



Artikel Penelitian

## Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder dari Kulit Batang Bintangur (*Calophyllum bicolor*)

Dede Sukandar<sup>1\*</sup>, Jamillah Abbas<sup>2</sup>, Nurfitriany Habibah<sup>1</sup>, Tarso Rudiana<sup>1</sup>, Saeful Rohman<sup>3</sup><sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Tangerang Selatan, 15412<sup>2</sup>Pusat Riset Kimia Maju, Badan Riset dan Inovasi Nasional, KST BJ Habibie, Tangerang Selatan 15314, Indonesia<sup>3</sup>Pusat Riset Material Maju, Badan Riset dan Inovasi Nasional, KST BJ Habibie, Tangerang Selatan 15314, Indonesia**INFO ARTIKEL****ABSTRAK****Riwayat Artikel**

Diterima: 16 April 2024

Direvisi: 16 Oktober 2024

Tersedia online: 31 Oktober 2024

\*Email (penulis korespondensi):

sukandarkimia@uinjkt.ac.id/

sukandardede10@gmail.com

DOI: 10.18860/al.v12i2.26634

**Abstract**

Isolation and identification of secondary metabolite compounds from stem bark of Bintangur (*Calophyllum bicolor*) have been reported. Isolation with maceration using 70% ethanol solvent and fractionation of the ethanol extract by column chromatography using *n*-hexane solvent. The *n*-hexane fraction resulting from column chromatography was subjected to gravity chromatography with the mobile phase *n*-hexane:ethyl acetate (8:2) producing isolate 1. The results of purification of isolate 1 using fast column chromatography with the mobile phase dichloromethane:methanol (1:1) and a UV light detector at  $\lambda$  254 nm, compound 1 was obtained. Meanwhile, identification of compound 1 was carried out through UV-Vis spectroscopy, FTIR and LCMS analysis. The identification results of compound 1 using UV-Vis spectroscopy showed the presence of an aliphatic ring double bond chromophore ( $\lambda_{\max}$  233.5; 295 nm). FTIR results indicated the presence of vibrations of the OH group (3417  $\text{cm}^{-1}$ ), CH alkanes (2933; 2864; 1456; 545  $\text{cm}^{-1}$ ), and C=C alkenes (1618  $\text{cm}^{-1}$ ). Analysis results using LCMS showed a molecular ion peak at  $[M]^+$   $m/z$  = 386.96 at a retention time of 11.6 minutes, indicating a molecular weight of 386 and a molecular formula ( $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ ) that corresponds to a terpenoid compound.

**Keywords:** isolation, identification, terpenoid, bintangur (*Calophyllum bicolor*)**Abstrak**

Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit batang bintangur (*Calophyllum bicolor*) telah dilaporkan. Isolasi menggunakan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% serta fraksinasi ekstrak etanol dengan kromatografi kolom menggunakan pelarut *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana hasil kromatografi kolom dikromatografi gravitasi dengan fase gerak *n*-heksana:etil asetat (8:2) menghasilkan isolat 1. Hasil pemurnian isolat 1 menggunakan kromatografi kolom cepat dengan fase gerak diklorometana:metanol (1:1) dan detektor sinar UV pada  $\lambda$  254 nm diperoleh senyawa 1. Sedangkan identifikasi senyawa 1 dilakukan melalui analisis spektroskopi UV-Vis, FTIR, dan LCMS. Hasil identifikasi senyawa 1 menggunakan spektroskopi UV-Vis menunjukkan adanya kromofor ikatan rangkap cincin alifatik ( $\lambda_{\max}$  233,5 nm; 295 nm). Hasil FTIR mengindikasikan adanya vibrasi gugus OH (3417  $\text{cm}^{-1}$ ), CH alkana (2933; 2864; 1456; 545  $\text{cm}^{-1}$ ), dan C=C alkana (1618  $\text{cm}^{-1}$ ). Hasil Analisa menggunakan LCMS menunjukkan puncak ion molekul pada  $[M]^+$   $m/z$  = 386,96 pada waktu retensi 11,6 menit, menunjukkan berat molekul 386 dan rumus molekul ( $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ ) yang sesuai dengan senyawa terpenoid.

**Kata kunci:** isolasi, identifikasi, terpenoid, bintangur (*Calophyllum bicolor*)

## 1. Pendahuluan

Indonesia digolongkan sebagai salah satu *megadiversity country*, karena keanekaragaman tumbuhannya di dunia termasuk yang terbesar. Kurang lebih terdapat 54 % spesies tumbuhan di dunia tersebar di hutan tropis, yakni setara dengan 250.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi dan 30.000 spesies di antaranya terdapat di hutan tropis Indonesia [1]. Oleh karena itu, Indonesia dianggap memiliki potensi bahan kimia alami yang dapat dijadikan bahan baku industri obat dan kimia [2]. Pemanfaatan bahan-bahan alami dapat dilakukan dengan melakukan isolasi senyawa aktif yang terdapat di dalamnya, yang bertanggung jawab dalam proses pengobatan [3].

*Calophyllum* (bintangur) merupakan kelompok tumbuhan tinggi Indonesia sebagai sumber senyawa yang memiliki aktivitas biologis. Genus *Calophyllum* termasuk kelompok tumbuhan hutan tropis yang jumlahnya sangat besar terdiri dari 190-200 spesies. Tanaman ini tersebar luas di wilayah Indonesia, Malaysia, Mikronesia, Melanesia, Thailand, Singapura, Srilanka, dan Australia bagian utara [4]. *Calophyllum* merupakan salah satu tumbuhan yang menarik dari segi fitokimia, dikarenakan memiliki kandungan metabolit sekunder serta bioaktivitas.

Telah banyak dilakukan isolasi senyawa bahan alam dari tumbuhan bintangur. Dari kelompok aromatis menurut struktur dasarnya, yang meliputi kromanon, kumarin, derivat santon, sedangkan dari kelompok non aromatis seperti senyawa steroid, terpenoid, dan derivat asilploroglusinol sudah berhasil diisolasi [5].

Hasil penelitian terhadap *Calophyllum* telah berhasil diisolasi berbagai senyawa, di antaranya zeylosanton dan trapezifolisanton dari *C. gracilipes* [6]. GUT-70(5-metoksi-2,2-dimetil-6-(2-metil-1-okso-2-butenil)-10-propil-2H-8H-benzol [1,2-b; 3,4-b'] dipiran-8-one) dari *C. brasiliense* [7]. calosanton N dan gerontosanton C dari *C. inophyllum* [8]. 5-hidroksi-8-metoksisanton dan 3,5-dihidroksi-1,2-dimetoksisanton dari *C. caledonicum*, apetalinon C dan apetalinon D dari *C. apetalum* [9]. brasisanton E dan brasisanton F dari *C. brasiliense* [10]. calanolida A dari *C. lanigerum* [11], teysmanon A dari *C. teysmanii* [12]. brasimarin A dari *C. brasiliense* [13].

Bioaktivitas dari genus *Calophyllum* berdasarkan laporan dari NIQFAR (*Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas*) Brazil, bahwa kаланolid A, kаланolid B dan *soulattrolide* dari *C. brasiliense* serta *calocoumarin* A dari *C. inophyllum* memiliki bioaktivitas sebagai inhibitor enzim *reverse transcriptase* HIV-1 [14]. *Inophyllum* A-E, *inophyllum* P, *inophyllum* G-1 dan *inophyllum* G-2 dari *C. inophyllum* berkhasiat juga sebagai anti-HIV [15]. Beberapa senyawa tersebut menarik perhatian karena memiliki aktivitas sebagai anti-HIV. Studi mengenai hubungan struktur kimia dan aktivitas biologis menunjukkan bahwa molekul isolat beberapa spesies *Calophyllum* dapat digunakan untuk penyembuhan berbagai penyakit. Genus *Calophyllum* ini kaya akan kandungan kimia yang sebagian besar memiliki aktivitas biologis.

Mengingat banyaknya manfaat tanaman dari genus tersebut, hingga saat ini penelitian terhadap *Calophyllum* terus berkembang, karena masih terdapat keragaman spesies lain senyawa kimianya belum dieksplorasi. Baru sekitar 50 spesies yang diteliti dari total 200 spesies yang ada sehingga belum seluruhnya teridentifikasi kandungan kimianya [16]. *Calophyllum bicolor* merupakan satu di antara spesies pada genus *Calophyllum*. Komponen kimia spesies *C. bicolor* yang diteliti belum banyak dilaporkan didasarkan penelusuran literatur.

Penelitian terhadap kulit batang tumbuhan ini dengan fraksinasi yang dilakukan dalam 3 pelarut yaitu n-heksana, aseton dan metanol. Pendekatan penelitian secara kemotaksonomi yaitu berpeluang menemukan senyawa kimia atau kerangka dasar yang sama seperti *Calophyllum* jenis yang lain. Didasarkan hal itu, tujuan penelitian ini yaitu mengisolasi dan mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder pada kulit batang *C. bicolor* menggunakan metode kromatografi dan elusidasi struktur dengan alat spektroskopi.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1 Bahan

Sampel tanaman berupa kulit batang *C. bicolor* yang didapat dari hutan Kalimantan, aquades, aseton (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>, Merck), etanol 70 % (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, Merck), asam sulfat 10 % (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Merck), plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) aluminium 60 F<sub>254</sub> 0,25 mm (Merck), Si gel 60 GF<sub>254</sub> 230-400 mesh (Merck), kromatografi kolom Sephadex 5, pelarut n-heksan (*n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), diklorometan (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), etil asetat (CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) dan metanol (CH<sub>3</sub>OH) berkualitas teknis terdestilasi.

## 2.2 Metode

### 2.2.1 Perlakuan Sampel Tanaman

Kulit batang *C. bicolor*, yang diperoleh dari hutan Kalimantan dan spesimennya diidentifikasi di Laboratorium Botani, Pusat Riset Biologi Maju, BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional), kawasan Cibinong Bogor, dikeringkan, dan dihaluskan.

### 2.2.2 Ekstraksi dan Pemekatan

Kulit batang *C. bicolor* setelah dikeringkan dan dihaluskan, ditambahkan pelarut etanol 70 % hingga terendam. Maserasi dilakukan selama 5 hari sebanyak tiga pengulangan, selanjutnya pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (45 °C) sampai didapat ekstrak kental [2].

### 2.2.3 Partisi

Ekstrak hasil maserasi, dipartisi menggunakan pelarut organik non-polar hingga polar secara berurutan yaitu *n*-heksana, aseton, dan metanol. Setiap ekstrak yang didapat dipekatkan pada *rotary evaporator* (45°C), dan dikeringkan dengan oven (50 °C).

### 2.2.4 Fraksinasi dan Pemurnian

Sebanyak 20 g fraksi *n*-heksana *C. bicolor* difraksinasi menggunakan kromatografi kolom vakum dengan diameter kolom 9 cm menggunakan fase diam 120 g Si gel 60 (200-300 mesh). Fase gerak yang digunakan berupa campuran pelarut *n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>:CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> dan CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>: CH<sub>3</sub>OH. Perbandingan antar pelarut 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 (*n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>:CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) dan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 (CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>: CH<sub>3</sub>OH) dan volume setiap pelarut sebanyak 400 ml. Masing-masing eluat (400 ml) ditempatkan dalam penampung, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh 19 fraksi (F1-F19).

Hasil kolom dipantau dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fasa stasioner Si gel 60 GF254 Merck Kieselgel menggunakan eluen *n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>:CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (8:2). Setiap noda diamati dengan cahaya UV pada  $\lambda_{maks}$  254 dan 366 nm, agar noda dapat terlihat lebih jelas, plat KLT disemprot dengan pereaksi warna H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 %.

Fraksi 2 sejumlah 452 mg dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom sebanyak 4 kali dengan fase gerak CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub>OH (1:1) dan fase stasioner sephadex. Selanjutnya dilakukan pemurnian menggunakan KLT dengan eluen *n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>:CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (8:2) lalu direkristalisasi dengan menggunakan campuran CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>: *n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> (1:1).

### 2.2.5 Identifikasi titik leleh

Titik leleh hasil isolasi diidentifikasi dengan alat uji titik leleh *Fisher-Jhon* [17]. Caranya dengan menempatkan sebutir isolat berbentuk kristal ditempat pada bagian alat tersebut. Berikutnya temperatur dinaikkan secara teratur, dan saat mulai meleburnya kristal hingga semuanya berubah menjadi cair menunjukkan titik leleh tersebut.

### 2.2.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Dilarutkan 1,1 mg isolat dalam 1 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> hingga konsentrasinya mencapai 1000 µg/mL (larutan induk). Larutan tersebut diencerkan sehingga konsentrasinya menjadi 10, 5, 2 dan 1 µg/mL. Setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam kuvet, sedangkan pelarut (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) diletakkan pada kuvet lainnya dan secara bersamaan diukur absorbansinya. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk mendeteksi serapan dari gugus kromofor isolat yang didapat pada  $\lambda$  200 – 800 nm.

### 2.2.7 Identifikasi dengan Spektrofotometer IR.

Isolat 1 mg dihaluskan bersama 100 mg KBr hingga homogen, selanjutnya dipress dengan alat tekan sehingga berbentuk film tipis. Setelah itu ditempatkan dalam tempat sampel spektrofotometer infra merah lalu vibrasinya ditentukan di area 400-4000 cm<sup>-1</sup>.

### 2.2.8 Identifikasi dengan LC-MS

Isolat murni yang diperoleh dimasukkan dalam CH<sub>3</sub>OH yang mengandung CH<sub>3</sub>COOH 0,3% dan dibuat konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 20 µL larutan sampel dimasukkan dalam *syringe* kemudian diinjeksi ke dalam alat LC-MS *Mariner Biospectrometry Workstation*.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 Isolasi dan Pemurnian Senyawa

Sampel *C. bicolor* sebanyak 2000 g dimaserasi dengan etanol dan menghasilkan ekstrak *n*-heksana sebanyak 40 g. Ekstrak kering hasil partisi sebanyak 20 g ini dipisahkan dengan menggunakan KCV menggunakan pelarut *n*-heksana : etil asetat (9:1); (8:2); (7:3); (6:4); (5:5); (4:6); (3:7); (2:8); (1:9); (0:10); etil asetat : metanol (9:1); (8:2); (7:3); (6:4); (5:5); (4:6); (3:7); (2:8); (1:9). Masing-masing dari hasil KCV diperoleh 19 fraksi dengan berat : F1 (10,13 g), F2 (4,0743 g), F3 (1,7525 g), F4 (1,0514 g), F5 (0,6584 g), F6 (0,4182 g), F7 (0,1450 g), F8 (0,1695 g), F9 (0,0787 g), F10 (0,072 g), F11 (0,0792 g), F12 (1,8175 g), F13 (0,1097 g), F14 (0,0355 g), F15 (0,0453 g), F16 (0,0174 g), F17 (0,019 g), F18 (0,0263 g) dan F19 (0,015 g).

Fraksi 2 direkristalisasi dengan *n*-heksana : diklorometana sehingga diperoleh kristal sebanyak 452 mg. Kristal tersebut dimurnikan kembali menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam sephadex sebanyak 4 kali, masing-masing menggunakan eluen diklorometana:metanol (1:1). Hasil fraksinasi ini kemudian dianalisa kromatografi lapis tipis dengan campuran larutan *n*-heksana:etil asetat (8:2). Rekristalisasi dilakukan agar didapat kristal yang lebih murni dari pengotor memakai metode pencucian menggunakan *n*-heksana, selanjutnya direkristalisasi memakai campuran metanol:diklorometana (1:1).

Hasil kolom sephadex 1-4 dilakukan penggabungan sesuai dengan pola pemisahan spot sehingga dihasilkan 12 fraksi sebagai berikut: A1 (1-23), A2 (24-38), A3 (39-48), B1 (1-10), B2 (11-24), B3 (25-33), C1 (1-10), C2 (11-18), C3 (19-31), D1 (1-9), D2 (10-15), D3 (16-22).

Spot tunggal A3 dan B3 digabung dan dilakukan KLT bersamaan dengan spot tunggal C3 dan D3. Spot pada C3 dan D3 masih terlihat 2 spot sehingga C3 dan D3 digabung untuk dimurnikan kembali menggunakan kolom kromatografi (Sephadex 5) memakai fasa stasioner sephadex menggunakan eluen diklorometana:metanol perbandingan 1:1 menghasilkan spot tunggal. Gabungan A3B3 dan sephadex 5 menghasilkan satu spot tunggal yang telah murni sebagai isolat 1 berbentuk padatan kuning dengan berat 25 mg yang sebelumnya direkristalisasi dengan *n*-heksana – aseton.

Uji kemurnian dilakukan pula dengan cara pengujian titik leleh pada kristal tersebut. Titik leleh dari isolat 1 yaitu 220-221 °C. Rentang titik leleh 1°C menandakan senyawa hasil isolasi tersebut dalam keadaan murni. Titik leleh pada padatan murni selalu tajam dengan rentang suhu yang kecil yaitu, 1-2° [18].

#### 3.2 Analisa Spektroskopi UV-Vis

Analisis spektroskopi UV-Vis dengan pelarut diklorometana dengan rentang  $\lambda$  200-360 nm memperlihatkan terdapat 2 serapan di  $\lambda_{\text{maks}}$  233,5 nm (pita 1) dan 295 nm (pita 2). Berdasarkan pita serapan yang diperoleh, mengindikasikan terdapat kromofor yang spesifik dari ikatan ganda cincin alifatik.

Energi yang diserap pada  $\lambda$  233,5 nm disebabkan perpindahan elektron dari  $\pi$  ke  $\pi^*$  dan diduga merupakan transisi elektronik gugus OH. Sedangkan serapan panjang gelombang 295 nm diduga merupakan transisi elektronik  $n$  ke  $\pi^*$  dan diduga merupakan transisi elektronik gugus C=C [19].

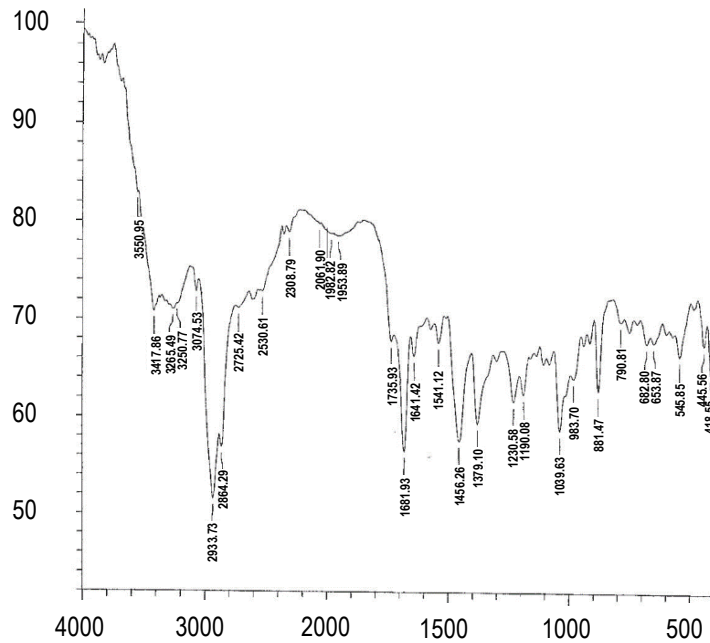
#### 3.3 Analisa Spektroskopi FTIR

**Tabel 1** memperlihatkan beberapa bilangan gelombang yang terdapat pada senyawa 1 berdasarkan analisa FTIR.

**Tabel 1.** Pita-pita serapan hasil analisa FTIR senyawa 1

Gugus Fungsi		Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )
OH		3417
CH	Alkana	2933
CH	Alkana	2864
C=C	Alkena	1681
CH	Alkana ( <i>bending</i> )	1456
CH	Alkana tersubstitusi	545

Spektrometer FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada senyawa 1 (**Gambar 1**).

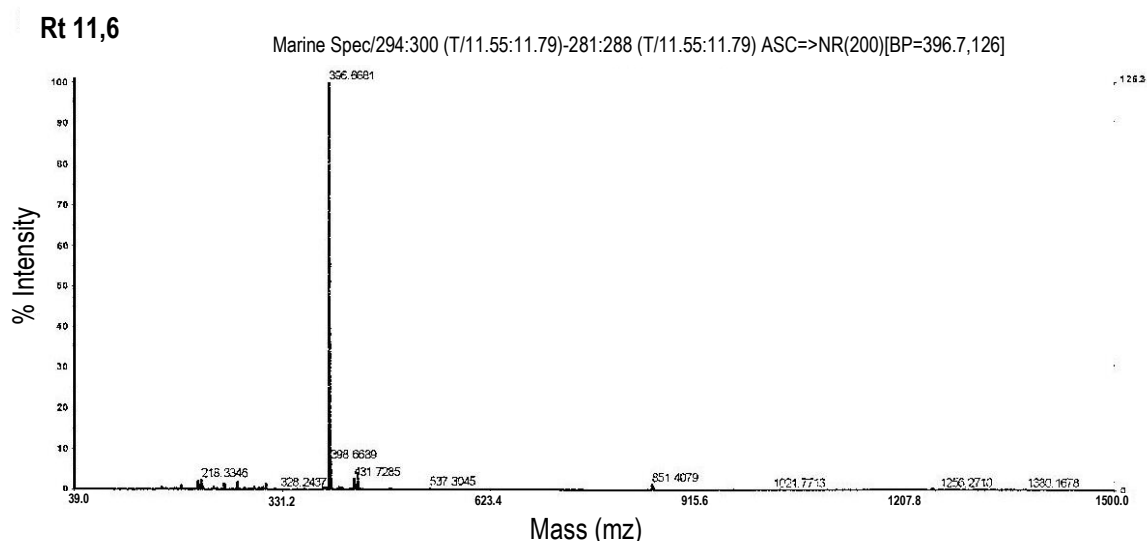


**Gambar 1.** Hasil analisa spektroskopi FTIR senyawa 1

Hasil analisis spektrum FTIR menunjukkan bahwa senyawa 1 mempunyai gugus-gugus fungsi dengan puncak serapan pada bilangan gelombang  $3417\text{ cm}^{-1}$  berasal dari vibrasi uluran gugus  $\text{-OH}$  [20]. Puncak serapan pada  $2933\text{ cm}^{-1}$  disebabkan  $\text{-CH}$  alifatik ( $\text{CH}_3$ ) dan  $2864\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ ). Vibrasi ini didukung dengan serapan bilangan gelombang  $1456\text{ cm}^{-1}$  pada daerah sidik jari, menunjukkan adanya vibrasi tekuk (*bending*) gugus  $\text{-CH}$ . Sedangkan di daerah sidik jari lainnya terdapat vibrasi bilangan gelombang  $545\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus  $\text{-CH}$  alkana tersubstitusi yaitu sikloalkana. Berikutnya, adanya serapan  $1681\text{ cm}^{-1}$  memperlihatkan uluran  $\text{C=C}$  alkena [19].

### 3.4 Analisa Spektroskopi MS

Hasil identifikasi menggunakan MS terlihat satu senyawa yang dominan pada *retention time* 11,6 menit dengan tinggi puncak sebesar 100% menghasilkan ion molekul  $[\text{M}]^+ m/z = 386,36$  (**Gambar 2**).



**Gambar 2.** Hasil analisa LCMS senyawa 1

Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa senyawa 1 mempunyai berat molekul 386 dan rumus molekul ( $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ ) dan pola fragmentasi  $m/z$  386  $[\text{M}]^+$ , 329, yang sesuai dengan senyawa kolesterol [21]. Senyawa tersebut juga

ditemukan dalam ekstrak daun *Abutilon indicum* (Malvaceae), memiliki rumus molekul  $C_{27}H_{46}O$ , dengan EI-MS memperlihatkan ion molekul  $[M]^+$  dengan  $m/z$  386,35 [22].

#### 4. Kesimpulan

Penelitian terhadap hasil ekstraksi pelarut etanol kulit batang bintangur (*C. bicolor*) dari sub fraksi kedua *n*-heksana yang dipisahkan dengan kolom kromatografi didapat isolat 1. Dapat disimpulkan bahwa isolat 1 merupakan senyawa metabolit sekunder golongan steroid yaitu kolesterol dengan rumus molekul  $C_{27}H_{46}O$  dan berat molekul 386.

#### 5. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih ditujukan kepada Ketua Pusat Riset Kimia Maju, BRIN, KST BJ Habibie Tangerang Selatan 15314, Indonesia, yang telah memfasilitasi kegiatan penelitian.

#### Daftar Pustaka

- [1] E. R. Sukandar, S. Kaennakam, P. Raab, X. Nöst, K. Rassamee, R. Bauer, P. Siripong, T. Ersam, S. Tip-pyang and W. Chavasiri, Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activities of Dihydroisocoumarin and Xanthone Derivatives from *Garcinia picrorhiza*, *Molecules*, vol. 26, no. 6626, pp. 2-11, 2021.
- [2] I. D. Dewijanti, W. Mangunwardoyo, A. Dwiranti, M. Hanafi, N. Artanti, Short communication: Effects of the various source areas of Indonesian bay leaves (*Syzygium polyanthum*) on chemical content and antidiabetic activity, *Biodiversitas*, vol. 21, no. 3, pp. 1190-1195, 2020.
- [3] M. Anief, *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*, Yogyakarta: Gajah Mada University Press, 2013.
- [4] Soerjanegara & R.H.M.J. Lemmens. *Plant Resources of Sout-East Asia 5. Prosea*, Bogor: Pudoc, 2018.
- [5] Su, Xiao-Hui, M-L. Zhang, Li-Geng-Li, C-H. Huo, and Y-C. Gu, *Chemical Constituents of The Plants of The Genus Calophyllum*, *Chemistry and Biodiversity*, vol. 5, no.12, pp. 2579–2608, 2008.
- [6] Nasir, R. Mawardi, S. Khozirah, K. Nur, G. Rusea, S. Johnson, and J. Ethel, Xanthones from *Calophyllum gracilipes* and Their Cytotoxic Activity. *Sains Malaysiana*, vol. 42, no. 9, pp. 1261-1266, 2013.
- [7] Kimura, C. Ito, N. Jyoko, H. Segawa, J. Kuroda, M. Okada, S. Adachi, T. Nakahata, T. Yuasa, F. Cechinel, H. Furukawa, and T. Maekawa, *International Journal Cancer*, vol.113, no.158, 2005.
- [8] Xiao, Yan, Wen L, You X, Yuan Y, Hao F. 2008. Cytotoxic Prenylated Xanthones from *Calophyllum inophyllum*. *Journal of Asian Natural Product Research*, vol. 10, no. 10, 2008.
- [9] C. Morel, A. Emmanuelle, M. Litaudon, T. Sevenet, D. Seraphin, J. Bruneton, and P. Richomme, Thirteen New Xanthone Derivatives from *Calophyllum caledonicum* (Clusiaceae). *Molecules*, vol. 7, no. 1, pp. 38-50, 2002.
- [10] S.N Haerani, A.R.K. Pudhom, Two new xanthones from the root of Thai *Calophyllum inophyllum* and their toxicity against colon and liver cancer cells, *Journal of Natural Medicines*, vol. 75, pp. 670–674, 2021.
- [11] J. Singh, V. Meshram, M. Gupta, The Genus *Calophyllum*: Review of Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry and Pharmacology, *Bioactive Natural products in Drug Discovery*, pp. 215–242, 8 Apr 2020.
- [12] A.A.D. Zailan, T. Karunakaran, M.H.A. Bakar, V.J.Y. Mian, The Malaysian genus *Calophyllum* (Calophyllaceae): a review on its phytochemistry and pharmacological activities, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, vol 36, no. 17, 2022.
- [13] C. Ito, M. Itoigawa, Y. Mishina, V.C. Filho, and F. Enjo, Chemical Constituents of *Calophyllum brasiliense* 2 Structure of Three New Coumarins and Cancer Chemopreventive Activity of 4-Substituted Coumarins, *Journal Natural Product*, vol. 66, no. 3, 2003.
- [14] Noldin, V. Floriani, D.B. Isaias and V.C. Filho, *Calophyllum* genus: Chemical and Pharmacological Importance, *Quim: Nova*, vol. 29, 2006.
- [15] F. Laurea, P. Raharivelomananaa, J-F Butauda, J-Pe Bianchinia, E.M. Gaydou, Screening of anti-HIV-1 inophyllums by HPLC–DAD of *Calophyllum inophyllum* leaf extracts from French Polynesia Islands, *Analytica Chimica Acta*, vol. 624, pp.147-153, 2008.
- [16] J. Abbas, Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Kimia & Uji Aktivitas Biologi Kulit Batang Marga *Calophyllum spp.* Depok: FMIPA UI, 2008.
- [17] B. L. Milmana and I. K. Zhurkovich, Big Data in Modern Chemical Analysis, *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 4, pp. 443-452, 2020.
- [18] C.I. Gkountela, D. Markoulakis, M. Mathioudaki, I. Pitterou, A. Detsi, S.N. Vouyiouka, Scalable enzymatic polymerization and low-temperature post-polymerization of poly(butylene succinate): Process parameters and application, *European Polymer Journal*, vol. 198, no. 112423, 2023.
- [19] U. Supratman, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjajaran, 2010.

- [20] Underwood dan J . R . Day, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Aloysius Hadyana, Edisi Keenam. Jakarta: Erlangga, 2002.
- [21] M. Cokdinleyen, G. Alvarez-Rivera, J.L.G. Tejera, J.A. Mendiola, A. Valdés, H. Kara, E. Ibáñez and A. Cifuentes, Tetraselmis chuii Edible Microalga as a New Source of Neuroprotective Compounds Obtained Using Fast Biosolvent Extraction. *Int. J. Mol. Sci*, vol 25. no. 389, 2024.
- [22] P. Rajput and M.K. Patel, Isolation and characterization of phytoconstituents from the chloroform. *Asian J. Research Chem.* vol. 5, no. 11, pp.1375-1380, 2012.