E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

Analisis Profil Metabolit Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot Esculenta* Crantz) Dengan LC-HRMS

Putu Happy Meldiana[1], Tutik[2], Putri Amalia[3]
[1]Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi, Universitas Malahayati Bandar Lampung, putuhappymeldiana@gmail.com
[2]Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi, Universitas Malahayati Bandar Lampung, tutiksantarjo@gmail.com
[3]Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi, Universitas Malahayati Bandar Lampung, putriamalia@malahayati.ac.id

Abstrak

Kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan salah satu limbah pertanian yang berpotensi untuk dimanfaatkan karena mengandung berbagai senyawa metabolit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit pada ekstrak etanol kulit singkong menggunakan instrumen *Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS). Sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol, kemudian dilakukan skrining fitokimia serta analisis profil metabolit menggunakan LC-HRMS dengan mode ionisasi positif (ESI+) dan negatif (ESI−). Identifikasi senyawa dilakukan berdasarkan nilai m/z, waktu retensi, serta karakteristik spektrum massa yang dibandingkan dengan basis data senyawa. Hasil analisis LC-HRMS menunjukkan bahwa terdapat 92 senyawa yang berhasil diidentifikasi, terdiri atas 62 metabolit primer (67,39%), 16 metabolit sekunder (17,39%), dan 15 senyawa lain (16,30%). Golongan senyawa yang teridentifikasi meliputi lipid sebesar 25,8%, karbohidrat 22,58%, protein 16,12%, fenolik 10,75%, alkaloid 5,32%, vitamin 2,1%, dan terpenoid 1,07%. Metabolit sekunder dengan kelimpahan relatif tertinggi adalah (2S)-2-Butanol O-[β-D-Apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] sebesar 0,41%.

Kata kunci: *Kulit Singkong, LC-HRMS, Metabolit Sekunder, Profil Metabolit.*

Abstract

Cassava peel (Manihot esculenta Crantz.) is an agricultural waste that has potential for utilization as it contains various metabolite compounds. This study aimed to determine the metabolite profile of cassava peel ethanol extract using Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS). Samples were extracted using the maceration method with ethanol, followed by phytochemical screening and metabolite profile analysis using LC-HRMS in positive (ESI+) and negative (ESI−) electrospray ionization modes. Compound identification was conducted based on m/z values, retention times, and mass spectral characteristics compared with compound databases. The LC-HRMS analysis results showed that 92 compounds were successfully identified, consisting of 62 primary metabolites (67.39%), 16 secondary metabolites (17.39%), and 15 other compounds (16.30%). Identified compound classes included lipids (25.8%), carbohydrates (22.58%), proteins (16.12%), phenolics (10.75%), alkaloids (5.32%), vitamins (2.1%), and terpenoids (1.07%). The secondary metabolite with the highest relative abundance was (2S)-2-butanol O-[β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside] at 0.41%.

Keywords: *Cassava Peel, LC-HRMS, Secondary Metabolites, Metabolite Profiling.*

Corresponding Author:
Putu Happy Meldiana

Universitas Malahayati Bandar Lampung, putuhappymeldiana@gmail.com

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

PENDAHULUAN

Kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan limbah pertanian memiliki beberapa kandungan gizi seperti protein, serat kasar, pektin, lemak dan kalsium. Kandungan serat kulit singkong cukup tinggi, serat kasar pada kulit singkong bermanfaat untuk memperlancar pencernaan, mencegah wasir, mengurangi kolestrol, mengontrol gula darah, dan menurunkan berat badan sehingga aman dikonsumsi (Riska *et al*., 2024). Penelitian yang telah dilakukan pada limbah kulit singkong menunjukan uji fitokimia bahwa ekstrak kulit singkong mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, alkaloid, fenolik, steroid dan terpenoid (Subagja dan Tantri, 2025).

Kulit singkong mengandung senyawa metabolit sekunder, terutama flavonoid dan terpenoid, yang memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, antibakteri, dan antijamur. Flavonoid adalah senyawa polifenol dengan struktur dasar C6-C3-C6 yang berperan dalam menangkal radikal bebas, sedangkan terpenoid merupakan senyawa isoprena yang banyak ditemukan pada tanaman dan berfungsi sebagai senyawa pelindung (Jannah *et al*., 2024). Kandungan kedua senyawa tersebut dapat diekstraksi menggunakan metode meserasi karena tidak melibatkan pemanasan (Aprilyanie, 2023). Hasil ekstraksi menggunakan metode maserasi dan pelarut etanol dapap dilihat profil senyawa metabolit sekunder menggunakan instrumen LC-HRMS.

LC-HRMS (*Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry*)merupakan teknik analisis modern yang menggabungkan kromatografi cair dan spektrometri massa resolusi tinggi sehingga mampu memisahkan, mendeteksi, dan mengidentifikasi senyawa secara akurat berdasarkan nilai massa molekul (m/z), waktu retensi, dan intensitas puncak (Pratiwi, 2020). Metode ini memiliki sensitivitas dan selektivitas tinggi sehingga efektif digunakan dalam identifikasi senyawa metabolit sekunder pada bahan alam (Ramadhan *et al*., 2024). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit singkong menggunakan instrumen LC-HRMS sehingga diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kandungan kimia kulit singkong dan potensi pemanfaatannya.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deksriptif dengan pendekatan laboratorium yang dianalisis secara kualitatif menggunakan metode instrumen LC-HRMS (*Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry*). Pendekatan laboratorium merupakan pendekatan penelitian yang dilakukan melalui pengujian secara langsung di laboratorium dengan menggunakan alat, bahan, serta metode analisis tertentu untuk memperoleh data yang akurat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (VIBRA), *dehydrator*, *blender/grinder* (Philips) (untuk menghaluskan simplisia), wadah meserasi (stoples kaca/erlenmeyer), batang pengaduk (Pyrex), corong kaca (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), kertas saring whatman. *Hotplate*, *rotary evaporator* (Heidolph), ayakan nomor 40 mesh,, dan LC-HRMS (*Liquid Chromatography -High Resulution Massa Spectrometry*). **Bahan** yang digunakan dalam penelitian yang akan dilakukan meliputi ekstrak kulit singkong, pelarut etanol, akuades, air (A) dan asetonitril (B) sebagai fase gerak.

Teknik pengambilan sampel dilakukan secara purposive sampling, yaitu berdasarkan kriteria tertentu seperti kesegaran kulit, tidak berjamur, tidak rusak, dan tidak mengandung bahan kimia tambahan. Sampel dalam penelitian ini adalah kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang baru dikupas dari industri kripik singkong

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

yang berada di Desa Karangrejo, Kecamatan Negeri Katon, Kabupaten Pesawaran.

Preparasi Sampel dan Pembuatan Ekstrak Kulit Singkong

Sejumlah 500 g serbuk kulit singkong dimeserasi menggunakan 10 L etanol 96% dengan perbandingan sebanyak 1: 20 hingga simplisia tersebut terendam dan biarkan selama 3 x 24 jam (72 jam) , ditutup dan biarkan terlindung dari cahaya sambil diaduk sesekali. Selanjutnya disaring dan diperoleh ekstrak cair lalu ampasnya diremeserasi, proses remaserasi dilakukan dengan selang waktu 3 hari (72 jam) guna memperoleh larutan yang jernih. Ekstrak aseton kemudian dievaporasi menggunakan rotary evapotor menggunakan suhu 40℃ guna membuang pelarut hingga membentuk ekstrak kental, selanjutnya dikeringkan di oven 35 ℃ sampai menjadi pasta (Meilinda *et al*., 2022).

1. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi secara kualitatif golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

a. Uji Flavonoid: Larutan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, 0,1 g serbuk magnesium (Mg) dan 3 tetes asam klorida (HCl) pekat dituang ke dalam tabung reaksi. Jika larutan berubah menjadi kuning ke merahan, hal ini menandakan reaksi positif, yang mengarah adanya keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak yang diuji.
b. Uji Fenolik: Larutan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) masing- masing dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL lalu ditambah 1 mL larutan FeCl3 10% kemudian di amati. Terjadinya perubahan warna kecolatan menunjukkan adanya fenol.
c. Uji Tanin: Larutan ekstrak etanol, kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan FeCl3 10% sebanyak 3 tetes. Jika terdapat senyawa tanin terjadi perubahan warna pada ekstrak yaitu menjadi hijau kehitaman atau kecoklatan.
d. Uji Saponin: Larutan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) masing- masing dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL lalu ditambahkan 10 ml akuades panas, dikocok kuat selama 10 detik. Lalu diamati busa yang terbentuk. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang bertahan stabil selama 30 detik.
e. Uji Alkaloid: Larutan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 1 mL, lalu diberi asam sulfat (H2SO4) 2N sebanyak 1-2 tetes. Campuran tersebut dikocok hingga terbentuk menjadi 2 fase, yaitu fase atas dan fase bawah. Fase atas yang terbentuk setelah penambahan asam sulfat kemudian diambil dan dibagi secara merata ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda-beda. Pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff masing-masing sebanyak 3 tetes. Penambahan pereaksi Mayer terbentuk endapan berwarna putih/kuning yang mengindikasikan adanya alkaloid. Pereaksi Wagner menghasilkan warna menjadi cokelat, sedangkan pereaksi Dragendorff membentuk endapan jingga.
f. Uji Terpenoid: Deteksi terpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam $CHCl_3$ lalu meneteskan H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung, di mana hasil positif ditandai oleh terbentuknya warna merah-kecokelatan atau kuning-keemasan.

2. Identifikasi Senyawa Menggunakan LC-HRMS

Sebanyak 10 mg sampel diekstraksi dalam 1 mL metanol, divorteks selama 1 menit, disentrifugasi (1.300×g, 5 menit), dan disaring (0,20 μm) sebelum dianalisis

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

menggunakan UHPLC-HRMS (Orbitrap Exploris 240) dengan kolom *Accucore Phenyl Hexyl* (100 × 2,1 mm; 2,6 μm), elusi gradien air-asetonitril (0,1% asam format), serta ionisasi H-ESI positif dan negatif pada rentang massa m/z 70–800 (Kusuma *et al*., 2025).

3. Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji idetifikasi LC-HRMS data berupa kromatogram spektrum pada sampel dan selanjutnya diolah dengan menggunakan perangkat lunak *Compound Discovery* 3.3. Pemrosesan data *Compound Discovery* 3.3. terdiri atas beberapa tahap, yaitu membuat kromatogram sampel, mengurangi noise, identifikasi berdasarkan berat molekul dan penyusunan data. Untuk terjemahan data menggunakan metode penyesuaian data senyawa yang terbaca dengan menggunakan referensi senyawa dari MzCloud Mass, ChemSpider, Phenol-Explorer, PubChem, PubMed.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi profil metabolit ekstrak kulit singkong (*Manihot eskulenta*) diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi merupakan proses pemisahan metabolit sekunder dari jaringan tanaman yang dipengaruhi oleh faktor pelarut, ukuran partikel simplisia, rasio pelarut, durasi, dan suhu. Metode maserasi dipilih karena tergolong sederhana, efisien, dan tidak menggunakan pemanasan langsung, sehingga mampu menjaga kestabilan senyawa bioaktif yang bersifat termolabil melalui proses difusi hingga mencapai titik kesetimbangan (Syamsul *et al*., 2020).

Etanol 96% sebagai pelarut didasarkan pada rentang kepolarannya yang luas sehingga mampu mengekstraksi senyawa polar hingga semipolar, seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan terpenoid sesuai prinsip *like dissolves like*. Efektivitas etanol dalam menyari spektrum metabolit sekunder yang beragam, etanol 96% dipilih karena bersifat relatif aman, bertoksisitas rendah, tidak meninggalkan residu berbahaya pada ekstrak, serta mudah diuapkan kembali menggunakan *rotary evaporator* (Ramadhan *et al*., 2024).

Berdasarkan hasil ekstraksi terhadap 500 gram simplisia serbuk kulit singkong, diperoleh ekstrak etanol kental sebanyak 81,15 gram dengan nilai rendemen sebesar 16,23%. Secara organoleptik, ekstrak etanol yang dihasilkan berwarna cokelat kehitaman, berbentuk kental, dan memiliki aroma khas singkong.

Ekstrak kulit singkong yang telah diperoleh dilakukan pengujian skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif pendahuluan yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan golongan metabolit sekunder melalui reaktivitas spesifik, seperti perubahan warna atau pembentukan endapan setelah penambahan pereaksi tertentu. Pengujian ini relatif sederhana, cepat, dan krusial sebagai langkah awal untuk memberikan gambaran umum profil senyawa bioaktif dalam ekstrak.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Singkong

Pelarut	Identifikasi	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Etanol	Alkaloid	Mayer	Terbentuk endapan berwarna putih	+
		Wagner	Menghasilkan perubahan warna menjadi coklat kekuningan	+
		Dragendorff	Terbentuk endapan berwarna jingga	+
	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	Menghasilkan perubahan warna menjadi kuning	+
	Tanin	$FeCl_3$	Menghasilkan perubahan warna	+

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

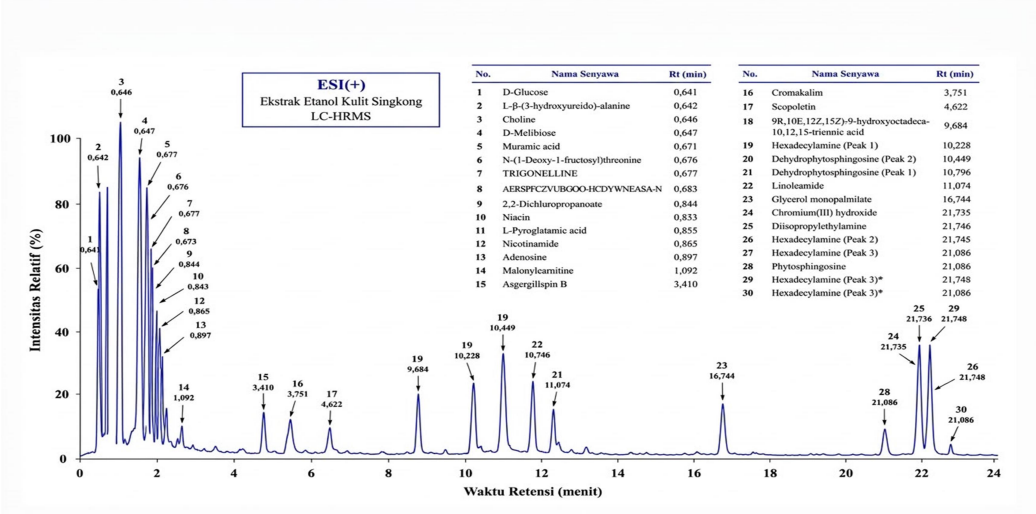
		menjadi kuning	
Saponin	Aquadest	Terbentuknya busa dan stabil	+
Terpenoid	CH_3COOH + H_2SO_4	Menghasilkan perubahan warna menjadi merah	+
Fenolik	$FeCl_3$	Menghasil perubahan warna larutan menjadi kuning kecoklatan	+

Keterangan: (+) = Positif mengandung golongan senyawa metabolit sekunder.

Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dilakukan sebagai analisis kualitatif awal sebelum dilanjutkannya identifikasi spesifik berbasis instrumen LC-HRMS. Penggunaan pelarut etanol 96% terbukti efektif mengekstraksi metabolit sekunder yang bersifat polar hingga semipolar (Astuti *et al*., 2017). Hasil pengujian menunjukkan respons positif terhadap seluruh golongan metabolit yang diuji, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan fenolik.

Keberadaan alkaloid dapat diidentifikasi melalui pembentukan endapan setelah penambahan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Uji flavonoid menggunakan metode Shinoda ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, jingga, atau warna lain yang sesuai dengan jenis flavonoid dan kondisi pengujian setelah penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Saponin diidentifikasi melalui pembentukan busa yang stabil setelah pengocokan larutan ekstrak. Sementara itu, uji Liebermann–Burchard digunakan untuk mendeteksi golongan steroid dan triterpenoid berdasarkan perubahan warna yang dihasilkan. Senyawa fenolik dan tanin dapat memberikan warna biru tua, hijau, atau kehitaman setelah penambahan besi(III) klorida ($FeCl_3$). Reaksi-reaksi tersebut digunakan sebagai indikator awal dalam skrining fitokimia, tetapi tidak dapat memastikan identitas struktur molekul secara spesifik (Abubakar & Haque, 2020; Maheshwaran *et al*., 2024).

Seluruh golongan metabolit sekunder tersebut teridentifikasi yang mengonfirmasi potensi aktivitas biologis ekstrak etanol kulit singkong sekaligus menjadi dasar acuan untuk pemetaan senyawa spesifik berdasarkan nilai m/z dan massa molekul presisi menggunakan instrumen LC-HRMS. Analisis profil senyawa metabolit yang terdeteksi pada mode ion positif (ESI+) dapat dilihat pada Gambar 1.



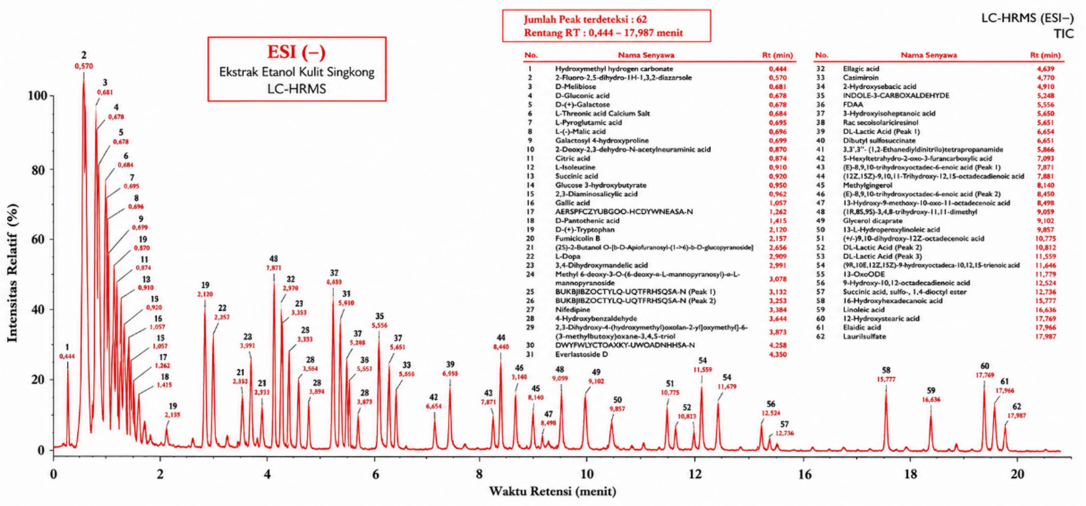
No.	Nama Senyawa	Rt (min)
1	D-Glucose	0,641
2	L-β-(3-hydroxyureido)-alanine	0,642
3	Choline	0,646
4	D-Melibiose	0,647
5	Muramic acid	0,671
6	N-(1-Deoxy-1-fructosyl)threonine	0,676
7	TRIGONELLINE	0,677
8	AERSPFCZVUBGOO-HCDYWNEASA-N	0,683
9	2,2-Dichloropropanoate	0,844
10	Niacin	0,833
11	L-Pyroglatamic acid	0,855
12	Nicotinamide	0,865
13	Adenosine	0,897
14	Malonylcarnitine	1,092
15	Asgergillspin B	3,410

No.	Nama Senyawa	Rt (min)
16	Cromakalim	3,751
17	Scopoletin	4,622
18	9R,10E,12Z,15Z)-9-hydroxyoctadeca-10,12,15-triennic acid	9,684
19	Hexadecylamine (Peak 1)	10,228
20	Dehydrophytosphingosine (Peak 2)	10,449
21	Dehydrophytosphingosine (Peak 1)	10,796
22	Linoleamide	11,074
23	Glycerol monopalmilate	16,744
24	Chromium(III) hydroxide	21,735
25	Diisopropylethylamine	21,746
26	Hexadecylamine (Peak 2)	21,745
27	Hexadecylamine (Peak 3)	21,086
28	Phytosphingosine	21,086
29	Hexadecylamine (Peak 3)*	21,748
30	Hexadecylamine (Peak 3)*	21,086

Gambar 1. Kromatogram LC-HRMS ekstrak etanol kulit singkong pada mode ion positif (ESI+)

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

Analisis profil metabolit ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dilakukan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS). Hasil analisis ekstrak etanol kulit singkong pada mode ion positif (ESI+) menunjukkan 31 puncak utama dengan waktu retensi 0,641–21,748 menit. Sebagian besar senyawa terelusi pada RT kurang dari 1 menit, yang menunjukkan dominasi senyawa bersifat relatif polar, terutama metabolit yang mengandung atom nitrogen seperti alkaloid, turunan vitamin B, nukleosida, dan amina kuarterner. Senyawa dengan persentase tertinggi adalah 2,2-Dichloropropanoate sebesar 3,49%, 1-Oβ-DGlucopyranosyl-Dglucitol sebesar 2,66%, Muramic acid sebesar 2,27%, dan 1-Amino-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-oic acid sebesar 1,82%. Senyawa yang terdeteksi mencakup metabolit primer seperti turunan asam amino, karbohidrat, vitamin, dan nukleosida; metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik/kumarin, dan turunan benzopiran; serta senyawa lipid seperti sphingolipid dan amida asam lemak. Selain itu, terdapat beberapa senyawa lain yang diduga berasal dari proses analisis, seperti Disopropylethylamine yang diklasifikasikan sebagai artifak/pelarut. Analisis profil senyawa metabolit juga terdeteksi pada mode ion negatif (ESI-) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram LC-HRMS ekstrak etanol kulit singkong pada mode ion positif (ESI-)

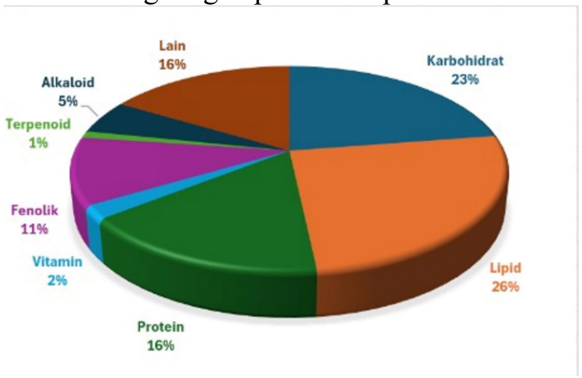
Berdasarkan hasil analisis LC-HRMS mode ionisasi negatif (ESI-), kromatogram menunjukkan sebanyak 65 puncak senyawa yang terdeteksi pada rentang waktu retensi (RT) 0,444–17,987 menit. Senyawa yang terelusi pada awal proses kromatografi memiliki intensitas yang relatif lebih tinggi dibandingkan senyawa lain. Sementara itu, senyawa seperti Scopoletin, Aspergillspin B, Cromakalim, *Dehydrophytosphingosine, Phytosphingosine, Linoleamide*, dan *Hexadecylamine* terdeteksi pada waktu retensi yang lebih panjang dengan kelimpahan relatif yang lebih rendah. Perbedaan tinggi puncak pada kromatogram mencerminkan intensitas ion yang dihasilkan oleh masing-masing senyawa, di mana semakin tinggi puncak yang terbentuk maka semakin besar kelimpahan relatif senyawa tersebut dalam ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.). Senyawa yang terdeteksi meliputi metabolit primer berupa karbohidrat, asam organik, asam amino, asam lemak, glikosida, dan vitamin, serta metabolit sekunder berupa fenolik, polifenol, alkaloid, lignan, terpenoid, dan oksilipin. Senyawa dengan kelimpahan relatif tertinggi adalah Succinic acid, sulfo-, 1,4-dioctyl ester sebesar 6,23%, diikuti D-Melibiose sebesar 2,09%, L-(-)-Malic acid

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

sebesar 1,99%, 9-Hydroxy-10,12-octadecadienoic acid sebesar 0,91%, dan (E)-8,9,10-trihydroxyoctadec-6-enoic acid sebesar 0,74%. Selain itu, ditemukan berbagai metabolit sekunder seperti Gallic acid, Ellagic acid, Indole-3-Carboxaldehyde, Casimiroin, Methylgingerol, dan beberapa senyawa oksilipin, serta senyawa yang dikategorikan sebagai artifak, seperti Dibutyl sulfosuccinate, Succinic acid, sulfo-, 1,4-dioctyl ester, dan laurilsulfate.

Analisis profil metabolit ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) yang mengombinasikan pemisahan kromatografi cair berdasarkan sifat fisikokimia dengan pengukuran massa beresolusi dan berakurasi tinggi. Pemisahan komponen dalam ekstrak menghasilkan kromatogram dengan variasi waktu retensi dan luas area puncak (peak area), yang mencerminkan kelimpahan relatif masing-masing senyawa di dalam sampel (Tuldjanah *et al*., 2024). Kombinasi data waktu retensi, nilai *mass-to-charge* ratio (m/z), massa eksak (*exact mass*), serta pencocokan basis data metabolit membuktikan bahwa LC-HRMS merupakan teknik yang sangat sensitif, efisien, dan andal untuk karakterisasi metabolit tumbuhan secara komprehensif melebihi metode kromatografi atau spektroskopi konvensional (Martha *et al*., 2024).

Mode ionisasi ESI+ dan ESI− berhasil mengidentifikasi total 92 senyawa, yang terdiri atas 30 senyawa pada mode ESI+ dan 62 senyawa pada mode ESI−. Perbedaan ini menunjukkan bahwa karakteristik ionisasi molekul memengaruhi deteksi instrumen, di mana ESI+ cenderung mendeteksi senyawa basa yang mudah menerima proton, sedangkan ESI− lebih optimal mengionisasi senyawa asam seperti asam organik, fenolik, karbohidrat, oksilipin, dan asam lemak. Oleh karena itu, penggunaan kedua mode ionisasi secara bersamaan sangat krusial untuk mencegah terlewatinya senyawa spesifik sekaligus memberikan gambaran profil metabolit yang lebih komprehensif. Persentase senyawa metabolit dalam ekstrak kulit singkong dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Persentase Metabolit Senyawa Terdeteksi

Grafik menunjukkan pengelompokan 92 senyawa yang terdeteksi pada ekstrak etanol kulit singkong berdasarkan golongan senyawanya. Grafik, persentase terbesar adalah lipid 26%, diikuti karbohidrat 23%, protein 16%, senyawa lain 16%, fenolik 11%, alkaloid 5%, vitamin 2%, dan terpenoid 1%. Hasil analisis LC-HRMS berhasil mengidentifikasi 16 metabolit sekunder dengan keanekaragaman struktur yang luas dalam ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.). Di antaranya, teridentifikasi senyawa fenolik sederhana seperti *gallic acid* dan polifenol kompleks *ellagic acid*, yang keduanya memperkuat hasil positif skrining fitokimia golongan fenolik serta berpotensi sebagai antioksidan penangkal stres oksidatif. Keberadaan Scopoletin juga menjadi temuan penting yang mengonfirmasi adanya metabolit sekunder dari kelompok kumarin dengan sistem cincin aromatik terkonjugasi. Selain itu, terdeteksi pula senyawa heterosiklik mengandung nitrogen seperti Aspergillspin B serta senyawa

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

Cromakalim, yang membuktikan tingginya sensitivitas LC-HRMS dalam mendeteksi metabolit minor pada matriks bahan alam yang kompleks.

Ekstrak etanol kulit singkong juga kaya akan kelompok glikosida, seperti 2-Phenylethyl β-primeveroside, Everlastoside D, dan (2S)-2-Butanol O-[β-D-Apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside]. Meskipun kelimpahan metabolit sekunder ini tidak sedominan metabolit primer, perannya sangat krusial dalam mekanisme adaptasi dan pertahanan ekologis tanaman. Secara keseluruhan, temuan ini mengonfirmasi keragaman senyawa bioaktif pada kulit singkong. Namun, potensi aktivitas biologis tersebut belum dapat disimpulkan secara mutlak hanya berdasarkan data LC-HRMS, sehingga diperlukan pengujian aktivitas biologis lanjutan serta konfirmasi struktur untuk memastikan efikasi dan peran spesifik masing-masing senyawa.

Pada hasil dari penelitian ini, keberadaan 16 metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit singkong menunjukkan bahwa selain mengandung metabolit primer dalam jumlah dominan, kulit singkong juga memiliki keragaman senyawa sekunder yang berpotensi memiliki nilai biologis. Meskipun demikian, potensi aktivitas biologis tersebut tidak dapat ditetapkan hanya berdasarkan hasil identifikasi LC-HRMS. Diperlukan pengujian aktivitas biologis atau analisis lebih lanjut untuk memastikan aktivitas serta peran masing-masing senyawa yang teridentifikasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis profil metabolit ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) menggunakan instrumen LC-HRMS, disimpulkan ekstrak etanol kulit singkong memiliki profil senyawa metabolit dengan total 92 senyawa teridentifikasi. Senyawa tersebut terdiri atas 62 metabolit primer (67,39%), 16 metabolit sekunder (17,39%), dan 15 senyawa lainnya (16,30%), dengan proporsi terbesar meliputi kelompok lipid (25,80%), karbohidrat (22,58%), protein (16,12%), fenolik (10,70%), alkaloid (5,32%), vitamin (2,10%), dan terpenoid (1,07%). Dominasi metabolit primer selaras dengan fungsi utamanya dalam metabolisme dasar, pertumbuhan, dan penyimpanan energi tumbuhan, kemampuan pelarut etanol 96% dalam mengekstraksi senyawa dengan rentang kepolaran luas. Temuan ini menegaskan bahwa kulit singkong memiliki potensi besar sebagai sumber metabolit bioaktif untuk diteliti lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, *12*(1), 1.

Aprilyanie, I., Handayani, V., & Syarif, R. A. (2023). Uji toksisitas ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (citrus hystrix dc.) dengan menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Makassar Natural Product Journal (MNPJ)*, 1-9.

Astuti, M. D., Winarti, T. S., & Mustikasari, K. (2017). Isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid dari ekstrak n-heksana daun kelopak tambahan tumbuhan permot (Passiflora foetida).

Jannah, M. (2024). Review Artikel: Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Dari Beberapa Jenis Tanaman. *Makassar Natural Product Journal (MNPJ)*, 23-32.

Kusuma, J., Wahyudi, A., Abdullah, M. K., Hasan, A. Z., Asrowardi, I., & Tahir, M. (2025). Diversity of the non-targeted metabolomic data across various varieties of Cloves (Syzygium spp.). *Data in Brief*, *58*, 111237.

Maheshwaran, L., Nadarajah, L., Senadeera, S. P. N. N., Ranaweera, C. B., Chandana, A. K., & Pathirana, R. N. (2024). Phytochemical testing methodologies and

E-ISSN : 2962-9713
P-ISSN : 2963-928X

principles for preliminary screening/qualitative testing. *Asian Plant Research Journal*, *12*(5), 11-38.

Martha, R. D., Danar, D., Safitri, Y. D., & Parbuntari, H. (2024). Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Jinten (Plectranthus amboinicus) Menggunakan Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) dan Potensinya sebagai Antikanker Secara In-Vitro. *Sainteks*, *21*(1), 67-76.

Meilinda, M., Tutik, T., Yusuf, M., & Amalia, P. (2022). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Bawang Merah (Allium cepa L.). *JFM (Jurnal Farmasi Malahayati)*, *5*(2), 133-143.

Pratiwi, O. (2020). *Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum cristaefolium Menggunakan Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS)* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).

Ramadhan, M. K. S., Permadi, A., & Sulistiawati, E. (2024). Qualitative and Quantitative Analysis of Lecithin Content and Bioactive Chemical Compenents of Corn Oil From Dompu District. *Jurnal Biologi Tropis*, *24*(3), 477-487.

Subagja, I. I., & Tantri, E. (2025). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDIAAN SABUN CAIR DARI EKSTRAK KULIT SINGKONG (Manihot esculenta Crantz). *Jurnal Medika Farmaka*, *3*(2), 318-325.

Syamsul, E. S., Amanda, N. A., & Lestari, D. (2020). Perbandingan ekstrak lamur Aquilaria malaccensis dengan metode maserasi dan refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, *2*(2), 97-104.

Tuldjanah, M., Sasdila, S., Yanuarty, R., Wulandari, A., & Tandi, J. (2024). Determination of secondary metabolite levels in ethanol extract of clove leaves (Syzygium aromaticum L.) using LC-HRMS methods. *Jurnal Biologi Tropis*, *24*(1b), 241-249.