

PROFIL METABOLIT BERBAGAI EKSTRAK DAUN *Chrysophyllum cainito* L. MENGGUNAKAN UPLC-QTOF-MS/MS

Metabolite Profile of Chrysophyllum cainito L. Leaves Extract with Solvent Variation Using UPLC-QTOF-MS/MS

Burhan Ma'arif^{1*)}, Agnis Aditama²⁾, Roihatul Muti'ah¹⁾, Weka Sidha Bhagawan¹⁾,
Reyhan Amiruddin¹⁾, Rukiana¹⁾

¹⁾Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia.

²⁾Akademi Farmasi Jember, Jember, Indonesia.

*e-mail: burhan.maarif@farmasi.uin-malang.ac.id

ABSTRACT

Chrysophyllum cainito L. is a plant which empirically used as traditional medicine. The pharmacological effect of *C. cainito* is caused by secondary metabolite activity contain in the leaves. The aim of this research was to know the metabolites profile in n-hexane extract, ethyl acetate extract, and methanol extract of *C. cainito* leaves using UPLC-QToF-MS/MS. Dried powder of *C. cainito* leaves was extracted with n-hexane, ethyl acetate, and methanol with gradual extraction using Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). Each extract was prepared with methanol and DCM solvent then injected 5 µl into UPLC-QToF-MS/MS and analyzed with Masslynx 4.1 softwares and Chemspider. The result showed that there were 28 compounds from n-hexane extract with diethyltoluamide as major compound, 47 compounds from ethyl acetate extract with loliolide as major compound, and 34 compounds from methanol extract with eplerenone as major compound. Based on literature study, there were also several compounds that likely having activity as phytoestrogens.

Keyword: Metabolite profiling, *chrysophyllum cainito* L., UPLC QToF-MS/MS

ABSTRAK

Chrysophyllum cainito L. merupakan tumbuhan yang secara empiris digunakan sebagai obat tradisional. Efek farmakologi tersebut disebabkan adanya aktivitas dari berbagai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *C. cainito*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui profil metabolit ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak metanol daun *C. cainito* menggunakan UPLC-QToF-MS/MS. Serbuk kering daun *C. cainito* diekstraksi secara bertingkat menggunakan n-heksana, etil asetat, dan metanol dengan metode UAE. Masing-masing ekstrak dipreparasi dengan metanol dan DCM lalu diinjeksikan sebanyak 5 µl ke dalam UPLC-QToF-MS/MS, kemudian dianalisis dengan software Masslynx 4.1 dan Chemspider. Hasil menunjukkan profil metabolit dari masing-masing ekstrak daun *C. cainito*, yaitu ekstrak n-heksana dengan 28 senyawa dan *diethyltoluamide* sebagai senyawa mayor, 47 senyawa terkandung dalam ekstrak etil asetat dengan senyawa mayor *loliolide*, dan 34 senyawa terkandung dalam ekstrak metanol dengan senyawa mayor yaitu *eplerenone*. Dari studi literatur diketahui terdapat beberapa senyawa yang memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen.

Kata Kunci: Metabolite profiling, *Chrysophyllum cainito* L., UPLC QToF-MS/MS

PENDAHULUAN

Chrysophyllum cainito L., dikenal dengan nama kenitu, merupakan salah satu tumbuhan yang secara tradisional digunakan sebagai bahan obat radang saluran pernafasan serta terapi untuk demam dan diare. Aktivitas farmakologi tersebut muncul karena adanya kandungan metabolit sekunder dalam tumbuhan (Morton, 1987; Hidayat dan Ningsih, 2015). Penelitian yang telah dilakukan terhadap daun *C. cainito* menunjukkan daun *C. cainito* mengandung β -amirin asetat (Lopez, 1983; Luo *et al.*, 2002), asam gentisat (Griffiths, 1959), asam galat, β -sitosterol, lupeol, asam ursolat (Shailajan dan Gurjar, 2014), alkaloid, fenol, flavonoid, triterpenoid dan sterol (Koffi, 2008; Koffi *et al.*, 2009). Beberapa golongan senyawa tersebut, seperti flavonoid dan sterol termasuk dalam senyawa golongan fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan golongan senyawa berasal dari tumbuhan yang memiliki struktur mirip estrogen atau dapat menggantikan fungsi estrogen dalam menjaga homeostasis tubuh (Yildiz, 2006), sehingga sangat potensial digunakan sebagai sumber obat alternatif pada penyakit-penyakit akibat defisiensi estrogen, seperti osteoporosis, neurodegeneratif, maupun penyakit jantung.

Metabolite profiling merupakan salah satu bentuk analisis dengan pendekatan metabolomik untuk menggambarkan profil senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan (Krastanov, 2010). Terdapat berbagai metode dalam *metabolite profiling*, salah satunya adalah *Ultra Performance Liquid Chromatography - Quadrupole Time of Flight - Mass Spectrometry* (UPLC-QToF-MS/MS).

Pada penelitian ini dilakukan *metabolite profiling* ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak metanol daun *C. cainito* dengan UPLC-QToF-MS/MS. Penggunaan UPLC mampu menghasilkan pemisahan dengan sensitivitas, selektivitas, dan resolusi yang tinggi, meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa, mempercepat waktu analisis dengan *flowrate* yang tinggi, mampu memisahkan senyawa yang lebih kecil, serta mengurangi jumlah sampel yang dibutuhkan (Naushad dan Khan, 2014). Selanjutnya, *double MS* mampu menghasilkan pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat, spektra dengan resolusi tinggi untuk konfirmasi target senyawa maupun *unknown compounds*, serta dapat memperoleh hasil yang lebih cepat tanpa menurunkan resolusi massa (Zhang, *et al.*, 2015). Berdasarkan hal tersebut, penggunaan UPLC-QToF-MS/MS ini bertujuan untuk mendapatkan data profil metabolit daun *C. cainito* yang lebih menyeluruh dan akurat daripada penelitian-penelitian sebelumnya, untuk selanjutnya digunakan sebagai *database* dalam penelitian-penelitian tentang *C. cainito* berikutnya.

METODE

Daun *C. cainito* diambil pada bulan September 2017, diidentifikasi di UPT Materia Medika, Batu, Indonesia. Hasil kunci determinasi yang diperoleh yaitu 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121b-124b-125a-126b-127a. Daun *C. Cainito* dikeringkan dan diserbuk untuk mendapatkan serbuk kering daun berwarna hijau.



Gambar 1. Tanaman *Chrysophyllum cainito* L.

Bahan kimia yang digunakan adalah N-heksana (*Merck*), etil asetat (*Merck*), dan metanol (*Merck*), diperoleh dari Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; diklorometana, metanol, asetonitril, dan asam format sebagai pelarut dan fase gerak pada UPLC-QToF-MS/MS diperoleh dari Pusat Laboratorium Forensik Badan Reserse Kriminal Kepolisian Negara Republik Indonesia.

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu ekstraksi kemudian dilanjutkan analisis kandungan senyawa menggunakan UPLC-QToF-MS/MS. Ekstraksi daun *C. cainito* dilakukan secara bertingkat menggunakan metode *ultrasonic assisted extraction* (UAE). Serbuk kering daun *C. cainito* diekstraksi dengan n-heksana 1:20. Filtrat yang diperoleh diuapkan untuk menghasilkan ekstrak n-heksana. Residu n-heksana diekstraksi menggunakan etil asetat dengan metode yang sama untuk mendapatkan ekstrak etil asetat. Residu etil asetat diekstraksi menggunakan metanol dengan metode yang sama untuk menghasilkan ekstrak metanol.

Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol masing-masing sejumlah 100 ppm dipreparasi dalam DCM dan metanol, kemudian masing-masing diinjeksikan 5 µl ke dalam ACQUITY UPLC® H-Class System (Waters, USA) tandem detektor MS Xevo G2-S QToF (Waters, USA). Sampel dipisahkan pada ACQUITY BEH C18 (1.7 µm 2.1x50 mm) dengan asetonitril 0,05% :0,05% asam format sebagai fase gerak, laju aliran 0,2 ml/menit. Hasil analisis UPLC-MS diproses menggunakan aplikasi Masslynx Versi 4.1, untuk mendapatkan kromatogram dan spektra dari setiap puncak yang terdeteksi. Prediksi kandungan senyawa menggunakan situs web ChemSpider.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil metabolit ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun *C. cainito* diperoleh dengan melakukan preparasi ekstrak menggunakan metanol dan DCM. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan instrumen UPLC-QToF-MS/MS. Penggunaan dua jenis pelarut pada preparasi bertujuan untuk mengoptimalkan pemisahan senyawa-senyawa kompleks dalam ekstrak agar menghasilkan sensitifitas spektra yang lebih tinggi. Tabel 2 dan Tabel 3 merupakan

prediksi senyawa dalam ekstrak n-heksana. Tabel 4 dan Tabel 5 merupakan prediksi senyawa dalam ekstrak etil asetat. Tabel 6 dan Tabel 7 merupakan prediksi senyawa dalam ekstrak metanol. Masing-masing tabel tersebut memiliki informasi mengenai waktu retensi, % area, *measured m/z*, rumus molekul, nama senyawa, beserta aktifitasnya berdasarkan studi literatur.

Berdasarkan interpretasi data Tabel 1 dan Tabel 2 diketahui bahwa total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksana daun *C. cainito* berjumlah 22 senyawa beserta 6 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya (*unknown compounds*). Pada Tabel 3 dan Tabel 4 diketahui bahwa total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* berjumlah 34 senyawa beserta 13 *unknown compounds*. Pada Tabel 5 dan Tabel 6 diketahui bahwa total keseluruhan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun *C. cainito* berjumlah 26 senyawa beserta 8 *unknown compounds*.

Hasil analisis dari penelitian ini tidak semua sama dengan hasil penelitian-penelitian sebelumnya misalnya asam gentisat, asam galat dan asam ursolat yang ditemukan pada penelitian sebelumnya tidak ditemukan pada penelitian ini. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, salah satu penentu dominannya adalah faktor eksternal berupa tempat asal daun *C. cainito* yang digunakan. Penelitian sebelumnya menggunakan instrumen yang relatif lebih sederhana daripada UPLC-QToF-MS/MS, sehingga memiliki keterbatasan dalam mendapatkan data dengan jumlah banyak dan akurasi tinggi. Kombinasi UPLC dan *double MS* mampu mendapatkan data dengan hasil positif palsu yang minimal, lebih akurat, serta waktu analisis yang relatif singkat dibandingkan dengan instrumen lainnya (Hird *et al.*, 2014; Madala *et al.*, 2016).

Tabel 4 interpretasi senyawa metabolit tersebut menunjukkan terdapat beberapa senyawa yang dominan atau senyawa mayor, yaitu senyawa yang memiliki kadar (ditunjukkan dengan persen area) lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak. Senyawa mayor pada ekstrak n-heksana daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol adalah senyawa *diethyltoluamide* dengan persen area sebanyak 30,6104%, sedangkan senyawa mayor dengan preparasi menggunakan DCM adalah *N-[3-(3,4,5,6-Tetrahydro-2H-azepin-7-ylamino)propyl]-1,4-butane diamine hydrochloride* dengan persen area sebesar 35,1036%. Senyawa mayor pada ekstrak etil asetat daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol adalah *Loliolide* dengan persen area sebesar 27,1269%, sedangkan senyawa mayor dengan preparasi DCM adalah senyawa *Eusiderin* dengan persen area sebanyak 17,5889%. Senyawa mayor pada ekstrak metanol daun *C. cainito* dengan preparasi metanol adalah *eplerenone* dengan persen area sebesar 45,6101%. Sedangkan senyawa mayor dengan preparasi DCM adalah senyawa *cetylamine* dengan persen area sebesar 26,2540%.

Terdapat beberapa senyawa yang diduga memiliki khasiat fitoestrogen dalam ekstrak-ekstrak tersebut. Senyawa dalam ekstrak n-heksana daun *C. cainito* yang memiliki aktivitas estrogenik antara lain *bolandiol* (Attardi *et al.*, 2010), dan *dibutyl phthalate* (Harris *et al.*, 1997). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker antara lain *creatinine* (Sreekumar *et al.*, 2009), *loliolide* (Yang *et al.*, 2011), *licocoumarone* (Harborne, 1994), dan *safingol* (Dickson *et al.*, 2011). Senyawa yang ditemukan dalam ekstrak etil asetat daun *C. cainito* memiliki aktivitas estrogenik antara lain *bolandiol* (Attardi *et al.*, 2010), dan *dibutyl phthalate* (Harris *et al.*, 1997). Selanjutnya juga terdapat senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker seperti *gingerol* (Zhang *et al.*, 2017), *licocoumarone* (Harborne, 1994), *Loliolide* (Yang *et al.*, 2011), *Polygodial* (Barrosa *et al.*, 2016), dan *portentol* (Schröckeneder, 2012). Senyawa yang ditemukan dalam ekstrak metanol daun *C. cainito* memiliki aktivitas estrogenik antara lain *myricetin* (Hong *et al.*, 2015), dan *dibutyl phthalate* (Harris *et al.*, 1997).

Tabel 1. Prediksi senyawa pada ekstrak n-heksana dari daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol.

No.	RT (min)	% Area	Measured m/z	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Aktivitas
1	1.455	13,8483	113.0588	C ₄ H ₇ N ₃ O	Creatinine	Antikanker (Sreekumar <i>et al.</i> , 2009), antibakteri (McDonald <i>et al.</i> , 2012).
2	2.632	2,9314	124.9788	CH ₃ NO ₄ S	Nitromethanesulfinic acid	-
3	4.427	0,0922	104.0622	C ₈ H ₈	Styrene	-
4	4.862	5,3085	149.1201	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Agonis TAAR1 manusia (Wainscott <i>et al.</i> , 2007).
5	5.045	5,1965	387.2459	C ₂₁ H ₃₃ N ₅ S	1-[1-(Diethylamino)-2-propanyl]-3-[3,5-dimethyl-1-(2-methylbenzyl)-1H-pyrazol-4-yl]thiourea	-
6	5.662	0,9137	519.3268	C ₂₃ H ₄₅ N ₅ O ₈	2-Methyl-2-propanyl 4-(20-azido-3,6,9,12,15,18-hexaoxaicos-1-yl)-1-piperazinecarboxylate	-
7	7.206	8,1337	196.1101	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	Loliolide	Antioksidan (Yang <i>et al.</i> , 2011), antipiretik, antiinflamasi, vasodilator (Grabarczyk <i>et al.</i> , 2015).
8	7.823	1,1308	208.1937	C ₁₃ H ₂₄ N ₂	Decylimidazole	-
9	9.870	1,5462	120.0941	UNKNOWN	UNKNOWN	-
10	10.018	0,4913	121.0941	UNKNOWN	UNKNOWN	-
11	10.167	0,3162	122.094	UNKNOWN	UNKNOWN	-
12	10.601	30,6104	191.1315	C ₁₂ H ₁₇ NO	Diethyltoluamide	Repelan (Ditzen <i>et al.</i> , 2008).
13	11.379	8,1734	340.1313	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	Licocoumarone	Antioksidan, antimikroba (Harborne, 1994), menurunkan asam urat (Lim, 2016).
14	13.208	21,3075	276.2090	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	Bolandiol	Estrogenik, androgenik, progesteronik (Attardi <i>et al.</i> , 2010).

Tabel 2. Prediksi senyawa pada ekstrak n-heksana dari daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan DCM.

No.	RT (min)	% Area	Measured m/z	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Aktivitas
1	0.837	0,7233	278.1517	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Antibakteri (Khatiwora, 2012), inhibitor glikosidase (Lee, 2000), estrogenik (Harris <i>et al.</i> , 1997).
2	2.118	1,6886	201.1727	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid	-
3	4.130	0,7668	122.0839	C ₇ H ₁₀ N ₂	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	-
4	4.530	0,9478	242.1746	C ₁₁ H ₂₄ N ₄ O ₂	(2E)-N-(3-[(3-(Dimethylamino)propyl)amino]propyl)-2-(hydroxyimino)propanamide	-
5	4.679	0,1884	383.7632	C ₅ H ₇ PSCl ₅ B r	UNKNOWN	-
6	4.930	0,2903	299.1932	C ₉ H ₂₁ N ₁₁ O	UNKNOWN	-
7	5.159	1,5941	162.0673	C ₅ H ₁₁ N ₄ Cl	UNKNOWN	-
8	5.342	6,8849	149.1202	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Agonis TAAR1 manusia (Wainscott <i>et al.</i> , 2007).
9	5.662	1,7719	210.1254	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	Jasmonic acid	Antimalaria (Zhai <i>et al.</i> , 2014).
10	6.508	0,3731	607.3775	C ₃₉ H ₄₉ N ₃ O ₃	(4Z)-4-[[4-(Diethylamino)phenyl]imino]-N-[2-(dodecyloxy)phenyl]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	-
11	7.206	11,9257	196.1098	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	Loliolide	Antioksidan (Yang <i>et al.</i> , 2011), antipiretik, antiinflamasi, vasodilator (Grabarczyk <i>et al.</i> , 2015).
12	10.967	12,6469	191.1307	C ₁₂ H ₁₇ NO	Diethyltoluamide	Repelan (Ditzen <i>et al.</i> , 2008).
13	11.482	17,9960	241.2767	C ₁₆ H ₃₅ N	Cetylamine	Antibakteri, ajuvan difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood dan Florence, 1983).
14	11.665	4,5139	287.2829	C ₁₇ H ₃₇ NO ₂	2-Amino-2-tetradecyl-1,3-propanediol	-
15	12.111	1,5793	310.1773	C ₁₂ H ₂₇ N ₄ O ₃ Cl	Lysyllysine hydrochloride	-
16	12.294	1,0056	301.2976	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	Safingol	Antikanker (Dickson <i>et al.</i> , 2011).
17	13.460	35,1036	276.2084	C ₁₃ H ₂₉ N ₄ Cl	N-[3-(3,4,5,6-Tetrahydro-2H-azepin-7-ylamino)propyl]-1,4-butanediamine hydrochloride	-

Tabel 3. Interpretasi senyawa pada ekstrak etil asetat dari daun *C.cainito* dengan preparasi methanol.

No.	RT (min)	% Area	Measured m/z	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Aktivitas
1	1.237	2,1179	150.0275	C ₃ H ₆ N ₂ O ₅	2,2-Dinitro-1-propanol	-
2	1.386	0,2413	119.0936	UNKNOWN	UNKNOWN	-
3	1.569	2,0502	201.1726	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic Acid	-
4	3.730	0,6056	124.9786	CH ₃ NO ₄ S	Nitromethanesulfinic Acid	-
5	4.062	0,0764	314.0969	C ₁₀ H ₂₂ N ₂ O ₅ S ₂	2-Methoxy-N-[2-(1-piperidinylsulfonyl)ethyl]ethanesulfonamide	-
6	4.496	0,3605	312.1766	C ₁₀ H ₂₀ N ₁₀ O 2	2-Amino-N'-[4-(dimethylamino)-6-(methylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]-N'-(2-hydrazino-2-oxoethyl)acetohydrazide	-
7	4.645	0,6812	472.2300	C ₂₀ H ₃₁ N ₅ S	2-[[1-(2-Methyl-2-propanyl)-1H-tetrazol-5-yl](2-thienyl)methyl]-2-azaspiro[5.5]undecane	-
8	4.828	1,4675	417.2566	C ₂₂ H ₃₅ N ₅ OS	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3-[3-(dimethylamino)propyl]-1-[[7,8-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliny]methyl]thiourea	-
9	4.976	1,9775	461.2828	C ₃₂ H ₃₅ N ₃	3-{{Z)-1-[4-(Dimethylamino)phenyl]-2-phenylvinyl}-N,N,N',N'-tetramethyl-4,4'-biphenyldiamine	-
10	5.113	1,5589	505.3107	C ₁₇ H ₄₄ N ₉ O ₆ Cl	UNKNOWN	-
11	5.296	1,1842	549.3370	C ₆ H ₃₅ N ₂₇ O ₄	UNKNOWN	-
12	5.445	0,8797	593.3635	C ₁₆ H ₄₃ N ₂₁ O 2S	UNKNOWN	-
13	5.628	0,4864	637.3875	C ₃₂ H ₅₅ N ₅ O ₆ S	5-{{2S)-4-[(2-sec-Butyl-4-pyridinyl)methyl]-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbonyl]-1-piperazinyl]-1,2,3,5-tetradecoxy-3-[[[(2R,3R)-2-isopropyl-1,1-dioxidotetrahydro-3-thiophenyl]oxy}carbonyl]amino]-D-erythro-pentitol	-
14	5.845	0,1736	681.4127	C ₃₁ H ₅₁ N ₁₅ O S	UNKNOWN	-
15	6.108	0,0174	221.1049	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	Metaxalone	Relaksan otot (Trivedi dan Atel, 2012).

16	7.206	27,1269	196.1095	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	Loliolide	Antioksidan (Yang <i>et al.</i> , 2011), antipiretik, antiinflamasi, vasodilator (Grabarczyk <i>et al.</i> , 2015).
17	8.521	0,4141	256.1217	C ₈ H ₁₆ N ₈ S	5-Amino-3-(4-methyl-1-piperazinyl)-1H-1,2,4-triazole-1-carbothiohydrazide	-
18	9.184	0,1292	345.2511	C ₁₈ H ₃₅ NO ₅	Broussonetinine B	Antidiabetik (Rahman,2003).
19	10.098	0,4552	307.1983	C ₁₁ H ₂₁ N ₁₁	UNKNOWN	-
20	10.601	3,7308	191.1308	C ₁₂ H ₁₇ NO	Diethyltoluamide	Repelan (Ditzen <i>et al.</i> , 2008).
21	10.933	2,6787	294.1832	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	Gingerol	Antikanker (Zhang <i>et al.</i> , 2017), rheumatoid arthritis (Funk <i>et al.</i> , 2009).
22	11.379	1,0235	340.1308	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	Licocoumarone	Antioksidan, antimikroba (Harborne, 1994), menurunkan asam urat (Lim, 2016).
23	11.562	17,4560	310.1199	C ₁₄ H ₁₉ N ₄ O ₂ Cl	Lintopride	Meningkatkan motilitas esofagus, meringankan nausea (Delvaux <i>et al.</i> , 1995).
24	11.882	1,3254	274.1934	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	Nandrolone	Androgenik, <i>testosterone replacement therapy</i> (Pomara <i>et al.</i> , 2016).
25	12.614	2,6114	693.3944	C ₃₄ H ₅₅ N ₅ O ₁₀	(2R,3S)-4-[[{(2S)-1-[(2S,4S)-4-Hydroxy-2-[(2S)-2-methyl-5-oxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl]carbonyl]-1-pyrrolidinyl]-3-methyl-1-oxo-2-butanyl}(methyl)amino]-3-[(N-methyl-N-[(2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]-L-leucyl)amino]-4-oxo-2-butanyl oxoacetate	-
26	13.128	11,6164	276.2094	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	Bolandiol	Estrogenik, androgenik, progesteronik (Attardi <i>et al.</i> , 2010).
27	13.791	17,5540	531.3424	C ₂₈ H ₄₅ N ₅ O ₅	(1R,2S,5S)-N-(4-Amino-1-cyclopropyl-3,4-dioxo-2-butanyl)-3-[(2S)-2-cyclohexyl-2-[(2-methyl-2-propanyl)carbonyl]amino]acetyl]-6,6-dimethyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide	-

Tabel 4. Prediksi senyawa pada ekstrak etil asetat dari daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan DCM.

No.	RT (min)	% Area	Measured m/z	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Aktivitas
1	1.237	0,0725	150.0270	C ₆ H ₁₁ SCl	(Chlorosulfanyl)cyclohexane	-
2	1.638	10,8435	201.1724	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid	-

3	3.730	0,4403	278.1515	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Antibakteri (Khatiwora et al., 2012), inhibitor glikosidase (Lee, 2000), estrogenik (Harris et al., 1997).
4	4.164	0,1412	122.0834	UNKNOWN	UNKNOWN	-
5	4.496	2,0220	242.1749	C ₄ H ₂₂ N ₁₀ S	UNKNOWN	-
6	4.930	0,1826	299.194	C ₁₂ H ₂₉ NO ₇	UNKNOWN	-
7	5.193	7,6120	315.2044	C ₁₆ H ₂₉ NO ₅	N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine	-
8	5.662	1,4322	210.1248	C ₇ H ₁₉ N ₄ OCl	1-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methoxyguanidine hydrochloride	-
9	6.291	0,2265	563.3519	C ₃₀ H ₄₅ N ₉ S	UNKNOWN	-
10	6.657	1,5976	363.1218	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₄	Circumdatin E	-
11	6.943	0,3754	429.2367	C ₂₄ H ₃₆ N ₃ PS	3,3',3''-Phosphorothioyltris[1-(2-methyl-2-propanyl)-1H-pyrrole]	-
12	7.389	10,7983	196.1097	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	Loliolide	Antioksidan (Yang et al., 2011), antipiretik, antiinflamasi, vasodilator (Grabarczyk et al., 2015).
13	8.223	1,5944	271.1953	UNKNOWN	UNKNOWN	-
14	10.201	0,1890	119.0941	UNKNOWN	UNKNOWN	-
15	10.601	1,1764	234.1616	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	Polygodial	Antileishmanial, antitripanosomal dan antiinflamasi (Barrosa et al., 2016)
16	10.967	7,3301	192.1382	UNKNOWN	UNKNOWN	-
17	11.413	15,4696	287.2822	C ₁₇ H ₃₇ NO ₂	2,2'-(Tridecylimino)diethanol	-
18	11.630	17,5889	386.1732	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	Eusiderin	Antifungi (Muhaimin et al., 2016).
19	12.111	1,1637	310.1775	C ₁₇ H ₂₆ O ₅	Portentol	Antikanker (Schröckeneder, 2012).
20	12.248	1,9526	227.2613	C ₁₅ H ₃₃ N	Cetylamine	Antibakteri, ajuvan difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood dan Florence, 1983).
21	12.877	15,4823	315.3137	C ₁₉ H ₄₁ NO ₂	2-Amino-3-(hexadecyloxy)-1-propanol	-
22	13.460	1,3660	276.2087	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	Bolandiol	Estrogenik, androgenik, progesteronik (Attardi et al., 2010).
23	13.940	0,9429	401.3503	C ₂₃ H ₄₇ NO ₄	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	-

Tabel 5. Prediksi senyawa pada ekstrak metanol dari daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan metanol.

No.	RT (min)	% Area	Measured m/z	Rumus Molekul	Nama Senyawa
-----	----------	--------	--------------	---------------	--------------

1	1.500	0,8805	359.1425	C ₂₅ H ₁₇ N ₃	4-[(E)-2-(1-Benzyl-1H-indol-3-yl)-1-cyanovinyl]benzotrile
2	2.632	0,8753	124.9788	CH ₃ NO ₄ S	Nitromethanesulfinic acid
3	5.113	0,9453	149.1206	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine
4	5.559	4,0277	318.0377	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	Myricetin
5	7.057	0,3423	392.1806	C ₂₀ H ₂₉ N ₄ SCl	1-[[4-Chloro-2-(dimethylamino)-1,3-thiazol-5-yl]methyl]-N-methyl-N-(2-phenylethyl)-3-piperidinamine
6	7.572	0,0428	217.2040	C ₁₂ H ₂₇ NO ₂	(2S,3R)-2-Amino-1,3-dodecanediol
7	9.287	2,0958	245.1359	C ₁₄ H ₃₁ NO ₂	1,1'-(Octylimino)di(2-propanol)
8	10.682	26,2093	273.2669	C ₁₆ H ₃₅ NO ₂	Lauryldiethanolamine
9	11.928	9,6582	301.2990	UNKNOWN	UNKNOWN
10	12.294	45,6101	414.2041	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	Eplerenone
11	12.797	4,9278	414.2032	C ₂₁ H ₂₂ N ₁₀	6-[(E)-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-ylhydrazono)methyl]-2-[4-[(E)-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylhydrazono)methyl]phenyl]imidazo[1,2-a]pyridine
12	13.128	3,8569	329.3291	C ₂₀ H ₄₃ NO ₂	2-(Octyloxy)-N-[2-(octyloxy)ethyl]ethanamine
13	13.391	0,5278	355.3445	UNKNOWN	UNKNOWN

Tabel 6. Prediksi senyawa pada ekstrak metanol dari daun *C. cainito* dengan preparasi menggunakan DCM.

No.	RT (min)	% Area	Measured m/z	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Aktivitas
1	2.084	1,5105	201.1731	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid	-
2	2.667	1,7959	122.0844	C ₇ H ₁₀ N ₂	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	-
3	3.467	1,7933	278.1518	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate	Antibakteri (Khatiwora et al., 2012), inhibitor glikosidase (Lee, 2000), estrogenik (Harris et al., 1997).
4	4.930	0,3597	299.1938	UNKNOWN	UNKNOWN	-
5	5.159	1,6725	343.2194	C ₁₁ H ₂₅ N ₁₁ O ₂	UNKNOWN	-
6	5.342	5,5258	149.1201	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine	Agonis TAAR1 manusia (Wainscott et al., 2007).
7	5.708	3,5733	210.1244	C ₇ H ₁₉ N ₄ OCl	1-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methoxyguanidine hydrochloride	-
8	6.257	0,8867	563.3529	C ₃₅ H ₅₀ NO ₃ P	2,4-Diisopropylphenyl phenyl [2-(2,4,6-triisopropylphenyl)ethyl]phosphoramidate	-
9	6.508	0,6584	607.3777	C ₃₉ H ₄₉ N ₃₀ O ₃	(4Z)-4-[[4-(Diethylamino)phenyl]imino]-N-[2-(dodecyloxy)phenyl]-1-oxo-1,4-dihydro-2-	-

naphthalenecarboxamide						
10	7.091	0,1938	132.0931	UNKNOWN	UNKNOWN	-
11	7.206	1,0871	196.1093	C ₆ H ₁₇ N ₄ OCl	1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-2-hydroxy-3-methylguanidine hydrochloride	-
12	7.640	0,3783	215.1872	UNKNOWN	UNKNOWN	-
13	9.104	2,6441	931.6243	C ₆₀ H ₈₆ NO ₅ P	UNKNOWN	-
14	10.567	1,2769	452.1851	C ₂₇ H ₂₄ N ₄ O ₃	4-[4-(9H-Fluoren-9-yl)-1-piperazinyl]-1-methyl-3-nitro-2(1H)-quinolinone	-
15	11.013	15,6351	191.1307	C ₁₂ H ₁₇ NO	Diethyltoluamide	Repelan (Ditzen et al., 2008).
16	11.482	26,2540	241.2766	C ₁₆ H ₃₅ N	Cetylamine	Antibakteri, ajuvan difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood dan Florence, 1983).
17	11.699	12,4096	469.2623	C ₂₄ H ₃₅ N ₇ O ₅ S	N-Isobutyl-4-{6-(2-methylphenyl)-5-[(2-methyl-2-propanyl)amino]imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazol-2-yl}-1-piperazinecarboxamide	-
18	12.145	2,6428	310.1789	C ₁₈ H ₃₀ S ₂	1,3-Bis[2-(butylsulfanyl)ethyl]benzene	-
19	12.694	2,0309	315.3143	C ₁₉ H ₄₁ N ₀₂	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	-
20	12.877	7,1492	303.2927	C ₂₁ H ₃₇ N	Aminopregnane	Antimalaria (Verma et al., 2011).
21	13.643	5,8577	119.0939	UNKNOWN	UNKNOWN	-
22	13.940	4,6644	401.3505	C ₂₃ H ₄₇ N ₀₄	N-(2-Hydroxyethyl)-N-(2-hydroxyoctadecyl)-β-alanine	-

Pada hasil analisis profil metabolit beberapa ekstrak tersebut, ditemukan beberapa jenis senyawa yang sama dalam pelarut yang berbeda, misalnya *dibutyl phthalate* yang ditemukan dalam tiap pelarut, yang dapat terjadi akibat proses ekstraksi bertingkat atau fraksinasi. (Sasidharan *et al.*, 2011). *Dibutyl phthalate* yang ditemukan dalam tiap pelarut akibat proses ekstraksi simplisia dengan metode ultrasonik, dimana disebutkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik yang termasuk dalam *accelerated extraction* memungkinkan pelarut organik untuk tetap dapat sedikit melarutkan dan mengeskraksi senyawa dari sel tumbuhan meskipun sudah dalam kondisi jenuh ataupun berbeda polaritas (Li *et al.*, 2010; Handayani *et al.*, 2016). Gelombang ultrasonik mampu merusak sel dan “memaksa” metabolit sekunder untuk keluar dan terlarut dalam pelarut organik, meskipun kelarutan dalam tiap pelarut tetap berbeda berdasarkan polaritas pelarut. Hal ini dapat dilihat dari kadar *dibutyl phthalate* yang berbeda-beda pada jenis pelarut yang berbeda.

Aktivitas antioksidan yang dimiliki beberapa jenis senyawa dalam berbagai ekstrak daun *C. cainito* tersebut menunjukkan adanya potensi fitoestrogen. Antioksidan merupakan salah satu bentuk dari aktivitas fitoestrogen, yaitu pada jalur *estrogen reseptor independent (ER-independent)*. Fitoestrogen dapat bekerja pada dua jalur, yaitu jalur *ER-dependent* dan *ER-*

independent. Meskipun sebagian besar aktivitas biologis dari fitoestrogen melalui jalur ER di dalam sel (*ER-dependent*), fitoestrogen juga dapat memiliki efek antioksidan dan menekan stress oksidatif melalui jalur *ER-independent*. Fitoestrogen secara efektif mampu mencegah stres pro-oksidan dengan membatasi pelepasan *reactive oxygen spesies* (ROS) pada mitokondria, dan memberikan aktivitas antioksidan di dalam sel (Cui *et al*, 2013).

Hasil metabolit profiling juga menunjukkan *unknown compounds*. *Unknown compounds* dapat berupa senyawa pengotor yang masih terdeteksi oleh instrumen, atau senyawa baru yang belum terdeteksi pada *database* dalam *Chemspider*, terutama pada senyawa *unknown* yang memiliki kadar tinggi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kandungan fitoestrogen dalam daun *C. cainito*.

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan profil metabolit dari masing-masing ekstrak daun *C. cainito*. Ekstrak n-heksana menghasilkan 28 senyawa dengan senyawa mayor *diethyltoluamide*, etil asetat menghasilkan 47 senyawa dengan senyawa mayor *loliolide*, dan 34 senyawa dalam ekstrak methanol dengan senyawa mayor yaitu senyawa *eplerenone*. Terdapat beberapa senyawa yang kemungkinan memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas sebagai fitoestrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Attardi, B. J., Page, S. T., Hild, S. A., Coss, C. C., Matsumoto, A. M. (2010). Mechanism of Action of Bolandiol (*19-nortestosterone-3beta,17beta-diol*), a Unique Anabolic Steroid with Androgenic, Estrogenic, and Progestational Activities. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 118 (3):151-61
- Attwood, D., and Florence, A.T. (1983). *Surfactant Systems: Their Chemistry, Pharmacy and Biology*. London: Chapman and Hall Ltd.
- Barrosa, K. H., Mecchi, M. C., Rando, D. G., Ferreira, A. J., Sartorelli, P., Valle, M. M., Bordin, S., Caperuto, L. C., Lago, J. H., Lellis-Santos, C. (2016). Polygodial, a sesquiterpene isolated from *Drimys brasiliensis* (Winteraceae), triggers glucocorticoid-like effects on pancreatic β -cells. *Chemico-Biological Interactions*, 258:245-256
- Cui, J., Shen, Y., Li, R. (2013). A Review: Estrogen Synthesis and Signaling Pathways during Aging: from Periphery to Brain. *Trends in Molecular Medicine*, 19(3):197-209.
- Delvaux, M., Maisin, J.M., Arany, Y., Atlan, P., Prieto-Cabanis, M. J., Canal, M., Frexinos, J. (1995). The Effects of Lintopride, a 5HT-4 Antagonist, on Oesophageal Motility. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 9(5):563-569
- Delyani, J. A., Rocha, R., Cook, C. S., Tolbert D. S., Levin S., Roniker B., Workman D. L., Sing Y. L., Whelihan B. (2006). Eplerenone: a Selective Aldosterone Receptor Antagonist (SARA). *Cardiovascular Drug Reviews*, 19(3):185-200
- Dickson, M. A., Carvajal, R. D., Merrill, A. H. Jr, Gonen, M, Cane, L. M., Schwartz, G. K. (2011). A phase I Clinical Trial of Safingol in Combination with Cisplatin in Advanced Solid Tumors. *Clinical Cancer Research*, 17(8):2484-2492
- Ditzen, M., Pellegrino, M., Vosshall, L. B. (2008). Insect Odorant Receptors are Molecular Targets of the Insect Repellent DEET. *Scienceexpress*, 319(5871):1838-42
- Funk, J. L., Frye, J. B., Oyarzo, J. N., Timmermann, B. N. (2009). Comparative Effects of Two Gingerol-Containing *Zingiber officinale* Extracts on Experimental Rheumatoid Arthritis. *Journal of Natural Products*, 72 (3):403-7

- Grabarczyk, M., Katarzyna, W., Maczka, W., Potaniec, B., Aniol, M. (2015). Loliolide - the Most Ubiquitous Lactone. *Folia Biologica et Oecologica*, 11:1-8
- Griffiths, J. A. (1959). On the Distribution of Gentistic Acid in Green plants. *Journal of Experimental Botany*, 10:437-442
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., Yunianta. (2016). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1):262-272
- Harborne, J. B. (1994). *The Flavonoids Advances in Research Since 1986*. Florida: CRC Press LLC.
- Harris, A. C., Henttu, P., Parker, G. M., and Sumpter, J. P. (1997). The Estrogenic Activity of Phthalate Esters *In Vitro*. *Environmental Health Perspectives*, 105(8):802-811
- Hidayat, A. dan Ningsih, I. Y. (2015). Pengembangan Ekstrak Daun dan Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) untuk Obat Herbal Terstandar Diabetes Mellitus. Jember: Universitas Negeri Jember.
- Hird, S. J., Benjamin, P., Lau, Y., Schuhmacher, R., Krska, R. (2014). Liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of chemical contaminants in food. *Trends in Analytical Chemistry*, 59:59-72
- Hong, H., Branham, W. S., Ng, H. W., Moland, C. L., Dial, S. L., Fang, H., Perkins, R., Sheehan, D., Tong, W. (2015). Human Sex Hormone-Binding Globulin Binding Affinities of 125 Structurally Diverse Chemicals and Comparison with Their Binding to Androgen Receptor, Estrogen Receptor, and α -Fetoprotein. *Toxicological Sciences*, 143(2):333-348
- Kandasamy, N., and Ashokkumar, N. (2014). Renoprotective Effect of Myricetin Restrains Dyslipidemia and Renal Mesangial Cell Proliferation by the Suppression Of Sterol Regulatory Element Binding Proteins In An Experimental Model of Diabetic Nephropathy. *European Journal of Pharmacology*, 743:53-62
- Khatiwora, E., Adsul, V. B., Kulkarni, M., Deshpande, N. R., Kashalkar, R. V. (2012). Antibacterial Activity of Dibutyl Phthalate: a Secondary Metabolite Isolated from *Ipomoea carnea* stem. *Journal of Pharmacy Research*, 5(1):150-152
- Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., and Zirihi, G. N. (2009). Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy and Pharmacology*, 3:501-506
- Koffi, N'guessan. (2008). Plantes medicinales et pratiques medicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Department d'Agboville (Cote-d'Ivoire). [Thesis]. Cote-d'Ivoire: Universite de Cocody-Abidjan
- Krastanov, A. (2010). Metabolomics – The State of Art. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24:1537-1543.
- Lee, Dong-Sun. (2000). Dibutyl Phthalate an α -Glucosidase Inhibitor from *Streptomyces melanosporofaciens*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89(3):271-273
- Li, S., Zhu, R., Zhong, M., Zhang, Y., Huang, K., Zhi, Xu., Fu, S. (2010). Effects of Ultrasound-Assistant Extraction Parameter on Total Flavones Yield of *Selaginella deoderleinii* and its Antioxidant Activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17):1743-1750
- Lim, T. K. (2016). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 10, Modified Stems, Roots, Bulbs*. Berlin: Springer International Publishing AG.
- Lopez, J. A. (1983). Isolation of β -amyryn acetate from leaves and stems of star Apple (*Chrysophyllum cainito*: Sapotaceae). *Ing. Cienc.Quim*, 7:22-23
- Luo, X. D., Basile, M. J., and Kennely, E. J. (2002) Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:1379-1382
- Madala, N. E., Piater, L., Dubery, I., Steenkamp, P. (2016). Distribution patterns of flavonoids from three *Momordica* species by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time of

- flight mass spectrometry: a metabolomic profiling approach. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26:507-513
- McDonald, T., Drescher, K. M., Weber, A., Tracy, S. (2012). Creatinine inhibits bacterial replication. *The Journal of Antibiotics*, 65(3):153–156
- Morton, J. (1987). Star Apple Fruits of Warm Climates. *Miami Florida*. 408-410
- Muhaimin, Syamsurizal, Chaerunisaa A.Y., Sinaga M.S. 2016. Eusiderin I from Eusideroxyton zwagery as Antifungal agent against Plant Pathogenic Fungus. *International Journal of ChemTech Research*, 9(5):418-424
- Naushad, Mu. and Khan, M. R. (2014). *Ultra Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry: Evaluation and Applications in Food Analysis*. New York: CRC Press.
- Pomara C., Barone, R., Gammazza, A. M., Sangiorgi, C., Barone, F., Pitruzzella, A., Locorotondo, N., Gaudio, F. D., Salerno, M., Maglietta, F., Sarni, A. L., Felice, V. D., Cappello, F., Tullazzi, E. (2015). Effects of Nandrolone Stimulation on Testosterone Biosynthesis in Leydig Cells. *Journal of Cellular Physiology*, 231:1385-1391
- Rahman, Atta-ur. (2003). *Studies in Natural Products Chemistry: Bioactive Natural Products (Part I)*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram K. M., Latha L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine*, 8(1):1-10
- Schröckeneder, Albert. (2012). Towards the Total Synthesis of Portentol A Formal Synthesis of Dimethylglutamine The Crystal Structure of the Dess-Martin Periodinane [Disertasi]. München: Ludwig Maximilians Universität München
- Shailajan, S., and Gurjar, D. (2014). Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 26:106-111
- Sreekumar A., Poisson, L. M., Rajendiran, T. M., Khan, A. P., Cao, Q., Yu, J., Laxman, B., Mehra, R., Lonigro, R. J., Li, Y., Nyati, M. K., Ahsan, A., Kalyana-Sundaram, S., Han, B., Cao, X., Byun, J., Omenn, G. S., Ghosh, D., Pennathur, S., Alexander, D. C., Berger, A., Shuster, J. R., Wei, J. T., Varambally, S., Beecher, C., Chinnaiyan, A. M. (2009). Metabolomic Profiles Delineate Potential Role for Sarcosine In Prostate Cancer Progression. *Nature*, 457:910-914
- Thevissen, K., Hillaert, U., Meert, E. M. K., Chow, K. K., Cammue, B. P. A., Calenbergh, S. V., Francois, I. E. J. A. (2008). Fungicidal activity of truncated analogues of dihydrosphingosine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(13):3728-3730
- Trivedi, R. K., and Atel, M. C. P. (2012). Development of a Stability-Indicating RP-UPLC Method for Rapid Determination of Metaxalone and its Degradation Products in Solid Oral Dosage Form. *Scientia Pharmaceutica*, 80:353-366
- Verma, G., Dua K. V., Agarwal D. D., Atul, P. K. (2011). Anti-malarial activity of *Holarrhena antidysenterica* and *Viola canescens*, plants traditionally used against malaria in the Garhwal region of north-west Himalaya. *Malaria Journal*, 10:10-20
- Wainscott, D. B., Little, S. P., Yin, T., Tu, Y., Rocco, V. P., He, J. X., Nelson D. L. (2007). Pharmacologic characterization of the cloned human trace amine-associated receptor1 (TAAR1) and evidence for species differences with the rat TAAR1. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320(1):475–485
- Yang, X., Kang, M. C., Lee, K. W., Kang, S. M., Lee, W. W., Jeon, Y. J. (2011). Antioxidant Activity and Cell Protective Effect of loliolide Isolated from *Sargassum ringgoldianum* subsp, *coreanum*. *Algae*, 26(2):201-208
- Yildiz, F. (2006). *Phytoestrogens In Functional Foods*. New York: Taylor & Francis Group.
- Zhai, B., Clark, J., Ling, T., Connelly, M., Medina-Bolivar, F., Rivas, F. (2014). Antimalarial evaluation of the chemical constituents of hairy root culture of *Bixa orellana* L. *Molecules*, 19(1):756-766

- Zhang, Z., Bo, T., Bai, Y., Ye, M., An, R., Cheng, F., Liu, H. (2015). Quadrupole time-of-flight Mass Spectrometry as a Powerful Tool for Demystifying Traditional Chinese medicine. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 72:169-180
- Zhang, F., Zhang J. G., Qu, J., Zhang Q., Prasad, C., Wei, Z. J. (2017). Assessment of Anti-Cancerous Potential of 6-gingerol (Tongling White Ginger) and Its Synergy With Drugs On Human Cervical Adenocarcinoma Cells. *Food and Chemical Toxicology*, 109(2):910-9