



KONTRAK PELAKSANAAN PROGRAM PENELITIAN TAHAP KEDUA
Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi
TAHUN ANGGARAN 2022
NOMOR : 053/UN8.2/PG/2022

Pada hari ini **Senin** tanggal **6** bulan **Juni** tahun **Dua Ribu Dua Puluh Dua** (06-06-2022), kami yang bertandatangan dibawah ini :

- 1. Prof. Dr. Ir. H. Danang Biyatmoko, M.Si** : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat, dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Universitas Lambung Mangkurat, yang berkedudukan di Jl. Brigjend H. Hasan Basry Banjarmasin, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA;**
- 2. Dr. Apt. Arnida, M.Si** : Dosen Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2022 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA.**

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam Kontrak Pelaksanaan Program Penelitian Tahap Kedua, Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2022 yang selanjutnya disebut Kontrak Penelitian, dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut:

Pasal 1
Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA**, untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2022 dengan judul "Penelusuran Senyawa Bioaktif Antikanker Dari Tumbuhan Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) Sebagai Kandidat Obat Herbal Terstandar (OHT)".

Pasal 2
Dana Penelitian

- (1) Besarnya dana untuk melaksanakan Penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar **Rp. 222.000.000,- (Dua ratus dua puluh dua juta rupiah)** sudah termasuk pajak;

- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi Tahun Anggaran 2022 Nomor SP DIPA-023.17.1.690523/2022 revisi ke-02, tanggal 22 April 2022.

Pasal 3

Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

- (1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
- Pembayaran Tahap Pertama sebesar **Rp. 155.400.000,- (Seratus lima puluh lima juta empat ratus ribu rupiah)**, akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah revisi proposal penelitian dan membuat rancangan pelaksanaan penelitian yang memuat judul penelitian, pendekatan dan metode penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, RAB, tujuan penelitian berupa luaran yang akan dicapai dan Surat Kesanggupan Pelaksanaan dan Penyusunan Laporan Penelitian ke laman BIMA (Basis Informasi Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat) serta menandatangani Kontrak Penelitian TA 2022;
 - Pembayaran Tahap Kedua, **Rp. 66.600.000,- (Enam puluh enam juta enam ratus ribu rupiah)**, dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian, Catatan Harian Pelaksanaan Penelitian, Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan paling lambat tanggal **23 Agustus 2022** ke laman BIMA (Basis Informasi Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat).
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:
- | | |
|----------------|------------------------|
| Nama | : Arnida |
| Nomor Rekening | : 0025127305 |
| Nama Bank | : BNI |
| NPWP | : 15.064.401.1-732.000 |
- (3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data penelitian, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4

Jangka Waktu

PIHAK KEDUA harus menyelesaikan seluruh pekerjaan yang dibuktikan dengan pengunggahan pada laman (*website*) BIMA (Basis Informasi Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat).

- Catatan harian, laporan kemajuan pelaksanaan penelitian dan Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB) paling lambat tanggal **23 Agustus 2022**;
- Laporan akhir, capaian hasil, Poster, artikel ilmiah, profile dan luaran penelitian pada tanggal **25 November 2022**.

Pasal 5
Luaran Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian;
- (2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian;
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA**;
- (4) Serah terima luaran penelitian dari **PIHAK KEDUA** kepada **PIHAK KEDUA** disertai Berita Acara Serah Terima (BAST).

Pasal 6
Hak dan Kewajiban Para Pihak

- (1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
 - a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** luaran penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 5;
 - b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3.
- (2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
 - a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1);
 - b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** luaran Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi dengan judul Penelusuran Senyawa Bioaktif Antikanker Dari Tumbuhan Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) Sebagai Kandidat Obat Herbal Terstandar (OHT) dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
 - c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;
 - d. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** laporan penggunaan dana;
 - e. **PIHAK KEDUA** berkewajiban mencantumkan pemberi dana penelitian dalam Publikasi Ilmiah, Makalah, dan/atau Ekspos dalam bentuk apapun yang berkaitan dengan hasil penelitian ini;
 - f. Materai dan biaya lainnya yang berkaitan dengan Kontrak Penelitian ini menjadi beban **PIHAK KEDUA** sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Pasal 7
Laporan Pelaksanaan Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa laporan kemajuan, BCHP, laporan akhir, luaran penelitian dan laporan penggunaan anggaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA** yang tersusun secara sistematis sesuai pedoman yang ditentukan oleh **PIHAK PERTAMA**;
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Kemajuan, SPTB atas dana penelitian yang telah ditetapkan dan Buku Catatan Harian Penelitian yang telah dilaksanakan ke SIMLITABMAS paling lambat **23 Agustus 2022**;

- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* Laporan Kemajuan, BCHP dan SPTB kepada **PIHAK PERTAMA**, paling lambat **23 September 2022**;
- (4) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Akhir, capaian hasil, Poster, artikel ilmiah, profil dan luaran penelitian pada BIMA paling lambat **25 November 2022**;
- (5) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* Laporan Akhir, Capaian Hasil, Poster, Artikel Ilmiah, Profil dan Laporan Penggunaan Anggaran 100% kepada **PIHAK PERTAMA**, paling lambat **23 November 2022**;
- (6) Laporan hasil Penelitian sebagaimana tersebut pada ayat (4) ditulis dalam format font Times New Romans ukuran 12 spasi 1,5 kertas A4 pada bagian bawah sampul (cover) ditulis :

Dibiayai oleh:

Direktorat Riset, Teknologi, Dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi
Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi sesuai dengan
Kontrak Pelaksanaan Program Penelitian Tahun Anggaran 2022 Tahap Kedua
Nomor : 218/E5/PG.02.00.PT/2022

- (7) *Softcopy* laporan hasil program penelitian sebagaimana tersebut pada ayat (5) harus diunggah ke laman (*website*) BIMA sedangkan *hardcopy* harus disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 8

Monitoring dan Evaluasi

- (1) **PIHAK PERTAMA** dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2022 ini sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Riset, Teknologi, Dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi;
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak hadir dalam kegiatan Pemonitoran dan Evaluasi tanpa pemberitahuan sebelumnya, maka **PIHAK KEDUA** tidak berhak menerima sisa dana tahap kedua.

Pasal 9

Penilaian Luaran

1. Penilaian luaran penelitian dilakukan oleh Komite Penilai/*Reviewer* Luaran sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
2. Apabila dalam penilaian luaran terdapat luaran tambahan yang tidak tercapai maka dana tambahan yang sudah diterima oleh peneliti harus disetorkan kembali ke kas negara.

Pasal 10
Perubahan Susunan Tim Pelaksana dan Substansi Pelaksanaan

Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi pelaksanaan Penelitian ini dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan tertulis dari Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi.

Pasal 11
Penggantian Ketua Pelaksana

- (1) Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib mengusulkan pengganti ketua pelaksana yang merupakan salah satu anggota tim kepada **PIHAK PERTAMA**;
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas dan tidak ada pengganti ketua sebagaimana dimaksud pada ayat (1), maka penelitian dibatalkan dan **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan dana penelitian kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya disetor ke Kas Negara;
- (3) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (2) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 12
Kesanggupan Pelaksanaan Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab penuh untuk menyelesaikan penelitian serta mengunggah laporan kemajuan dan laporan akhir penelitian sebagaimana diatur dalam Pasal 7;
- (2) Surat pernyataan kesanggupan pelaksanaan dan penyusunan laporan penelitian sebagaimana tersebut pada ayat (1) harus diunggah ke laman (*website*) BIMA.

Pasal 13
Sanksi

- (1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Penelitian ini telah berakhir, namun **PIHAK KEDUA** belum menyelesaikan tugasnya, terlambat mengirim Laporan Kemajuan, dan/atau terlambat mengirim Laporan Akhir, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi administratif berupa penghentian pembayaran dan tidak dapat mengajukan proposal penelitian dalam kurun waktu dua tahun berturut-turut;
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat mencapai target luaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 5, maka kekurangan capaian target luaran tersebut akan dicatat sebagai hutang **PIHAK KEDUA** kepada **PIHAK PERTAMA** yang apabila tidak dapat dilunasi oleh **PIHAK KEDUA**, akan berdampak pada kesempatan **PIHAK KEDUA** untuk mendapatkan pendanaan penelitian atau hibah lainnya yang dikelola oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 14
Pembatalan Perjanjian

- (1) Apabila dikemudian hari terhadap judul Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran, itikad tidak baik, dan/atau perbuatan yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah dari atau dilakukan oleh **PIHAK KEDUA**, maka perjanjian Penelitian ini dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** dikenai sanksi administratif serta wajib mengembalikan dana penelitian yang telah diterima kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya akan disetor ke Kas Negara;
- (2) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 15
Pajak-Pajak

PIHAK KEDUA wajib menyetor pajak ke kantor pelayanan pajak setempat yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa :

1. Pembelian barang dan jasa dikenai PPN sebesar 10% dan PPh 22 sebesar 1,5%
2. Pajak – pajak lain sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 16
Peralatan Dan/Alat Hasil Penelitian

Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas Lambung Mangkurat melalui Berita Acara Serah Terima (BAST).

Pasal 17
Penyelesaian Sengketa

Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat, dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses hukum.

Pasal 18
Lain-lain

- (1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri;
- (2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

Perjanjian ini dibuat dan ditandatangani oleh PARA PIHAK pada hari dan tanggal tersebut di atas, dibuat dalam rangkap 2 (dua) dan bermeterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, yang masing-masing mempunyai kekuatan hukum yang sama.

PIHAK PERTAMA



Prof. Dr. Ir. H. Danang Biyatmoko, M.Si
NIDN 0007055814

PIHAK KEDUA

Dr. Apt. Arnida, M.Si
NIDN 0025127305



MENGETAHUI
Dekan Fakultas MIPA
Universitas Lambung Mangkurat

Drs. Abdul Gafur, M.Sc., Phd
NIDN. 0002026704



Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Gedung BPPT II Lantai 19, Jl. MH. Thamrin No. 8 Jakarta Pusat
<https://simlitabmas.ristekdikti.go.id/>

PROTEKSI ISI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN AKHIR PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: 8331c723-b50f-428b-9db1-3723ddb869f
laporan akhir Penelitian: tahun ke-1 dari 2 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Penelusuran Senyawa Bioaktif Antikanker Dari Tumbuhan Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) Sebagai Kandidat Obat Herbal Terstandar (OHT)

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

| Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi | Tema | Topik (jika ada) | Rumpun Bidang Ilmu |
|--|------|----------------------------|--------------------|
| Kesehatan | - | Kesehatan dan Obat Tropika | Biologi Farmasi |

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

| Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan) | Skema Penelitian | Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan) | SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan) | Target Akhir TKT | Lama Penelitian (Tahun) |
|---|------------------|---------------------------------------|------------------------------------|------------------|-------------------------|
| Penelitian Desentralisasi | | | SBK Riset Dasar | 3 | 2 |

2. IDENTITAS PENGUSUL

| Nama (Peran) | Perguruan Tinggi/ Institusi | Program Studi/ Bagian | Bidang Tugas | ID Sinta | H-Index |
|---------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|---|----------|---------|
| DESTRIA INDAH SARI - Anggota Pengusul | Universitas Lambung Mangkurat | Farmasi | melaksanakan rangkaian penelitian bersama-sama ketua peneliti dan tim (mahasiswa, teknisi); sebagai PIC | 6020216 | 0 |

| | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------|---------|---|---------|---|
| | | | kegiatan sub penelitian: Uji Aktivitas sitotoksik dan antioksidan KLT dari Fraksi-fraksi, Uji aktivitas antioksidan KLT dari isolat-isolat yang diperoleh dan KLT dari isolat, Analisis data dan identifikasi data, Pembuatan Laporan, Publikasi (seminar dan artikel ilmiah), Pembuatan Buku Referensi | | |
| ARNIDA - Ketua Pengusul | Universitas Lambung Mangkurat | Farmasi | Mengkoordinir semua kegiatan penelitian dan membagi tugas kepada tim peneliti, sebagai PIC pada sub kegiatan: Pengambilan Bahan, Determinasi Bahan, Ekstraksi, Fraksinasi, Isolasi tanaman yang memiliki aktivitas sitotoksik paling kuat, Rekristalisasi, Elusidasi struktur dan analisisnya | 52714 | 5 |
| DINA RAHMAWANTY - Anggota Pengusul | Universitas Lambung Mangkurat | Farmasi | Melaksanakan semua kegiatan penelitian bersama-sama dengan tim, sebagai PIC pada sub kegiatan penelitian: Standardisasi, Uji kemurnian, Publikasi di jurnal Internasional. | 6657857 | 0 |

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

| Mitra | Nama Mitra |
|-------|------------|
|-------|------------|

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

| Tahun Luaran | Jenis Luaran | Status target capaian (accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya) | Keterangan (url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya) |
|--------------|--|--|---|
| 1 | Artikel di Jurnal Internasional Terindeks di Pengindeks Bereputasi | Submitted | Journal of Herbmmed Pharmacology |

| | | | |
|---|--|--|---------------|
| 2 | Artikel di Jurnal Internasional Terindeks di Pengindeks Bereputasi | | Phytomedicine |
|---|--|--|---------------|

Luaran Tambahan

| Tahun Luaran | Jenis Luaran | Status target capaian (accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya) | Keterangan (url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya) |
|--------------|----------------|--|---|
| 1 | Buku referensi | Editing | IRDH |
| 1 | Buku referensi | Review | IRDH |
| 2 | Buku referensi | | IRDH |

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat

Total RAB 2 Tahun Rp. 222.000.000

Tahun 1 Total Rp. 222.000.000

| Jenis Pembelanjaan | Komponen | Item | Satuan | Vol. | Biaya Satuan | Total |
|--|--------------------------------|------|--------|------|--------------|-------------|
| Bahan | ATK | - | Paket | 4 | 475.000 | 1.900.000 |
| Bahan | Bahan Penelitian (Habis Pakai) | - | Unit | 47 | 2.727.600 | 128.197.200 |
| Bahan | Barang Persediaan | - | Unit | 2 | 2.000.000 | 4.000.000 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Biaya seminar internasional | - | Paket | 0 | 0 | 0 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Biaya seminar nasional | - | Paket | 5 | 3.972.000 | 19.860.000 |
| Analisis Data | Biaya analisis sampel | - | Unit | 0 | 0 | 0 |
| Analisis Data | Honorarium narasumber | - | OJ | 0 | 0 | 0 |
| Pengumpulan Data | HR Pembantu Lapangan | - | OH | 5 | 200.000 | 1.000.000 |
| Pengumpulan Data | HR Pembantu Peneliti | - | OJ | 5 | 3.783.000 | 18.915.000 |

| | | | | | | |
|---|--|---|-------------------|----|-----------|------------|
| Analisis Data | HR Pengolah Data | - | P (penelitian) | 0 | 0 | 0 |
| Pengumpulan Data | HR Petugas Survei | - | OH/OR | 0 | 0 | 0 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | HR Sekretariat/ Administrasi Peneliti | - | OB | 10 | 110.000 | 1.100.000 |
| Pengumpulan Data | Biaya konsumsi | - | OH | 5 | 50.000 | 250.000 |
| Analisis Data | HR Sekretariat/ Administrasi Peneliti | - | OB | 0 | 0 | 0 |
| Analisis Data | Biaya konsumsi rapat | - | OH | 0 | 0 | 0 |
| Sewa Peralatan | Kebun Percobaan | - | Unit | 0 | 0 | 0 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Biaya konsumsi rapat | - | OH | 40 | 50.000 | 2.000.000 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Biaya Luaran Iptek lainnya (purwa rupa, TTG dll) | - | Paket | 0 | 0 | 0 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Luaran KI (paten, hak cipta dll) | - | Paket | 2 | 3.150.000 | 6.300.000 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional | - | Paket | 0 | 0 | 0 |
| Sewa Peralatan | Obyek penelitian | - | Unit | 0 | 0 | 0 |
| Pengumpulan Data | FGD persiapan penelitian | - | Paket | 10 | 495.000 | 4.950.000 |
| Analisis Data | Penginapan | - | OH | 0 | 0 | 0 |
| Pengumpulan Data | Penginapan | - | OH | 3 | 500.000 | 1.500.000 |
| Analisis Data | Tiket | - | OK (kali) | 0 | 0 | 0 |
| Sewa Peralatan | Peralatan penelitian | - | Unit | 8 | 1.665.975 | 13.327.800 |
| Pengumpulan Data | Tiket | - | OK (kali) | 0 | 0 | 0 |
| Pengumpulan Data | Transport | - | OK (kali) | 0 | 0 | 0 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Publikasi artikel di Jurnal Internasional | - | Paket | 2 | 6.050.000 | 12.100.000 |
| Analisis Data | Transport Lokal | - | OK (kali) | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | |
|--|-----------------------------------|---|-----------|---|---------|-----------|
| Sewa Peralatan | Ruang penunjang penelitian | - | Unit | 0 | 0 | 0 |
| Sewa Peralatan | Transport penelitian | - | OK (kali) | 0 | 0 | 0 |
| Pengumpulan Data | Uang Harian | - | OH | 3 | 200.000 | 600.000 |
| Analisis Data | Uang Harian | - | OH | 6 | 500.000 | 3.000.000 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Uang harian rapat di dalam kantor | - | OH | 3 | 500.000 | 1.500.000 |
| Pengumpulan Data | Uang harian rapat di luar kantor | - | OH | 0 | 0 | 0 |
| Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan | Uang harian rapat di luar kantor | - | OH | 3 | 500.000 | 1.500.000 |

Tahun 2 Total Rp. 0

| Jenis Pembelanjaan | Komponen | Item | Satuan | Vol. | Biaya Satuan | Total |
|--------------------|----------|------|--------|------|--------------|-------|
|--------------------|----------|------|--------|------|--------------|-------|

Tahun 3 Total Rp. 0

| Jenis Pembelanjaan | Komponen | Item | Satuan | Vol. | Biaya Satuan | Total |
|--------------------|----------|------|--------|------|--------------|-------|
|--------------------|----------|------|--------|------|--------------|-------|

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN

Tahun pertama penelitian diawali dengan uji farmakonostik, ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi serta yang dibarengi dengan uji aktivitas antikanker in vitro yaitu pada setiap tahapnya. Aktivitas in vitro dilakukan dengan uji antioksidan metode DPPH dan uji sitotoksitas metode MTT. Luaran yang diharapkan adalah publikasi Internasional bereputasi dan buku literatur dengan judul 'Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala', pemakalah dalam temu ilmiah nasional/internasional.

Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) merupakan salah satu tumbuhan asal Kalimantan Tengah. Tumbuhan ini sudah digunakan secara turun temurun oleh masyarakat Palangkaraya sebagai antikanker, obat disentri, obat pegal, dan obat luka. Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri kandungan fitokimia, menentukan kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak etanol batang *S. littoralis* sehingga pada tahun kedua diperoleh data antikanker dan ditetapkan struktur senyawa kimia yang bertanggung jawab pada aktivitas antikanker tersebut. Identifikasi kandungan fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode uji tabung dan GCMS. Penetapan kadar flavonoid total ditentukan dengan metode kolorimetri dengan menggunakan standar kuarsetin menggunakan reagen $AlCl_3$ 10% dan asam asetat 5%. Uji aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode DPPH. Hasil identifikasi pada serbuk dan ekstrak etanol batang *S. littoralis* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, saponin, dan tanin. Identifikasi menggunakan GCMS menunjukkan 34 peak, senyawa

kimia yang dominan adalah squalene, resorcinol, batulinolaldehid, dan heksadecanoic acid-methyl ester. Kadar flavonoid total ekstrak etanol batang *S. littoralis* $3,3903 \pm 0,0048$ % b/b ekuivalen kuarsetin. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang *S. littoralis* diperoleh nilai IC₅₀ $7,396 \pm 0,04$ ppm. Oleh karena itu, berdasarkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol batang *S. littoralis* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori yang sangat kuat. Uji sitotoksik (uji antikanker in vitro) terhadap ekstrak etanol dan fraksi heksana dan fraksi etil asetat diperoleh nilai IC₅₀ berturut-turut adalah $670 \times 0,2$; $16,88 \times 0,5$; dan $35,16 \times 0,3$ bahwa nilai IC₅₀ yang paling kecil diantaranya adalah fraksi n-heksana memiliki nilai IC₅₀ yang paling kecil yaitu $16,88 \times 0,3 \mu\text{g/mL}$. yang berarti termasuk dalam kategori aktif terhadap penghambatan sel kanker T47D. Isolasi senyawa juga dilakukan sebagai orientasi untuk Elusidasi Struktur pada penelitian tahun selanjutnya (TAHUN Ke-2). Luaran dari penelitian ini adalah Publikasi Internasional bereputasi: pada *Rasayan Journal of Chemistry* (Scopus Q2, SJR tahun 2021: 0.33), Status Revisi; Buku literatur dengan judul 'Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala'; Pemakalah dalam temu Ilmiah Internasional pada The 1st ICMP will be held virtually on Friday-Saturday, 21st-22nd October 2022, status Terlaksana; dan Pemakalah dalam temu Ilmiah Internasional pada The 1st ICOMES Offline Jumat-Sabtu, 11-12 November 2022, status Terlaksana.

B. KATA KUNCI

Spatholobus littoralis Hassk; Flavonoid; antikanker, antioksidan

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

RINGKASAN

Tahun pertama penelitian diawali dengan uji farmakonostik, ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi serta yang dibarengi dengan uji aktivitas antikanker *in vitro* yaitu pada setiap tahapnya. Aktivitas *in vitro* dilakukan dengan uji antioksidan metode DPPH dan uji sitotoksitas metode MTT. Luaran yang diharapkan adalah publikasi Internasional bereputasi dan buku literatur dengan judul 'Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala', pemakalah dalam temu ilmiah nasional/internasional.

Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) merupakan salah satu tumbuhan asal Kalimantan Tengah. Tumbuhan ini sudah digunakan secara turun temurun oleh masyarakat Palangkaraya sebagai antikanker, obat disentri, obat pegal, dan obat luka. Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri kandungan fitokimia, menentukan kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak etanol batang *S. littoralis* sehingga pada tahun kedua diperoleh data antikanker dan ditetapkan struktur senyawa kimia yang bertanggung jawab pada aktivitas antikanker tersebut. Identifikasi kandungan fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode uji tabung dan GCMS. Penetapan kadar flavonoid total ditentukan dengan metode kolorimetri dengan menggunakan standar kuarsetin menggunakan reagen $AlCl_3$ 10% dan asam asetat 5%. Uji aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode DPPH. Hasil identifikasi pada serbuk dan ekstrak etanol batang *S. littoralis* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, saponin, dan tanin. Identifikasi menggunakan GCMS menunjukkan 34 peak, senyawa kimia yang dominan adalah squalene, resorcinol, batulinaldehid, dan hexadecanoic acid-methyl ester. Kadar flavonoid total ekstrak etanol batang *S. littoralis* $3,3903 \pm 0,0048$ % b/b ekuivalen kuarsetin. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang *S. littoralis* diperoleh nilai IC_{50} $7,396 \pm 0,04$ ppm. Oleh karena itu, berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak etanol batang *S. littoralis* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori yang sangat kuat. Uji sitotoksik (uji antikanker *in vitro*) terhadap ekstrak etanol dan fraksi heksana dan fraksi etil asetat diperoleh nilai IC_{50} berturut-turut adalah $670 \pm 0,2$; $16,88 \pm 0,5$; dan $35,16 \pm 0,3$ bahwa nilai IC_{50} yang paling kecil diantaranya adalah fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil yaitu $16,88 \pm 0,3$ $\mu g/mL$. yang berarti termasuk dalam kategori aktif terhadap penghambatan sel kanker T47D. Isolasi senyawa juga dilakukan sebagai orientasi untuk Elusidasi Struktur pada penelitian tahun selanjutnya (TAHUN Ke-2). Luaran dari penelitian ini adalah Publikasi Internasional bereputasi: pada *Rasayan Journal of Chemistry* (Scopus Q2, SJR tahun 2021: 0.33), **Status Revisi**; Buku literatur dengan judul 'Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala'; Pemakalah dalam temu Ilmiah Internasional pada The 1st ICMP will be held virtually on Friday-Saturday, 21st-22nd October 2022, status Terlaksana; dan Pemakalah dalam temu Ilmiah Internasional pada The 1st ICOMES Offline Jumat-Sabtu, 11-12 November 2022, status Terlaksana.

Key Word: Bajakah; *Spatholobus littoralis* Hassk.; Flavonoid; antikanker, antioksidan

BAGIAN 1. HASIL UJI FARMAKOLOGISTIK

1. Determinasi Tanaman

Tanaman *Spatholobus littoralis* Hassk. yang diperoleh dari Desa Taniran Kecamatan Benua Lima, Kabupaten Barito Timur, Provinsi Kalimantan Tengah dilakukan determinasi agar memastikan bahwa bahan yang digunakan benar-benar *Spatholobus littoralis* Hassk. dengan mencocokkan morfologi tumbuhan dengan data pustaka. Determinasi dilakukan di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *Spatholobus littoralis* Hassk dan termasuk famili Fabaceae.

2. Pembuatan Serbuk Batang Tanaman Bajakah Tampala

Tanaman bajakah tampala yang masih segar dan utuh ditimbang sebanyak 5 kg disortasi dan dicuci bersih dengan air mengalir, guna menghilangkan pengotor yang menempel pada batang. Tanaman bajakah tampala yang telah bersih kemudian diserut menjadi bagian-bagian kecil dan tipis dan dikeringkan dengan meletakan pada wadah dan dikering anginkan di bawah sinar matahari mulai dari jam 6 hingga 10 pagi, ini dilakukan guna menghindari senyawa yang tidak tahan pemanasan menguap dan mengurangi kadar senyawa dalam batang, pengeringan dilakukan selama 5 hari (Dharma *et al.*, 2020).

Tanaman yang kering ditandai dengan simplisia yang kaku, mudah untuk patah, dan berbunyi jika dipatahkan. Selanjutnya simplisia yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk, penyerbukan dilakukan agar memperluas permukaan simplisia sehingga kontak antara simplisia dengan pelarut menjadi lebih besar (Salamah *et al.*, 2017). Serbuk simplisia batang bajakah tampala kemudian diayak menggunakan mesh 16, guna untuk memperluas permukaan sampel sehingga kontak antara sampel dengan pelarut saat proses ekstraksi akan lebih besar (Maryam *et al.*, 2020).

Pengayakan adalah suatu proses pemisahan bahan berdasarkan ukuran kawat dari ayakan. Sampel yang memiliki ukuran lebih kecil dari diameter mesin akan lolos dan sampel yang memiliki ukuran lebih besar akan tertahan pada permukaan kawat dari ayakan. Sampel yang lolos dari lubang ayakan memiliki ukuran yang seragam (Suharto, 1991). Hasil dari pembuatan serbuk batang bajakah tampala yaitu serbuk sebanyak 500 gram dari 1 kg sampel basah batang bajakah tampala. Serbuk yang diperoleh berupa serbuk halus berwarna coklat tua, berbau khas batang, dan rasa kelat.



Gambar 2. serbuk batang bajakah tampala

3. Ekstraksi Batang Tanaman Bajakah Tampala

Ekstrak etanol batang bajakah tampala yang diperoleh dari 100 gram serbuk bajakah tampala yang dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 5 liter, kemudian dilakukan pengadukan tiap 6 jam. Tujuan pengadukan adalah untuk mencapai keadaan setimbang dan mencegah kejenuhan agar zat aktif yang ada pada simplisia dapat tersari sempurna dalam cairan penyari. Penggunaan pelarut etanol 70% dikarenakan kepolaran dari pelarut tersebut, sehingga senyawa yang bersifat lebih polar akan terlarut lebih banyak dalam etanol 70% misalkan senyawa flavonoid (Riwanti *et al*, 2020).

Proses maserasi dilakukan selama tiga hari dan dilanjutkan dengan remaserasi selama dua hari. Remaserasi merupakan suatu proses perendaman kembali serbuk daun papaya menggunakan pelarut baru. Remaserasi dilakukan dengan tujuan untuk menarik senyawa yang kemungkinan masih tertinggal selama proses maserasi (Voigt, 1994). Hasil dari proses maserasi kemudian digabung dan diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 55°C hingga diperoleh ekstrak kental. Penguapan dengan suhu 55°C dilakukan untuk menghindari kerusakan pada ekstrak akibat suhu yang terlalu tinggi (Chairunnisa *et al*, 2019). Ekstrak kental yang diperoleh setelah diuapkan adalah sebesar 55,18 gram, selanjutnya dihitung rendemen ekstrak dalam bentuk persen dengan membagi berat yang didapat terhadap berat yang digunakan untuk proses maserasi. Rendemen ekstrak etanol batang bajakah tampala yang diperoleh sebesar 11,03 %.

Tabel 1. Hasil ekstraksi serbuk batang *S. littoralis* Hassk

| Keterangan | Jumlah |
|------------------------|--------|
| Bobot simplisia (gram) | 500 |
| Bobot ekstrak (gram) | 55,18 |
| Rendemen ekstrak (%) | 11,03 |

4. Uji Makroskopis

Pemeriksaan Makroskopis diperoleh hasil yakni batang bajakah tampala merupakan tumbuhan merambat yang mempunyai ukuran yang cukup besar dengan warna coklat pada bagian permukaan kulit batang serta struktur kulit yang agak kasar, bagian dalam batang bajakah tampala berwarna coklat serta memiliki inti berwarna colat kemerahan dengan struktur berpori dan berserat. Batang bajakah tampala memiliki pori dengan getah yang berwarna merah. Daun bajakah tampala berbentuk menyirip dengan akar tunggal dengan anak-anak akar yang menyebar. Pengamatan morfologi dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 2. Pengamatan morfologi batang bajakah tampala secara makroskopis

| Identifikasi Morfologi Batang Secara Makroskopik | |
|--|----------------------|
| Panjang | >50 meter |
| Lebar | 4-5 meter |
| Bentuk Batang | Berpori dan berserat |
| Warna Batang | Coklat tua |



Gambar 3. Batang Bajakah Tampala **Gambar 4.** Potongan melintang Batang Bajakah Tampala

Uji organoleptis dibutuhkan untuk mengenal karakteristik tumbuhan melalui indra. Cara kerja uji organoleptik diawali dengan pengambilan haksel dan serbuk, kemudian kedua sampel diamati dengan menguji bau, rasa dan warna sampel bajakah tampala. Hasil yang diperoleh dapat diperhatikan dengan tabel dibawah ini :

Tabel 3. Hasil pengamatan organoleptis serbuk dan haksel bajakah tampala

| Nama Bahan | Bentuk Fisik | Organoleptis | | |
|---|--|--------------|-------------|---|
| | | Warna | Bau | Rasa |
| Serbuk batang bajakah tampala (<i>Spatholobus littoralis</i> Hassk.) | Lembut, tidak ada terlihat serat | Coklat tua | Khas batang | kelat |
| Haksel batang bajakah tampala (<i>Spatholobus littoralis</i> Hassk.) | Tipis, kering, berpori, dan memiliki inti di tengah batang | Coklat tua | Khas batang | Kelat, sedikit pahit, dan meninggalkan bekas pada lidah |



Gambar 5. serbuk dan haksel batang bajakah tampala

5. Uji Kuantitatif Parameter Non Spesifik Bahan Baku Obat

Pemeriksaan kuantitatif simplisia meliputi pemeriksaan penetapan kadar air, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam (Depkes RI, 2000).

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Kuantitatif

| Parameter | Hasil | Standar Persyaratan |
|----------------------------|-------|---------------------|
| Kadar air | 9,4% | $\leq 10\%$ |
| Susut Pengeringan | 9% | $\leq 10\%$ |
| Kadar abu total | 1,6% | $\leq 2\%$ |
| Kadar abu tidak larut asam | 0,3% | $\leq 0,5\%$ |
| Cemaran logam | | Pb (0,3 mg/kg) |
| | | Cd (10 mg/kg) |
| | | Hg (0,3 mg/kg) |

5.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air merupakan pengukuran kandungan air pada simplisia yang telah diserbukkan. Tujuan penetapan kadar air yakni memberikan batasan minimal rentang kandungan air di dalam serbuk simplisia, karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia (Adawiyah, 2017). Penelitian dilakukan dengan mengeringkan simplisia menggunakan oven dengan suhu 105°C hingga bobot konstan, hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebesar 9,4%. Hasil ini sesuai dengan parameter standar yaitu $\leq 10\%$, karena jika kadar air lebih dari 10% maka menyebabkan simplisia mudah ditumbuhi mikroba dan jamur yang dapat menurunkan mutu simplisia (BPOM RI, 2014).

5.2 Penetapan Susut Pengeringan

Susut pengeringan bertujuan untuk memberikan rentang tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan dan memberikan persentase senyawa yang mudah menguap atau menghilang selama proses pemanasan berupa air ataupun senyawa menguap lain, misalnya minyak atsiri dan sisa pelarut organik. Parameter susut pengeringan pada dasarnya adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen (Depkes RI, 2000). Hasil dari uji susut pengeringan batang bajakah tampala diperoleh hasil sebesar 9%. Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan standar susut pengeringan simplisia yaitu $\leq 10\%$

(Depkes RI, 2000).

5.3 Penetapan Kadar Abu

Kadar abu dari suatu bahan biasanya menunjukkan kadar mineral, kemurnian, serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Kandungan abu dapat digunakan untuk memperkirakan kandungan dan keaslian bahan yang digunakan. (Utami *et al.*, 2020).

a) Penetapan Kadar Abu Total

Kadar abu total dilakukan untuk menunjukkan jumlah mineral total yang terkandung dalam suatu sampel. Pengabuan dilakukan pada suhu 600-800°C dengan tujuan untuk mengetahui seberapa banyak komponen mineral yang tertinggal. Proses analisis kadar abu dilakukan selama beberapa jam dengan tujuan untuk mendapatkan hasil pengabuan yang sempurna. Pengabuan yang sempurna ditandai dengan adanya perubahan bentuk sampel menjadi abu dan warnanya menjadi warna putih keabu-abuan (AOAC, 2005). Hasil kadar abu total dari batang bajakah tampala adalah sebesar 1,6%. Menurut Farmakope Herbal II (2017) yang menetapkan kadar abu total tidak lebih dari 2%, Kandungan mineral pada tiap tumbuhan berbeda-beda, hal ini tergantung pada beberapa faktor yaitu genetik, agricultural, variasi pada kandungan mineral dalam tanah, penggemukan tanah dan pH, serta faktor lingkungan dan kematangan lahan. Tingginya kadar abu menunjukkan tingginya kandungan mineral internal di dalam simplisia. Semakin tinggi kadar abu yang diperoleh maka kandungan mineral dalam bahan juga semakin tinggi (Utami *et al.*, 2020).

b) Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Kadar abu tidak larut asam mencerminkan adanya kontaminasi mineral atau logam yang tidak larut asam dalam suatu simplisia. Tujuan dilakukan uji kadar abu tidak larut asam untuk adalah untuk mengetahui jumlah kadar abu yang diperoleh dari faktor eksternal, berasal dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah (Depkes RI, 2000). Penambahan HCl pada pengujian digunakan untuk melarutkan bagian senyawa yang larut pada asam sehingga hanya senyawa-senyawa yang tidak larut dalam asam yang tertinggal, tujuan pembilasan menggunakan air panas dilakukan agar asam yang masih tertinggal larut dan tidak mengganggu dalam uji. Tingginya kadar abu tidak larut dalam asam menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, tanah dan unsur logam perak, timbal, dan merkuri (Utami *et al.*, 2020). Hasil yang diperoleh dari pengujian kadar abu tidak larut asam batang bajakah tampala yaitu sebesar 0,3%. Menurut Farmakope Herbal II (2017) yang menetapkan kadar abu total tidak lebih dari 0,5%, kandungan mineral pada tiap tumbuhan berbeda-beda, hal ini tergantung pada beberapa faktor yaitu genetik, agricultural, variasi pada kandungan mineral dalam tanah, penggemukan tanah dan pH, serta faktor lingkungan dan kematangan lahan.

5.4 Penetapan Kadar Cemar Logam (Pb, Cd, dan Hg)

Penetapan kadar cemaran logam dilakukan dengan metode destruksi basah, yaitu proses perombakan logam organik menggunakan asam kuat baik tunggal maupun campuran lalu dioksidasi menggunakan zat oksidator sehingga menghasilkan logam anorganik bebas (Raimon, 1993). Metode destruksi basah biasanya menggunakan asam-asam kuat seperti asam nitrat (HNO_3), asam sulfat (H_2SO_4), dan asam klorida (HCl) (Mulyani, 2007). Pengukuran cemaran logam dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom (SSA), dimana prinsip dari spektrofotometri serapan atom adalah interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan atom. Metode spektrofotometri serapan atom sangat cocok dengan zat yang memiliki konsentrasi yang rendah (Khopkar, 1990).

Penggunaan HNO_3 dan HClO_4 digunakan sebagai senyawa untuk pengoksidasi. Asam nitrat (HNO_3) berfungsi sebagai pengoksidasi pertama karena sifat logam berat seperti Pb, Cd, dan Hg yang dapat larut dalam HNO_3 . Fungsi dari asam perklorik HClO_4 digunakan untuk membantu memaksimalkan HNO_3 dalam menguraikan senyawa logam dalam sampel batang kayu bajakah tampala, penambahan langsung HClO_4 setelah HNO_3 sebelum pemanasan dilakukan agar

mengurangi ledakan apabila ditambahkan ketika dipanaskan (Mulyani, 2007). Hasil penelitian cemaran logam berat pada simplisia batang kayu bajakah tampala yang dilakukan di Balai Riset dan Standarisasi dapat dilihat dalam tabel dibawah ini.

Tabel 5. Hasil Penetapan Cemaran Logam

| No | Parameter Uji | Satuan | Hasil Uji | Persyaratan Mutu Simplisia (BPOM RI, 2014) |
|----|---------------|--------|-----------|--|
| 1 | kadmium (Cd) | mg/Kg | < 0,001 | ≤ 0,3 |
| 2 | Timbal (Pb) | mg/Kg | 7,269 | ≤ 10 |
| 3 | Merkuri (Hg) | mg/Kg | 0,003 | ≤ 0,5 |

Hasil yang diperoleh pada cemaran logam simplisia batang bajakah tampala dari Desa Taniran, Kalimantan tengah yaitu kadmium sebesar < 0,001 mg/Kg, timbal sebesar 7,269, serta merkuri sebesar 0,003 memenuhi persyaratan mutu simplisia karena hasil yang diperoleh kurang dari standar yang ditetapkan (BPOM RI, 2014). Cemaran logam berat dapat terjadi akibat beberapa faktor yaitu polusi udara, air yang telah tercemar logam, pupuk dan media tanaman berupa tanah. Faktor dari tanah dan air dapat menyebabkan cemaran logam dikarenakan Pb yang banyak terdapat pada batuan granit dan Cd yang banyak terdapat pada batuan sedimen schales.

6. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam tanaman. Skrining Fitokimia meliputi analisis kandungan senyawa dalam tumbuhan yang berkhasiat. Kandungan senyawa metabolit yang aktif di dalam tumbuhan antara lain, alkaloid, senyawa fenol, saponin, minyak atsiri, dan senyawa-senyawa lainnya (Handayani & Novaryatin, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Saputra & Ayuhecaria (2018) menyimpulkan bahwa ekstrak etanol batang bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) efektif dalam proses penyembuhan luka, uji pendahuluan yang dilakukan membuktikan bahwa *Spatholobus littoralis* Hassk. positif mengandung fenolik, flavonoid, tannin dan juga saponin. Hasil yang diperoleh pada skrining fitokimia ekstrak etanol batang bajakah tampala dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala

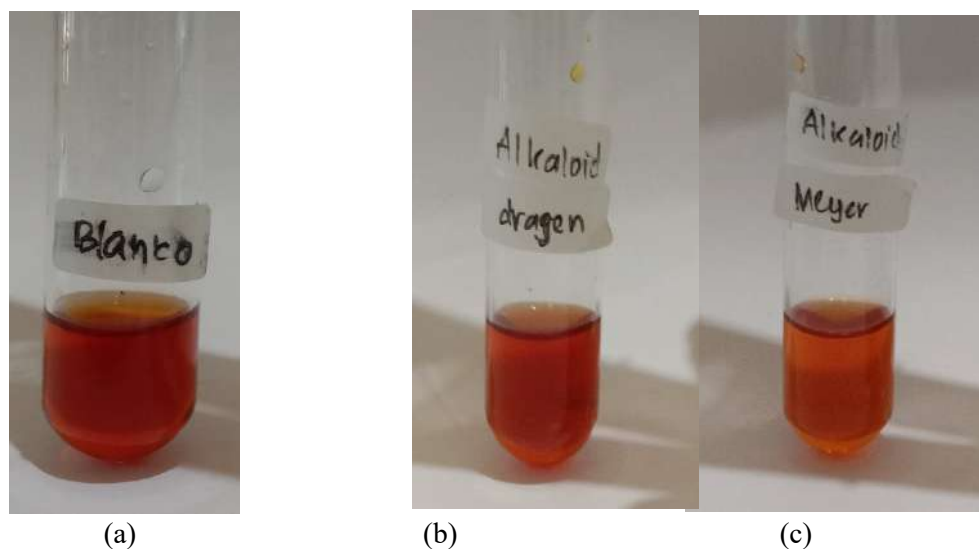
| Uji Senyawa | Teori | Hasil yang diperoleh | Kesimpulan |
|--------------|---|----------------------|------------------------------|
| Alkaloid | Terdapat endapan jingga (Reagen Dragondroff) | - | Negatif mengandung alkaloid |
| | Terdapat endapan putih (Reagen Meyer) | - | Negatif mengandung alkaloid |
| Triterpenoid | Terdapat cincin kecoklatan atau violet | - | Negatif mengandung alkaloid |
| Steroid | Terdapat cincin biru kehijauan | - | Negatif mengandung alkaloid |
| Flavonoid | Terdapat perubahan warna yaitu merah, coklat, atau kuning. Berubah pudar ketika | + | Positif mengandung Flavonoid |

| | | | |
|---------|---|---|---------------------------------|
| Fenolik | penambahan reagen HCl Terdapat perubahan warna menjadi ungu kebiruan | + | Positif mengandung Flavonoid |
| Saponin | Terdapat busa yang bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-10 cm | + | Positif mengandung Flavonoid |
| Tanin | Terdapat endapan putih | + | Positif mengandung Flavonoid |

6.1 Skrining Fitokimia Senyawa Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu senyawa nitrogen yang terdapat pada tumbuhan. Alkaloid biasanya berupa zat padat, terasa pahit, dan sukar larut dalam air, tetapi dapat larut dalam pelarut organik (kloroform, eter, dan pelarut non polar) (Robinson, 1995). Pengujian senyawa alkaloid dengan pereaksi Meyer akan menghasilkan endapan kuning, karena atom nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pengujian senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, atom nitrogen pada alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

Hasil uji yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan hasil negatif, karena tidak adanya endapan jingga jika ditambah dengan reagen Dragendorff atau endapan kuning jika ditambahkan reagen Meyer, yang berarti ekstrak bajakah tampala tidak mengandung senyawa alkaloid. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana pada penelitian Ayuchecaria *et al* (2020) ekstrak bajakah tampala dengan pelarut etanol menunjukkan hasil negatif pada uji senyawa alkaloid.

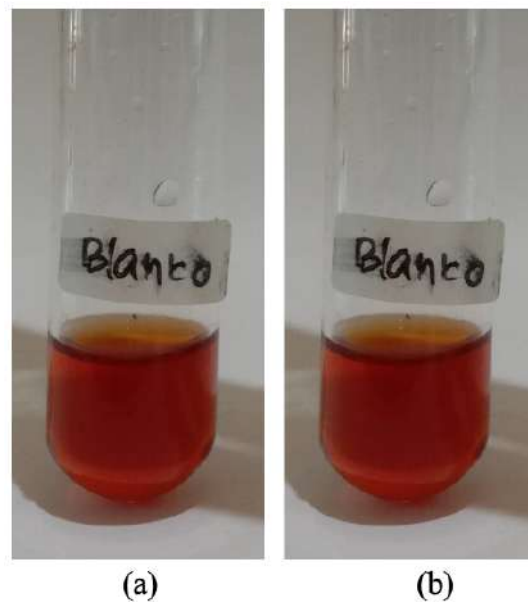


Gambar 6. Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff (a) Blanko (b) Menggunakan pereaksi Dragendorff (c) Menggunakan pereaksi Meyer

6.2 Skrining Fitokimia Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid merupakan senyawa yang paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan berguna sebagai glikosida. Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari suatu senyawa jenuh. Steroid yang ditemukan di dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan steroid yang ditemukan pada jaringan hewan disebut kolesterol (Robinson, 1995).

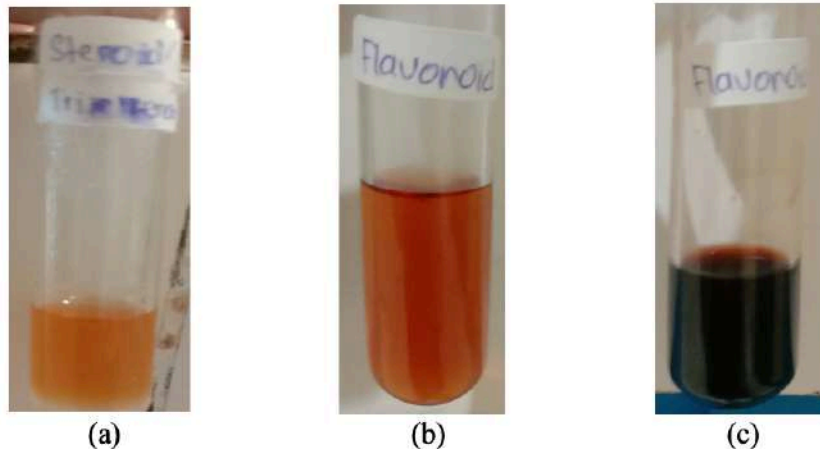
Asam asetat anhidrat digunakan untuk mengekstraksi triterpenoid dan steroid, memastikan media bebas air dan membentuk turunan asetil dari triterpen dan steroid, asam sulfat pekat ditetesi melewati dinding akan menghasilkan perubahan warna. Penambahan kloroform untuk melarutkan triterpen atau steroid, karena senyawa triterpenoid dan steroid yang bersifat non polar larut dalam pelarut non polar. (Habibi *et al.*, 2018). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini negatif karena tidak ditemukan cincin kecokelatan atau violet yang menandakan senyawa triterpenoid, dan juga tidak ditemukan kehijauan yang menandakan adanya senyawa steroid. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana pada penelitian Ayuhecacia *et al* (2020) ekstrak bajakah tampala dengan pelatut etanol menunjukkan hasil negatif pada uji senyawa triterpenoid dan steroid.



Gambar 7. Hasil skrining fitokimia senyawa Triterpenoid-steroid (a) Blanco (b) Menggunakan pereaksi asam asetat anhidrat dan H_2SO_4

6.3 Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

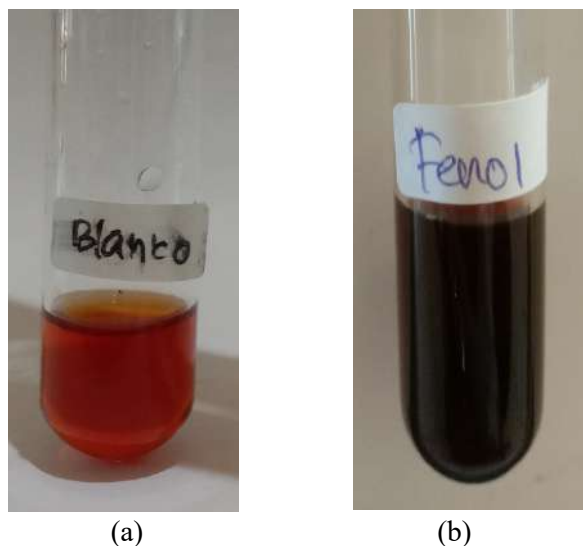
Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan dan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Flavonoid larut dalam pelarut polar. Senyawa flavonoid akan membentuk asetofenon yang berwarna merah hingga coklat bila direaksikan dengan NaOH. HCl akan menghidrolisis dan memecahkan antosianin menjadi aglikonnya yaitu antosianidin (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015). Hasil yang diperoleh pada batang bajakah tampala penambahan NaOH 1% terbentuk warna merah hingga coklat kemudian ditambahkan HCl 1% tidak terbentuk warna sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana pada penelitian Ayuhecacia *et al* (2020) ekstrak bajakah tampala dengan pelatut etanol menunjukkan hasil positif pada uji senyawa flavonoid.



Gambar 8. Hasil skrining fitokimia senyawa Flavonoid (a) Blanko (b) Setelah penambahan NaOH 1% (c) Setelah penambahan HCl

6.4 Skrining Fitokimia Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik cenderung mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol dan air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Hasil uji fenol ditandai dengan terjadinya reaksi antara senyawa fenol dan ferri klorida membentuk senyawa kompleks berwarna hijau, ungu, biru. Reaksi FeCl_3 dengan sampel membuat pembentukan warna, yang berperan adalah ion Fe^{3+} yang mengalami hibridisasi (Manongko *et al.*, 2020). Hasil yang diperoleh dari batang bajakah tampala terjadi perubahan warna menjadi ungu kebiruan setelah ditambahkan FeCl_3 yang menandakan sampel mengandung senyawa fenol. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana pada penelitian Ayuhecarya *et al* (2020) ekstrak bajakah tampala dengan pelatut etanol menunjukkan hasil positif pada uji senyawa fenolik.



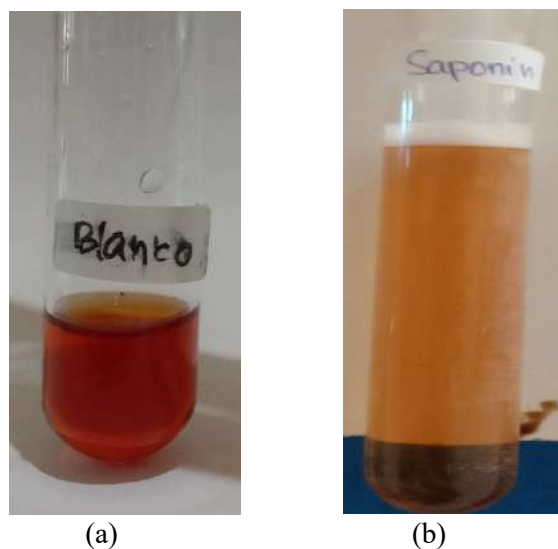
Gambar 9. Hasil skrining fitokimia senyawa Fenolik (a) Blanko (b) Setelah penambahan FeCl_3

6.5 Skrining Fitokimia Senyawa Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang memiliki aglikon berupa sapogenin. Saponin merupakan salah satu golongan senyawa pada bahan alam yang mempunyai sifat ampifilik serta dapat menurunkan tegangan permukaan. Penurunan tegangan permukaan disebabkan karena adanya senyawa sabun yang dapat merusak ikatan hidrogen pada air. Senyawa sabun ini memiliki dua bagian

yang tidak sama sifat kepolarannya. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Bagian aglikon merupakan saponin (Nurzama *et al.*, 2018).

Air merupakan pelarut yang memiliki kepolaran tertinggi sehingga memiliki daya melarutkan saponin lebih besar. Saponin memiliki sifat yang sangat larut dalam air, membentuk busa koloidal, dan memiliki sifat detergen yang baik. Saponin memiliki gugus polar dan nonpolar akan bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel, dimana struktur polar akan menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolar akan menghadap ke dalam. Kondisi inilah saponin akan berbentuk seperti busa (Ayuchecaria *et al.*, 2020). Hasil yang diperoleh dari batang bajakah tampala terjadi munculnya busa setinggi 1 cm setelah penambahan air dan bertahan selama 10 menit bahkan setelah penambahan HCl, menunjukkan ekstrak positif mengandung saponin. Hasil yang diperoleh Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana pada penelitian Saputera & Ayuchecaria (2018) ekstrak bajakah tampala dengan pelatut etanol menunjukkan hasil positif pada uji senyawa Saponin



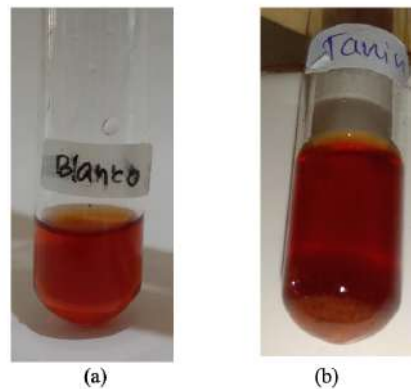
Gambar 10. Hasil skrining fitokimia senyawa Saponin (a) Blanko (b) Setelah penambahan air dan HCl

6.6 Skrining Fitokimia Senyawa Tanin

Tanin dapat didefinisikan sebagai senyawa polifenol dengan berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Salah satu sifat khas senyawa tanin adalah mempunyai kemampuan untuk mengendapkan protein. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut Hasil dikatakan positif apabila terbentuk endapan setelah penambahan gelatin (protein) pada larutan ekstrak (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

Tanin akan mengendapkan protein pada gelatin membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987) Penambahan NaCl digunakan untuk mempertinggi penggaraman tanin-gelatin (Noer *et al.*, 2020). Hasil yang diperoleh pada ekstrak batang bajakah tampala terdapat endapan berwarna putih ketika ekstrak ditambah dengan gelatin 1%, menandakan hasil ekstrak positif mengandung tannin. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu, dimana pada penelitian Ayuchecaria *et al* (2020) ekstrak bajakah tampala dengan pelatut etanol menunjukkan hasil positif

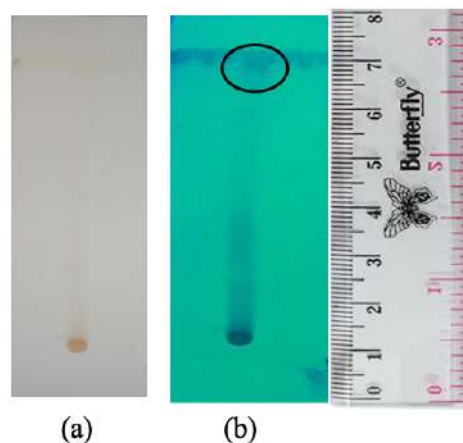
pada uji senyawa tannin.



Gambar 11. Hasil skrining fitokimia senyawa tanin (a) Blanko (b) Setelah penambahan NaCl dan gelatin 1%

4.6 Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Bajakah Tampala

Kromatografi lapis tipis merupakan cara cepat dan mudah untuk dapat melihat kemurnian suatu sampel maupun karakterisasi sampel dengan menggunakan standar. Pemeriksaan dengan kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memperoleh gambaran mengenai kandungan senyawa aktif yang utama. Pengamatan dilakukan pada cahaya tampak (visibel), serta pada sinar ultraviolet 254 nm dan 365nm.



Gambar 12. Hasil profil KLT kloroform : metanol 8:2 (a) bercak dengan sinar tampak (b) bercak diamati dengan sinar UV 254 nm

Menurut Harbone (1996) KLT dilakukan untuk menegaskan hasil yang didapatkan dari skrining fitokimia, serta digunakan untuk menganalisa senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil salah satunya menentukan jumlah komponen senyawa metabolit sekunder. Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel GF254, alasan digunakan silika gel GF254 adalah karena analit tidak berwarna dan mampu berfluorosensi dengan baik pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Aktivasi plat silika gel GF254 dilakukan dengan cara dioven dengan suhu 105°C selama 15 menit dilakukan untuk menghilangkan kada air yang terdapat pada plat KLT.

Uji kualitatif metode KLT dengan menggunakan perbandingan eluen, yaitu kloroform : metanol (8:2) v/v. Ditotolkan sampel ekstrak pada plat KLT kemudian dielusi, dan diamati pada sinar uv 254 nm dan 365 nm. Pengamatan dengan sinar uv hanya terlihat pada sinar uv 254 nm, sedangkan pada

sinar uv 365 nm bercak pada plat tidak terlihat. Hasil kromatogram yang diperoleh pada penelitian ini, pada profil KLT didapatkan bercak yang gelap dengan latar belakang berfluoresensi, yang menandakan adanya senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, beberapa senyawa glikosida flavonol, antosianin, dan flavon akan menyerap sinar dan tampak sebagai bercak gelap dengan latar belakang yang berfluoresensi (Robinsin, 1995). Menurut hasil penelitian Adhityasmara & Ramonah (2022) batang bajakah tampala positif mengandung flavonoid dengan munculnya noda kuning pada plat KLT serta memberikan bercak hitam pada plat KLT ketika disinari dengan UV 256 nm dengan nilai R_f 0,85. Perbedaan nilai R_f disebabkan oleh faktor-faktor yang meliputi dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya (Rosamah, 2019).

BAGIAN 2. EKTRAKSI DENGAN PELARUT ETANOL 96%

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi dipilih untuk mengurangi resiko kerusakan senyawa akibat pemanasan, alat dan bahan yang digunakan sederhana (Sutomo *et al.*, 2020). Etanol merupakan pelarut universal yang dapat mengekstraksi sebagian besar senyawa aktif baik polar maupun nonpolar. Ekstrak kental batang *S. littoralis* yang didapat sebanyak 21 gram, bentuknya kental dan berwarna coklat kemerahan (Gambar 5).

Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara bobot ekstrak yang diperoleh dengan bobot simplisia yang diekstraksi (Depkes RI, 2000). Nilai rendemen ditunjukkan dalam satuan persen (%), dimana semakin besar nilai rendemen menunjukkan semakin banyak senyawa yang tersari dari suatu sampel (Maulida & Guntarti, 2015). Rendemen ekstrak yang diperoleh dalam penelitian ini sebesar 1,05% (Lampiran 4). Hasil rendemen yang didapat tidak berbeda jauh dengan penelitian Astuti *et al* (2014), rendemen yang diperoleh dari ekstrak metanol batang *S. littoralis* menggunakan metode maserasi sebesar 1,49%.

















Gambar 13. (a) Ekstrak cair (b) Ekstrak kental batang *S. littoralis*

4.1 Identifikasi Kandungan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Etanol Batang *S. littoralis*

a. Metode Tabung


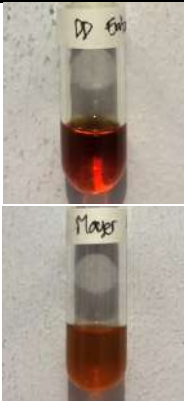












Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman (Astarina *et al.*, 2013). Penentuan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam serbuk dan ekstrak etanol batang *S. littoralis* dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna yang dapat menghasilkan perubahan warna atau membentuk endapan sebagai ciri spesifik dari suatu golongan senyawa (Harborne, 1987). Skrining fitokimia dilakukan pada beberapa golongan senyawa seperti, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid. Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak etanol batang *S. littoralis* terangkum dalam Tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Hasil pengujian skrining fitokimia serbuk batang *S. littoralis*

| No | Uji | Hasil | Keterangan | Dokumentasi | |
|----|---|-------|--|--|---|
| | | | | Sebelum | Sesudah |
| 1. | Alkaloid Uji Dragendorff | - | Terbentuk larutan berwarna coklat terang |  |  |
| | Uji Mayer | - | Terbentuk larutan berwarna kuning pudar |  |  |
| 2. | Flavonoid (Serbuk magnesium dan HCl pekat 37%) | + | Terbentuk larutan berwarna jingga |  |  |
| 3. | Tanin FeCl ₃ 3 % | + | Terbentuk larutan berwarna hijau kehitaman |  |  |
| | Gelatin 1% | + | Terbentuk endapan putih |  |  |
| 4. | Saponin | + | Terbentuk busa stabil selama 10 menit |  |  |
| 5. | Steroid triterpenoid (Reagen Lieberman-Burchard) | / - | Tidak terbentuk perubahan warna |  |  |

Keterangan = (+) mengandung senyawa uji (-) tidak mengandung senyawa uji

Tabel 8. Hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak etanol batang *S. littoralis*

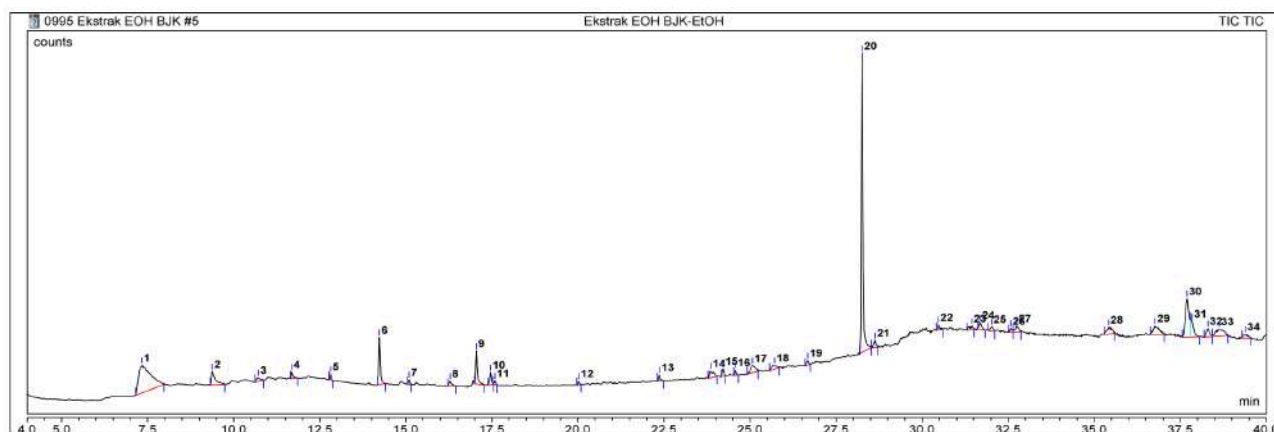
| No. | Uji | Hasil | Keterangan | Dokumentasi | |
|-----|---|-------|---|--|---|
| | | | | Sebelum | Sesudah |
| 1. | Alkaloid Reagen Dragendorff | - | Terbentuk larutan berwarna merah bata |  |  |
| | Reagen Mayer | - | Tidak terjadi perubahan warna |  |  |
| 2. | Flavonoid (Serbuk magnesium dan HCl pekat 37%) | + | Terbentuk larutan berwarna jingga |  |  |
| 3. | Tanin FeCl ₃ 3 % | + | Terbentuk larutan berwarna hijau kehitaman |  |  |
| | Gelatin 1% | + | Terbentuk endapan berwarna putih |  |  |
| 4. | Saponin | + | Terbentuk busa stabil selama 10 menit |  |  |
| 5. | Steroid triterpenoid (Reagen Lieberman- Burchard) | / - | Terbentuk larutan berwarna merah bata |  |  |

Keterangan = (+) mengandung senyawa uji (-) tidak mengandung senyawa uji

b. Metode Spektroskopi GCMS

Hasil koromatogram komponen senyawa kimia daun kersen menggunakan Gas Chromatography–Mass Spectroscopy (GC-MS QP2010 Plus) yang berasal dari Kalimantan Tengah dapat dilihat pada Gambar 14. Hasil kromatogram komponen senyawa kimia ekstrak etanol

batang *S. littoralis* memiliki 34 peak, akan tetapi senyawa yang dominan dapat dilihat pada Tabel 9.



Gambar 14. Hasil Kromatogram GCMS ekstrak etanol batang *S. littoralis*

Berdasarkan hasil analisis GC-MS komponen kimia ekstrak etanol batang *S. littoralis* pada Tabel 2, senyawa kimia yang dominan adalah squalene, resorcinol, batulinaldehyde, dan hexadecanoic acid-methyl ester.

Tabel 9. Senyawa kimia yang dominan muncul pada ekstrak etanol batang *S. littoralis*

| Persen Area (%) | Komponen Kimia | Rumus Kimia | Bobot Molekul |
|-----------------|---------------------------------|--|---------------|
| 28.24 | Squalene | C ₃₀ H ₅₀ | 410 |
| 19.81 | Resorcinol | C ₆ H ₆ O ₂ | 110 |
| 8.59 | Batulinaldehyde | C ₃₀ H ₄₈ O ₂ | 440 |
| 4.41 | Hexadecanoic acid, methyl ester | C ₁₇ H ₃₄ O ₂ | 270 |

Squalene adalah rantai hidrokarbon yang dibentuk oleh enam unit isoprena ketika unit dirakit, mereka membentuk triterpen yang memberi karakter lipid. Enam ikatan rangkap karbon (C=C) menjadi salah satu lipid paling tak jenuh, dan sensitif terhadap oksidasi (Lopez, Bermudez, Paz, 2014). Struktur biokimia *squalene* adalah C₃₀H₅₀, senyawa 30 karbon (poliprenil, memegang 6 gugus prenil, lebih dikenal sebagai isoprenoid atau isoprena) karena struktur ikatan rangkap CH₃ enam kelompok, isoprenoid memiliki efek antioksidan alami yang kuat.

Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Batang *S. littoralis*

Metode spektrofotometri berdasarkan pembentukan kompleks dengan AlCl₃ merupakan prosedur paling umum untuk menetapkan kadar flavonoid total di dalam sampel tanaman obat. Gugus hidroksi pada C-3 dan C-5 serta gugus dihidroksi pada cincin B flavonoid dapat membentuk kompleks khelat dengan AlCl₃ (Munawaroh *et al.*, 2018). Senyawa yang dipakai untuk standar dalam penetapan kadar flavonoid ini adalah kuarsetin, karena kuarsetin adalah flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto diatom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Sari & Triyasmono, 2017).

Tabel 9. Hasil perhitungan kadar flavonoid total

| Sampel | Absorpsi sampel | \bar{x} Absorpsi \pm SD | RSD (%) | Kandungan flavonoid total (%b/b EK) | \bar{x} Kandungan flavonoid total (%b/b EK) \pm SD | RS D(%) | Flavonoid total (mg) |
|--|-----------------|-----------------------------|-----------|-------------------------------------|--|-----------|----------------------|
| ekstrak etanol batang <i>S. littoralis</i> | 0,2629 | 0,2631 \pm 0,00053 | 0,002 01% | 3,388 | 3,3903 \pm 0,00478 | 0,00173 % | |

Keterangan : *EK (Ekivalen Kuarsetin)

Hasil ini (Tabel 9) lebih besar dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Herawati *et al.*, 2014) pada ekstrak etanol 96% rimpang Bangle *Zingiber montanum* 0,00657 %b/b ekivalen kuarsetin. Kemudian hasil flavonoid total penelitian ini juga lebih tinggi dibandingkan penelitian (Zhan *et al.*, 2016) yang menggunakan tanaman purun tikus *Eleocharis dulcis* dengan flavonoid total sebesar 2,557 %b/b ekivalen kuarsetin. Nilai persen RSD ekstrak etanol batang *S. littoralis* yang didapatkan telah memenuhi persyaratan persen RSD sebesar 0,00173%. Persen RSD yang baik adalah $\leq 4\%$ (Gonzales *et al.*, 2010) sehingga dapat disimpulkan bahwa syarat validitas telah terpenuhi.

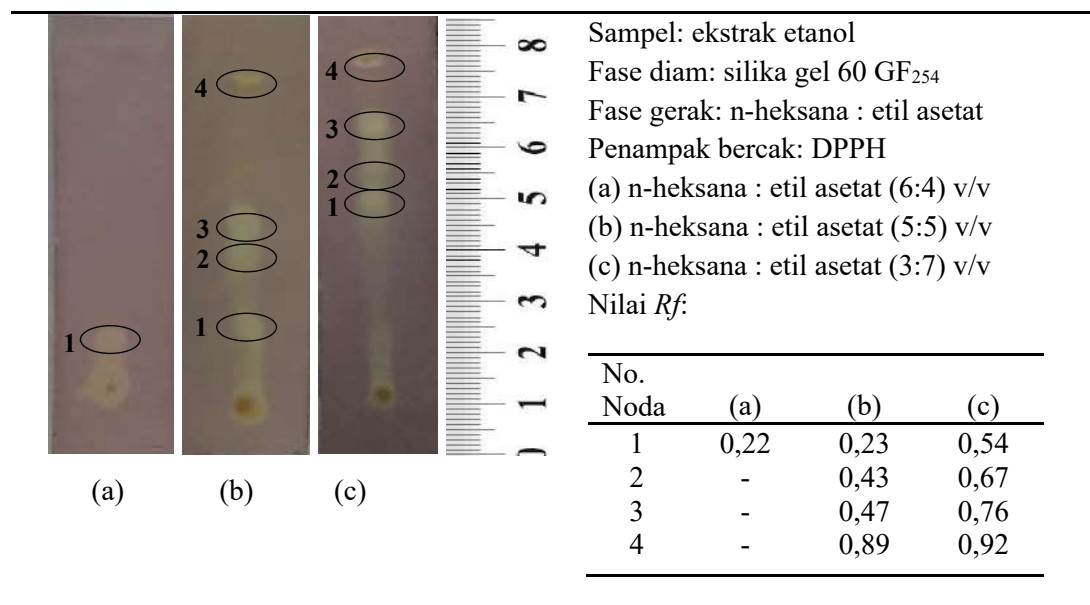
Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang *S. littoralis*

1. Metode KLT Penampak DPPH

Identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memberikan gambaran komposisi kandungan awal senyawa aktif dari sampel secara kualitatif berdasarkan pola kromatogramnya (Depkes RI, 2000). Uji kualitatif antioksidan menggunakan metode KLT dengan pereaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) karena merupakan salah satu metode yang sederhana, mudah, sampel yang digunakan sedikit, dan proses pengerjaannya singkat. Plat KLT yang telah dielusi disemprot dengan pereaksi DPPH 0,01% untuk mendeteksi adanya senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini ditandai dengan berubahnya bercak sampel menjadi warna kuning dengan latar belakang berwarna ungu. Perubahan warna terjadi karena reaksi dari senyawa antioksidan yang mereduksi radikal DPPH pada plat KLT (Irianti *et al.*, 2015). Elusi dilakukan dengan menggunakan beberapa eluen seperti, *n*-heksana : etil asetat (6:4) v/v; *n*-heksana : etil asetat (5:5) v/v; dan *n*-Heksana : etil asetat (3:7)v/v.

Tabel 10. Profil kromatogram ekstrak etanol batang *S. littoralis*

| Kromatogram | Keterangan |
|-------------|------------|
|-------------|------------|



Penggunaan tiga eluen dengan perbandingan yang berbeda berfungsi untuk mengetahui profil kromatogram pada masing-masing eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Senyawa kimia dapat bergerak mengikuti fase gerak karena daya serap dari fase diam terhadap setiap senyawa berbeda-beda. Senyawa dalam sampel bergerak berdasarkan tingkat kepolaran dari fase gerak yang digunakan (Gandjar & Rohman, 2007). Nilai *R_f* (*Retardation Factor*) dinyatakan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh oleh zat terlarut dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak. Nilai *R_f* dapat digunakan sebagai penanda senyawa (*fingerprint*) yang dapat mencegah pemalsuan terhadap senyawa sampel (Rubiyanto, 2017). Kromatogram dan perhitungan nilai *R_f* dari ketiga eluen dapat dilihat pada Tabel 10.

Penyemprotan KLT menggunakan pereaksi DPPH 0,01% menunjukkan adanya bercak berwarna kuning pucat dengan latar ungu yang menandakan pada ekstrak tersebut mengandung senyawa yang bersifat antioksidan. Bercak yang dapat menangkap radikal bebas akan menghasilkan warna kuning dengan latar belakang ungu dalam waktu tidak lebih dari 30 menit terindikasi sebagai antioksidan (Sutomo *et al.*, 2016). Kromatogram ekstrak etanol batang *S. littoralis* dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4)v/v terdapat 1 bercak yang muncul pada *R_f* 0,22; eluen n-heksana : etil asetat (5:5)v/v terdapat 4 bercak yang muncul pada *R_f* 0,23; 0,43; 0,47; 0,89 dan eluen n-heksana : etil asetat (3:7)v/v terdapat 4 bercak yang muncul yaitu pada *R_f* 0,54; 0,67; 0,76; dan 0,92. Penelitian yang dilakukan oleh Marlina (2007) pada uji kualitatif aktivitas antioksidan ekstrak metanol *Spatholobus ferrugineus* terdapat 2 jenis metabolit sekunder yang mampu meredam radikal DPPH, yaitu alkaloid pada nilai *R_f* 0,80; 0,87 dan flavonoid pada nilai *R_f* 0,13; 0,72; dan 0,78 memiliki harga *R_f* yang sama dengan bercak pada skrining fitokimia uji alkaloid dan flavonoid menggunakan KLT. Hal ini dibuktikan dengan timbulnya bercak berwarna kuning setelah plat KLT disemprot dengan pereaksi DPPH 0,2%.

2. Metode DPPH dengan Spektrofotometri Uv-Vis

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengambil larutan DPPH 0,4mM sebanyak 1 mL lalu ditambahkan dengan 4 mL metanol p.a, divortex dan didiamkan selama

30 menit pada suhu kamar di tempat gelap. Setelah itu serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-550 nm (Bakti *et al.*, 2017).

Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dan ditambahkan 4 mL larutan standar kuarsetin 10 ppm dalam tabung reaksi. Larutan kemudian divortex 1 menit selama 30 menit. Kemudian, larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm setiap interval waktu 2 menit selama 40 menit.

Penentuan nilai IC₅₀ larutan pembanding kuarsetin

Larutan induk kuarsetin dibuat dengan cara menimbang kuarsetin sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a di labu ukur 100 mL sehingga didapatkan larutan induk kuarsetin 100 ppm. Kemudian larutan induk kuarsetin 100 ppm dibuat seri kadar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 14 ppm dengan mengambil masing-masing sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2; dan 1,4 mL. Seri kadar yang telah dibuat kemudian masing-masing diambil 4 mL lalu ditambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 1 mL. Larutan seri kadar kemudian didiamkan dengan rentang waktu *operating time* pada tempat yang gelap. Diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan dan dilakukan 3x replikasi (Nihlati *et al.*, 2008).

Penentuan nilai IC₅₀ Ekstrak etanol batang *S. littoralis*

Ekstrak etanol batang *S. littoralis* ditimbang masing-masing 10 mg dan dilarutkan dalam 100 mL metanol sehingga didapatkan larutan induk 100 ppm. Larutan tersebut kemudian dibuat larutan seri kadar konsentrasi 0,25; 1,25; 2,5; 5; 10; dan 20 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,025; 0,125; 0,25; 0,5; 1; dan 2 mL. Selanjutnya tiap-tiap konsentrasi dimasukkan diambil 4 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol hingga tanda batas. Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan ke dalam labu ukur. Selanjutnya larutan tersebut didiamkan selama rentang waktu yang dihasilkan pada saat *operating time* 30 menit di tempat gelap. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

Hasil Uji Aktivitas:

Kuarsetin dikategorikan sebagai golongan flavonol yang termasuk ke dalam golongan flavonoid terbesar yang ditemukan pada tumbuhan. Kuarsetin digunakan sebagai pembanding karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan tergolong sangat aktif sehingga dapat dipilih menjadi salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai pembanding. Pemilihan pembanding juga mempertimbangkan aspek ketersediaan bahan dan kesesuaian dengan metode yang digunakan (Li *et al.*, 2016). Selain itu, kuarsetin merupakan golongan flavonoid yang sangat poten dalam meredamkan radikal bebas hal ini disebabkan karena kuarsetin memiliki lebih dari satu atau dua elektron yang dapat menstabilkan radikal bebas (Hanasaki *et al.*, 1994).

Pembanding kuarsetin dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm setiap konsentrasi tersebut kemudian diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan dengan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 0,5 mL. Masing masing larutan yang telah dicampurkan didiamkan selama 30 menit berdasarkan hasil waktu operasional dan didiamkan pada tempat gelap. Persamaan regresi kuarsetin yang didapat adalah $y = 11,677x + 18,742$ dengan nilai r (koefisien korelasi) sebesar 0,9865 dan R^2 (koefisien determinasi) 0,9733. Nilai R^2 0,9733 menunjukkan 97,33% persen inhibisi pembanding kuarsetin dipengaruhi oleh konsentrasi dari kuarsetin. Persamaan regresi ini digunakan untuk mendapatkan nilai IC₅₀ atau nilai x pada persamaan dengan mengganti nilai y menjadi 50 pada persamaan yang didapatkan. Nilai IC₅₀ pembanding kuarsetin (Tabel 11) dapat dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat aktif (Jun *et al.*, 2003).

Tabel 11. Persen Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Kuarsetin

| Konsentrasi (ppm) | Persen inhibisi (%) | IC ₅₀ (ppm) | Rata2 IC ₅₀ ± SD(ppm) | RSD (%) | r | Persamaan |
|-------------------|---------------------|------------------------|----------------------------------|---------|------|---------------------|
| 2 | 45.05 | 2,867 | 2.8563±0.0092 | 0,32494 | 0,98 | y = 6,017x + 41,408 |
| 3 | 52.45 | 2,8501 | | | | |
| 4 | 62.90 | 2,8519 | | | | |
| 5 | 65.10 | | | | | |
| 6 | 74.45 | | | | | |

Penentuan nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Batang *S. littoralis*

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi yang diperlukan untuk meredam 50% radikal bebas. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang *S. littoralis* dilakukan dengan membuat larutan uji dengan konsentrasi antara lain 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 14 ppm. Setiap masing-masing konsentrasi tersebut diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan dengan 0,04 mMol DPPH sebanyak 0,5 mL. Didiamkan selama waktu operasional yaitu 30 menit dan dibaca pada panjang gelombang maksimum 516 nm. Persamaan regresi yang didapat adalah $y = 6.017x + 41.408$ dengan nilai r (koefisien korelasi) sebesar 0,980 dan R² (koefisien determinasi) 0,9949. Nilai R² 0,9949 menunjukkan 99,49% persen inhibisi yang didapat dipengaruhi oleh konsentrasi sampel yang digunakan. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol batang *S. littoralis* (Tabel 12) termasuk ke dalam kategori yang sangat aktif (jun *et al.*, 2003).

Tabel 12. Persen Inhibisi dan Nilai IC₅₀ ekstrak etanol batang *S. littoralis*

| Konsentrasi (ppm) | Persen inhibisi (%) | IC ₅₀ (ppm) | Rata2 IC ₅₀ ± SD(ppm) | RSD (%) | r | Persamaan |
|-------------------|---------------------|------------------------|----------------------------------|---------|-------|---------------------|
| 2 | 37.97 | 7,4373 | 7.3962±0.04 | 0,53902 | 0,980 | y = 5.8469x + 9.474 |
| 4 | 44.33 | 7,3935 | | | | |
| 6 | 44.41 | 7,3577 | | | | |
| 8 | 50.27 | | | | | |
| 10 | 54.46 | | | | | |
| 12 | 59.97 | | | | | |
| 14 | 68.66 | | | | | |

Nilai IC₅₀ ekstrak etanol batang *S. littoralis* lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian pada tanaman *Cassia spectabilis* DC (famili Leguminosae) yang merupakan famili yang sama dari tanaman ini memiliki nilai IC₅₀ 114,61 ppm (Rosyidah *et al.*, 2018). Nilai IC₅₀ yang semakin kecil akan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan ini tidak lepas dari peranan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol batang *S. littoralis*. Semakin banyak gugus hidroksi yang terdapat pada senyawa flavonoid maka akan semakin baik dan efektif aktivitas antioksidan yang terdapat pada suatu tanaman. Sehingga dapat dikatakan ada korelasi antara kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan, dimana semakin tinggi kadar flavonoid total akan meningkatkan efektivitas antioksidan (Yuliantari *et al.*, 2017).

FRAKSINASI DAN ISOLASI

Pembuatan Fraksi

Fraksinasi batang *S. littoralis* Hassk dilakukan terhadap ekstrak etanol menggunakan pelarut *n*-heksana dengan cara 10 gram ekstrak etanol kental yang diperoleh dari proses maserasi disuspensikan dengan aquades hingga homogen. Campuran yang diperoleh dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksana sebanyak 50 mL, dikocok dan didiamkan hingga terdapat 2 lapisan (aquades di lapisan bawah dan *n*-heksana di lapisan atas). Lapisan atas ditampung dan diambil lapisan bawahnya, kemudian dilakukan fraksinasi kembali dengan ditambahkan pelarut *n*-heksana sampai diperoleh lapisan *n*-heksana yang berwarna bening. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *waterbath* sampai diperoleh bobot konstan (Agustina, *et al.*, 2017).

Rendemen fraksi menunjukkan senyawa kimia yang dapat terlarut dalam masing-masing pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Hasil persen rendemen fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk yang diperoleh yaitu sebesar 10,07%. Penelitian Hanifah (2020) yang telah melakukan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana pada batang *S. littoralis* Hassk didapatkan fraksi kental sebesar 1,9 gram dengan persen rendemen yang diperoleh sebesar 19% dan bobot ekstrak kental yang digunakan untuk fraksinasi sebesar 10 gram. Perbedaan hasil rendemen menurut Sinta (2021) dapat dipengaruhi oleh variable tumbuhan, salah satunya kondisi tempat tumbuh. Kondisi tempat tumbuh seperti kadar air turut mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh memiliki karakteristik berbentuk kental, berwarna coklat kemerahan dan bau lemah.

Skrining Fitokimia Fraksi *n*-Heksana Batang *S. littoralis* Hassk

Fraksi *n*-heksana dari batang *S. littoralis* Hassk dilakukan skrining fitokimia dengan uji tabung yang meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin dan uji steroid-triterpenoid. Hasil dari skrining fitokimia (Tabel 13) menyatakan bahwa sampel fraksi *n*-heksana batang *S. Littoralis* Hassk mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Penelitian sebelumnya oleh Maulana (2012) menyatakan bahwa fraksi *n*-heksana batang *S. Littoralis* Hassk mengandung senyawa flavonoid dan steroid.

Tabel 13. Hasil skrining fitokimia

| No. | Senyawa | Pereaksi | Hasil Skrining Fitokimia Sampel |
|-----|----------------------|-----------------------|---------------------------------|
| 1. | Alkaloid | Dragendorff-Mayer | + |
| 2. | Flavonoid | Serbuk Mg + HCl Pekat | + |
| 3. | Tanin | FeCl ₃ | + |
| 4. | Steroid-Triterpenoid | Lieberman-Burchard | - |

Ket: (+) : Menunjukkan adanya senyawa

(-) : Menunjukkan tidak mengandung senyawa

Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi *n*-Heksana Batang *S. littoralis* Hassk

Penetapan kadar flavonoid total dapat dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri AlCl₃. Prinsip metode ini adalah kompleks pembentukan warna kuning. Pembentukan kompleks terjadi antara AlCl₃ dengan gugus keton pada C-4 serta gugus hidroksi dari flavon dan flavonol pada C-3 atau C-5.

Penetapan kadar flavonoid total fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk menggunakan konsentrasi 4000 ppm. Penetapan kadar flavonoid total fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dihitung menggunakan persamaan regresi kurva baku kuersetin. Hasil absorbansi sampel yang

diperoleh dijadikan sebagai koefisien nilai y pada persamaan regresi linier kurva baku kuersetin dan didapatkan nilai x sebagai kadar flavonoid sampel. Hasil penetapan kadar flavonoid total fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil penetapan kadar flavonoid total fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk

| Absorbansi | X ($\mu\text{g/mL}$) | Kadar | Kadar | \bar{x} kadar | RSD (%) |
|------------|---------------------------|--|----------------------------------|--|------------|
| | | flavonoid total ($\mu\text{gEK/mg}$ fraksi) | flavonoid total (% b/b EK) | flavonoid total (%b/b EK) \pm SD | |
| 1,213 | 144,226 | 36,057 | 3,606% | | |
| 1,212 | 144,107 | 36,027 | 3,603% | 3,604 \pm 0,002 | 0,048 |
| 1,212 | 144,107 | 36,027 | 3,603% | | |

Keterangan : *EK (Ekivalen Kuersetin)

Hasil penetapan kadar flavonoid total fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk diperoleh sebesar 3,604 \pm 0,002% b/b ekivalen kuersetin. Persen RSD diperoleh sebesar 0,048%. *Standar Deviation* (SD) menunjukkan tingkat keragaman dari suatu data kuantitatif. Semakin rendah tingkat keseragaman data kuantitatif maka semakin kecil nilai SD. Persyaratan nilai *Relative Standar Deviation* (RSD) adalah <2% (Riyanto 2014; Pratiwi *et al.*, 2016). Nilai RSD merupakan ukuran ketepatan relatif hasil analisis yang dinyatakan dalam persen. Nilai RSD yang semakin kecil maka hasil dari metode yang digunakan akan semakin tepat.

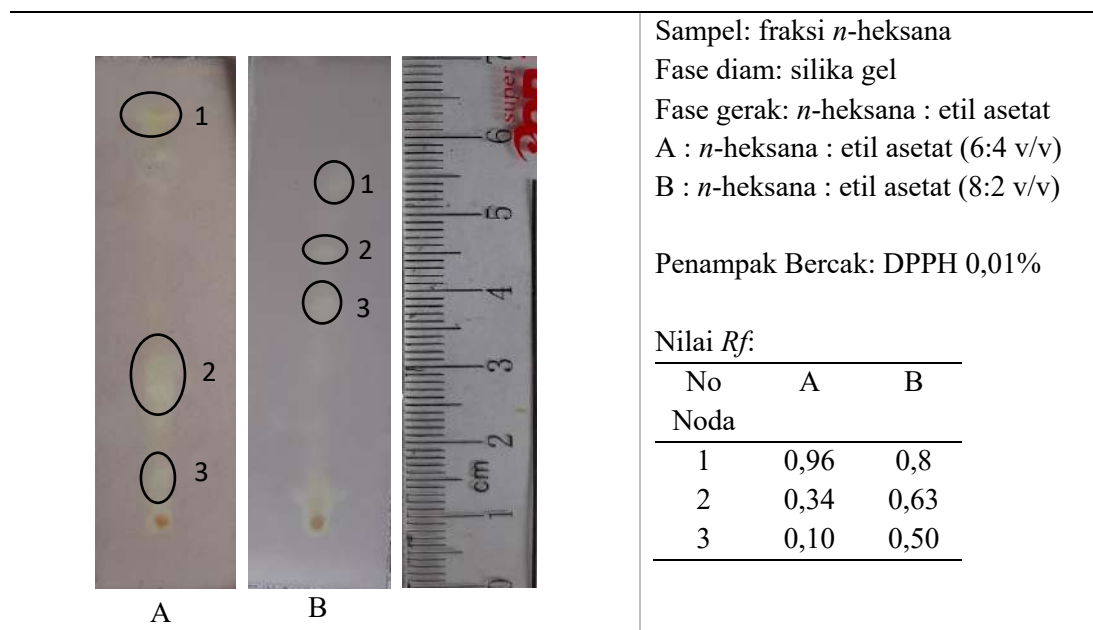
Uji Kualitatif Antioksidan Fraksi *n*-Heksana Batang *S.littoralis* Hassk dengan Metode KLT

Fraksi yang diperoleh dilakukan uji peredaman radikal bebas untuk mengetahui aktivitas antioksidan. Fraksi ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan eluen, yaitu *n*-heksana : etil asetat (8:2 dan 6:4) v/v. Ditotolkan sampel fraksi pada masing-masing plat KLT kemudian dielusi, lalu disemprotkan dengan *reagen* semprot DPPH Diamati perubahan warna yang terjadi, yaitu pada plat akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu (Rahman *et al.*, 2016).

Hasil kromatogram (Tabel 15) pada perbandingan eluen 6:4 v/v diperoleh tiga bercak dengan nilai *Rf* secara berturut-turut yaitu 0,96; 0,34 dan 0,10. Hasil kromatogram pada perbandingan eluen 8:2 v/v diperoleh tiga bercak dengan nilai *Rf* secara berturut-turut yaitu 0,8; 0,63 dan 0,50. Hasil kromatogram uji kualitatif antioksidan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada sampel yang digunakan karena terjadi perubahan warna pada plat, yaitu bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu (Mahmuda, 2018).

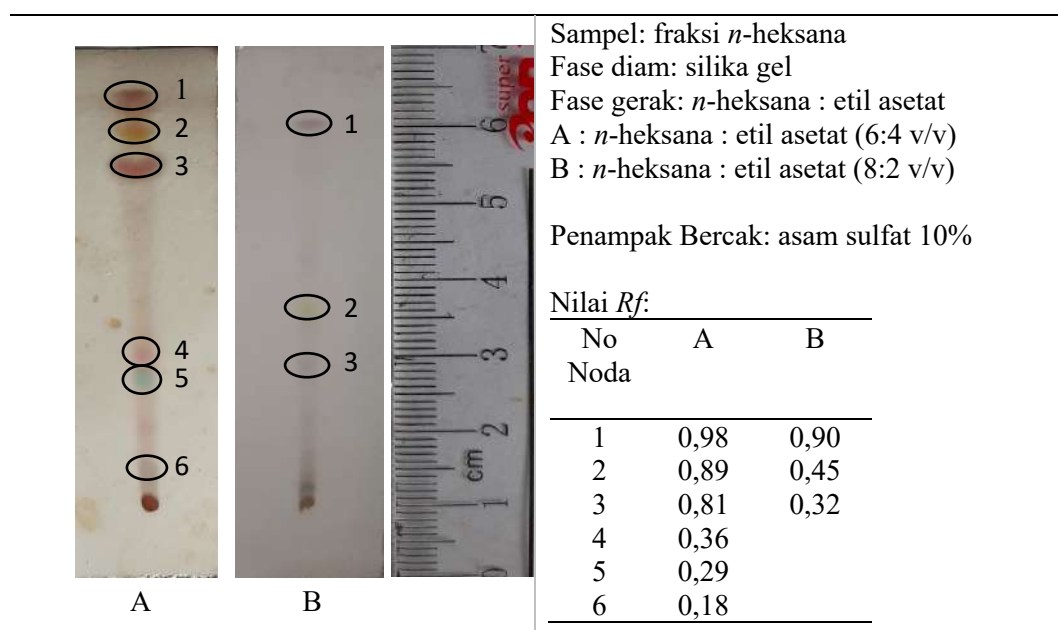
Tabel 15. Profil KLT fraksi *n*-heksana dengan *reagen* semprot DPPH 0,01%

| Kromatogram | Keterangan |
|-------------|------------|
|-------------|------------|



Kromatogram

Keterangan



Hasil kromatogram menggunakan *reagen* semprot asam sulfat 10% (Tabel 13) dengan perbandingan eluen *n*-heksana : etil asetat (6:4 v/v) diperoleh enam bercak. Bercak nomor 1, 3 dan 4 menghasilkan warna coklat dengan nilai *R_f* berturut-turut 0,98; 0,81 dan 0,36. Bercak nomor 2 menghasilkan warna jingga dengan nilai *R_f* 0,89. Bercak nomor 5 menghasilkan warna biru dengan nilai *R_f* 0,29. Bercak nomor 6 yaitu menghasilkan warna ungu dengan nilai *R_f* 0,18. Hasil kromatogram dengan perbandingan eluen *n*-heksana : etil asetat (8:2 v/v) diperoleh tiga bercak. Bercak nomor 1 dan 3 menghasilkan warna ungu dengan nilai *R_f* berturut-turut yaitu 0,90 dan 0,32. Bercak nomor 2 menghasilkan warna kuning dengan nilai *R_f* 0,45.

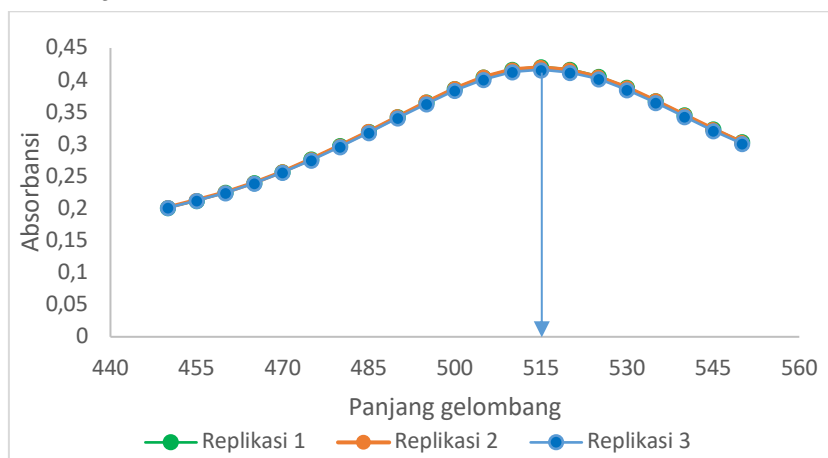
Hasil Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Fraksi *n*-Heksana Batang *S. littoralis* Hassk

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dilakukan menggunakan metode DPPH dan kuersetin sebagai pembanding. Pemilihan metode DPPH karena

memiliki beberapa keunggulan yaitu metode analisis yang sederhana, pengerjaan mudah dan cepat dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil, serta apabila dibandingkan dengan metode lainnya DPPH bersifat lebih stabil. Prinsip metode ini yaitu mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan pengukuran aktivitas peredaman radikal DPPH oleh fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Warna ungu pada DPPH akan berubah menjadi kuning terang jika terdapat senyawa pada batang *S. littoralis* Hassk yang dapat berpasangan dengan radikal bebas DPPH. Hal ini disebabkan DPPH telah tereduksi sehingga berubah menjadi DPPH-H (*Difenil hidrazin*). Perubahan warna ini akan teramati dalam bentuk penurunan absorbansi DPPH. Aktivitas menggunakan metode DPPH ini dinilai berdasarkan kadar IC₅₀ (Niah & Helda, 2016; Mardiah *et al.*, 2017)

1 Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. Tujuan penentuan panjang gelombang maksimum adalah agar absorbansi yang diperoleh maksimal, perbedaan nilai absorbansi setiap seri konsentrasi akan lebih besar karena kepekaannya menjadi lebih tinggi sehingga memperoleh kurva yang linier (Gandjar & Rohman, 2007). Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya absorbansi maksimum atau absorbansi yang paling besar. Larutan DPPH yang digunakan untuk penentuan panjang gelombang maksimum yaitu dengan konsentrasi sebesar 0,4 mM, karena pada molaritas ini mampu memberikan absorbansi yang optimal (Murwanto & Santosa, 2012). Diukur serapan larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-550. Rentang panjang gelombang tersebut digunakan karena larutan DPPH berwarna ungu. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh dalam bentuk grafik menggambarkan panjang gelombang pada sumbu (x) dan absorbansi pada sumbu (y) dapat dilihat pada Gambar 15.



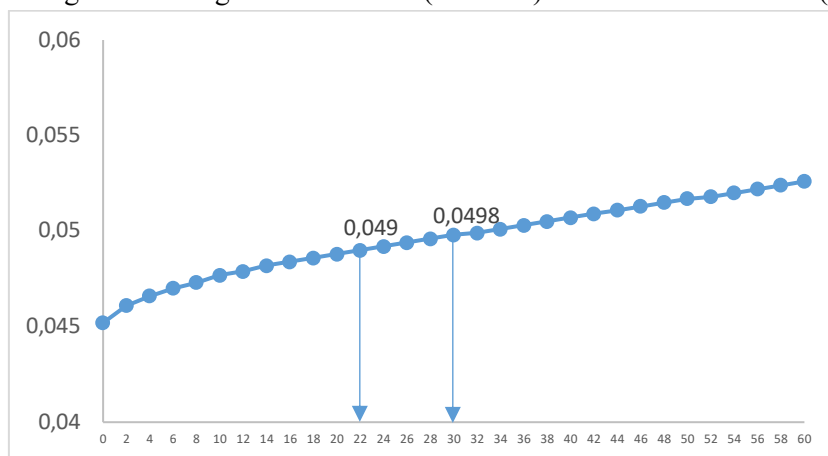
Gambar 15. Grafik panjang gelombang maksimum DPPH

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang sebesar 515,30 nm pada absorbansi sebesar 0,420. Molyneux (2004) menyebutkan bahwa rentang panjang gelombang DPPH yaitu diantara 515-520 nm. Penelitian yang telah dilakukan oleh Salim & Eliyarti (2019) menyebutkan bahwa DPPH memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm. Hasil pada penelitian ini sudah sesuai dengan rentang panjang gelombang maksimum DPPH, dan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Salim & Eliyarti (2019).

2 Penentuan *operating time* DPPH

Operating time (waktu operasional) merupakan waktu pengukuran yang diperlukan oleh

senyawa dapat bereaksi secara sempurna sampai stabil atau konstan. Penentuan operating time dilakukan untuk menentukan waktu yang paling tepat untuk larutan uji meredam radikal DPPH, pembacaan absorbansi yang konstan akan menunjukkan bahwa reaksi penangkapan radikal oleh bahan yang diuji telah sempurna (Mardiah *et al.*, 2017). Pengukuran *operating time* dilakukan selama 60 menit dengan interval waktu tiap 2 menit pada panjang gelombang 515 nm. Hasil dari operating time dalam bentuk grafik hubungan antara waktu (sumbu x) dan absorbansi sumbu (y) (Gambar 16)

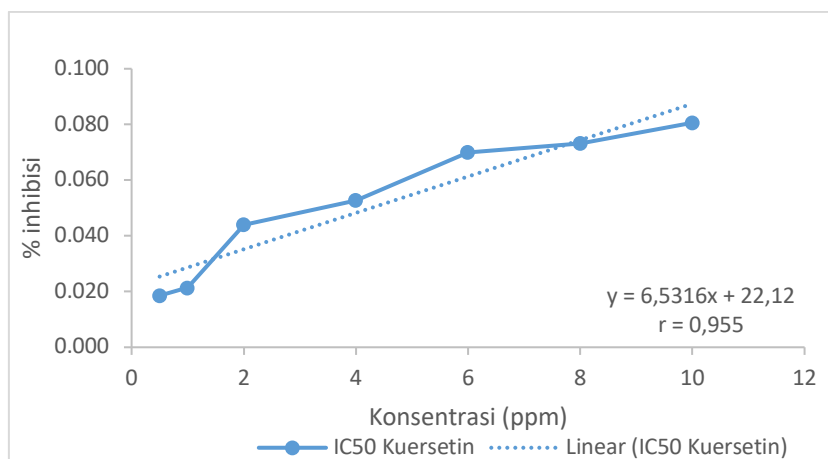


Gambar 16. Grafik penentuan *operating time* DPPH

Hasil *operating time* yang diperoleh pada reaksi stabil dimulai dari menit ke-22 setelah inkubasi sampai menit ke-30 dengan perbedaan nilai absorbansi sebesar 0,0002 setiap intervalnya. Molyneux (2004) dan Mardiah *et al* (2017) menyebutkan bahwa waktu reaksi antara DPPH dan senyawa antioksidan ialah berada pada menit ke-30. Nilai absorbansi pada *operating time* ini stabil pada peningkatan nilai absorbansi dan berlangsung hingga menit ke-30, namun tidak stabil pada satu angka. Hasil *operating time* yang tidak stabil pada satu angka ini dapat disebabkan oleh pengaruh kemurnian senyawa dan sensitifitas instrument yang sangat tinggi (Rizki *et al.*, 2021).

3 Penentuan nilai IC_{50} Larutan Pembanding Kuersetin

Penentuan nilai IC_{50} dimulai dari kuersetin sebagai kontrol positif. Kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan sebagai pembanding seberapa kuat potensi aktivitas antioksidan pada fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dibandingkan dengan kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid utama golongan flavonol yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (Adawiyah & Rizki, 2018). Penentuan nilai IC_{50} larutan pembanding kuersetin dilakukan dengan mengukur larutan seri kadar dengan konsentrasi 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Masing-masing larutan seri kadar dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Hubungan antara konsentrasi larutan pembanding kuersetin sumbu (x) dan persen inhibisi sumbu (y) dapat dilihat pada Gambar 15 dan data hasil nilai IC_{50} larutan pembanding kuersetin dapat dilihat pada Tabel 17.



Gambar 17. Grafik hubungan antara konsentrasi larutan pembanding dengan persen inhibisi

Persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan konsentrasi larutan pembanding dengan persen inhibisi ialah $y=6,5316x + 22,12$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,95. Nilai koefisien korelasi yang diperoleh mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linier (Asmorowati & Lindawati, 2019). Hasil perhitungan nilai aktivitas antioksidan larutan pembanding kuersetin (Tabel 16).

Tabel 16. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan pembanding kuersetin

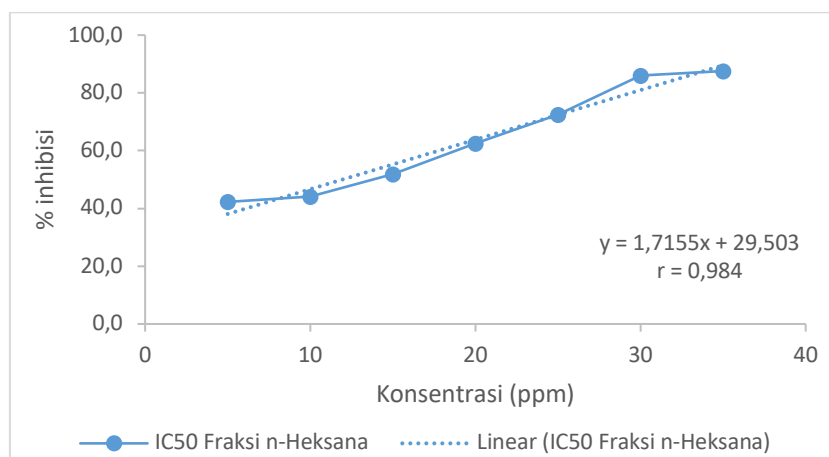
| Konsentrasi (ppm) | \bar{x} persen inhibisi (%) | SD | RSD (%) | \bar{x} IC ₅₀ ± SD (ppm) | RSD (%) |
|-------------------|-------------------------------|---------|---------|---------------------------------------|---------|
| 0,5 | 18,5510 | 0,00010 | 0,00957 | | |
| 1 | 21,4094 | 0,00032 | 0,03189 | | |
| 2 | 43,9831 | 0,00012 | 0,01607 | | |
| 4 | 52,7480 | 0,00307 | 0,50591 | 4,2685 ± 0,0294 | 0,689 |
| 6 | 70,0517 | 0,00445 | 1,15838 | | |
| 8 | 73,2323 | 0,00764 | 2,22586 | | |
| 10 | 80,6070 | 0,00271 | 1,08932 | | |

Persen inhibisi yang diperoleh merupakan hasil rata-rata 3 kali pengukuran. Nilai SD menunjukkan tingkat keragaman dari suatu data kuantitatif. Nilai SD tersebut digunakan untuk nilai RSD. Berdasarkan tabel tersebut, hasil nilai IC₅₀ pembanding kuersetin sebesar 4,268 ppm ± 0,029. Hal ini menunjukkan kuersetin pada konsentrasi 4,268 ppm mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. Penelitian yang telah dilakukan oleh Mandal *et al* (2022) mendapatkan nilai IC₅₀ kuersetin sebesar 5,23 ppm. Nilai IC₅₀ tersebut tergolong dalam kategori antioksidan sangat kuat yaitu kurang dari 50 ppm (Molyneux, 2004). Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi penghambatan radikal bebas (Niah & Helda, 2016; Irawati, 2019). Nilai persen RSD diperoleh sebesar 0,689% dan memenuhi persyaratan nilai *Relative Standar Deviation* (RSD) adalah <2% (Riyanto 2014).

4 Penentuan nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk

Penentuan nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dilakukan dengan cara membuat larutan induk 100 ppm dan diencerkan menjadi 7 seri kadar dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm. Seri konsentrasi yang dipilih harus memasuki rentang persen inhibisi sebesar 50% yang artinya dapat menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Tiap larutan seri konsentrasi dicampurkan dengan DPPH lalu didiamkan selama *operating time* (22 menit). Selanjutnya, absorbansi tiap konsentrasi dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang

gelombang maksimum 515 nm dan dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi sampel (sumbu x) dan persen inhibisi (sumbu y) pada Gambar 18, dan diinterpretasikan untuk memperoleh nilai IC₅₀.



Gambar 18. Grafik hubungan antara konsentrasi sampel fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dengan persen inhibisi

Persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan antara seri konsentrasi fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dengan persen inhibisi adalah $y=1,7155x + 29,503$ dengan koefisien korelasi (r) yaitu 0,984. Nilai koefisien korelasi yang diperoleh mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linier (Asmorowati & Lindawati, 2019). IC₅₀ menggambarkan besarnya konsentrasi suatu senyawa yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan, semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Firdiyani *et al.*, 2015; Verdiana *et al.*, 2018). Nilai IC₅₀ yang diperoleh pada fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk

| Konsentrasi (ppm) | \bar{x} persen inhibisi (%) | SD | RSD (%) | \bar{x} IC ₅₀ ± SD (ppm) | RSD (%) |
|-------------------|-------------------------------|---------|---------|---------------------------------------|---------|
| 5 | 42,257 | 0,00025 | 0,04239 | | |
| 10 | 44,192 | 0,00015 | 0,02662 | | |
| 15 | 51,820 | 0,00015 | 0,03083 | | |
| 20 | 62,431 | 0,00015 | 0,04483 | 11,949 ± | 0,0288 |
| 25 | 72,409 | 0,00017 | 0,06103 | 0,0034 | |
| 30 | 86,012 | 0,00021 | 0,14463 | | |
| 35 | 87,571 | 0,00015 | 0,11956 | | |

Semakin tinggi konsentrasi sampel maka nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil, dan menyebabkan persen inhibisi semakin tinggi. Hal ini menunjukkan fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk yang bereaksi dengan DPPH mengandung senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan meredam radikal bebas DPPH (Niah & Helda, 2016; Irawati, 2019). Nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk pada penelitian ini didapatkan sebesar 11,949 ppm ± 0,003. Nilai persen RSD diperoleh sebesar 0,028% dan memenuhi persyaratan nilai *Relative Standar Deviation* (RSD) adalah <2% (Riyanto 2014).

Fitiani *et al* (2020) telah melakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan ekstrak etanol batang *S. littoralis* Hassk dengan nilai IC₅₀ sebesar 26,29 ppm. Penelitian lain yang telah dilakukan

oleh Novanty *et al* (2021) terhadap ekstrak etanol batang *S. littoralis* Hassk dan didapatkan nilai IC_{50} sebesar 13,253 ppm. Penelitian dari Arsul *et al* (2022) menggunakan ekstrak *n*-heksana diperoleh hasil IC_{50} sebesar 14,37 ppm. Beberapa penelitian tersebut menunjukkan bahwa *S. littoralis* Hassk memiliki senyawa antioksidan yang tergolong sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} dibawah 50 ppm. Molyneux (2004) menyatakan bahwa nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm tergolong sangat kuat. Perbedaan hasil ini dipengaruhi oleh tempat pengambilan sampel yang berbeda, serta proses pemisahan senyawa pada sampel yang berbeda yaitu antara ekstrak dan fraksi.

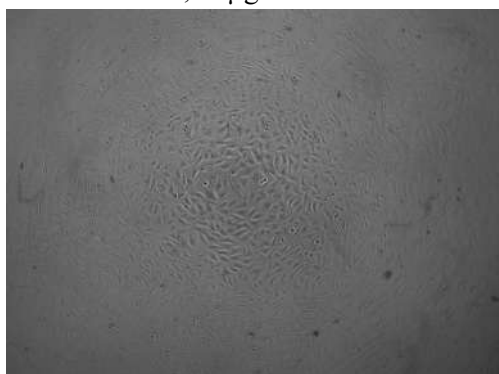
Aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk jika dibandingkan dengan kontrol positif kuersetin yang didapatkan maka kekuatannya lebih rendah. IC_{50} larutan kuersetin sebesar 4,268 ppm. Perbedaan nilai aktivitas tersebut dapat disebabkan karena kuersetin merupakan senyawa murni dan fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk terdiri dari berbagai macam metabolit sekunder yang saling berinteraksi untuk menimbulkan aktivitas tertentu (Puspitasari & Ningsih, 2016). Aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana batang *S. littoralis* Hassk dalam menangkap radikal DPPH berhubungan dengan kandungan flavonoidnya. Semakin tinggi kadar flavonoid, maka memiliki aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH yang tinggi (Prayitno *et al.*, 2018).

Hasil Uji Antikanker / Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Haryoto *et al*, 2013). Suatu ekstrak mempunyai aktivitas antikanker dinyatakan sebagai berikut: (1) $IC_{50} \leq 5\mu\text{g/mL}$ dikategorikan sangat aktif; (2) $IC_{50} = 5- 10\mu\text{g/mL}$ dikategorikan aktif; (3) $IC_{50} = 11-30\mu\text{g/mL}$ dikategorikan sedang; dan (4) $IC_{50} \geq 30\mu\text{g/mL}$ dikategorikan tidak aktif (Cho *et al.*, 1998).

Efek sitotoksik ekstrak terhadap sel kanker dan sel normal setelah perlakuan ditandai dengan penurunan viabilitas sel. Terdapat korelasi antara konsentrasi bahan uji dengan viabilitas sel. Makin tinggi konsentrasi bahan uji, viabilitas sel juga semakin turun atau efek penghambatan pertumbuhan sel semakin meningkat (Priyanto, 2007).

Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$

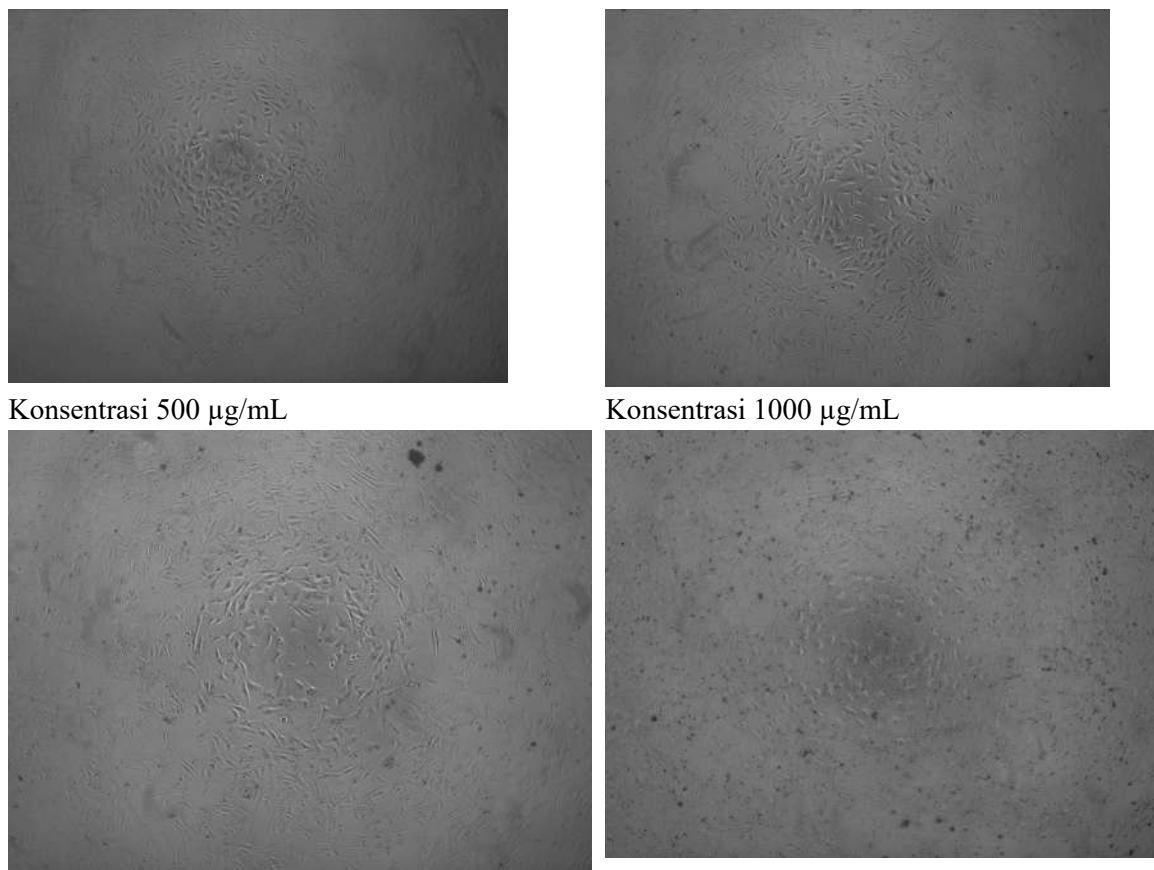


Konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$



Konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$



Gambar 19 Efek sitotoksi ekstrak etanol batang *S. littoralis* Hassk

Efek sitotoksik dari ekstrak etanol batang *S. littoralis* Hassk paling tinggi terjadi pada konsentrasi 500 dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 19). Kemampuan suatu sampel uji menurunkan viabilitas sel dengan meningkatkan konsentrasi disebabkan oleh factor *biochemical uncoupling*, dimana komponen yang terdapat dalam suatu sampel uji akan mempengaruhi sintesis molekul ATP tanpa mempengaruhi transport elektron sehingga terjadi pelepasan energi dan kalor (Masriani, 2014). Peningkatan konsentrasi sampel uji akan meningkatkan komponen aktif yang terkandung dalam sampel, sehingga efek *biochemical uncoupling* juga semakin besar.

Tabel 18. Efek Sitotoksik ekstrak, fraksi n heksana, dan fraksi etil asetat terhadap sel kanker T47D

| Sampel Batang <i>S. littoralis</i> Hassk | IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) |
|--|---------------------------------------|
| Eksrak Etanol | 670 \pm 0,2 |
| Fraksi n-heksana | 16,88 \pm 0,5 |
| Fraksi etil asetat | 35,16 \pm 0,3 |

Hasil analisis probit pada Table 18 diperoleh nilai IC₅₀ sampel uji yang berdasarkan kategori bahwa nilai IC₅₀ yang paling kecil diantaranya adalah fraksi n-heksana memiliki nilai IC₅₀ yang paling kecil yaitu 16,88 \pm 0,3 $\mu\text{g/mL}$. yang berarti termasuk dalam kategori aktif terhadap penghambatan sel kanker T47D. Tabel 18 menunjukkan perbedaan signifikan dari ketiga sampel tersebut, bahwa fraksi n-heksana memiliki nilai IC₅₀ yang paling kecil yaitu 16,88 \pm 0,3 $\mu\text{g/mL}$.

Walau demikian penelitian terus dilanjutkan pada pengujian terhadap beberapa sel kanker lain selain sel kanker T47D yaitu diantaranya Raji, MCF-7, WiDr, dan Hela untuk menelusuri dan membuktikan penggunaan masyarakat secara empiris, hal ini untuk menguji selektivitas sampel uji terhadap sel kanker tertentu. Demikian juga terhadap isolasi untuk mencari senyawa aktif yang memiliki aktivitas

antikanker yang selektif.

Hasil Identifikasi Fraksi A Hasil Isolasi

| No. | Ret.Time min | Hit# 1 | Chemical Formula | Mol. Weight | SI Hit#1 | Hit# 2 min | Chemical Formula | Mol. Weight | SI Hit#2 min | Hit# 3 counts*min | Chemical Formula | Mol. Weight | SI Hit#3 counts*min | Rel.Area % | Area counts*min |
|-----|-----------------|--|---------------------|----------------|-------------|--|---------------------|----------------|--------------------|--|---------------------|----------------|---------------------------|---------------|--------------------|
| 1 | 7.33 | Resorcinol | C6H6O2 | 110 | 760 | Hydroquinone | C6H6O2 | 110 | 737 | 3(2H)-Pyridazinone, 6-methyl- | C5H6N2O | 110 | 697 | 19.81 | 7242860.326 |
| 2 | 9.37 | 13,16-Octadecadiynoic acid, methyl ester | C19H30O2 | 290 | 675 | Octadecanoic acid, 9,10-dichloro-, methyl ester | C19H36Cl2O2 | 366 | 670 | Cyclopropanebutanoic acid, 2-[[2-[[2-[(2-pentylcyclopropyl)methyl]cyclopropyl]methyl]cyclopropyl]methyl]-, methyl ester | C25H42O2 | 374 | 666 | 3.18 | 1161505.342 |
| 3 | 10.72 | 1,8-Diethyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol | C13H24N2O | 224 | 643 | Pyrazole[4,5-b]imidazole, 1-formyl-3-ethyl-6-β-d-ribofuranosyl-4,6-Dimethyl-2(1H)pyridone, 3-(4,6-dibromo-2-hydroxyphenylmethyl enamino) | C12H16N4O5 | 296 | 639 | Phenol, 2-butoxy-6-[(dimethylamino)methyl]- | C13H21NO2 | 223 | 636 | 0.90 | 327612.884 |
| 4 | 11.68 | 1,8-Diethyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol | C13H24N2O | 224 | 631 | | C14H12Br2N2O2 | 398 | 606 | Menthol, 1'-(butyn-3-one-1-yl)-, (1R,2S,5R)-3-Pyridinecarboxylic acid, 2,7,10-tris(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentamethyl-4-oxo-4a,7a-epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-11-yl ester, [1aR-(1aR*,2R*,3S*,4aR*,6S*,7S*,7a5*,8E,10R*,11R*,11a5*)]- | C14H22O2 | 222 | 605 | 0.76 | 278510.241 |
| 5 | 12.82 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 601 | Cholestan-3-one, cyclic 1,2-ethanediyl aetal, (5β)- | C29H50O2 | 430 | 593 | Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester | C17H34O2 | 270 | 706 | 4.41 | 1611716.345 |
| 6 | 14.23 | Hexadecanoic acid, methyl ester | C17H34O2 | 270 | 754 | | | | | 3-Pyridinecarboxylic acid, 2,7,10-tris(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentamethyl-4-oxo-4a,7a-epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen- | C32H39NO10 | 597 | 598 | 0.36 | 131793.909 |
| 7 | 15.10 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 608 | Bufo-20,22-dienolide, 3,14-dihydroxy-, (3β,5β)- | C24H34O4 | 386 | 604 | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-------|---|--------------|-----|--|---------------|-----|-----|--|---------------|-----|-----|------|------------|
| 13 | 22.37 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 3-Pyridinecarboxylic acid, 2,7,10-tris(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentamethyl-4-oxo-4a,7a-epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-11-yl ester, [1aR-(1aR*,2R*,3S*,4aR*,6S*,7S*,7aS*,8E,10R*,11R*,11aS*)]- | C32H39NO10 | 597 | 660 | α-D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate | C13H26BN O6Si | 331 | 639 | 0.62 | 225638.396 |
| 14 | 23.86 | Butanoic acid, 1a,2,5,5a,6,9,10,10a-octahydro-5,5a-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)-1,1,7,9-tetramethyl-11-oxo-1H-2,8a-methanocyclopenta[a]cyclopropa[e]cyclodecen-6-yl ester, [1aR-(1aa,2a,5β,5aβ,6β,8aa,9a,10aα)]- | C24H34O6 | 418 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 5-[(acetyloxy)methyl]-3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-2,10-dimethyl-, (3aa,6aa,10β,10aβ,10bβ)-(+)- | C19H24O6 | 348 | 653 | (E)-1-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one | C17H16O4 | 284 | 634 | 1.64 | 600476.816 |
| 15 | 24.22 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 5-[(acetyloxy)methyl]-3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-2,10-dimethyl-, (3aa,6aa,10β,10aβ,10bβ)-(+)- | C19H24O6 | 348 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-7-(1-hydroxy-1-methylethyl)-2,10-dimethyl-, [3aR-(3aa,6aa,7a,10β,10aβ,10bβ)]- | C20H28O6 | 364 | 648 | 10-Acetoxy-2-hydroxy-1,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b,13,14b-octadecahydro-2H-picene-4a-carboxylic acid, methyl ester | C33H52O5 | 528 | 634 | 0.80 | 294136.693 |
| 16 | 24.58 | 3-Pyridinecarboxylic acid, 2,7,10-tris(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentamethyl-4-oxo-4a,7a-epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-11-yl ester, [1aR-(1aR*,2R*,3S*,4aR*,6S*,7S*,7a S*,8E,10R*,11R*,11aS*)]- | C32H39NO10 | 597 | β-N-Acetylneuraminic acid, methyl ester-2-methyl-7,9-methylboronate-3,8-di(trimethylsilyl)- | C20H40BNO9Si2 | 505 | 644 | α-D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate | C13H26BN O6Si | 331 | 638 | 0.50 | 181196.601 |
| 17 | 25.07 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 5-[(acetyloxy)methyl]-3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-2,10-dimethyl-, (3aa,6aa,10β,10aβ,10bβ)-(+)- | C19H24O6 | 348 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-7-(1-hydroxy-1- | C20H28O6 | 364 | 653 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-2,10-dimethyl-, | C17H22O5 | 306 | 649 | 2.12 | 776844.294 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-------|--|--------------|-----|-----|---|--------------|-----|-----|--|----------------|-----|-----|-------|--------------|
| 18 | 25.71 | Benz[e]azulene-3,8-dione, 5-[(acetyloxy)methyl]-3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-2,10-dimethyl-, (3a,6aa,10b,10aβ,10bβ)-(+)- | C19H24O6 | 348 | 679 | methylethyl)-2,10-dimethyl-, [3aR-(3aa,6aa,7a,10b,10aβ,10bβ)]-Benz[e]azulene-3,8-dione, 3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-7-(1-hydroxy-1-methylethyl)-2,10-dimethyl-, [3aR-(3aa,6aa,7a,10b,10aβ,10bβ)]- | C20H28O6 | 364 | 664 | (3aa,6aa,10b,10aβ,10bβ)-(+)-Benz[e]azulene-3,8-dione, 3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-2,10-dimethyl-, (3aa,6aa,10b,10aβ,10bβ)-(+)- | C17H22O5 | 306 | 657 | 1.10 | 403825.044 |
| 19 | 26.68 | 3-Pyridinecarboxylic acid, 2,7,10-tris(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentamethyl-4-oxo-4a,7a-epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-11-yl ester, [1aR-(1aR*,2R*,3S*,4aR*,6S*,7S*,7a5*,8E,10R*,11R*,11a5*)]- | C32H39NO10 | 597 | 660 | α-D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate | C13H26BNO6Si | 331 | 640 | β-N-Acetylneuraminic acid, methyl ester-2-methyl-7,9-methylboronate-3,8-di(trimethylsilyl)- | C20H40BNO9Si2 | 505 | 637 | 0.52 | 189381.379 |
| 20 | 28.25 | Squalene | C30H50 | 410 | 863 | 1,6,10,14,18,22-Tetracosahexaen-3-ol, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-(+)- | C30H50O | 426 | 811 | 2,6,10,14,18-Pentamethyl-2,6,10,14,18-eicosapentaene | C25H42 | 342 | 801 | 28.24 | 10324305.019 |
| 21 | 28.63 | Ethyl iso-allocholate | C26H44O5 | 436 | 693 | 4H-Cyclopropa[5',6']benz[1',2':7,8]azuleno[5,6-b]oxiren-4-one, 8,8a-bis(acetyloxy)-2a-[(acetyloxy)methyl]-1,1a,1b,1c,2a,3,3a,6a,6b,7,8,8a-dodecahydro-3,3a,6b-trihydroxy-1,1,5,7-tetramethyl-Octasiloxane, | C26H34O11 | 522 | 670 | 9-Desoxo-9-x-acetoxy-3,8,12-tri-O-acetylingol | C28H40O10 | 536 | 667 | 0.93 | 339557.550 |
| 22 | 30.47 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 673 | 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 659 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-Octasiloxane, | C12H38O5Si6 | 430 | 653 | 0.62 | 228314.587 |
| 23 | 31.44 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 666 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl- | C12H38O5Si6 | 430 | 632 | 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-β-D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5- | C16H50O7Si8 | 578 | 621 | 0.89 | 326859.100 |
| 24 | 31.68 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 673 | Ergosta-5,22-dien-3-ol, acetate, (3β,22E)- | C30H48O2 | 440 | 637 | β-D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5- | C27H52N2O10Si3 | 648 | 619 | 1.06 | 387421.141 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|-------|--------------------------------------|--------------|-----|-----|---|-------------|-----|-----|--|-------------|-----|-----|------|-------------|
| 25 | 32.02 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 670 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-Octasiloxane, | C12H38O5Si6 | 430 | 631 | ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, methyl ester | C30H48O2 | 440 | 630 | 0.81 | 295806.441 |
| 26 | 32.57 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 659 | 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-Octasiloxane, | C16H50O7Si8 | 578 | 657 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl- | C12H38O5Si6 | 430 | 640 | 0.50 | 184506.901 |
| 27 | 32.74 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 648 | 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 628 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-Octasiloxane, | C12H38O5Si6 | 430 | 621 | 1.18 | 433156.894 |
| 28 | 35.42 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 667 | Spirost-8-en-11-one, 3-hydroxy-, (3β,5α,14β,20β,22β,25R)- | C27H40O4 | 428 | 641 | 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 624 | 1.97 | 719464.159 |
| 29 | 36.77 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 670 | Ergosta-5,22-dien-3-ol, acetate, (3β,22E)- | C30H48O2 | 440 | 633 | Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 624 | 3.12 | 1141607.346 |
| 30 | 37.70 | Betulinaldehyde | C30H48O2 | 440 | 655 | Lup-20(29)-en-3-one | C30H48O | 424 | 652 | 17.alfa.,21β-28,30-Bisnorhopane | C28H48 | 384 | 649 | 8.59 | 3140096.228 |
| 31 | 37.84 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 660 | Spirost-8-en-11-one, 3-hydroxy-, (3β,5α,14β,20β,22β,25R)- | C27H40O4 | 428 | 645 | Glycine, N-[(3α,5β)-24-oxo-3-[(trimethylsilyloxy]cholan-24-yl)]-, methyl ester | C30H53NO4Si | 519 | 629 | 2.87 | 1050098.905 |
| 32 | 38.30 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 656 | Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 629 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl- | C12H38O5Si6 | 430 | 624 | 1.68 | 614120.529 |
| 33 | 38.63 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 656 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-Octasiloxane, | C12H38O5Si6 | 430 | 635 | 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 632 | 3.37 | 1232010.892 |
| 34 | 39.39 | Methyl glycocholate, 3TMS derivative | C36H69NO6Si3 | 695 | 649 | Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl- | C16H50O7Si8 | 578 | 643 | Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl- | C12H38O5Si6 | 430 | 640 | 1.09 | 398363.320 |
| Total: | | | | | | | | | | | | | | | |

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui BIMA.

Luaran yang direncanakan pada Tahun I adalah publikasi Internasional bereputasi dan buku literatur dengan judul 'Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala', pemakalah dalam temu ilmiah nasional/internasional.

1. Publikasi Internasional bereputasi: pada *Rasayan Journal of Chemistry* (Scopus Q3, SJR tahun 2021: 0.33), **Status Submit**
2. Draft Buku literatur dengan judul 'Metode Ekstraksi Dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala'
3. Pemakalah dalam temu Ilmiah Internasional pada The 1st ICMP will be held virtually on Friday-Saturday, 21st-22nd October 2022, status Terlaksana
4. Pemakalah dalam temu Ilmiah Internasional pada The 1st ICOMES Offline Jumat-Sabtu, 11-12 November 2022, status Terlaksana

E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui BIMA.

Mitra tidak ada

.....

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

1. Kendala bahan, bahan inden dalam pengadaannya
2. Acapkali terjadi kontaminasi

G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Tahun kedua akan dilakukan standardisasi bahan baku, elusidasi struktur senyawa aktif antikanker, dan uji toksisitas secara *in vivo*. Luaran yang diharapkan adalah publikasi Internasional, buku referensi “Cara Isolasi Senyawa Flavonoid Batang Bajakah Tampala” dan pemakalah nasional/internasional, serta paten status terdaftar. Pada masa 2 tahun, TKT penelitian senyawa bioaktif tumbuhan *Spatholobus littoralis* Hassk sebagai kandidat antikanker meliputi prinsip dasar penelusuran senyawa bioaktif dan teknologi bioassay melahirkan hipotesis potensi bajakah sebagai antikanker yang mengandung kajian dan analisis hingga diperoleh struktur senyawa yang bertanggung jawab sebagai antikankernya, terpublish dan dapat dipertanggungjawabkan dan menjadi kandidat yang memenuhi kriteria sebagai antikanker. Penelitian lebih lanjut adalah tahap penelitian terapan meliputi, praformulasi sediaan OHT, Formulasi OHT. Penelitian pengembangan meliputi produksi dan optimalisasi produk skala laboratorium, uji klinik serta uji lainnya yang menunjang penggunaan klinik, serta pra produksi OHT skala industri

.
.
.
.
.

.
.
.
.
.

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Dharma, M. A., K. A. Nocianitri, & N. L. A. Yusarini. 2020. Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Duwuh. *Jurnal Ilmu Pengetahuan & Teknologi Pangan*, **9** : 88-95.
2. Salamah, N., M. Rozak, & M. A. Abror. 2017. Pengaruh Metode Penyarian terhadap Kadar Alkaloid Daun Jembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa* BL.) dengan Metode Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Pharmacia*, **7** : 113-122.
3. Suharto. 1991. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Rineka Cipta, Jakarta. Maryam, S., T. D. Euriyanto, & D. Hayati. 2020. Uji Efektivitas Diuretik Ekstrak Etanol Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss Webster. *Jurnal Sabdariffarma*, **9** : 1-6.
4. Riwanti, P., F. Izazih, & Amaliyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70, dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, **2** : 82-95. Agustina, S., Ruslan, & A. Wiraningtyas. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra kimia*. **4**:72-76.
5. Voigt, T. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi Kelima*. Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta.
6. Chairunissa, S., N. M. Wartini, & L. Suhendra. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa & Manajemen Agroindustri*, **7**: 551-560
7. Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

8. Adawiyah, R. 2017. Uji Identifikasi Farmakognostik Tumbuhan Kemiri Sunan (*Aleurites trisperma*) Di Kebun Percobaan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. *Anterior Jurnal*. **17** : 60-68.
9. BPOM, RI. 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
10. Utami, Y. P., S. Sisang, & A. Burhan. 2020. Pengukuran Parameter Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Patikal (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **24** : 5-10.
11. AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist*. Association of Official Analytical Chemist, Inc. Virginia USA.
12. Raimon. 1993. *Perbandingan Metode Destruksi Basah dan Kering secara Spektrofotometri Serapan Atom*. Lokakarya Nasional, Yogyakarta.
13. Mulyani. O. 2007. Studi Perbandingan Cara Destruksi Basah pada Beberapa Sampel Tanah Asal Citarum dengan Metode Konvensional dan Bomb Teflon. *Tesis ITB*, Bandung.
14. Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press, Jakarta
15. Handayani, R. & S. Novaryatiin. 2015. Uji Identifikasi Farmakognostik Tumbuhan Hati Tanah Asal Kota Palangkaraya Kalimantan Tengah, *Jurnal Surya Medika*, **1**: 48-54.
16. Saputera, M. M. A. & N. Ayuhecaria. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Etanolik Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Terhadap Waktu Penyembuhan Luka. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. **3**: 318-327.
17. Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB, Bandung. Rudi, L. 2010. *Penentuan Dasar-Dasar Pemisahan Analitik*. Universitas Haluoleo, Kendari.
18. Ayuchercaria, N., M.M.A. Saputera, R. Niah. 2020. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Visible. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. **3** : 132-141.
19. Habibi, A. I., R. A. Firmansyah, & S.M. Setyawati. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak & Aktivitas *n*-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesia Journal of Chemical Science*, **7** : 1-4.
20. Sa'adah, S. & H. Nurhasnawati. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **1** : 149-153.
21. Nurzama, F., J. Djajadisastra, & B. Elya. 2018. Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, **8** : 85-93.
22. Noer, S., R. D. Pratiwi, & E. Gresinta. 2020. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin, dan Flavonoid sebagai kuarsetin) pada Ekstrak Daun Inggau (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, **18** : 19-29.
23. Adhityasmara, D., & D. Ramonah. 2022. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) pada Tikus yang Diinduksi Isoniazid. *Jurnal Ilmiah Sains*, **22** : 40-48.
24. Rosamah, E. 2019. *Kromatografi Lapis Tipis Metode Sederhana dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*. Mulawarman University Press, Samarinda
25. Sutomo S., 2020, Antioxidant and immunomodulatory activity of isolate compounds of kasturi fruit (*Mangifera casturi* Kosterm.) from South Borneo Indonesia.
26. Maulida, R & A. Guntarti. 2015. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) terhadap Rendemen Ekstrak dan Kandungan Total Antosianin. *Pharmaciana*. **5**: 9-16.
27. Astuti, A.D., A. Maulana, & E.M. Kuntowa. 2012. Isolasi Steroiddari Fraksi N-

- Heksana Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.). Prosiding Seminar Nasional Kimia.
28. Astarina, N.W.G., K.W. Astuti, & N.K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 1:1-10.
 29. Ansari, M.I. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Fraksi Etil Asetat Batang Bajakah Tampala (Spatholobus littoralis Hassk.)*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin.
 30. Ikalinus, R, S.K. Widyastuti, & N.L.E Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*. 4: 71-79.
 31. Noorlaili, Laili (2019) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri. Karya Tulis Ilmiah (KTI), Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin.
 32. Sholekah, F.F. 2017. Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica Pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi. Jurusan Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Yogyakarta.
 33. Sutomo., Arnida., M.I. Rizki., L. Triyasmono., A. Nugroho., E. Mintowati, & Salamiah. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Asal Daerah Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*. 3: 66-74
 34. Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. UGM Press, Yogyakarta.
 35. Wulan, A. Yudistira, & H. Rotinsulu. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan dari
 36. Ekstrak Metanol Daun *Mimosa pudica* Linn. Menggunakan Metode DPPH. *PHARMACON*. 8: 106-113.

LAMPIRAN:

Pemakalah Oral Pada seminar Internasional ICMP:

The 1st International Conference on
Faculty of Pharmacy University
icmp@unej.ac.id

Letter of Acceptance

Dear Arnida Arnida

Abstract Code: OP-58

First of all, thank you for your participation in
Medicinal Plants (The 1st ICMP) which will be
virtual platform.

Along with this letter, the organizing committee of
Medicinal Plants (The 1st ICMP) is pleased to
Antioxidant against metabolic disorders has been
Presentation

Please submit your video for Oral
(unej.icmpvideoform) no later than **October 12**
make sure that your video file meets the req
presentation and oral presentation

Oral and poster presenters can publish their re
international or national journals. Please submit
(unej.icmpfullpaperform) no later than October 1
fullpaper can be found on the conference website.

Furthermore, you can pay attention to further in
conference at **The 1st ICMP website address**

Should you need further information, please fee
icmp@unej.ac.id or contact person (<https://icmp.farm>)

Sincerely,
The 1st ICMP Scientific Committee
Faculty of Pharmacy University of Jember
Jember – Indonesia
icmp@unej.ac.id





CERTIFICATE OF APPRECIATION
This certificate is proudly awarded to:
Dr. apt. Arnida, M.Si
for the invaluable contribution as
Oral Presenter
in
The 1st International Conference on Medicinal Plants (The 1st ICMP):
62nd Meeting of Working Group on Medicinal Plant and Traditional Medicine (POKJA TOOT)
Jember, October 21st-22nd 2022

| SKP 043/PP/JA/022/02/2022 | |
|---------------------------|---------|
| Plenary/Invited Speaker | 4.5 SKP |
| Moderator | 1.5 SKP |
| Committee | 1.5 SKP |
| Oral/Poster Presenter | 3 SKP |
| Participant | 12 SKP |


Akhnjad Saikh, M. Sc.PH.
Head of POKJA TOOT

Dr. apt. Nuri, S.Si, M.Si.
Dean of Faculty of Pharmacy, University of Jember




Phytochemical Screening And Antioxidant Detection Using TLC Method Of *n*-Hexane Fraction Of Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Stem From Central Kalimantan

Arnida^{1*}, Nur Azizah Putri Nada Hanifah², Sutomo¹

Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Jl. A. Yani
Km 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

*Corresponding email: arnida01@ulm.ac.id

1



Pemakalah Oral Pada seminar Internasional 2 ICOPMES

2nd ICOPMES The Second International Conference on Pharmaceutical Material, Engineering and Applied Science 2022
"Addressing Challenges in Science, Technology, and Pharmacy for Better Future"

Ref. No. ICOPMES-61
Re: Letter of Acceptance


Dear Authors,
Congratulations!

Following an initial pre-assessment, we are pleased to inform you that your paper has been accepted for oral presentation at The Second International Conference on Pharmaceutical Material, Engineering and Applied Science (The 2nd ICOPMES 2022) which is scheduled to be held on November 11-12, 2022 at Makassar, South Sulawesi, Indonesia.

| Submission | Authors | Phytochemical Content |
|------------|---|-----------------------|
| ICOPMES-61 | Arnida Arnida, Marlisa Puspandari, Sutomo-Sutomo and Destria Indah Sari | Ethanollic Hassk. |

The paper can only be presented if the registration fee has been paid. The registration fee is due on **November 4, 2022**.

Please note that only selected abstract will be published in *Journal of Agricultural Sciences (JEAS)* (International journal indexed by SCOPUS Country Rank). Please confirm whether you wish to publish your paper in icopmes.farmasi.unhas.ac.id before November 10, 2022. Further information will be announced after the conference.

We look forward to welcoming you in the 2nd ICOPMES 2022.
Yours faithfully,

Abdul Rahim, PhD
Chairman of Organizing Committee The 2nd ICOPMES 2022
Website: <https://icopmes2022-farmasi.unhas.ac.id/>

Kampus Merdeka 2nd ICOPMES

CERTIFICATE

No. 2022/04/17/PM/02/2022
This is to certify that

Arnida
as Presenter

In The Second International Conference on Pharmaceutical Material, Engineering and Applied Science (ICOPMES) 2022
"Addressing Challenges in Science, Technology, and Pharmacy for Better Future"

Organized by Faculty of Pharmacy, Universitas Hasanudin
Originally held on November 11-12, 2022 at Makassar, South Sulawesi, Indonesia.

SKP IA No. SKP/03/PP/IA/1822/IK/2022
5 SKP Moderator 1.5 SKP Committee 1.5 SKP Oral/Poster Presenter 3 SKP and Participant 10 SKP

 
Chairperson Secretary
Abdul Rahim, Ph.D., Apt. Chairperson
Destria Indah Sari, Apt. Secretary

CS CamScanner

Artikel:

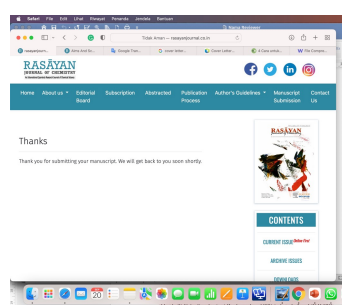
Phytochemical Constituents, Flavonoid Content, and antioxidant activity of Ethanolic Extract of *Spatholobus littoralis* Hassk. Stem Originated from Central Kalimantan

Arnida, Marlisa Puspandari, Sutomo, Destria Indah Sari
Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Lambung Mangkurat II, A
Yuan Sari Widyadarmas, Kalimantan Selatan
Email: arnida01@ulm.ac.id

Abstract

Spatholobus littoralis Hassk is one of the plants originated from Central Kalimantan. This plant was already used generation to generation by Palangkaraya society to treat wound, muscle soreness, cancer, and dysentery. This study was aimed to identify phytochemical constituents, total flavonoid content, and antioxidant activity of ethanolic extract of *S. littoralis* Hassk stem. Phytochemical constituent identifications were performed using tube test and GCMS. Total flavonoid content was determined by colorimetry using quercetin as reference and AlCl₃ 10% as well as acetic acid 5% as reagents. Antioxidant activity were determined on its IC₅₀ using DPPH method. Identification result on *S. littoralis* Hassk stem powder and extract showed presence of flavonoid, saponin, and tannin. GCMS identification showed 34 peaks, dominated by squalene, resorcinol, batulinaldehyde, and hexadecenoic acid-methyl ester. Total flavonoid content of its extract was 3.3903 ± 0.0048 %b/b EQ. Antioxidant activity of the extract has IC₅₀ 7.396 ± 0.04 ppm. Therefore, it can be concluded ethanolic extract of *S. littoralis* stem has a very strong antioxidant activity.

Kata kunci: *Spatholobus littoralis* Hassk, antioxydant, GCMS, phytochemical screening



Thanks
Thank you for submitting your manuscript. We will get back to you soon shortly.

Phytochemical Constituents, Flavonoid Content, and antioxidant activity of Ethanolic Extract of *Spatholobus littoralis* Hassk. Stem Originated from Central Kalimantan

Arnida, Marlisa Puspandari, Sutomo, Destria Indah Sari
Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas
Lambung Mangkurat
Jl. Ahmad Yani Km 36 Banjarbaru, Kalimantan
Selatan
Email: arnida01@ulm.ac.id

Abstract

Spatholobus littoralis Hassk is one of the plants originated from Central Kalimantan. This plant was already used generation to generation by Palangkaraya society to treated wound, muscle soreness, cancer, and dysentery. This study was aimed to identify phytochemical constituents, total flavonoid content, and antioxidant activity of ethanolic extract of *S. littoralis* Hassk stem. Phytochemical constituent identifications were performed using tube test and GCMS. Total flavonoid content was determined by colorimetry using quercetin as reference and AlCl₃ 10% as well as acetic acid 5% as reagents. Antioxidant activity were determined on its IC₅₀ using DPPH method. Identification result on *S. littoralis* Hassk stem powder and extract showed presence of flavonoid, saponin, and tannin. GCMS identification showed 34 peaks, dominated by squalene, resorcinol, batulinaldehyde, and hexadecenoic acid-methyl ester. Total flavonoid content of its extract was 3.3903 ± 0.0048 %b/b EQ. Antioxidant activity of the extract has IC₅₀ 7.396 ± 0.04 ppm. Therefore, it can be concluded ethanolic extract of *S. littoralis*

stem has a very strong antioxidant activity.

Keywords: *Spatholobus littoralis* Hassk., antioxidant, GCMS, phytochemical screening

INTRODUCTION

Excess free radical may cause oxidative stress, leading to various degenerative diseases. These diseases could be prevented by antioxidant. Exogenous antioxidant intake is needed to accelerate the recovery of the balance of the body system and to decelerate oxidation process of free radical scavengers. The antioxidant is used to evade free radicals – formed caused by unhealthy environment and life style¹.

Kalimantan is one of the islands famous of its biodiversity. The knowledge of traditional medication using plants, were inherited orally passthrough generation to generation in Central Kalimantan ethnic². One of those plants utilized empirically by Desa Garung society is Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.), to against cancer, diarrhea, dysentery, muscle sore and heal wound³. *Spatholobus littoralis* stem extraction done using ethanol 70%, contained secondary metabolites, i.e. flavonoid, saponin, terpenoid, tannin, phenolic compound, and steroid⁴. The compound having antioxidant potency are usually flavonoid, phenolic, and alkaloid. Meanwhile, ethanolic extract of *S.littoralis* stem has inhibition activity opposing *Staphylococcus aureus* growth⁵. Phytochemical screening is one of the methods used to identify compounds in plants. The screening was performed to *S. littoralis* stem powder and ethanolic extract, by tube test and GCMS method.

Flavonoid is one of polyphenol compound exerted antioxidant, antimicrobial, antiallergy, antiviral, anti-inflammatory, and vasodilator nature⁶. Flavonoid determination in plant could employed colorimetry method. This method involves aluminum chloride is principald on color changing complex formation. The method was chosen since it is simple, affordable, and rapid⁷. Antioxidant is a compound having the ability to scavenge free radicals, prevent the free radicals disrupt cells, tissues, or organs, hence antioxidant become significant to body⁸. Based on previous description, researchers were interested to carried out phytochemical screening, flavonoid content determination, and antioxidant activity of *S. littoralis* stem ethanolic extract. The research was designed to provide information of phytochemical constituents found in ethanolic extract of *S. littoralis* stem, potential natural antioxidant and could be used as scientific reference in further research.

RESEARCH METHOD

Material used in this research were *S. littoralis* stem powder, ethanol 96%, methanol p.a (Merck), chloroform p.a (Merck), ethyl acetate (p.a), n-hexane (p.a), HCl 2N, HCl 37%, reagents (Dragendorff, Mayer, Lieberman-Burchard), magnesium powder, FeCl₃ 3%, gelatin 1%, DPPH (Sigma), acetic acid 5%, AlCl₃ 10%, etanol 96% teknis, dan quercetin (Sigma).

Instruments used in this research were Gas Chromatography–Mass Spectroscopy (GC-MS QP2010 Plus) to identify chemical compound, and Spektrofotometer UV-Vis (Spectronic Genesys 10 UV) to set total flavonoid content and antioxidant activity determination.

Simplicia and Ethanolic Extract of *S. littoralis* stem Processing

Sample was collected from Palangkaraya Central Kalimantan. The stem of *S. littoralis* were sorted, washed, and chopped. They later dried in the oven set on 50°C for 4 days, then were sorted again and were powdered using blender. As much as two kilograms of simplicia powder were macerated using

ethanol 96%. Extraction were done for 3x72 hours (remaceration) and the solvent were changed every 72 hours stirred once in every 6 hours. The liquid extract were collected and were concentrated on water bath on 50°C until reach its fixed weight.

Identification of Phytochemical Constituents in *S. littoralis* Stem Powder and Ethanolic Extract

Phytochemical screening of *S. littoralis* stem powder and ethanolic extract were done to alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, and steroid/triterpenoid using color reagents resulting color change or form sedimentation as specific characteristic of each compound group⁹. When GC were combined with MS, researchers could analyze organic solution, processed it in the instrument, and separated into single compound and straightly identified the compound.

Total Flavonoid Content Determination of *S. littoralis* Stem Ethanolic Extract.

The *S. littoralis* stem ethanolic extract were weighed 4 milligrams and were dissolved in 10 mL volumetric flask, 0.5 mL of this main solution then were added 1.5 mL methanol p.a and were added 0.1 mL AlCl₃ 10%, 0.1 mL acetic acid 5%, and 2.8 mL aquadest in tube test. The solution then was vortexed and incubated for 30 min. The absorbance of the solution were read on quercetin wavelength¹⁰.

Antioxidant Activity Determination Using DPPH

Qualitative Antioxidant Activity Determination

The stationary phase were silica gel 60 GF254 and the mobile phase were *n*-hexane:ethyl acetate (3:7) v/v; *n*-hexane:ethyl acetate (5:5) v/v; and *n*-hexane:ethyl acetate (6:4) v/v. The extract were dissolved in chloroform : methanol. The solution then were strained and were spotted on previously activated TLC plate. Plate were eluated and sprayed using DPPH to be evaluated. The yellow spots with purple background formed in no more than 30 minutes are indicated as antioxidant^{11,12}.

Quantitative Antioxidant Activity Determination

DPPH wavelength Determination

Maximum wavelength determination were determined by took as much as 1 mL DPPH 0.4 mM solution, added with 4 mL methanol p.a., vortexed and left for 30 minutes on room temperature in the dark environment. The absorbance of the solution then were measured using spectrophotometer UV-Vis on wavelength 450-550 nm¹³.

Operating itme Deermination

Operating time determination were done by took 1 mL DPPH 0.4 mM, added 4 mL quercetin solution 10 ppm in tube test. Solution were vortexed for 30 minutes and were measured on wavelength 515 nm every 2 minutes for 40 minutes.

Determination of IC₅₀ value of quercetine comparison solution

Ten miligrams of quercetine was weighed and then dissolved with methanol p.a in a 100 mL volumetric flask to obtain 100 ppm quercetin solution. This solution then was made in series with concentrations of 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 14 ppm by taking 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 1; 1,2; and 1.4 mL, respectively. The series of levels that have been made are then taken 4 mL each and then added with 1 mL of DPPH solution. The concentration series solution was then allowed to stand for an operating time in a dark environment. The absorbance was measured using a UV-Vis spectrophotometer with the maximum wavelength obtained and replicated 3 times¹⁴.

Determination of IC₅₀ value *S. littoralis* stem ethanol extract

The ethanol extract of *S. littoralis* stem was weighed 10 mg and dissolved in 100 mL of methanol to obtain 100 ppm solution. The solution is then made a series solution with a concentration of 0.25; 1.25; 2.5; 5; 10; and 20 ppm by taking a solution of 0.025; 0.125; 0.25; 0.5; 1; and 2 mL, respectively. Then, each concentration was added 4 mL into a 10 mL volumetric flask and

methanol was added to the mark. A total of 1 mL of 0.4 mM DPPH solution was added to the volumetric flask. Furthermore, the solution was allowed to stand for a period of time produced at the operating time of 30 minutes in a dark environment. The absorbance was measured using a UV-Vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 515 nm.

Data analysis

Analysis of the data used in this study for qualitative data such as qualitative tests of flavonoids and thin layer chromatography will be presented in a descriptive form. Meanwhile, quantitative data, namely flavonoid content, will be presented in percentage form and antioxidant test will be presented in IC₅₀ value.

RESULTS AND DISCUSSION

Plant Determination

The results of plant determination were carried out at the Plant Conservation Center of the Botanical Gardens-LIPI, the sample was declared to be in the Fabaceae family with the species name *Spatholobus littoralis* Hassk with specimen number 578/IPH.1.01/If.07/1/2020.

Simplicia Processing and Preparation of *S. littoralis* stem Ethanol Extract

The stems of *S. littoralis* were obtained from Palangkaraya, Central Kalimantan. A total of 2 kg of simplicia powder was extracted by maceration method using 96% ethanol as solvent. The maceration method was chosen to reduce the risk of damage to compounds in the sample. Ethanol is polar so it can attract most secondary metabolites which are polar, semipolar or non-polar. The thick extract of *S. littoralis* stem obtained was 21 grams, it was thick and reddish brown in color with a rendement of 11.03%.

Identification of Phytochemical Content of *S. littoralis* Stem Powder and Ethanol Extract

Phytochemical screening was carried out on samples of simplicia powder and ethanol extract of *S. littoralis* stem. Determination of the class of active compounds in the powder and ethanol extract of *S. littoralis* stem was carried out using color reagents that can produce color changes or form precipitates as a specific characteristic of a group of compounds⁹. Phytochemical screening was carried out on several groups of compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins (Table 1).

Table 1. Identification of phytochemical content of powder and ethanol extract of stem *S. littoralis*

| No. | Phytochemical Constituents | Identification Result | |
|-----|----------------------------|-----------------------|---------|
| | | Powder | Extract |
| 1. | Alkaloid | - | - |
| 2. | Flavonoid | + | + |
| 3. | Tannin | + | + |
| 4. | Saponin | + | + |

Description = (+) contains the test compound, (-) does not contain the test compound

The results of the alkaloid test showed that both the powder and ethanol extract of the stem of *S. littoralis* did not contain any alkaloid

compound. This is indicated by the addition of Dragendorff's reagent, no red precipitate is formed and the addition of Mayer's reagent does not form a yellowish white precipitate.

The results of the flavonoid test showed that the powder and ethanol extract of the stem of *S. littoralis* contained flavonoid compounds, characterized by a change in color to orange after the addition of concentrated Mg and HCl powder. The purpose of adding concentrated Mg and HCl powder is to reduce the flavonoid compounds contained in the sample, causing a yellow, orange, and red color reaction. The antioxidant activity of flavonoids comes from their ability to donate hydrogen atoms or through their ability to chelate metals¹⁵.

In the tannin test using FeCl₃ reagent the results were positive, because the powder sample and stem extract of *S. littoralis* formed a green-black solution. The color change occurs due to the formation of complex compounds between tannins and FeCl₃¹⁶. The tannin test using gelatin was positive, indicated by the formation of a white precipitate. The precipitate is formed due to hydrogen bonds in tannins and proteins in gelatin¹⁷. Tests for saponins on samples of powder and ethanol extract of *S. littoralis* stem were positive, because the powder and extract formed a stable foam for 10 minutes. Positive results of saponin testing are indicated by the formation of a stable foam for 10 minutes¹⁸.

Research conducted by Saputera & Ayucheria (2018)⁴ on 70% ethanol extract, was positive for flavonoids, saponins, tannins, steroids, terpenoids, and phenols. While the extraction using methanol solvent on the positive ethyl acetate fraction contains flavonoids, saponins, steroids and terpenoids³. The difference in the content of secondary metabolites in plants with the same growing place can be caused because in Ansari's research (2014) the location where the sample was taken was still in the form of a wild forest, so it was still rich in microorganisms from other plants that supported the production of secondary metabolites, whereas when researchers took samples in In 2020 there have been changes, both in terms of light, temperature, humidity, pH, nutrient content in the soil, and altitude in the forest environment. According to Sholekah (2017)¹⁹, differences in the content of secondary metabolites in the same plant can be influenced by several factors, such as light, pH, aeration, altitude, soil conditions, and microorganisms.

The results of the chromatogram of chemical compounds in cherry leaves using Gas Chromatography–Mass Spectroscopy (GC-MS QP2010 Plus) originating from Central Kalimantan can be seen in Figure 1. The results of the chromatogram of chemical compounds of *S. littoralis* stem ethanol extract have 34 peaks, but the compounds that contain dominant can be seen in Table 2.

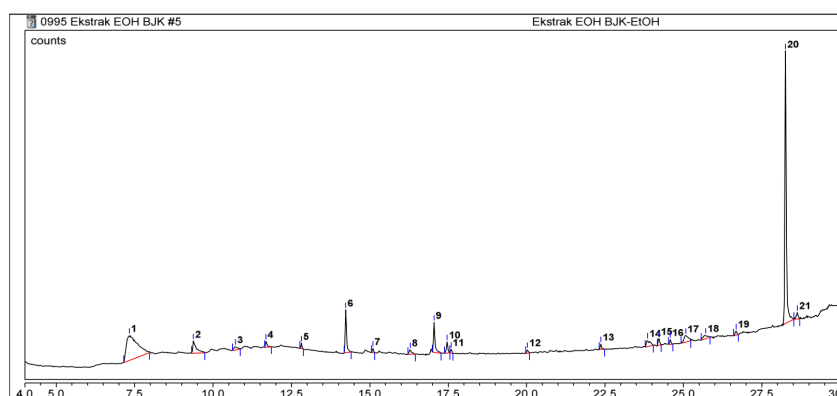


Figure 1. Chromatogram results of GCMS stem ethanol extract of *S.*

littoralis

Based on the results of the GC-MS analysis of the chemical components of the ethanol extract of *S. littoralis* stem in Table 2, the dominant chemical compounds were squalene, resorcinol, batulinaldehyde, and hexadecanoic acid-methyl ester.

Table 2. Dominant chemical compounds appear in the ethanol extract of stem *S. littoralis*

| Percentage (%) | Chemical Compound | Chemical Formula | Molecular Weight |
|----------------|---------------------------------|--|------------------|
| | Squalene | C ₃₀ H ₅₀ | |
| | Resorcinol | C ₆ H ₆ O ₂ | |
| | Batulinaldehyde | C ₃₀ H ₄₈ | |
| | Hexadecanoic acid, methyl ester | C ₁₇ H ₃₄ | |

Squalene is a hydrocarbon chain formed by six isoprene units when the units are assembled, they form a triterpene that gives the lipid its character. Six carbon double bonds (C=C) become one of the most unsaturated lipids, and are sensitive to oxidation²⁰. The biochemical structure of squalene is C₃₀H₅₀, a 30-carbon compound (polyprenyl, holding 6 prenyl groups, better known as isoprenoid or isoprene) due to its six-group CH₃ double bond structure, isoprenoid has a strong natural antioxidant effect.

Determination of Flavonoid Content of *S. littoralis* Stem Ethanol Extract

Spectrophotometric method based on complex formation with AlCl₃ is the most common procedure for determining total flavonoid content in medicinal plant samples. The hydroxy groups at C-3 and C-5 as well as the dihydroxy groups in ring B of flavonoids can form chelate complexes with AlCl₃²¹. The compound used for the standard in determining the levels of these flavonoids is quercetin, because quercetin is a flavonoid of the flavonol group which has a C-4 keto diatom group and also a hydroxyl group on neighboring C-3 and C-5 atoms.

Table 3. Determination of total flavonoid content

| Sample | Sample Absorbance | \bar{x} Absorbance ± SD | RSD (%) | Total Flavonoid Content (%b/b EQ) | Total Flavonoid Content (%b/b) |
|----------------------|-------------------|---------------------------------|----------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| <i>S. littoralis</i> | 0,2629 | | | 3,388 | |
| Stem | 0,2627 | 0,2631 ± | 0,00201% | 3,386 | 3,386 |
| Ethanol | | 0,00053 | | | |
| Extract | 0,2637 | | | | |

Keterangan : *EQ (Equivalent Quercetin)

This result (Table 3) is greater than the study conducted by (Setyani et al., 2014)²² on 96% ethanol extract of Bangle *Zingiber montanum* rhizome 394.07 mg quercetin equivalent. Then the total flavonoid rendement of this study was also higher than the study²³ which used the rat purun plant *Eleocharis dulcis* with a total flavonoid of 2.557 %w/w equivalent to quercetin. The RSD percent value of the ethanol extract of *S. littoralis* stems obtained has met the RSD percent requirement of 0.00173%. The percentage of good RSD is 4%²⁴, so it can be concluded that the validity requirements

have been met.

Antioxidant Activity of *S. littoralis* Stem Ethanol Extract by DPPH Method

Qualitative Antioxidant Activity Test

The antioxidant activity test was carried out using the DPPH method on a UV-Vis spectrophotometer which describes the amount of antioxidant activity in the extract which can reduce free radicals. Antioxidant activity using the DPPH method is expressed by the IC₅₀ value. The IC₅₀ value is the concentration of the sample required to inhibit DPPH free radicals by 50%. Antioxidant properties are stronger when the IC₅₀ value is less²⁵.

Identification using thin layer chromatography aims to provide a qualitative description of the composition of the initial active compound from the sample based on the chromatogram pattern²⁶ (Depkes RI, 2000). Elution was carried out using several eluents such as, *n*-hexane : ethyl acetate (6:4) v/v; *n*-hexane : ethyl acetate (5:5) v/v; and *n*-hexane : ethyl acetate (3:7)v/v. The function of using the three eluents is to determine the chromatogram profile of each eluent with different polarity levels. TLC plate sprayed using 0.01% DPPH reagent showed pale yellow spots on a purple background which indicated that the extract contained antioxidant compounds. Spots that can capture free radicals will produce a yellow color with a purple background in no more than 30 minutes is indicated as an antioxidant¹⁸. Chromatogram of *S. littoralis* stem ethanol extract with *n*-hexane eluent: ethyl acetate (6:4) v/v there was 1 spot that appeared at R_f 0.22; *n*-hexane eluent: ethyl acetate (5:5) v/v has 4 spots appeared at R_f 0.23; 0.43; 0.47; 0.89 and *n*-hexane eluent: ethyl acetate (3:7)v/v has 4 spots appeared, namely at R_f 0.54; 0.67; 0.76; and 0.92.

Quantitative Antioxidant Activity Test

Determination of IC₅₀ value of quercetine comparison solution

Quercetin is categorized as a flavonol group - belongs to the largest flavonoid group found in plants. Quercetin was used as a comparison because it has high antioxidant activity and is classified as very active hence it can be chosen as one of the constituent that can be used as a reference. The selection of references also considers aspects of material availability and suitability with the method used. In addition, quercetin is a flavonoid group that is very potent in reduce free radicals, since quercetin has more than one or two electrons that able to stabilize free radicals²⁷.

Quercetin solution were made in several concentrations, namely 2, 3, 4, 5 and 6 ppm for each concentration, then 2 mL was taken and added with 0.5 mL of 0.4 mM DPPH solution. Each solution that has been mixed is allowed to stand for 30 minutes based on the results of the operational time and is left in a dark environment. The quercetine regression equation obtained is $y = 11.677x + 18.742$ with a value of *r* (correlation coefficient) of 0.9865 and *r*² (coefficient of determination) 0.9733. The *r*² value of 0.9733 indicates that 97.33% percent inhibition of the comparison of quercetin is affected by its concentration. This regression equation is used to get the IC₅₀ value or the *x* value in the equation by changing the *y* value to 50 in the obtained equation. The IC₅₀ value for comparison of quercetin (Table 4) can be categorized as very active antioxidant activity²⁸.

Table 4. Percent Inhibition and IC₅₀ Value of Quercetin

| Conc. (ppm) | Inhibition percentage (%) | IC₅₀ (ppm) | Avg IC₅₀ ± SD (ppm) | RSD (%) | r | Equation |
|--------------------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|----------------|----------|-----------------|
|--------------------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|----------------|----------|-----------------|

| | | | | | | |
|---|-------|--------|--------|---------|------|----------|
| 2 | 45.05 | | | | | |
| 3 | 52.45 | 2.867 | 2.8563 | | | y = |
| 4 | 62.90 | 2.8501 | ± | 0.32494 | 0.98 | 6.017x + |
| 5 | 65.10 | 2.8519 | 0.0092 | | | 41.408 |
| 6 | 74.45 | | | | | |

Determination of IC₅₀ value of *S. littoralis* Stem Ethanol Extract

The IC₅₀ value is the concentration required to reduce 50% of free radicals. Determination of the antioxidant activity of the ethanol extract of *S. littoralis* stem was carried out by making a test solution with concentrations of 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 14 ppm. Each of these concentrations was taken as much as 2 mL and added with 0.04 mM DPPH as much as 0.5 mL. It was allowed to stand for an operational time of 30 minutes and was read at a maximum wavelength of 516 nm. The regression equation obtained is $y = 6.017x + 41.408$ with a value of r (correlation coefficient) of 0.980 and r^2 (coefficient of determination) 0.9949. The r^2 value of 0.9949 shows that 99.49% percent of the inhibition obtained is influenced by the concentration of the sample used. The IC₅₀ value of the stem ethanol extract of *S. littoralis* (Table 5) categorized as very active activity²⁸.

Table 5. Percent Inhibition and IC₅₀ Value of *S. littoralis* stem ethanol extract

| Conc. (ppm) | Inhibition percentage (%) | IC ₅₀ (ppm) | Avg IC ₅₀ ± SD (ppm) | RSD (%) | r | Equation |
|-------------|---------------------------|------------------------|---------------------------------|---------|------|----------|
| 2 | 37.97 | | | | | |
| 4 | 44.33 | 7.437 | | | | |
| 6 | 44.41 | 3 | | | | |
| 8 | 50.27 | 7.393 | 7.3962±0.0 | 0.5390 | 0.98 | y = |
| 10 | 54.46 | 5 | 4 | 2 | 0 | 5.8469x |
| 12 | 59.97 | 7 | | | | + 9.474 |
| 14 | 68.66 | | | | | |

The IC₅₀ value of the *S. littoralis* stem ethanol extract is lesser than the study on *Cassia spectabilis* DC (family Leguminosae) which is the same family of this plant having an IC₅₀ value of 114.61 ppm²⁹. The lesser the IC₅₀ value, the stronger the antioxidant activity. Antioxidant activity cannot be separated from the role of secondary metabolites of the flavonoid group found in the ethanol extract of *S. littoralis* stems. The more hydroxy groups contained in flavonoid compounds, the better and more effective the antioxidant activity in a plant will be. So, it can be said that there is a correlation between total flavonoid levels and antioxidant activity. The higher total flavonoid levels, the higher the effectiveness of antioxidants³⁰.

CONCLUSION

The results of the identification of the chemical content of the powder and ethanol extract of the stem of *S. littoralis* contain flavonoid, saponin, and tannin compounds. Identification by Gas Chromatography–Mass Spectroscopy (GC-MS) showed that the dominant chemical compounds were squalene, resorcinol, batulinaldehyde, and hexadecanoic acid-methyl ester. The total flavonoid content contained in the ethanol extract of the stem of *S. littoralis* was 3.3903 ± 0.00478% w/w equivalent to quercetin and based

on the IC₅₀ value of the ethanol extract of the stem of *S. littoralis*, which was 7.3962 ± 0.04 ppm indicating its antioxidant activity was included in the very active category. .


ACKNOWLEDGMENT

The author would like to thank the Ministry of Education, Culture, Research, and Technology of the Republic of Indonesia for the financial support through the 2022 PDUPT scheme research grant. Thanks to Rina, Muhammad Maulana, Sovia Chaerani, Djogja Dharma Abadi, and Annisa Khaerani for their cooperation in the Laboratory. Thank you to LPPT UGM for their cooperation in using GCMS spectroscopy.

REFERENCES

1. Wulan W, Yudistira A, Rotinsulu H. Antioxidant activity test of ethanol extract of *Mimosa pudica* Linn leaves. using the DPPH method. *Pharmacon*. 2019;8(1):106-113.
2. Arnida, Wahyono, Mustofa, Asmahsusidarti R. In vitro antiparasitoid activity of ethanol extracts of Borneo medicinal plants (*Hydroleaspinnosa*, *Ampelocissus rubiginosa*, *Uraria crinita*, *Angiopteris evecta*). *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015;7(5).
3. Ansari M.I. *Isolation and Identification of Ethyl Acetate Fraction of Tampala Bajakah Trunk (Spatholobus Littoralis Hassk.)*; 2012.
4. Saputera MMA, Noverda A. Test the Effectiveness of Ethanolic Extract of Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Against Wound Healing Time. *J Ilm Ibnu Sina*. 2018;3(2):318-327.
5. Kurniawan BB. *Anti-Bacterial Activity Test Of The Tampala Powder (Spatholobus Littoralis Hassk.) Against Staphylococcus Aureus Bacteria*; 2021. http://repository.stikes-bhm.ac.id/1092/1/jurnal/bibismillah_bayu_kurniawan.pdf
6. Pietta P-G. Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod*. 2000;63(7):1035-1042. doi:10.1021/np9904509
7. Sumijo O, Riyono H. Some Methods Of Measurement Of Chlorophyll Phytoplankton In The Sea. *33 Oseana*. 2006;XXXI(3):33-44. www.oseanografi.lipi.go.id
8. Siagian P. *Antioxidant Miracle*. Gramedia Pustaka Utama; 2013.
9. Harborne JB. *Phytochemical Methods*. Vol 37. London New York Chapman and Hall; 1985. doi:10.2307/2806080
10. Depkes RI. Formularies. *Farmakop Herb Indones Ed II*. Published online 2017:213-218. doi:10.1201/b12934-13
11. Sugiyanto TTI, Nuranto S, Kuswandi M. Antioxidan. *UGM*. Published online 2017:6.
12. Sutomo S, Wahyuono S, Rianto S, Yuswanto A. Antioxidant activity assay of extracts and active fractions of kasturi fruit (*Mangifera casturi* Kosterm.) using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *J Nat Prod*. 2014;7:124-130. www.JournalofNaturalProducts.Com
13. Samsul NR, Johanneas E. Analysis of Antioxidant Content in Pollen and Honey Produced by Bees *Trigona* spp At Several Locations In South Sulawesi. Published online 2020:26-37.
14. Rustanti E, Lathifah QA. Identification of Quercetin Compound from Ethyl Acetate Fraction of Avocado Leaf Extract (*Persea americana*

| | |
|--|---|
| | <p>Mill.). <i>Alchemy</i>. 2019;6(2):38. doi:10.18860/al.v6i2.6768</p> <p>15. Mukhlis ES. <i>Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes</i>. Syiah Kuala University Press; 2018.</p> <p>16. Agustina S, Ruslan, Wiraningtyas A. Phytochemical Screening of Medicinal Plants in Bima District. <i>Cakra Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem</i>. 2016;4(1):71-76.</p> <p>17. Ikalinus R, Widyastuti S, Eka Setiasih N. Phytochemical Screening Ethanol Extract Skin Stem Moringa (<i>Moringa oleifera</i>). <i>Indones Med Veterinus</i>. 2015;4(1):77.</p> <p>18. Sutomo S, Arnida A, Rizki I. M, et al. Phytochemical Screening and Qualitative Test of Antioxidant Activity of Plants from Overseas Areas, Tapin Regency, South Kalimantan. <i>J Pharmascience</i>. 2016;3(1):66-74.</p> <p>19. Sholekah FF. Differences in Altitude to the Content of Flavonoids and Beta Carotene of Karika Fruit (<i>Carica pubescens</i>) Dieng Wonosobo Region. <i>Pros Semin Nas Pendidik Biol dan Biol</i>. Published online 2017:75-82.</p> <p>20. Valdez López LL, Chóez Guaranda IA, Carrillo Lavid GA, Martínez MM. Pharmacognostic study and evaluation of the antioxidant capacity of the fruit of two varieties of <i>Nephelium lappaceum</i> L. (Sapindaceae), (rambutan). <i>J Pharm Pharmacogn Res</i>. 2020;8(1):64-77.</p> <p>21. Munawaroh R, Prawita Setyowati E, Murwanti R, Hertiani T, Mada G, Penelitian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Kupang B. Correlation Between Total Flavonoid Contents and Macrophage Phagocytosis Activity of Fractions From Faloak (<i>Sterculia quadrifida</i> R.Br.) Barks Ethanolic Extract In Vitro Korelasi Antara Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Fagositosis Makrofag Fraksi-Fraksi. <i>Tradit Med J</i>. 2018;23(1):47-55.</p> <p>22. Setyani AR, Arung ET, Sari YP. Phytochemical Screening, Antioxidant and Antibacterial Activity of Bangle Fresh Root Ethanol Extract (<i>Zingiber montanum</i>). <i>J Ris Teknol Ind</i>. 2021;15(2):415. doi:10.26578/jrti.v15i2.7436</p> <p>23. Zhan G, Pan L, Tu K, Jiao S. Antitumor, antioxidant, and nitrite scavenging effects of Chinese water chestnut (<i>Eleocharis dulcis</i>) peel flavonoids. <i>J Food Sci</i>. 2016;81(10):H2578-H2586.</p> <p>24. González AF, Balmaseda IH, Gutiérrez Gaitén YI, et al. Phytochemical study and antioxidant capacity of three fractions from the stem of <i>Caesalpinia bahamensis</i> Lam. <i>J Pharm Pharmacogn Res</i>. 2019;7(1):12-20.</p> <p>25. Molyneux P. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. <i>Songklanakar J Sci Technol</i>. 2004;26(December 2003):211-219. doi:10.1287/isre.6.2.144</p> <p>26. Depkes RI. General Standard Parameters of Medicinal Plant Extract. <i>Depkes Ri</i>. Published online 2000.</p> <p>27. Jumadin L, Satyaningtijas A, Santoso K. Cassava Leaf Extract Is Good As An Antioxidant in Adult Quails That Get Short Heat Exposure. <i>J Vet</i>. 2017;18(1):135-143. doi:10.19087/jveteriner.2017.18.1.135</p> <p>28. Jun M, Fu H, Hong J, Wan X, Yang CS, Ho C. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (<i>Pueraria lobata</i></p> |
|--|---|

| | |
|--------------|--|
| | <p>Ohwi). <i>J Food Sci.</i> 2003;68(6):2117-2122.</p> <p>29. Rosyidah K, Rohman T, Fitriani R. Antioxidant Activity of Methanol Extract of the Purun Tikus (<i>Eleocharis dulcis</i>) Leaves. <i>JKPK (Jurnal Kim dan Pendidik Kim)</i>. 2018;3(3):135. doi:10.20961/jkpk.v3i3.25626</p> <p>30. R RY, Dahlia AA, Ahmad AR. Determination Of Total Flavonoid Levels From Ethanolic Extracts Of Partsula Mango Leaves (<i>Dendrophthoe pentandra</i> L. Miq). <i>J Fitofarmaka Indones.</i> 2016;1(1):14-17. doi:10.33096/jffi.v1i1.195</p> |
| | |
| <p>Buku:</p> | <p style="text-align: center;">PENERBIT CV. BANYUBENING CIPTA SEJAHTERA <i>- publish dan share knowledge -</i> <small>Jl. Sapta Marga Blok E No. 38 RT 007 RW 003 Guntung Payung, Landasan Ulin, Banjarbaru 70721 Telp. +62 887 4366 45495 email: penerbit.bcs@gmail.com Web: www.penerbitbcs.com</small></p> <hr/> <p style="text-align: center;"><u>SURAT KETERANGAN PUBLIKASI BUKU</u> No : 023/BCS.IX/2022</p> <p>Tim <i>reviewer</i> dengan ini menyatakan bahwa buku,</p> <p>Judul : Metode Ekstraksi dan Fraksinasi Batang Bajakah Tampala (<i>Spantholobus littoralis</i> Hassk.)</p> <p>Kepengarangan : Arnida Sutomo</p> <p>Kategori : Karya Referensi</p> <p>Adalah benar merupakan karya tulis dengan status diterima (<i>accepted</i>) untuk dapat diterbitkan melalui,</p> <p>Penerbit : CV Banyubening Cipta Sejahtera Alamat : Jl. Sapta Marga Blok E No. 38, Guntung Payung, Landasan Ulin, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70721</p> <p>Berdasarkan hasil <i>review</i> oleh Tim Penerbit, bahwa buku tersebut masuk dalam kategori karya referensi yang berisi fakta-fakta teruji sehingga kami dapat melakukan proses pendaftaran ISBN (<i>International Standard Book Number</i>) dan publikas dengan ISBN978-623-5774-73-2.</p> <p>Demikian surat keterangan ini supaya dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.</p> <p style="text-align: right;">Hormat kami, Direktur  Nia Septia Sari</p> |
| | |