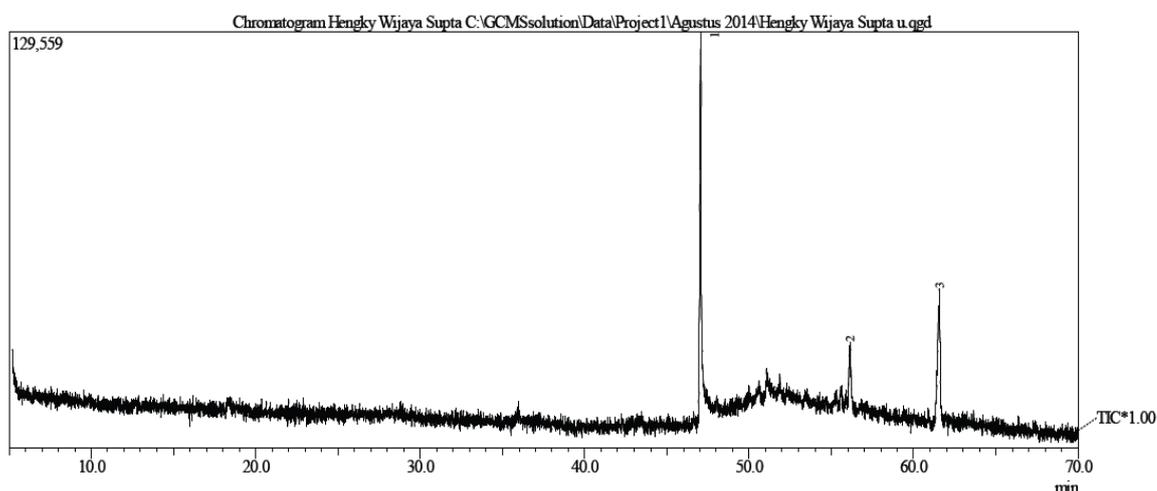
Gambar 5. Kurva spektrofotometri UV-Vis Senyawa fraksi B.

3.6. Analisis dengan GC-MS

GC-MS dapat memberikan data kualitatif dan kuantitatif senyawa yang menjadi komponen steroid karena *AUC* yang ditunjukkan pada kromatogram berbanding lurus dengan konsentrasi masing-masing komponen yang terdapat pada sampel. Analisis kromatografi gas akan mendapat kemungkinan jumlah komponen steroid dan kadar masing-masing. Sedangkan untuk

menentukan jenis komponen steroid tersebut dilakukan analisis dengan *Mass Spectra* selanjutnya

diidentifikasi dengan spektra yang berasal dari *database NIST62* dan *WILEY229*.



Gambar 6. Kromatogram hasil pemisahan kromatografi gas fraksi B steroid korteks maja

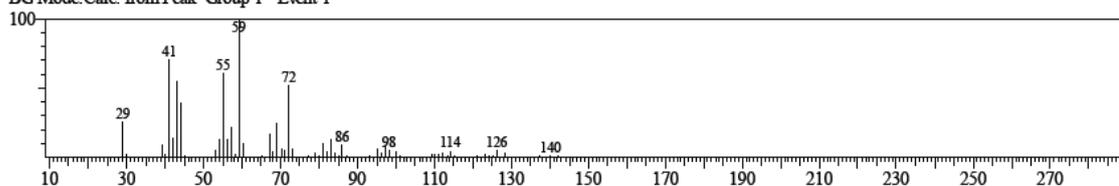
Identifikasi komponen-komponen senyawa steroid dalam korteks maja menghasilkan 3 puncak kromatogram. Dari 3 puncak yang terdeteksi masing masing berada pada waktu retensi yang berbeda, puncak 1 menunjukkan kromatogram pada waktu 47,058, puncak 2 menunjukkan kromatogram pada waktu 56,137 dan puncak 3 menunjukkan kromatogram pada waktu 61,560.

Analisis kandungan steroid korteks maja pada penelitian ini

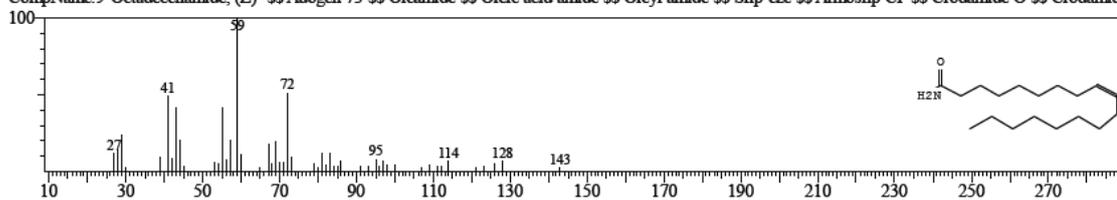
dilakukan menggunakan analisis spektra massa yang didasarkan pada “*base peak*” (puncak dasar) dan nilai *SI (Similarity Index)* dengan perbandingan spektra dari *NIST62* dan *WILEY299 LIB*. *Base peak* merupakan puncak yang paling besar limpahannya dalam spektrum dan diberi harga 100%. Jika nilai *SI* mendekati 100% maka senyawa yang terdeteksi memiliki tingkat kemiripan dengan data senyawa yang diidentifikasi.

<<Target>>

Line#:1 R.Time:47.058(Scan#:5024) MassPeaks:58
RawMode:Averaged 47.050-47.067(5023-5025) BasePeak:59.10(15389)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



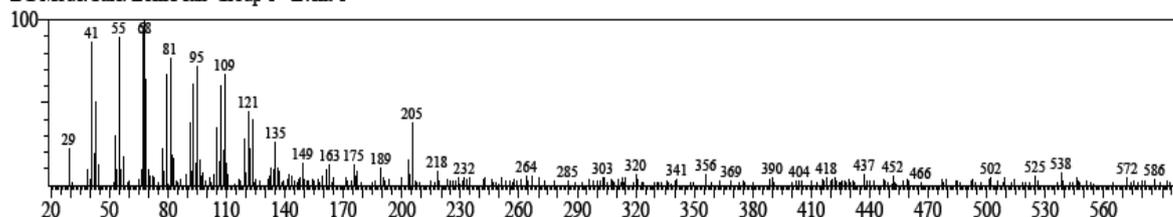
Hit#:1 Entry:39626 Library:NIST62.LIB
 SI:93 Formula:C18H35NO CAS:301-02-0 MolWeight:281 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecenamide, (Z)- \$\$ Adogen 73 \$\$ Oleamide \$\$ Oleic acid amide \$\$ Oleyl amide \$\$ Slip-eze \$\$ Amoslip CP \$\$ Crodamide O \$\$ Crodamide I



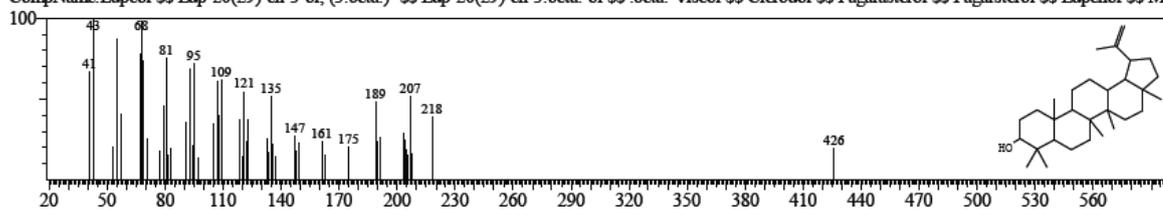
Gambar 7. (a) Spektra Massa Senyawa I (b) Spektra Massa 9-octadecenamide

<< Target >>

Line#:2 R.Time:56.133(Scan#:6113) MassPeaks:277
 RawMode:Averaged 56.125-56.142(6112-6114) BasePeak:68.10(834)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



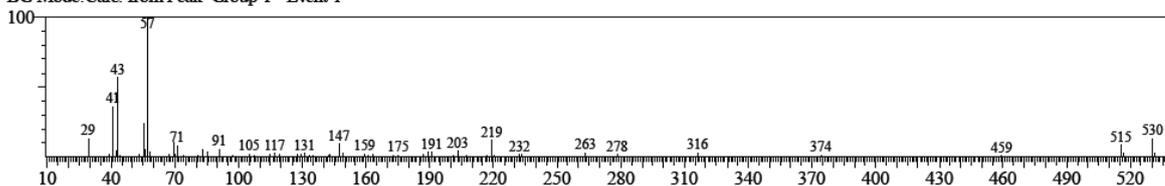
Hit#:1 Entry:55724 Library:NIST62.LIB
 SI:82 Formula:C30H50O CAS:545-47-1 MolWeight:426 RetIndex:0
 CompName:Lupeol \$\$ Lup-20(29)-en-3-ol, (3.beta.)- \$\$ Lup-20(29)-en-3.beta.-ol \$\$ Viscol \$\$ Clerodol \$\$ Fagarasterol \$\$ Fagarsterol \$\$ Lupenol \$\$ Mor



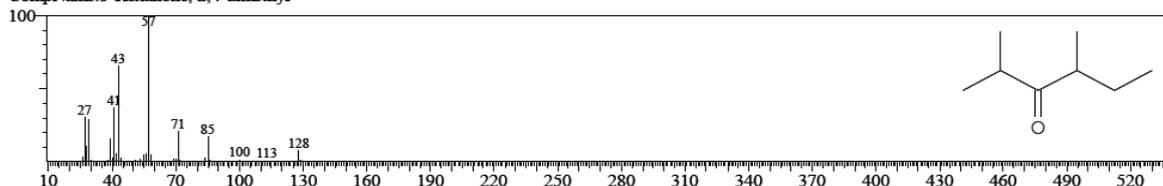
Gambar 8. (a) Spektra Massa Senyawa II (b) Spektra Massa Lupeol

<< Target >>

Line#:3 R.Time:61.558(Scan#:6764) MassPeaks:61
 RawMode:Averaged 61.550-61.567(6763-6765) BasePeak:57.15(7843)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:2818 Library:NIST12.LIB
 SI:76 Formula:C8H16O CAS:18641-70-8 MolWeight:128 RetIndex:0
 CompName:3-Hexanone, 2,4-dimethyl-



Gambar 9. (a) Spektra Massa Senyawa III (b) Spektra Massa 3-Hexanone

Tabel 3. Hasil analisis *Mass Spectra* fraksi B korteks maja

No	Senyawa	Waktu retensi	Puncak (% AUC)	SI	BM	Perkiraan Senyawa
1	I	47,058	1 (60,51)	93	281	9-Octadecenamamide
2	II	56,137	2 (10,64)	82	426	Lupeol
3	III	61,560	3 (28,86)	76	128	3-Hexanone

4. KESIMPULAN dan SARAN

4.1. Kesimpulan

Isolasi senyawa steroid fraksi n-heksan: etil asetat (2:1) dari ekstrak etanol 96% korteks *Aegle marmelos* Correa menggunakan metode kromatografi kolom menghasilkan 9 fraksi cair terdiri dari fraksi A, B, C, D, E, F, G, H, I.

Hasil analisis menggunakan KLT fraksi B menunjukkan spot berwarna ungu kemerahan setelah dilakukan penyemprotan pereaksi *Liebermann-Burchard*.

Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis fraksi B didapatkan nilai panjang gelombang.

Hasil analisis menggunakan GC-MS fraksi B memiliki 3 puncak kromatogram.

4.2. Saran

penelitian ini dilanjutkan dengan uji efektivitas dengan pemberian senyawa hasil isolasi pada hewan uji untuk mengetahui efek farmakologi senyawa hasil isolasi atau melakukan isolasi senyawalainnya dari kulit batang atau bagian lain maja (*Aegle marmelos* Correa).

5. DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., Hakim, E.H., Makmur, L. Syah, Y. M., Juliawaty, L.D., Mujahidin D., 2009, *Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 143.
- Agung Endro Nugroho, Hari Purnomo, Maulana Tegar Dan Dany Dwi Agistia, *Interaksi Senyawa Aktif Dari Aegle Marmelos Correa Sebagai Anti Inflamasi Dengan Reseptor Cox-1 Dan Cox-2*, *Traditional Medicine Journal*, 18(2), 2013.
- Andersen, O and Markham, K, 2006, *Flavonoid Chemistry, Biochemistry and Applications*, Boca Rotan, CRC Press, 2-3.
- Anwar C., 1994, *Pengantar Praktikum Kimia Organik*, Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gajah Mada.

- Arul V., Miyazaki S., and Dhananjayan R., 2005; Studies on the antiinflammatory, antipyretic and analgesic properties of the leaves of *Aegle marmelos* Corr, *Journal of Ethnopharmacology*, 96 (4), Page No.159-163.
- Badan POM RI. 2008. *Aegle marmelos (L.) Correa*. <http://www.e-bookspdf.org> diakses tanggal 12 Juli 2017.
- Brijesh, s., Daswani, P., Tetali, P., Anita, N., Birdi, T., 2009, studies on the antidiarrhoeal activity of *Aegle marmelos* unripe fruit: Validating its traditional usage, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 47.
- Gandjar, I. G. Dan Abdul Rohman, 2012, *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*, Pustaka Pelajar: Yogyakarta, 41
- Gritter, R. J., Bobbitt, J. M., Schwarting, A. E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, ed. 2, terjemahan K. Patmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 107-155.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Kosasih Padmawinata, penerjemah. Bandung: ITB-Pres.
- Hariana, Arief, 2008, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Jakarta: Penebar Swadaya
- Helmi Arifin, Nelvi Anggraini, Dian Handayani, Roslinda Rasyid, 2006, *Standarisasi Ekstraks Etanol Daun Eugenia Cumini Merr.*, Fakultas MIPA, Universitas Andalas.
- Hilyatul Jannah, I Made Sudarma dan Yayuk Andayani, *Analisis Senyawa Fitosterol Dalam Ekstrak Buah Buncis (Phaseolus Vulgaris L.)*, Magister Pendidikan IPA, Program Pascasarjana Universitas Mataram.
- Islam R., Hossain M., Karim M.R., Joarder O.L., 1995, *Regeneration of Aegle marmelos (L.) Corr., Plantlets in vitro from callus culture of embryonic tissue*, *Curr. Sci.*, 69, 494-495.
- K.D.K.P. Kumari^a, T.C.S. Weerakoon^a, S.M. Handunnetti^b, K. Samarasinghe^c, T.S. Suresh^a, Anti-inflammatory activity of dried flower extracts of *Aegle marmelos* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 151, Issue 3, 12 February 2014, Pages 1202–1208.
- Kusmiyati, Swasono R. Tamat, Tria Ajeng Ilmiarti, 2015, *Isolasi Lutein Dari Bunga Kenikir (Tagetes erecta L.) Dan Identifikasi Menggunakan Fourier Transformed Infra Red Dan Kromatografi Cair Spektrometri Massa*, Universitas Pancasila Jakarta.

- Kristianti, A. N., Nanik, S. A., Mulyadi, T., Bambang, K., 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Lenny, S. 2006. Senyawa flavonoida, fenil propanoid dan alkaloid. *Skripsi*. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Maity P., Hansda D., Bandyopadhyay U. And Mishra D.K., 2009, Biological activities of Crude Extracts and Chemical Constituents of Bael, *Aegle marmelos* (L.) Corr., *Indian Journal, Exp. Biol*, 47(11), 849-861.
- Pandey B, Ghimirel P, Agrawal VP. 2004. Studies on the antibacterial activity of the Actinomycetes isolated from the Khumbu Region of Nepal. *Brazilian Journal of Microbiology*. 67(4).
- Phulan Rani, Karan Vasisht and Neeraj Khullar, 2013 IIOABJ; Vol. 4: Issue 4; 2013: 4-9 Bio-Autography: An Efficient Method To Check The In Vitro Antimicrobial Activity Of *Aegle Marmelos* Against Enteric Pathogens.
- Puguh Novi Arsito, 2013, *Pengaruh Marmin (Senyawa Aktif Aegle Marmelos Correa.) Terhadap Beberapa Reseptor Fisiologis Otot Polos Ileum Marmut Terisolasi: Studi In Vitro Dan In Silico*, Magister Sains dan Teknologi Program Studi Ilmu Farmasi, Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada.
- Ram Prakash Prajapat, Varun Gupta, Balram Soni, Deepak Choudhary, Veerma Ram and Anil Bhandari. *Extraction and Isolation of Marmelosin from Aegle Marmelos, Synthesis and Evaluation of Their Derivative as Antidiabetic Agent* Der Pharmacia Lettre, 2012, 4 (4):1085-1092
- Rismayani, 2013, *Manfaat Buah Maja sebagai Pestisida Nabati untuk Hama Penggerek Buah Kakao (Conopomorpha cramerella)*. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, Volume 19 Nomor 3, Desember 2013.
- Risnafiani A. R., Endah Rismawati, Hilda Aprilia, 2015, *Karakterisasi Daun Buncis (Phaseolus vulgaris L.) Dan Identifikasi Kandungan Senyawa Steroid Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Fakultas MIPA, Unisba.
- Riyanto S., M.A. Sukari, M. Rahmani, 2000. *Isolasi senyawa dari korteks Aegle marmelos menggunakan pelarut Petroleum Eter*. Majalah Farmasi Indonesia : vol. 1, No. 11, 17-24.
- Riyanto S., M.A. Sukari, M. Rahmani, A.M. Ali, 2001,

- Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Lupeol dan Marmin yang dipisahkan dari korteks Aegle marmelos*. Biologi 2 (11):685-692.
- Riyanto S., 2003, *Phytochemical Studies and Bioactivity Test of Murraya paniculata Jack., Aegle marmelos Corr. and Zingiber amaricans Blume*, Dissertasi, University Putra Malaysia.
- Riyanto, S et al., 2000 *Alkaloid from Aegle marmelos (Rutaceae)*. Department of Chemistry, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM, Serdang, Selangor, Malaysia. And Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, Chiba 263-8522, Japan.
- Sadek, P., 2002, *The HPLC Solvent Guide*, Wiley-Interscience.
- Saleh, Chairul. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid dari Kulit Batang Tumbuhan Maja (Aegle marmelos (L) Correa). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 7(1)
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta.
- Shankarnanth V., Balakrishnan N., Suresh D., Sureshpandian G., Edwin E. and Sheeja E., 2007. "Analgesic activity of methanol; extract of Aegle marmelos leaves", *Fitoterapia*, Vol-78, Issue 3, Page No. 258-259.
- Sugeng Riyanto, Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada *Analisis spektra aegelin yang diisolasi dari daun maja (Aegle marmelos Corr.)* Majalah Farmasi Indonesia, 19(2), 95 – 100, 2008.
- Triyati E., 1985, *Spektrofotometer Ultra- Violet dan Sinar Tampak serta Aplikasinya dalam Oseanologi*, Oseana, Vol. X, No. 1: 39-47.
- Utami P, 2008, *Buku Pintar Tanaman Obat : 431 Jenis Tanaman Penggempur penyakit*, Jakarta : Agromedia Pustaka, pp : 18-9.
- Watson, J. T., Wang, J., Huang, Z. H., Gage, D. A., 1994, Analysis of Amino Acids by Gas Chromatography-Flame Ionization Detection and Gas Chromatography Mass Spectrometry: Simultaneous Derivatization of Functional Groups by an aqueous-Phase Chloroformate-Mediated Reaction, *Journal of Cromatography A*, Vol. 663, 71-78, USA.
- Wibisana Biwigita Saumanjaya, 2015, *Studi Aktivitas Antialergi Ekstrak Korteks Maja (Aegle Marmelos Correa) Pada Tikus Wistar Yang Terinduksi Ovalbumin Melalui Inhibisi Migrasi Eosinofil Trakhea*, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.