

Bidang Unggulan\*\*\* : Kesehatan dan obat-obatan  
Kode>Nama Rumpun Ilmu\* : 404/ Analisis Farmasi dan Kimia  
Medisinal

## **LAPORAN AKHIR**

### **PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



### **PENGEMBANGAN *EXTRACT LIBRARY* DARI TUMBUHAN MANGROVE UNTUK PENEMUAN OBAT-OBATAN**

#### **TIM PENGUSUL**

**Ketua Peneliti: Dr. Ir. Kholis Abdurachim, M.Sc, NIDN: 0321067305**  
**Anggota Peneliti: Dr Irmanida Batubara, SSi, MSi NIDN: 0001017409**  
**Anggota Peneliti: Hery Sutanto, M.Si, NIDN: 0409128201**

**SWISS GERMAN UNIVERSITY**  
**Oktober, 2017**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pengembangan Extract Library dari Tumbuhan Mangrove untuk Penemuan Obat-Obatan

**Peneliti/Pelaksana**

Nama Lengkap : KHOLIS ABDURACHIM AUDAH, S.Si, M.Sc., Ph.D  
Perguruan Tinggi : Universitas Swiss German  
NIDN : 0321067305  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Teknik Elektro  
Nomor HP : +6281314652507  
Alamat surel (e-mail) : kholis.audah@sgu.ac.id

**Anggota (1)**

Nama Lengkap : IRMANIDA BATUBARA S.Si, M.Si  
NIDN : 0001017409  
Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor

**Anggota (2)**

Nama Lengkap : HERY SUTANTO S.Si, M.Si  
NIDN : 0409128201  
Perguruan Tinggi : Universitas Swiss German

**Institusi Mitra (jika ada)**

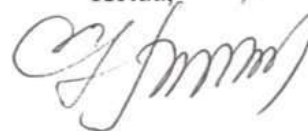
Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp 324,500,000  
Biaya Keseluruhan : Rp 1,349,000,000

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Life Sciences and Technology



(Dr. Dipl.Ing. Samuel Kusumocahyo)  
NIP/NIK 11121411

Kab.Tangerang, 26 - 10 - 2017  
Ketua,



( KHOLIS ABDURACHIM AUDAH, S.Si,  
M.Sc., Ph.D)  
NIP/NIK 11211509

Menyetujui,  
Ketua LPPM



(Dr.-Ing. Evita H. Legowo)  
NIP/NIK 22111321

## IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

---

1. Judul Penelitian : Pengembangan *Extract Library* dari Tumbuhan Mangrove untuk Penemuan Obat-Obatan

2. Tim Peneliti

No	Nama	Jabatan	Bidang Keahlian	Instansi Asal	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1	Kholis A. Audah, PhD	Ketua	Biokimia, Biologi Molekuler, Riset Penyakit Menular dan Kimia Bahan Alam	Universitas Swiss German	8
2	Dr Irmanida Batubara	Anggota 1	Kimia analitik bahan alam	Institut Pertanian Bogor	4
3	Hery Sutanto, M.Si	Anggota 2	Kimia Organik dan Kimia Bahan Alam	Universitas Swiss German	2
4	Pelaksana 1	Asisten Peneliti	Ekstraksi	Universitas Swiss German	25
5	Pelaksana 2	Asisten Peneliti	Uji Aktifitas	Institut Pertanian Bogor	40
6	Pelaksana 3	Asisten Peneliti/ Admin	Uji Aktifitas dan Administrasi	Universitas Swiss German	20

3. Objek Penelitian: tumbuhan mangrove sebagai bahan potensi obat

4. Masa Pelaksanaan

Mulai : bulan: Januari tahun: 2017

Berakhir : bulan: Desember tahun: 2019

5. Usulan Biaya DRPM Ditjen Penguatan Risbang

Tahun ke-1 : Rp 354.000.000

Tahun ke-2 : Rp 450.000.000

- Tahun ke.3 : Rp 500.000.000
- 6. Lokasi Penelitian (Lab/studio/lapangan): Universitas Swiss German, Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB, Bogor dan Pantai Utara Laut Jawa (DKI Jakarta) atau Pantai Selatan Jawa Tengah (Cilacap)
- 7. Instansi lain yang terlibat yaitu PT. Novis Natura Navita (N3) yang saat ini sedang melakukan penelitian bersama dalam bidang antibakteri. Pihak PT. N3 telah memberikan dukungan dana kepada pengusul untuk kegiatan ini.
- 8. Temuan yang ditargetkan (metode, teori, produk, atau masukan kebijakan)
  - Pengembangan metode ekstraksi
  - Koleksi ekstrak (*extract library*) yang dapat digunakan sebagai bahan uji obat untuk berbagai macam penyakit.
  - Bahan berpotensi obat baik berupa ekstrak kasar maupun senyawa tunggal yang sudah dimurnikan.
- 9. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu:

Dengan kekayaan alam hayati yang melimpah, Indonesia menyimpan potensi besar sumber obat-obatan. Riset pengembangan *extract library* untuk tujuan skrining obat-obatan merupakan salah satu cara untuk menggali potensi obat-obatan tersebut dengan cara yang relatif cepat dan murah. Metode ini sejauh pengetahuan pengusul merupakan yang pertama dilakukan di Indonesia.
- 10. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran:

*Journal of Natural Products, Journal of Biomolecular Screening, Jurnal Bahan Alam Indonesia, Jurnal Kimia Indonesia, atau the Journal of Pure and Applied Chemistry Research.*
- 11. Rencana luaran yang diharapkan dari kegiatan riset ini:
  - Sarana penyimpanan
  - Koleksi ekstrak
  - Buku ajar atau monograph

yang pertama dilakukan di Indonesia.
- 10. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran:

*Journal of Natural Products, Journal of Biomolecular Screening, Jurnal Bahan Alam Indonesia, Jurnal Kimia Indonesia, atau the Journal of Pure and Applied Chemistry Research.*

## DAFTAR ISI

<b>Halaman Judul</b>	i
<b>Lembar Pengesahan</b>	ii
<b>Identitas dan Uraian Umum</b>	iii
<b>Daftar Isi</b>	v
<b>Daftar Gambar</b>	vii
<b>Daftar Tabel</b>	viii
<b>1 PENDAHULUAN</b>	1
1.1 Latar Belakang . . . . .	2
1.2 Permasalahan . . . . .	4
1.3 Tujuan . . . . .	5
1.4 Ruang Lingkup Penelitian . . . . .	5
1.5 Batasan Penelitian . . . . .	5
1.6 Manfaat Penelitian . . . . .	6
1.7 Kontribusi penelitian sampai saat ini . . . . .	6
1.8 Capaian Luaran . . . . .	7
1.9 Sistematika Penulisan . . . . .	8
<b>2 TINJAUAN PUSATAKA</b>	9
2.1 Proses awal penemuan obat dari tumbuhan . . . . .	9
2.2 Nilai penting tumbuhan obat pada proses penemuan obat . . . . .	10
2.3 Tantangan dalam penemuan obat dari tumbuhan obat . . . . .	12
2.4 <i>Extract Library</i> . . . . .	12
2.5 Koleksi sampel . . . . .	15
2.6 Skrining antikanker dan antibakteri . . . . .	16
2.7 Fraksinasi dan penanganan direplika .. . . .	17
2.8 Koleksi ulang . . . . .	17
<b>3 METODE PENELITIAN</b>	19
3.1 Studi literatur dan penentuan lokasi sampling . . . . .	19
3.2 Sampling dan preparasi simplisia . . . . .	19
3.3 Uji fitokimia simplisia . . . . .	20
3.4 Penetapan kadar air . . . . .	21
3.5 Ekstraksi (maserasi beringkat) dan evaporasi . . . . .	21
3.6 Uji antibakteri dan antikanker . . . . .	22

<b>4 HASIL PENCAPAIAN</b>	25
4.1 Protokol <i>extract library</i> .....	25
4.2 Mangrove sebagai objek <i>extract library</i> .....	25
4.2.1 Hasil uji kualitatif fitokimia simplisia.....	27
4.2.2 Hasil proses ekstraksi.....	28
4.2.3 Uji skrining antibakteri dan antikanker.....	32
4.3 Konsorsium <i>extract library</i> Indonesia.....	41
<b>5 KESIMPULAN</b>	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	45
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN</b>	49
Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan sampling	49
Lampiran 2. Dokumentasi kegiatan preparasi simplisia	50
Lampiran 3. Bukti identifikasi tumbuhan mangrove dari LIPI Botani Cibinong, Bogor	51
Lampiran 4. Dokumentasi kegiatan uji fitokimia simplisia	54
Lampiran 5. Dokumentasi kegiatan ekstraksi	55
Lampiran 6. Dokumentasi kegiatan uji antibakteri	56
Lampiran 7. Dokumentasi uji anti kanker	57
Lampiran 8. Surat undangan sebagai Invited Speaker	58
Lampiran 9. Surat keterangan penerimaan abstract	59
Lampiran 10. Surat undangan presentasi oral	60
Lampiran 11. Surat undangan sebagai penulis bab buku	61
Lampiran 12. Surat undangan sebagai peserta konferensi	62
Lampiran 13. Poster konferensi	63
Lampiran 14. Daftar hadir kegiatan FGD "Pembentukan Konsorsium Extract Library Indonesia"	64
Lampiran 15. Daftar hadir kegiatan FGD "Pembentukan Konsorsium Extract Library Indonesia"	65
Lampiran 16. Surat pernyataan tanggung jawab belanja	66

## DAFTAR GAMBAR

3.1 Rancangan penelitian . . . . .	19
------------------------------------	----

## DAFTAR TABEL

1.1	Persediaan sampel . . . . .	4
1.2	Capaian luaran . . . . .	7
3.1	Timeline pengerjaan . . . . .	23
4.1	Persediaan sampel . . . . .	26
4.2	Hasil uji fitokimia simplisia . . . . .	27
4.3	Hasil ekstraksi yang sudah dikoleksi . . . . .	28
4.4	Hasil uji skrining antibakteri ( <i>S. aureus</i> ) . . . . .	33
4.5	Hasil uji skrining antibakteri ( <i>P. acne</i> ) . . . . .	33
4.6	Hasil uji skrining antibakteri ( <i>P. mussolli</i> ) . . . . .	34
4.7	Hasil uji skrining antibakteri ( <i>R. equi</i> ) . . . . .	35
4.8	Golongan metabolit sekunder . . . . .	37
4.9	Hasil uji skrining antibakteri . . . . .	38
4.10	Hasil BSLT . . . . .	38
4.11	Pelarut untuk ekstraksi komponen aktif . . . . .	41



## BAB I

### PENDAHULUAN

Penemuan obat-obatan melalui proses skrining menggunakan ekstrak bahan alam dapat menjadi solusi dari lambat dan mahal biaya penemuan obat secara konvensional (Hassig *et al.*, 2014; Li and Vederas, 2009; Harvey, 2008). Di Amerika Serikat sendiri, sekitar 50% obat yang disahkan dari tahun 1981 sampai 2010 adalah berasal dari ekstrak murni bahan alam atau turunannya (Newman, and Cragg, 2010). Permasalahannya adalah Indonesia belum memiliki simpanan atau persediaan ekstrak (*extract library*) dalam jumlah yang memadai untuk keperluan skrining.

Metode dan tahapan penelitian ini adalah pengumpulan ekstrak dari fraksi organik dan air dari berbagai bagian dan spesies tumbuhan mangrove yang berbeda-beda. Ekstrak-ekstrak ini kemudian diuji khasiat antibakteri dan antitumornya melalui metode skrining, kemudian dilanjutkan dengan proses pemurnian dan atau karakterisasi ekstrak terpilih. Untuk tujuan jangka menengah akan dilakukan uji pra klinis dengan luaran berupa Obat Herbal Terstandar (OHT) (tahun ke-4-5) dan untuk jangka panjang akan dilakukan uji klinis yang dapat menghasilkan bahan obat dengan sertifikasi sebagai obat fitofarmaka (tahun ke-6 dan seterusnya). Tahap awal penelitian ini telah dilakukan dengan dukungan dana penelitian dari internal universitas melalui Central Research Fund (CRF) periode 2015-2016.

Luaran hasil penelitian ini diharapkan dapat memenuhi target luaran penelitian yang tertuang dalam Rencana Strategis Penelitian Universitas Swiss German (USG), yaitu untuk publikasi ilmiah pada jurnal nasional maupun internasional. Jurnal ilmiah internasional yang menjadi target publikasi diantaranya adalah Journal of Natural Products atau Journal of Biomolecular Screening, dan jurnal nasional yang ditargetkan adalah Jurnal Bahan Alam Indonesia, Jurnal Kimia Indonesia, atau the Journal of Pure and Applied Chemistry Research. Luaran lainnya adalah untuk mengembangkan berbagai produk hasil bahan alam, khususnya yang berkaitan dengan bidang kesehatan.

Kata kunci: bahan alam, biodiversity, *extract library*, obat-obatan, skrining

## 1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara terkaya di dunia dalam hal biodiversitas laut dan darat yang dapat digunakan sebagai sumber obat-obatan (Mittermeier et al., 2005, Quinn, 2012). Dengan biodiversitas yang melimpah dan ketersediaan tenaga ahli dengan latar belakang disiplin ilmu yang berbeda-beda, seharusnya bangsa kita sudah mampu untuk menyediakan *extract library* dari bahan alam dalam jumlah yang sangat besar. *Extract library* dalam jumlah yang memadai sangat diperlukan untuk uji aktifitas biologi terhadap berbagai macam penyakit melalui metode skrining atau *reverse drug discovery*, yaitu proses penemuan obat yang dimulai dari zat aktif (Li and Vederas, 2009; Harvey, 2008). Dengan asumsi dalam sebuah ekstrak bahan alam mengandung 1 dalam 1000 senyawa yang dapat digunakan sebagai calon obat, jumlah ekstrak yang memadai dapat meningkatkan peluang tersebut. Zat aktif dalam bahan alam tidak selalu identik dengan senyawa tunggal, tetapi dapat berupa kombinasi banyak senyawa. Karena itu penelitian ini ditujukan untuk pengembangan *extract library* yang menurut hemat pengusul sudah menjadi sebuah keharusan.

Dalam kegiatan ini, bahan alam yang akan digunakan adalah mangrove. Mangrove adalah salah satu tumbuhan yang tersebar di hampir seluruh pantai Indonesia dan diyakini berkhasiat sebagai obat oleh sebagian masyarakat Indonesia (*local wisdom*) dan diketahui memiliki berbagai macam senyawa aktif (Bandaranayake, 2002). Berdasarkan beberapa alasan tersebut maka, mangrove sangatlah cocok dijadikan sebagai kandidat untuk dijadikan prototype *extract library*. Kegiatan penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Universitas Swiss German. Bahan contoh mangrove (buah, daun, batang, kulit, dan atau akar) akan dikumpulkan dari beberapa daerah pesisir di pulau Jawa, seperti Kepulauan Seribu dan pantai selatan Jawa Tengah (Cilacap).

Kegiatan penelitian ini adalah bagian dari peta jalan (road map) penelitian Universitas Swiss German, yaitu dalam rangka mengembangkan berbagai produk hasil bahan alam yang berkaitan dengan bidang kesehatan (Rencana Strategis Penelitian Universitas Swiss German 2012-2016 hlm 28 butir 4.2 No.1). Kegiatan awal penelitian ini sudah mulai dilakukan dengan menggunakan dana yang bersumber dari internal universitas melalui Central Research Fund, Universitas Swiss German. Pada saat ini, kegiatan ekstraksi daun mangrove dari species mangrove yaitu *Bruguiera cylindrica* dan *Rhizophora mucronata* sedang dilakukan dengan menggunakan pelarut air, etanol dan hexane. Ekstrak yang berasal dari fraksi etanol dan hexane menunjukkan aktifitas

antimikroba yang cukup baik terhadap bakteri *Escherichia coli*, sedangkan fraksi air tidak menunjukkan aktifitas antibakteri terhadap bakteri yang diuji (unpublished data).

Jangka waktu tiga tahun yang diusulkan ini adalah bagian dari tujuan jangka panjang kegiatan penelitian ini yaitu ditemukannya obat untuk penyakit tertentu, khususnya penyakit infeksi pada tahun-tahun berikutnya melalui uji pra-klinis dan uji klinis. Untuk tujuan jangka panjang, diharapkan ada pihak-pihak industri farmasi dan kesehatan baik swasta maupun pemerintah ikut serta dalam kegiatan ini. Dengan demikian diharapkan hasil kegiatan ini akan bisa dimanfaatkan sesuai tujuan dan kebutuhan masyarakat luas. Hal ini akan lebih menjamin kesinambungan kegiatan ini akan terus terjaga. Tahapan-tahapan kegiatan penelitian ini disusun berdasarkan peta jalan (road map) sebagai berikut:

1. Tujuan Jangka Pendek (tahun ke-1-3), yaitu pembuatan dan penyimpanan extract library dari beberapa spesies mangrove sebagai bahan screening untuk beberapa jenis penyakit terutama sebagai anti mikroba dan anti kanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, dilanjutkan dengan pemisahan, pemurnian dan karakterisasi fraksi atau senyawa dengan potensi obat.
2. Tujuan Jangka Menengah (tahun ke-4 dan ke-5) meliputi kajian pra-klinis menggunakan hewan percobaan.
3. Tujuan Jangka Panjang (Tahun ke-6 dan selanjutnya) meliputi kajian klinis dan komersialisasi produk untuk obat potent.

Luaran-luaran utama yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi (dua tulisan), yaitu satu pada tahun ke-2 dan satu pada tahun ke-3 dan publikasi pada jurnal internasional (satu tulisan), yaitu pada tahun ke-3.
2. Pemakalah pada temu ilmiah nasional (tiga tulisan), yaitu satu tulisan pada setiap tahunnya dan dua kali sebagai pemakalah pada temu ilmiah internasional, yaitu pada tahun ke-2 dan ke-3. Target jurnal untuk publikasi yaitu *Journal of Natural Products*, *Journal of Biomolecular Screening*, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, *Jurnal Kimia Indonesia*, atau *the Journal of Pure and Applied Chemistry Research* atau jurnal-jurnal lainnya yang dianggap bereputasi.
3. Pengembangan metode ekstraksi
4. Koleksi ekstrak (extract library) yang dapat digunakan sebagai bahan uji obat untuk berbagai macam penyakit.

5. Bahan berpotensi obat baik berupa ekstrak kasar maupun senyawa tunggal yang sudah dimurnikan.

Luaran-luaran yang diharapkan dari setiap tahap atau tahun penelitian ini secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.1.

Tabel 1.1. Rencana target capaian tahunan

No.	Jenis luaran		Indikator capaian		
			Tahun ke-1	Tahun ke-2	Tahun ke-3
1.	Publikasi ilmiah <sup>2)</sup>	internasional	Tidak ada	Draft	Accepted
		Nasional terakreditasi	Draft	Accepted	Accepted
2.	Pemakalah dalam temu ilmiah <sup>3)</sup>	Internasional	Draft	Published	Published
		Nasional	Published	Published	Published
3.	Invited speaker dalam temu ilmiah <sup>4)</sup>	Internasional	Tidak ada	Terdaftar	Sudah
		Nasional	Terdaftar	Sudah	Sudah
4.	Visiting lecturer <sup>5)</sup>	Internasional	Tidak ada	Tidak ada	Sudah
5.	Hak Kekayaan Intelektual (HKI) <sup>6)</sup>	Paten	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Paten sederhana	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Hak cipta	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Merek dagang	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Rahasia dagang	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Desain produk industri	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Indikasi geografis	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Perlindungan varietas tanaman	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
6.	Teknologi tepat guna <sup>7)</sup>	Perlindungan topografi sirkuit terpadu	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
			Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
7.	Koleksi ekstrak dan sarana penyimpanan ekstrak <sup>8)</sup>		Tidak ada	Tidak ada	Ada
8.	Monograph (ISBN) <sup>9)</sup>		Tidak ada	Tidak ada	Ada
9.	Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT) <sup>10)</sup>		3	3	4

## 1.2. Permasalahan

1. Belum adanya protokol yang menjadi acuan dalam pengambilan sampel (waktu, lokasi, umur tumbuhan, dan faktor fisik lainnya), persiapan simplisia, penyimpanan simplisia, proses ekstraksi, dan penyimpanan ekstrak.
2. Belum memiliki simpanan atau persediaan ekstrak (*extract library*) dalam jumlah yang memadai untuk keperluan skrining untuk beberapa jenis penyakit terutama sebagai antibakteri dan antikanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

3. Belum adanya koordinasi yang cukup baik dari berbagai pihak terkait, baik peneliti, pemerintah dan perusahaan.

### **1.3. Tujuan**

1. Pembuatan protokol, khususnya untuk tumbuhan mangrove dalam hal pengambilan sampel, persiapan simplisia, penyimpanan simplisia, proses ekstraksi, dan penyimpanan ekstrak. Sehingga hasil penelitian sejenis dapat dijadikan koleksi informasi yang saling mendukung dan tidak tumpang tindih.
2. Proses skrining untuk beberapa jenis penyakit terutama sebagai anti bakteri dan anti kanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, dilanjutkan dengan pemisahan, pemurnian dan karakterisasi fraksi atau senyawa dengan potensi obat.
3. Terbentuknya sebuah konsorsium dari berbagai pihak terkait baik peneliti, pemerintah maupun industri dalam proses penemuan obat dari bahan alam, khususnya tumbuhan mangrove.

### **1.4. Ruang Lingkup Penelitian**

Fokus penelitian ini adalah tersedianya *extract library* yang memadai dalam hal kuantitas dan kualitas. Sehingga hasil penelitian ini bersifat representatif dan berpotensi dikembangkan dalam proses penemuan obat.

### **1.5. Batasan Penelitian**

1. Sampel tumbuhan mangrove (daun, akar, batang) diambil dari kawasan EMPIK (Ekowisata Mangrove Pantai Indah Kapuk) dan Kawasan Konservasi Mangrove Desa Purworejo, Kecamatan Pasir Sakti, Lampung.
2. Proses ekstraksi dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor.
3. Proses ekstraksi dilakukan melalui maserasi bertingkat dengan menggunakan Hexane, Etil Asetat, Ethanol, dan air sebagai pelarut. Pada tiap-tiap pelarut dilakukan remaserasi untuk optimalisasi rendemen.
4. Uji skrining antibakteri dilakukan pada beberapa spesies bakteri yang mewakili bakteri Gram positif dan Gram negative.
5. Uji skrining anti kanker dilakukan dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

6. Konsorsium *extract library* yang terbentuk diarahkan pada perbaikan protokol, uji skrining yang lebih komprehensif, dan dalam rangka menasionalkan program ini melalui sosialisasi dengan pemerintah (Kemenkes RI).

#### **1.6. Manfaat Penelitian**

1. Tersedianya protokol *extract library* yang dapat dijadikan acuan.
2. Tersedianya prototype *extract library* mangrove yang baik dan dapat menjadi acuan untuk pembentukan *extract library* yang lebih representatif terhadap biodiversitas yang dimiliki Indonesia baik dari darat maupun laut.
3. Terjalannya kerjasama yang kuat sesama peneliti bahan alam baik dari tumbuhan, organisme laut, maupun bakteri demi menuju kemandirian bangsa dalam hal bahan obat. Terjalin pula kerjasama yang baik dengan pemerintah dan industri demi mencapai kemandirian bahan obat.

#### **1.7. Kontribusi Penelitian Sampai Saat Ini**

Penelitian pendahuluan menunjukkan hasil yang positif dalam hal anti bakteri. Ekstrak kasar dengan pelarut Hexane memiliki aktivitas antibakteri yang cukup baik. Isolasi lanjutan dari fraksi ekstrak kasar tersebut memiliki potensi yang sangat besar dalam memerangi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, khususnya bakteri Gram positif. Penelitian lanjutan terhadap aktivitas antikanker juga menunjukkan hasil positif untuk beberapa jenis spesies, khususnya *Rhizophora mucronata*. Sampai saat ini sudah diperoleh 64 extract dari daun, akar dan batang 8 spesies mangrove, yaitu: *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata*, *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh., *Thespesia populnea* (L.) Sol. Ex Correa., *Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem., *Bruguiera gymnorhiza* (L.) Lamk., *Ceriops tagal* (Perr.) C. B. Rob., dan *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl.).

## 1.8. Capaian Luaran

Tabel 1.2. Capaian Luaran

No.	Deskripsi	Keterangan
1.	Uji Pendahuluan Metode Ekstraksi	Pengembangan metode ekstraksi
2.	Jumlah Ekstrak	64 ekstrak
3.	Uji Aktifitas	
	1. Antibakteri	64 ekstrak
	2. Antikanker	64 ekstrak
4.	Publikasi	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Publikasi Proceedings 3rd International Conference on Biological Sciences and Biotechnology (ICBSB), 23 Agustus 2017 (Scopus-Indexed)-accepted with minor revision</li> <li>2. Penerimaan Abstrak di 5th Biology Symposium Universiti Malaysia Sabah (to be presented on 16 November 2017)</li> <li>3. International Journal of Pharma and Bio Sciences (Scopus- Indexed)-accepted with minor revision</li> <li>4. Book Chapter (Invitation to write a book chapter published by Springer (Drug Discovery: A Biodiversity Perspective) (to be published in December 2017)</li> <li>5. Penerimaan Poster di International Biotechnology Conference on Estate Crops (IBCEC) 2017 (presented on October 18<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> 2017)</li> <li>6. Pengajuan proforma naskah manuskrip ke Journal of Molecular Screening, dengan judul Pengembangan Extract Library dari Biodiversitas Indonesia untuk Penyediaan Bahan Kosmetika dan Obat-obatan: “Menggali Potensi Tanaman Mangrove”.</li> </ol>
5.	<i>Invited Speakers</i>	Universiti Malaysia Sabah (14 Juli, 2017)
6.	Focus Group Discussion	Pembentukan Konsorsium <i>Extract Library</i> (27 Juli 2017)
7.	MoA for research collaboration UMS-SGU	Matching Fund (uji anti Tuberculosis) di UMS Sabah

## **1.9 Sistematika Penulisan**

Penulisan laporan ini adalah sebagai berikut:

Bab I PENDAHULUAN, membahas tentang latar belakang yang mendasari penelitian ini, tujuan penelitian dan batasan masalah.

Bab II TINJAUAN PUSTAKA, membahas tentang landasan teori dan kaitan penelitian yang dikakukan dengan penelitian orang lain di bidang yang sama.

Bab III METODOLOGI PENELITIAN, membahas hasil-hasil yang sudah dicapai pada semester satu dan semester dua.

Bab IV HASIL PENCAPAIAN, membahas rencana penelitian yang terbagi menjadi empat, yaitu Penelitian-1, Penelitian-2, Penelitian-3 dan Penelitian-4

Bab V KESIMPULAN, merupakan bagian akhir dari proposal ini, berupa rangkuman.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Proses awal penemuan obat dari tumbuhan**

Sejak berabad-abad lalu manusia sudah sangat bergantung pada tumbuhan untuk memenuhi kebutuhan dasarnya, untuk bahan sandang, pangan, dan papan. Tumbuhan juga digunakan sebagai bahan racun anak panah untuk berburu, halusinogen dalam acara ritual, stimulan, penahan lapar, dan juga sebagai bahan obat-obatan (Mann, 2000). Tumbuhan sudah menjadi dasar yang sangat kuat dalam praktek pengobatan tradisional oleh masyarakat Cina, India, dan banyak negara lainnya termasuk Indonesia (Mittermeier et al., 2005). Jauh sebelum dikenal senyawa aktif secara farmakologi, tumbuhan sudah diresepkan berdasarkan "doktrin kemiripan". Sebagai contoh, herbal berwarna merah untuk mengobati penyakit yang berkaitan dengan darah dan daun berbentuk hati untuk penyakit liver (Sneader, 2005). Praktek pengobatan tradisional umumnya menggunakan bahan mentah atau diolah sesuai kebiasaan turun temurun, seperti dikenal rebusan daun teh atau formula herbal lainnya.

Pada perkembangan selanjutnya, obat herbal tersebut digunakan dalam bentuk isolasi senyawa aktif murni (Salim et al, 2008). Senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan dikenal sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder dapat dibedakan menjadi beberapa kelas, yaitu: alkaloid, terpenoid, dan phenolik. Penemuan senyawa metabolit sekunder tumbuhan dimanfaatkan selanjutnya lebih luas sebagai bahan obat-obatan, baik dalam bentuk struktur asli maupun modifikasi (Samuelsson, 2004). Isolasi senyawa aktif tersebut pada akhirnya mengarah pada penemuan obat-obatan seperti kokain, kodein, digitoxin, dan quinin (Newman et al., 2000; Butler, 2004; Samuelsson, 2004).

Proses penemuan obat dari tumbuhan melibatkan berbagai bidang penelitian dan metode analisis. Proses tersebut diawali oleh penelitian para ahli botani, etnobotani, etnofarmakologi, ekologi tumbuhan yang mengkoleksi dan mengidentifikasi tumbuhan tertentu. Tumbuhan yang dikoleksi merupakan tumbuhan yang sudah dikenal sebagai obat herbal atau mungkin tumbuhan yang belum sama-sekali dikenal. Selanjutnya ahli fitokimia melakukan ekstraksi dan melakukan skrining dengan uji farmakologi yang sesuai dan memulai proses isolasi dan karakterisasi senyawa aktifnya. Proses penemuan obat selanjutnya berkembang ke arah molekuler melalui determinasi dan implementasi uji skrining target molekuler yang sesuai secara fisiologis (Balunas dan Kinghorn, 2005). Gabungan berbagai bidang ilmu yang telah disebutkan di atas menjadi ilmu sains interdisiplin yang berbeda yang selanjutnya disebut farmakognosi. Pada perkembangannya farmakognosi meliputi penelitian bahan alam yang lebih luas, senyawa aktif dari berbagai sumber termasuk bakteri, jamur, dan organisme laut.

## 2.2. Nilai penting tumbuhan obat pada proses penemuan obat

Pada dekade terakhir, industri farmasi mulai mengurangi program penemuan obat dari bahan alam karena struktur kimia bahan alam yang sangat beragam dan banyak memiliki stereocenter, sehingga dinilai tidak ekonomis dalam hal sintesisnya (Koehn dan Carter, 2005). Industri farmasi lebih tertarik pada modeling molekuler, kimia kombinatorial dan teknik sintetik kimia lainnya yang dapat menghasilkan jutaan senyawa (Ganesan, 2004; Tan, 2004). Namun, penggunaan tumbuhan atau bahan alam lainnya masih merupakan bagian penting dalam penemuan bahan obat. Senyawa aktif dari bahan alam mengandung banyak sekali prototipe molekul bioaktif baru yang umumnya terbukti jauh lebih relevan dalam kaitannya dengan proses penemuan obat baru (Koehn dan Carter, 2005). Bahan obat yang dihasilkan dari tumbuhan tidak hanya sebagai bahan obat baru tapi juga sebagai calon obat yang dapat ditingkatkan akitivitasnya (Kramer dan Cohen, 2004).

Saat ini, sebagian besar peran industri farmasi terkait bahan alam diambil alih industri bioteknologi kecil yang fokus pada identifikasi senyawa calon obat dari ekstrak bahan alam dan mengembangkannya menjadi obat. Sampai saat ini sudah cukup banyak senyawa calon obat yang berasal dari tumbuhan sedang menjalani uji klinis dan diperkenalkan oleh industri bioteknologi tersebut, beberapa diantaranya juga sudah menjadi obat yang sudah tersedia di pasaran. Dari tahun 1981 – 2002, sekitar 28% senyawa kimia baru diisolasi dari bahan alam atau turunannya. Sebanyak 20% diantaranya merupakan analog senyawa kimia dari bahan alam. Bahan alam juga merupakan titik awal dari sintesis senyawa sintetik baru (Newmann et al., 2003).

Abad 19 merupakan awal mula diisolasinya sejumlah senyawa alkaloid lain dari tumbuhan obat, seperti atropin (*Atropa belladonna*), kafein (*Coffea arabica*), kokain (*Erythroxylum coca*), efedrin (*Ephedra sp.*), morfin dan kodein (*Papaver somniferum*), pilocarpin (*Pilocarpus jaborandi* Holmes), physostigmin (*Physostigma venenosum*), quinin (*Cinchona cordifolia* mutis ex Humb), salicin (*Salix sp.*), teobromin (*Theobroma cacao*), theofillin (*Camelia sinensis*), dan tubocurarin (*Chondodendron tomentosum* Ruiz & Pav.). Sampai saat ini isolasi dan karakterisasi senyawa aktif baru dari tumbuhan masih berlanjut (Sneider, 2005).

Artemisinin merupakan senyawa potensial obat antimalaria dan merupakan turunan artemisinin, sesquiterpen lakton yang diisolasi dari *Artemisia annua* L. (Asteraceae) (Graul, 2001). Galantamin, obat penyakit Alzheimer, ditemukan dari etnobotani *lead* dan pertama kali diisolasi dari *Galanthus woronowii* Losinsk. (Amaryllidaceae) di Rusia pada tahun 1950-an (Pirttila et al., 2004). Nitisinon merupakan obat baru dari tumbuhan yang bekerja pada penyakit menurun langka, tirosinemia, dengan menunjukkan efek positif sebagai struktur *lead*. Nitisinon merupakan modifikasi dari mesotripon, senyawa dari *Callistemon citrinus* Stapf. (Myrtaceae) (Frantz dan Smith, 2003). Tiotropium baru-baru ini dirilis di pasar US untuk pengobatan *chronic obstructive pulmonary disease*

(COPD). Tiotropium merupakan obat hirup antikolinergik bronkodilator, turunan atropin yang diisolasi dari *Atropa Belladonna* L. (Solanaceae) (Frantz, 2005). Morphin-6-glucuronid merupakan metabolit morfin dari *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae) dan akan digunakan sebagai pengganti morfin karena memiliki efek samping yang jauh lebih sedikit (Lotsch dan Geisslinger, 2001). Vinflunin merupakan modifikasi dari Vinblastin dari *Catharantus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae) sebagai obat antikanker (Okouneva et al., 2003). Exatecan merupakan analog dari camptothecin dari *Camptotheca acuminata* Decne. (Nyssaceae) dan sedang dikembangkan juga sebagai obat antikanker (Craig dan Newman, 2004). Calanolid merupakan bahan alam dipyrano-kumarin yang diisolasi dari *Calophyllum lanigerum* var. *austrocoriaceum* (Whitmore) p. F. Stevens (Clusiaceae), pohon hutan hujan Malaysia. Calanolid merupakan obat anti HIV dengan mekanisme kerja yang unik sebagai inhibitor non-nukleosida reverse transkriptase dari HIV tipe 1 dan efektif melawan strain HIV AZT-resisten (Yu et al., 2003).

Selain digunakan langsung sebagai bahan obat, senyawa aktif yang berasal dari bahan alam juga dapat digunakan sebagai prekursor obat, prototipe untuk modifikasi senyawa sintetik, penanda farmakologi. Senyawa aktif sebagai prekursor obat dapat diubah menjadi senyawa yang diinginkan melalui proses modifikasi kimia atau metode fermentasi (Salim et al., 2008).

Senyawa aktif sebagai prototipe untuk memodifikasi senyawa sintetik, dari total 244 prototipe obat yang teridentifikasi, 56 prototipe (23%) diantaranya merupakan metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan (Sneider, 1996). Dengan teknik kimia organik lanjutan, ahli farmasi dapat membuat struktur analog bahan alam untuk mendapatkan obat yang lebih aman dan potensial. Senyawa baru yang dihasilkan terkadang memiliki sifat farmakologi yang baru yang dapat dianggap sebagai senyawa turunan. Podofilotoksin, camptotesin dan guanidin merupakan contoh prototipe dengan analog yang sama persis sifat farmakologinya, sementara atropin merupakan prototipe dengan analog yang berbeda sifat farmakologinya (Salim et al., 2008).

Senyawa aktif sebagai penanda farmakologi membantu peneliti untuk memahami mekanisme kerja transduksi sinyal intraseluler dan mekanisme biologi yang terkait dengan penyakit tertentu, sehingga desain obat yang lebih baik dapat tercapai. Sebagai contoh: Genistein merupakan isoflavon yang secara natural ditemukan pada kedelai (*Glycine max* Merr.) adalah inhibitor berbagai protein tirosin kinase (PTK) yang merupakan enzim penting dalam transduksi sinyal intraseluler (Gryniewicz et al., 2000). Berbagai 12,13-diester forbol juga memiliki kapasitas untuk bertindak sebagai promotor tumor atau aktivator protein kinase C (PKC) (Kazanietz, 2005).

### 2.3. Tantangan dalam penemuan obat dari tumbuhan

Meskipun banyak bukti sukses penemuan obat dari tumbuhan, usaha lanjutan tetap menghadapi banyak tantangan. Ahli farmakognosi, fitokimia, dan para peneliti bahan alam harus tetap meningkatkan kualitas dan kuantitas senyawa yang masuk dalam fase pengembangan obat untuk dapat bersaing dengan usaha penemuan obat kimia. Proses penemuan obat membutuhkan waktu kira-kira lebih dari 10 tahun dan biaya lebih dari 800 juta dollar US (Dickson dan Gagnon, 2004). Banyak senyawa calon obat dianggap gagal setelah menyita waktu dan biaya. Fakta membuktikan, bahwa hanya satu dari 5000 senyawa calon obat yang akan masuk uji klinis dan diterima sebagai obat. Langkah-langkah tersebut meliputi identifikasi, optimasi, pengembangan *senyawa calon obat* dan selanjutnya akan memasuki tahap uji klinis (Balunas, 2005).

Fakta tersebut menunjukkan penemuan obat dari tumbuhan membutuhkan waktu yang lebih panjang dan rumit jika dibandingkan dengan metode penemuan obat lainnya. Oleh karena itu, banyak industri farmasi mengurangi kegiatan penelitian bahan alam (Koehn dan Carter, 2005). Mengantisipasi hal tersebut, perlu dikembangkan metodologi yang lebih cepat dan lebih baik dalam koleksi tumbuhan, uji skrining, isolasi senyawa, dan pengembangan senyawa bahan alam (Do dan Bernard, 2004). Tantangan lainnya adalah bahan alam terestruktur dalam jumlah yang sangat sedikit sehingga kurang memadai untuk optimasi dan pengembangan senyawa calon obat. Termasuk juga akan kesulitan dalam uji klinis, sehingga perlu dikolaborasikan dengan senyawa sintetik atau obat-obatan kimia. Teknik lainnya adalah dengan pembentukan *extract library* dari bahan alam yang menggabungkan fitur bahan alam dengan kimia kombinatorial (Butler, 2004).

### 2.4. *Extract library*

*Extract library* merupakan koleksi ekstrak senyawa aktif dari bahan alam yang digunakan untuk proses skrining target biologi. Hal ini tampak sederhana, namun pembentukan *extract library* membutuhkan pemahaman yang baik mengenai paradigma modern proses penemuan obat (Quinn, 2012). *Extract library* yang berkualitas akan menjadi jalan dalam penemuan bahan alam yang dapat dikembangkan menjadi obat dan menjadi identifikasi titik awal optimasi obat kimia. Proses penemuan obat saat ini didorong oleh kemampuan HTS untuk *library* kimia yang besar (mencapai 1 juta senyawa), sehingga dapat memperpendek siklus sebuah proyek penemuan obat. Skrining dapat berjalan dengan format 384 atau 1536 sumur sampel dengan volume masing-masing sampel sekitar 2 dan 20 mikroliter saja tiap sumurnya. Skrining target-based dan platform teknologi khusus sangat cocok dengan 12epresen HTS. Namun sayangnya, metode tersebut hanya berlaku untuk *library* senyawa sintesis murni dan bukan ekstrak kasar yang mengandung ratusan senyawa (Quinn, 2012).

Dulu, penemuan obat dari senyawa bioaktif tumbuhan merupakan proses yang menyita waktu, untuk mengidentifikasi struktur senyawa aktif saja membutuhkan beberapa minggu bahkan tahunan tergantung pada kompleksitas struktur senyawa tersebut. Saat ini, kecepatan fraksinasi berdasarkan uji biologi meningkat signifikan dikarenakan perkembangan *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang dirangkaikan dengan *Mass Spectrometry* (MS) atau *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS), *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), dan *High-Throughput Screening* (HTS) dengan robot terautomasi. *Capillary NMR* (cap-NMR) spectroscopy merupakan terobosan besar dalam hal karakterisasi senyawa yang sangat terbatas dalam suatu organisme (Schroeder dan Gronquist, 2006).

Perkembangan HTS mempercepat skrining ekstrak dari tumbuhan. Saat ini, uji aktivitas biologi bukan lagi merupakan hal yang membatasi proses penemuan obat. 100.000 sampel dapat diuji dalam waktu kurang lebih satu minggu dikarenakan kemajuan dalam sistem pengolahan data dan penggunaan robot terautomasi tersebut (Butler, 2005). Walaupun demikian, skrining *extract library* tumbuhan masih menghadapi masalah dikarenakan sifat senyawa yang autofloresen atau memiliki kemampuan menyerap sinar UV yang mengganggu hasil bacaan. Namun, ekstrak pre-fraksinasi dapat digunakan untuk mengurangi beberapa masalah tersebut. Umumnya HTS juga dilengkapi dengan metode filter komputasional untuk mengidentifikasi dan mengabaikan senyawa yang berpotensi memberikan hasil positif palsu (Walters dan Namchuk, 2003).

Sekitar 15 tahun yang lalu, *extract library* mulai dibuat ketika konsep HTS pertama kali dianut industri farmasi (Pereira dan Williams, 2007). *Extract library* kasar memiliki beberapa manfaat, antara lain: preparasi yang murah dan mudah, waktu preparasi yang minim, dan memiliki derajat diversitas yang tinggi. Namun, ternyata *extract library* kasar memiliki banyak kekurangan, antara lain: bentuk fisik alami sampel tidak cocok untuk sistem larutan terautomasi (terlalu pekat), metabolit minor tidak akan terdeteksi, akan dibutuhkan waktu dan suplai sampel berkelanjutan untuk keperluan isolasi dan identifikasi senyawa aktif, senyawa yang terisolasi mungkin senyawa yang sudah dikenal atau senyawa kimia bukan target (Liu, 2008).

*Library* senyawa murni bahan alam lahir untuk menutupi kekurangan *extract library* kasar dan dapat menjadi solusi untuk penelitian penemuan obat dari bahan alam sesuai 13epresen *high-throughput* (Bindseil et al., 2007). Seperti halnya *library* molekul sintetik kecil, *extract library* senyawa murni di desain dengan strategi yang disesuaikan dengan batasan yang 13epresentative dari kisaran kimia yang diinginkan (Brenk et al., 2008). Infrastruktur dan informatika kimia yang lebih canggih juga perlu dikembangkan untuk menentukan ekstrak potensial yang mengandung senyawa yang diinginkan dan mengeliminasi senyawa yang tidak diinginkan. Komponen minor potensial mungkin akan terdeteksi dan diikuti dalam proses skrining tergantung pada deteksi puncak atau metode isolasi yang digunakan (Roy et al., 2010).

Walaupun beberapa senyawa bahan alam murni mungkin sudah tersedia di pasaran dengan harga terjangkau, namun mayoritas senyawa masih harus diisolasi sendiri atau didapat dari 14epres peneliti melalui pembentukan konsorsium. Sehingga, biaya, waktu dan sumber daya lain terkait dengan isolasi dan karakterisasi senyawa tunggal dapat dikurangi.

Tujuan akhir dari *extract library* adalah untuk mendapatkan sumber beragam senyawa untuk evaluasi HTS (Dandapani et al., 2012). Keragaman jenis senyawa sangat berkorelasi dengan keanekaragaman biota. Oleh karena itu, perlu diingat bahwa 17 negara megadiversitas di dunia (Australia, Brasil, Cina, Kolombia, Republik Demokratik Kongo, Ekuador, India, Indonesia, Madagaskar, Malaysia, Meksiko, Papua Nugini, Peru, Filipina, Afrika Selatan, Amerika Serikat, dan Venezuela) memiliki lebih dari 70% dari seluruh keanekaragaman hayati (Sutarno dan Setiawan, 2015).

Khususnya, Indonesia memiliki potensi bahan alam yang melimpah yang memiliki potensi sebagai bahan obat baik di daratan maupun di lautan. Salah satu koleksi yang terkenal adalah koleksi sekitar 2000 tanaman herbal di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Kementerian Kesehatan, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Dari koleksi ini saja dapat dikumpulkan puluhan ribu ekstrak dengan menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda. Konsep dasar dari pengumpulan ekstrak ini adalah bahwa tidak ada satu pun ekstrak yang terbuang dari setiap tahapan ekstraksi. Dengan asumsi bahwa setiap ekstrak memiliki potensinya sendiri-sendiri, baik yang berasal dari pelarut polar maupun non polar. Koleksi ekstrak ini dapat dimanfaatkan oleh insitusi penelitian, universitas atau industri farmasi untuk berbagai kegiatan penelitian pada berbagai tahapan baik penelitian dasar, pra-klinis atau studi klinis. Dengan asumsi bahwa sekitar 500 fraksi dapat dihasilkan dari satu jenis tanaman, 14epresen sekitar 1 juta ekstrak yang dapat dikumpulkan dari 2000 tanaman herbal yang tersedia seperti yang disebutkan di atas (Audah, 2015).

Mangrove dan tanaman penyerta mangrove adalah tumbuhan yang sangat potensial sebagai sumber calon obat (Bandaranayake, 2002). Indonesia memiliki hutan mangrove terbesar atau sekitar 23% dari total hutan mangrove dunia (Giri et al., 2011). Tumbuhan mangrove memang sudah sejak lama dimanfaatkan akar, batang, daun, bunga dan buahnya sebagai makanan dan obat-obatan. Analisis fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicenna marina* mengandung 14epres, flavonoid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan glikosida fenolik (Mouafi, 2014). Ekstrak buah mangrove juga mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, 14epres, dan triterpenoid (Rohaeti et al., 2010).

Ekstrak mangrove terbukti melawan mikroba atau parasit patogen pada hewan dan tumbuhan (Batubara et al 2009, 2013), termasuk HIV (Rege and Chowdary, 2013), dan virus Hepatitis-B (Yi et al., 2015). *Excoecaria agallocha* L. Dapat digunakan untuk meredakan epilepsi, konjungtivitis, dermatitis, kusta, hematuria dan sakit gigi (Bandaranayake, 2002). Ekstrak mangrove juga dapat berfungsi sebagai antidiabetes (Gurudeeban et al., 2012), antinociceptive (Islam et al., 2012), antipiretik dan antiinflamasi (Safari et al., 2016), antikanker (Singh dan Kathiresan, 2015), antiulcus (de-Faria et al., 2012). *Hibiscus Tiliaceus* dapat bertindak sebagai diuretik dan pencahar (Tambe dan Bhambar, 2016). Menurut Tanvira dan Seenivasan (2014), beberapa jenis mangrove juga berperan dalam terapi gigitan ular. Ekstrak mangrove juga bisa digunakan sebagai sumber larvasida nyamuk (Liem et al, 2013).

## **2.5. Koleksi sampel**

Koleksi sampel biota dapat merupakan kultur bakteri, koleksi tumbuhan atau invertebrata laut dan darat. Beberapa pendekatan dalam koleksi sampel dapat berdasarkan pemanfaatannya sebagai obat tradisional dan mungkin juga dilakukan secara acak. Terlepas dasar koleksi tersebut, dokumentasi dan kurasi sangatlah penting untuk keberlanjutan penelitian dan kegiatan hilir. Koleksi yang diprogramkan secara nasional akan lebih memudahkan penelitian terkait dengan konservasi dan pemahaman tentang sumber daya genetiknya. Identifikasi taksonomi spesies sangat penting baik untuk meningkatkan kemungkinan menemukan spesies baru yang mengandung senyawa baru dan menghindari senyawa yang sudah dikenal. Strategi koleksi sampel biota terkini membutuhkan material yang sangat sedikit dibanding kebutuhan dalam proses skrining sebelumnya. Perkembangan teknologi skrining, khususnya uji dengan 384 dan 1536 sumur, sekitar 200 mg ekstrak sudah cukup untuk skrining beberapa uji pada HTS. Perkembangan dalam spektroskopi elusidasi struktur, sekitar 1 mg senyawa sudah cukup, baik untuk elusidasi struktur maupun profil biologis untuk uji HTS primer serta beberapa tes selektivitas (Quinn, 2012).

Ekstrak dapat diambil dari keseluruhan biota atau subsampel tertentu sesuai kebutuhan skrining. Ekstraksi dari keseluruhan biota memastikan bahwa semua ekstrak tersedia untuk skrining, isolasi, dan elusidasi struktur kimia. Namun, degradasi senyawa dapat terjadi pada ekstrak yang disimpan dalam waktu lama. Kebutuhan waktu dan pelarut menjadi besar jika dibandingkan dengan prosedur yang mengekstrak subsampel dari sampel biota. Sampel tumbuhan yang dikeringkan dan digiling (*simplisia*) dapat mempertahankan integritas senyawanya. Kelembaban harus dikontrol untuk mencegah rusaknya sampel, kelembaban yang tinggi meningkatkan peluang tumbuhnya jamur dan mikroorganisme. Sampel sebaiknya disimpan pada masing-masing kontainer khusus dan diberi *barcode*.

Sampel biota bisa diolah menjadi beberapa bentuk ekstrak yang cocok untuk skrining, yaitu: Ekstrak kasar – ekstrak menggunakan organik atau organik/ Campuran pelarut, *crude extract library* prefraksinasi – ekstrak kasar yang difraksinasi dengan menggunakan *Solid Phase Extraction (SPE)*, teknik kromatografi cair konvensional, atau kombinasi keduanya; dan senyawa murni bahan alam (Quinn, 2012).

Selanjutnya koleksi ekstrak tersebut memerlukan ruang penyimpanan (*storage*) yang memadai pada setiap pusat koleksi ekstrak. Idealnya, fasilitas seperti ini berada di lembaga atau institusi pemerintah seperti Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia atau Perguruan Tinggi Negeri yang memiliki kapasitas untuk melakukan hal ini. Koleksi-koleksi dalam jumlah yang lebih kecil dapat dilakukan oleh masing-masing institusi. Semua koleksi ekstrak ini baik yang berupa koleksi besar maupun kecil perlu dimasukkan ke dalam sebuah sistem data (*database*) sehingga memudahkan dalam pemanfaatan, koordinasi dan pengawasannya.

## **2.6. Skrining antikanker dan antibakteri**

Pencarian obat baru yang berasal dari tumbuhan menjadi pusat perhatian para peneliti dunia dalam rangka penemuan obat baru yang memiliki potensi dalam melawan ancaman mikroorganisme patogen resistan dan antikanker. Penggunaan antibiotik yang tidak bijak di berbagai negara telah mengakibatkan resistensi pada strain bakteri tertentu, sehingga menyebabkan masalah kesehatan yang serius. Banyak sekali antibiotik potensial saat ini sudah tidak efektif lagi melawan beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Oleh karena itu, pencarian senyawa aktif dari bahan alam, termasuk tanaman, telah menjadi perhatian serius.

Beberapa metode dapat digunakan untuk mengevaluasi atau skrining aktivitas antibakteri *in vitro* dari ekstrak atau senyawa murni. Metode dasar yang paling dikenal adalah difusi cakram dan metode pengenceran kaldu. Metode difusi cakram memiliki banyak kelebihan dibanding metode lain, yaitu: kesederhanaan, biaya yang murah, tingkat kepercayaan hasil uji pada berbagai spesies bakteri dan agen antibakteri, dan kemudahan untuk menafsirkan hasil uji (pengukuran zona inhibisi) (Balouiri et al., 2016).

Berbicara mengenai kanker, Penelitian mengenai obat antikanker yang berasal dari tumbuhan menjadi minat yang terbaru dari para peneliti didunia, banyak bahan alam menunjukkan potensi farmakologi yang dapat dijadikan sebagai titik awal penemuan obat antikanker. Seperti Vinblastin dan Vincristin dari tumbuhan *Catharantus roseus* yang sudah terbukti efektif untuk mengobati kanker pada manusia (Farmsworth dan Soejarto, 2009). Proses skrining untuk bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker dapat dilakukan dengan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Selama 30 tahun terakhir, BSLT banyak digunakan untuk menguji toksisitas berbagai macam bahan alam yang berasal dari tumbuhan (Mayorga et al., 2010).



BSLT dinilai cukup ekonomis dan menggunakan bahan uji dalam jumlah sedikit. Sejak diperkenalkan, tes *in vivo* ini terbukti representative sebagai panduan bioassay fraksinasi aktif yang bersifat sitotoksik dan agen antikanker (Ahmed et al., 2010). Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa nilai LC<sub>50</sub> diperoleh BSLT berkorelasi baik dengan hasil uji oral toksisitas pada tikus (Arslanyolu dan Erdemgil, 2006)

## **2.7. Fraksinasi dan penanganan dereplikasi**

Ketika ekstrak menunjukkan aktivitas biologis maka fraksinasi diperlukan untuk memisahkan kelompok senyawa senyawa yang mempunyai kesamaan sifat fisika kimia, misalnya kelarutan dan keasaman (Hughes et al, 2011). Setiap fraksi diuji dan sampel aktif harus difraksinasi berulang-ulang untuk meningkatkan kemurnian senyawa. Proses pengujian dan fraksinasi dilakukan terus menerus sampai diperoleh senyawa murni yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis tertentu. Namun, proses fraksinasi yang berulang ulang perlu di cegah dengan proses dereplikasi (Katiyar et al., 2012).

Senyawa aktif yang diisolasi perlu dimurnikan dan dielusidasi struktur molekulnya. Jika senyawa aktif mempunyai potensi komersial, maka sintesis senyawa analog dan studi *structure-activity relationship* (SAR) dan *quantitative structure-activity relationship* (QSAR) diperlukan (Guo, 2017). Namun, jika sumber alam secara komersial bisa menghasilkan senyawa aktif yang cukup maka dapat menghindari proses produksi melalui sintesis yang berbiaya tinggi, apalagi dengan kompleksitas stereokimia dari senyawa aktif. Misalnya, senyawa antikanker Vincristine, Etoposid dan Taxol telah dapat disintesis, senyawa ini memiliki atom carbon kiral yang lebih ekonomis bila diproduksi dengan proses ekstraksi dari bahan alam dibanding dengan sintesis kimia (Demain dan Vaishnav, 2011). Konservasi tanaman juga perlu diperhatikan misalnya, isolasi obat kanker Taxol obat antikanker dari kulit pohon yew Pasifik akan mengakibatkan kepunahan pohon. Sehingga, saat ini Taxol dapat diperoleh melalui proses semisintetik dari daun pohon yew dari Eropa dan Amerika (Juyal et al., 2014).

## **2.8. Koleksi ulang**

Proses koleksi ulang harus memperhatikan konsep konservasi spesies dan habitat subyek koleksi. Karena, penelitian senyawa target akan membutuhkan material dalam jumlah lebih banyak secara progresif dan pada akhirnya akan berdampak pada lingkungan. Oleh karena itu, harus dipastikan bahwa koleksi awal terdokumentasi dengan baik. Untuk memastikan sampel yang sama maka proses sampling sebelumnya harus dilengkapi dengan data GPS, dokumentasi yang lengkap dan pengetahuan taksonomi yang baik (WHO, 2005).

Dalam melakukan penelitian biodiscovery, perlu diperhatikan bahwa jika koleksi ulang dalam jumlah besar mungkin tidak dapat dilakukan, maka senyawa target harus dapat disintesis secara kimia.

Suplai bahan obat dari tumbuhan yang berkelanjutan dalam jumlah yang memadai sangatlah penting dalam memenuhi kebutuhan pasar. Penggunaan kultur sel tumbuhan dapat menjadi metode alternatif untuk senyawa yang proses sintesanya tidak ekonomis dan hanya tersedia dari tumbuhan dalam kuantitas kecil. Tumbuhan mengakumulasi metabolit sekunder pada tahap perkembangan tertentu, dengan memanipulasi kondisi lingkungan dan media tumbuh dapat dihasilkan metabolit sekunder yang diinginkan dibanding ekstrak langsung dari tumbuhan utuh. Sebagai contoh, paclitaxel sukses diproduksi dari teknologi fermentasi sel tumbuhan (Ochoa-Villarreal et al., 2016).

Pembentukan database, pada saat koleksi sampel sangatlah penting untuk disesuaikan dengan konsep konservasi biodiversitas dan juga untuk melacak sampel melalui HTS. Database koleksi meliputi taksonomi, waktu dan lokasi, kolektor individu atau institusi, dan kelimpahan spesies. Hal ini sangat membantu dalam pelacakan dan pemantauan sampel selama proses penelitian untuk tujuan akses dan berbagi manfaat dan koleksi ulang. Hal ini juga penting untuk identifikasi faktor-faktor yang berkontribusi terhadap bioaktivitas, seperti: musim, lokasi, dan tahap siklus reproduksi (Atanasov et al., 2015).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

Penelitian yang akan dilakukan berdasarkan pada rancangan penelitian dilakukan sebagaimana alur di bawah ini:



Gambar 3.1. Rancangan penelitian

#### 3.1. Studi literature dan penentuan lokasi sampling

Lokasi sampling terdiri dari 2 lokasi, yaitu: Ekowisata Mangrove Pantai Indah Kapuk (EMPIK), Jakarta dan Kawasan Konservasi Mangrove, Desa Purworejo, Kecamatan Pasir Sakti, Lampung.

#### 3.2. Sampling dan preparasi simplisia

Sampling mangrove pada site EMPIK dilakukan pada tanggal 8 Mei 2017 dibantu oleh staff dari DKKP, bapak Risman. Sampel yang diambil, yaitu: *Bruguira gymnorhiza*, *Rhizophora mucronata*, dan *Rhizophora apiculata* (identifikasi dari Botani LIPI terlampir). Sampel tersebut meliputi daun, batang, dan akar. Sampel dipilih berdasarkan informasi bahwa spesies tersebut biasa digunakan oleh masyarakat pesisir untuk obat penyakit tertentu. Sampel dibungkus plastik dan disimpan dalam freezer (-20 °C) laboratorium kampus Universitas Swiss German. Selanjutnya sampel di bawa ke Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB, Bogor untuk dibuat menjadi simplisia (sediaan kering untuk ekstraksi). Preparasi simplisia dilakukan dengan menggunakan oven bersuhu kurang dari 50 °C hingga sampel kering. Waktu yang dibutuhkan untuk daun kurang lebih 3 hari, sedangkan akar dan batang kurang lebih 6 hari pengeringan. Sampel yang sudah kering disimpan dalam plastik dan dijaga kelembabannya.

Sementara sampling pada site Kawasan Konservasi Mangrove, Desa Purworejo, Kecamatan Pasir Sakti, Lampung dilakukan pada tanggal 24 Mei 2017 bersama dengan pihak dosen FK UNILA (Fakultas Kedokteran Universitas Lampung). Sampel yang diambil, yaitu: *Avicennia marina*, *Sonneratia caseolaris*, *Ceriops tagal*, *Cylocarpus granatum*, dan *Thespesia populnea* (identifikasi dari Botani LIPI terlampir). Sampel tersebut meliputi daun, batang, dan akar. Selanjutnya sampel di bawa ke Pusat

Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB, Bogor untuk dibuat menjadi simplisia (sediaan kering untuk ekstraksi). Preparasi simplisia dilakukan pada pengeringan sampel dari EMPIK.

### 3.3. Uji fitokimia simplisia

Uji skrining fitokimia simplisia merupakan tahap awal penyelidikan fitokimia. Hasil dari uji tersebut akan menjadi asumsi dasar dalam pemilihan spesies atau organ tertentu yang selanjutnya dapat dikaji lebih lanjut. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji kualitatif kandungan alkaloid, fenolik, triterpenoid/ steroid, dan hidrokuinon. Prosedur masing-masing uji kualitatif tersebut dapat rinci sebagai berikut:

#### 1. Alkaloid

- Diambil 1 gram sampel, lalu tambahkan beberapa tetes  $\text{NH}_3$
- dihaluskan, lalu tambahkan 5 ml  $\text{CHCl}_3$
- Disaring dengan menggunakan kertas saring, lalu tambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2M ke dalam filtrat
- Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya 3 lapisan asam, yaitu: Dragendrof (jingga), Mayer (putih), Wagner (coklat) yang akan menimbulkan endapan warna berturut-turut putih, coklat, dan merah jingga (Tiwari et al., 2011)

#### 2. Fenolik, uji fenolik meliputi 3 uji, yaitu: flavonoid, tannin, dan saponin

- Diambil 5 gram sampel, lalu tambahkan 10 ml aquades
- Dipanaskan pada waterbath selama 5 menit (dihitung saat waterbath mulai mendidih)
- Disaring dengan menggunakan kertas saring, lalu 20epresen dibuat menjadi 3 bagian (untuk uji flavonoid, tannin, dan saponin)
- Flavonoid
  - Ditambahkan serbuk Mg, HCl : EtOH (1:1), amil alkohol
  - Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya lapisan amil alkohol berwarna jingga (Tiwari et al., 2011)
- Tannin
  - Ditambahkan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  10%
  - Reaksi positif ditunjukkan perubahan warna 20epresen menjadi hitam kehijauan atau biru kehitaman (Ayoola et al., 2008)
- Saponin
  - Fltrat dikocok kuat dengan tangan atau menggunakan vortex
  - Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya buih yang stabil (Ayoola et al., 2008)

### 3. Triterpenoid/ steroid

- Diambil 1 gram sampel, lalu tambahkan EtOH panas
- Dipanaskan filtrate hingga kering, lalu tambahkan 1 ml dimetil eter
- Dihomogenkan dengan menggunakan vortex
- Ditambahkan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 1 tetes CH<sub>3</sub>COOH anhidrat
- Hijau/ biru menunjukkan reaksi positif steroid, merah/ ungu menunjukkan reaksi positif triterpenoid (Tiwari et al., 2011)

### 4. Hidrokuinon

- Diambil 1 gram sampel, lalu tambahkan MeOH
- Dipanaskan hingga mendidih, lalu saring dengan menggunakan kertas saring
- Ditambahkan 3 tetes NaOH 10% pada 21epresen
- Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah (Tiwari et al., 2011)

## 3.4. Penetapan Kadar Air

Prosedur penentuan kadar air simplisia dilakukan dengan menggunakan alat moisture balance, Ditimbang simplisia sebanyak 5 gram simplisia disimpan crucible, diratakan sampai menutupi permukaan crucible lalu ditutup, lalu disimpan dalam oven bersuhu 105 °C selama 5 jam, lalu ditimbang. Selisih antara massa sebelum dan sesudahnya merupakan nilai kadar air simplisia (Sulasmi et al., 2016).

## 3.5. Ekstraksi (maserasi bertingkat) dan evaporasi

Maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel, lalu isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

- Dimaserasi 50 gram serbuk simplisia masing-masing sampel dalam pelarut selama dua hari (48 jam) pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya.
- Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian pelarut sejenis (remaserasi) setiap 24 jam, 17 jam, dan 7 jam. Total rendemen yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator*.

- Residu selanjutnya dimaserasi lagi (maserasi bertingkat) dengan pelarut lain. Adapun dalam penelitian ini digunakan empat jenis pelarut secara berurutan berdasarkan kepolarannya, yaitu: hexane, etil asetat, ethanol, dan air (Handayani, 2016).

### 3.6. Uji antibakteri dan antikanker

#### 1. Uji antibakteri

- Persiapan
  - Pembuatan stok kultur bakteri
  - Disiapkan semua peralatan dan bahan yang dibutuhkan
  - Pembuatan media nutrient agar
  - Disterilisasi semua peralatan dan media yang dibutuhkan
  - Pembuatan stok sampel ekstrak
- Uji antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram (Balouiri et al., 2016)
  - sebanyak 1 ml suspensi bakteri dengan densitas  $10^6$  sel/ ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 15 ml nutrient agar cair.
  - Cawan petri kemudian digoyangkan dengan membentuk angka “8” sebanyak 5 – 10 X sehingga media dan 22epresen tercampur.
  - Setelah agar memadat, ke dalam setiap cawan petri tersebut dimasukkan 6 cakram kertas dan diberi kode untuk masing-masing ekstrak, 22eprese positif, dan 22eprese 22epresen.
  - masing-masing ekstrak, 22eprese positif, dan 22eprese 22epresen diteteskan dengan mikropipet sebanyak 10  $\mu$ l. setiap perlakuan dilakukan triplo
  - Cawan petri diinkubasi pada suhu 37 oC selama 24 jam.
  - Zona inhibisi yang terbentuk disekeliling cakram diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong.

#### 2. Uji antikanker dengan menggunakan metode BSLT (Mayorga, 2010)

- Penetasan
  - Disiapkan telur udang *Artemia salina* sebanyak 10 mg
  - Disiapkan 250 ml air laut untuk penetasan telur dilengkapi dengan aerator dan lampu
  - Proses penetasan telur menjadi larva udang berlangsung selama 2 X 24 jam
- Pembuatan stok sampel ekstrak
  - Diambil sampel ekstrak sebanyak 20 mg, lalu ditambahkan tween 80%
  - Ditambahkan 10 ml air laut, lalu dilakukan homogenisasi dengan menggunakan vortex

- Stok sampel yang dibuat adalah dengan konsentrasi 2000 ppm
- Uji BSLT
  - Disiapkan vial dengan ukuran 2000 µl
  - Dimasukan 1000 µl air laut yang berisi 10 larva udang *A. salina*
  - Dilakukan pengenceran pada stok sampel ekstrak menjadi 1000, 500, 100, dan 10 µl dalam 1000 µl air laut, sehingga konsentrasi sampel perlakuan menjadi 1000, 500, 100, dan 10 ppm.
  - Perlakuan dilakukan selama 24 jam, lalu dihitung jumlah larva udang yang mati.

Tabel 3.1. Timeline Pengerjaan

MEI						
Ahad	Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu
			17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31			
JUNI						
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	
JULI						
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31					
AGUSTUS						
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12

13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		
<b>SEPTEMBER</b>						
					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
<b>OKTOBER</b>						
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29		31		

Keterangan:

Heksana	Etil Asetat	Etanol	Air
---------	-------------	--------	-----



## **BAB IV**

### **HASIL PENCAPAIAN**

#### **4.1. Protokol *extract library***

##### 1. Sampling

Extract library sangat terkait dengan bagaimana tumbuhan atau sumber bahan alam lainnya dalam menghasilkan metabolit sekunder. Produksi metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh musim, keadaan lingkungan, umur, jenis organ.

##### 2. Preparasi dan penyimpanan simplisia

- Waktu antara sampling, penyimpanan sampel sementara, penyimpanan sampel dalam freezer, dan proses preparasi simplisia harus diusahakan seminimal mungkin. Rentang waktu yang panjang dari proses sampling sampai proses preparasi simplisia akan mempengaruhi hasil ekstrak terkait dengan aktivitas enzim interseluler sampel itu sendiri dan aktivitas mikroba (bakteri dan jamur yang melekat pada sampel).
- Pencatatan detail-detail sampling sampai penyimpanan simplisia perlu dicatat dengan baik supaya dapat menjadi acuan jika diperluka koleksi ulang.

##### 3. Ekstraksi dan penyimpanan ekstrak

- Penggunaan metode ekstraksi ditentukan beberapa hal antara lain, efisiensi biaya, waktu, dan hasil ekstraksi.
- Terlepas dari metode ekstraksi yang dipakai, perlu dilakukan optimasi ekstraksi sehingga rendemen ekstraksi mencapai hasil optimum baik dari segi kuantitas maupun kualitas demi mencapai jumlah ekstrak yang memadai.
- Perlu dikembangkan juga optimasi penyimpanan ekstrak terkait dengan efektivitas kegiatan skrining. Penyimpanan ideal harus meliputi daya simpan yang panjang dan kualitas ekstrak yang konsisten sehingga menghasilkan hasil yang 25representative dari sekian banyak proses skrining untuk berbagai jenis penyakit.

#### **4.2. Mangrove sebagai objek *extract library***

Seluruh sampel yang telah berhasil dikoleksi dirangkum dalam Tabel 4.1. Seluruh sampel diberi kode dan dikeringkan. Jumlah sampel yang diperoleh berbeda-beda sesuai dengan ketersediaan bahan di lokasi pengambilan sampel. Susut pengeringan terbesar ditemukan pada bagian daun dari semua bagian tanaman, sedangkan susut pengeringan terkecil ditemukan pada bagian batang. Susut pengeringan perlu ditentukan sebagai dasar untuk pengambilan sampel selanjutnya bila sampel yang sudah dikoleksi habis.

Tabel 4.1. Persediaan sampel

No.	Nama Latin	Bagian	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Susut (%)	Jumlah digunakan (g)
1.	<i>R. apiculata</i>	Daun	2000	440	78	50.01
						50.03
						50.01
2.		Batang	4000	2130	47	50.10
						50.02
						50.06
3.		Akar	2000	740	62	50.01
						50.01
						50.05
4.	<i>B. gymnorhiza</i>	Daun	1500	560	63	50.02
						50.03
						50.02
5.		Batang	4100	1750	51	50.00
						50.00
						50.01
6.		Akar	2150	860	60	50.01
						50.01
						50.00
7.	<i>R. mucronata</i>	Daun	2800	820	71	50.01
						50.01
						50.01
8.		Batang	1100	580	47	50.02
						50.02
						50.02
9.		Akar	900	360	60	50.01
						50.01
						50.01
10.	<i>T. populnea</i>	Daun	650	190	71	50.01
						50.01
						50.00
11.		Buah	750	140	70	50.01
						50.01
						50.01
11.	<i>A. marina</i>	Daun	1700	400	77	50.01
						50.01
						50.01
12.		Akar	1550	450	71	50.02
						50.04
						50.02
13.	<i>X. granatum</i>	Daun	1050	210	80	50.01
						50.01
						50.01
14.	<i>C. tagal</i>	Daun	1100	200	82	50.01
						50.01
						50.05
15.	<i>S. caseolaris</i>	Daun	1300	210	84	50.00
						50.01
						50.01

## 1. Uji kualitatif fitokimia simplisia

Pada simplisia yang sudah kering dilakukan uji kualitatif fitokimia simplisia. Masing-masing simplisia tidak selalu menghasilkan reaksi positif terhadap semua uji. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman mangrove cukup kaya akan metabolit sekunder dan komposisinya tidak sama satu sama lainnya. selanjutnya hasil uji ini dapat menjadi asumsi sederhana untuk lanjutan skrining antibakteri dan antitumor. Berikut hasil uji fitokimia simplisia disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil uji fitokimia simplisia

Sampel	Kode	Fenolik			Quinon	Steroid	Triterpenoid	Alkaloid		
		Flavonoid	Tanin	Saponin				Mayer	Wagner	Dragendof
Daun <i>R. apiculata</i>	72	-	++	+	-	++	-	-	-	-
Batang <i>R. apiculata</i>	73	-	++	+++	-	-	+	-	-	-
Akar <i>R. apiculata</i>	74	+	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Daun <i>B. gymnorrhiza</i>	75	+++	+++	+++	-	++	-	-	-	-
Batang <i>B. gymnorrhiza</i>	76	+	++	+++	+	-	+	-	-	-
Akar <i>B. gymnorrhiza</i>	77	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Daun <i>R. mucronata</i>	79	+	+++	+++	-	++	-	-	-	-
Batang <i>R. mucronata</i>	80	-	+++	+++	+	-	-	-	-	-
Akar <i>R. mucronata</i>	81	+++	++	+++	+	-	-	-	-	-
Daun <i>T. populnea</i>	82	-	+	+++	-	+++	-	-	-	-
Buah <i>T. populnea</i>	83	-	+++	-	-	+	-	-	-	-
Daun <i>A. marina</i>	84	++	++	++	-	+	-	-	-	-
Akar <i>A. marina</i>	85	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Daun <i>X. granatum</i>	86	-	+	+++	-	+	-	-	-	-
Daun <i>C. tagal</i>	87	+	++	+	-	+	-	+	+	+
Daun <i>S. caseolaris</i>	88	++	+++	-	-	+	-	-	-	-

## 2. Hasil proses ekstraksi

Simplisia yang sudah kering diekstraksi dan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.2. Terdapat 47 sampel yang telah berhasil diekstraksi hingga laporan kemajuan ini, sedangkan 17 sampel lagi masih dalam pengerjaan. Foto ekstrak yang telah didapat tercantum dalam Lampiran 5.

Tabel 4.3. Hasil Ekstraksi yang sudah dikoleksi

No	Pelarut	Rendemen (%)	Rataan
<b>72/V/17 (Daun <i>R. apiculata</i>)</b>			
1	Heksana	1.66	1.28
		1.28	
		0.90	
2	Etil asetat	2.22	3.22
		1.82	
		5.62	
3	Etanol	10.81	6.55
		4.34	
		4.49	
4	Air	10.81	16.20
		16.61	
		21.18	
<b>79/V/17 (Daun <i>R. mucronata</i>)</b>			
5	Heksana	1.18	1.04
		0.91	
		1.02	
6	Etil asetat	1.69	2.36
		2.23	
		3.16	
7	Etanol	2.24	2.49
		2.14	
		3.07	
8	Air	17.42	13.26
		12.22	
		10.15	
<b>75/V/17 (Daun <i>B. gymnorrhiza</i>)</b>			
9	Heksana	3.24	2.60
		1.84	
		2.72	
10	Etil asetat	1.32	1.34
		1.29	
		1.41	
11	Etanol	7.21	7.09
		6.94	

		7.11	
12	Air	22.42	20.32
		18.21	
		24.10	
<b>84/V/17 (Daun <i>A. marina</i>)</b>			
13	Heksana	2.60	1.83
		1.54	
		1.34	
14	Etil asetat	1.47	1.40
		1.32	
		1.40	
15	Etanol	7.98	7.42
		8.21	
		6.08	
16	Air	23.33	26.23
		32.15	
		23.20	
<b>85/V/17 (Akar <i>A. marina</i>)</b>			
17	Heksana	0.58	0.50
		0.44	
		0.47	
18	Etil asetat	0.86	0.89
		0.89	
		0.92	
19	Etanol	2.00	1.98
		1.98	
		1.97	
20	Air	9.46	10.31
		12.41	
		9.05	
<b>82/V/17 (Daun <i>T. populnea</i>)</b>			
21	Heksana	2.85	2.46
		2.20	
		2.34	
22	Etil asetat	2.80	2.73
		2.59	
		2.79	
23	Etanol	3.34	3.55
		3.38	
		3.92	
24	Air	13.81	
		12.81	
		18.68	
<b>86/V/17 (Daun <i>X. granatum</i>)</b>			
25	Heksana	0.86	0.76
		0.71	

		0.71	
26	Etil asetat	1.83	1.79
		1.92	
		1.62	
27	Etanol	6.51	6.94
		6.51	
		7.82	
28	Air	23.13	21.18
		19.23	
<b>88/V/17 (Daun <i>S. caseolaris</i>)</b>			
29	Heksana	1.56	1.52
		1.24	
		1.75	
30	Etil asetat	1.36	1.43
		1.53	
		1.40	
31	Etanol	9.57	9.46
		9.38	
		9.45	
32	Air		7.58
		4.75	
		10.41	
<b>87/V/17 (Daun <i>C. tagal</i>)</b>			
33	Heksana	2.43	2.41
		2.37	
		2.42	
34	Etil asetat	2.31	2.27
		2.17	
		2.34	
35	Etanol	11.84	10.86
		9.84	
		10.89	
36	Air	15.85	19.58
		22.01	
		20.89	
<b>73/V/17 (Batang <i>R. apiculata</i>)</b>			
37	Heksana	0.59	0.42
		0.25	
38	Etil asetat	0.66	0.43
		0.42	
		0.21	
39	Etanol	3.56	3.33
		3.10	

40	Air	1.53	1.84
		2.14	
		1.84	
<b>76/V/17 (Batang <i>B. gymnorrhiza</i>)</b>			
41	Heksana	0.27	0.26
		0.24	
		0.28	
42	Etil asetat	0.23	0.27
		0.25	
		0.34	
43	Etanol	2.28	2.34
		2.40	
44	Air	3.66	1.28
		2.40	
		10.29	
<b>77/V/17 (Akar <i>B. gymnorrhiza</i>)</b>			
45	Heksana	0.30	0.29
		0.23	
		0.33	
46	Etil asetat	0.33	0.32
		0.32	
		0.31	
47	Etanol	8.77	8.95
		9.32	
		8.77	
48	Air	3.67	4.14
		3.88	
		4.86	
<b>74/V/17 (Akar <i>R. apiculata</i>)</b>			
49	Heksana	0.28	0.25
		0.25	
		0.22	
50	Etil asetat	0.25	0.25
		0.27	
		0.24	
51	Etanol	13.14	11.92
		10.97	
		11.66	
52	Air	5.13	6.31
		7.48	
		5.35	
<b>80/V/17 (Batang <i>R. mucronata</i>)</b>			
53	Heksana	0.21	0.26
		0.27	
		0.28	

54	Etil asetat	0.23	0.23
		0.24	
		0.21	
55	Etanol	7.62	4.88
		3.28	
		3.75	
56	Air	5.15	3.72
		3.22	
		2.78	
81/V/17 (Akar <i>R. mucronata</i> )			
57	Heksana	0.12	0.14
		0.19	
		0.12	
58	Etil asetat	0.15	0.15
		0.15	
		0.16	
59	Etanol	3.68	3.59
		3.83	
		3.26	
60	Air	1.83	2.53
		1.91	
		3.84	
83/V/17 (Buah <i>T. populnea</i> )			
61	Heksana	3.84	3.10
		2.27	
		3.12	
62	Etil asetat	2.23	3.64
		4.23	
		4.47	
63	Etanol	2.57	2.99
		2.98	
		3.43	
64	Air	27.02	13.41
		3.82	
		9.40	

### 3. Uji skrining antibakteri dan anti kanker

Uji skrining yang dilakukan adalah uji skrining antibakteri yang dapat dilihat pada tabel 4.4. dan uji skrining antitumor dapat dilihat pada tabel 4.6. Dari kedua uji tersebut dapat dilihat sebagian besar berpotensi besar sebagai antibakteri sebagai ekstrak kasar. Uji skrining antibakteri sejauh ini baru dilakukan untuk bakteri Gram positif *S. aureus* (20 ekstrak) dan bakteri Gram negatif *P. acne* (24 ekstrak) dari total 64 ekstrak. Hasil uji antibakteri dari 16 jenis spesies Mangrove dengan 4 jenis pelarut: 4 ekstrak menunjukkan potensi antibakteri untuk bakteri gram-positif (72A, 75A, 79A, 84A)



dan 9 ekstrak menunjukkan potensi anti bakteri untuk bakteri gram-negatif (72H, 74H, 74Ea, 76H, 76Ea, 82H, 84H, 86H, 88H). Uji antibakteri penelitian pendahuluan dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.4. Hasil uji skrining antibakteri  
(*S. aureus*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2
1	72 Ea	10	125	6	6
2	72Et	10	125	6	6
3	72A	10	125	7.28	6.93
4	75H	10	125	6	6
5	75Ea	10	125	6	6
6	75Et	10	125	6	6
7	75A	10	125	6.54	6.31
8	76H	10	125	6	6
9	79H	10	125	6	6
10	79Ea	10	125	6	6
11	79Et	10	125	6	6
12	79A	10	125	8.23	8.71
13	82H	10	125	6	6
14	82Ea	10	125	6	6
15	82Et	10	125	6	6
16	84H	10	125	6	6
17	84Ea	10	125	6	6
18	84Et	10	125	6	6
19	84A	10	125	10.21	11.23
20	88H	10	125	6	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Tabel 4.5. Hasil uji skrining antibakteri  
(*P. acne*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2
1	72H	10	125	7	8.07
2	72Ea	10	125	6	6
3	73H	10.4	125	6	6
4	73Ea	10.3	125	6	6
5	74H	10.1	125	6.13	6.21
6	74Ea	10	125	6.33	6.24
7	75H	10.2	125	6	6
8	75Ea	10	125	6	6
9	76H	10.1	125	6.73	7.07
10	76Ea	10.6	125	6.78	6.99
11	77H	10.3	125	6	6

12	77Ea	10.5	125	6	6
13	79H	10.5	125	6	6
14	79Ea	10	125	6	6
15	82H	10.2	125	7.07	6.75
16	82Ea	10.4	125	6.97	6.77
17	84H	10.4	125	6.97	6.77
18	84Ea	10.1	125	6	6
19	86H	10.7	125	8.04	6
20	86Ea	10.2	125	6	6
21	87H	10.2	125	6	6
22	87Ea	10	125	6	6
23	88H	10.1	125	6.38	6
24	88Ea	10	125	6	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Tabel 4.6. Hasil uji skrining antibakteri  
(*P. mussolli*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2
1	72H	10	125	6	6
2	72Ea	10	125	6	6
3	72Et	10.4	125	6	6
4	72A	10.3	125	6	6
5	73H	10	125	6	6
6	73Ea	10	125	6	6
7	73Et	10.4	125	6	6
8	73A	10.3	125	6	6
9	74H	10	125	6	6
10	74Ea	10	125	6	6
11	74Et	10.4	125	6	6
12	74A	10.3	125	6	6
13	75H	10	125	6	6
14	75Ea	10	125	6	6
15	75Et	10.4	125	6	6
16	75A	10.3	125	6	6
17	76H	10	125	6	6
18	76Ea	10	125	7.55	7.63
19	76Et	10.4	125	6	6
20	76A	10.3	125	6	6
21	77H	10	125	6	6
22	77Ea	10	125	7.93	7.85
23	77Et	10.4	125	6	6
24	77A	10.3	125	6	6
25	79H	10	125	7	6
26	79Ea	10	125	6	6

27	79Et	10.4	125	6	6
28	79A	10.3	125	6	6
29	80H	10	125	6	6
30	80Ea	10	125	6	6
31	80Et	10.4	125	6	6
32	80A	10.3	125	6	6
33	81H	10	125	7	8.07
34	81Ea	10	125	6.25	6.24
35	81Et	10.4	125	6	6
36	81A	10.3	125	6	6
37	82H	10	125	6	6
38	82Ea	10	125	6	6
39	82Et	10.4	125	6	6
40	82A	10.3	125	6	6
41	83H	10	125	7.58	7.61
42	83Ea	10	125	6	6
43	83Et	10.4	125	6	6
44	83A	10.3	125	6	6
45	84H	10	125	6	6
46	84Ea	10	125	6	6
47	84Et	10.4	125	6	6
48	84A	10.3	125	6	6
49	85H	10	125	6	6
50	85Ea	10	125	6	6
51	85Et	10.4	125	6	6
52	86H	10.3	125	6	6
53	86Ea	10	125	6	6
54	86Et	10	125	6	6
55	87H	10.4	125	6	6
56	87Ea	10.3	125	6	6
57	87Et	10.2	125	6	6
58	88H	10.2	125	6	6
59	88Ea	10	125	6	6
60	88Et	10.1	125	7.12	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Tabel 4.7. Hasil uji skrining antibakteri  
(*R. equi*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2
1	72H	10	125	6	6
2	72Ea	10	125	6	6
3	72Et	10.4	125	6	6
4	72A	10.3	125	6	6
5	73H	10	125	6.18	6.23

6	73Ea	10	125	6	6
7	73Et	10.4	125	6	6
8	73A	10.3	125	6.76	6.77
9	74H	10	125	6	6
10	74Ea	10	125	7.98	7.98
11	74Et	10.4	125	7.95	7.87
12	74A	10.3	125	6	6
13	75H	10	125	6	6
14	75Ea	10	125	6.56	6.32
15	75Et	10.4	125	6	6
16	75A	10.3	125	6	6
17	76H	10	125	6	6
18	76Ea	10	125	6	6
19	76Et	10.4	125	6.48	6.55
20	76A	10.3	125	6	6
21	77H	10	125	6	6
22	77Ea	10	125	6	6
23	77Et	10.4	125	6	6
24	77A	10.3	125	6	6
25	79H	10	125	7	6
26	79Ea	10	125	6.73	6.23
27	79Et	10.4	125	6	6
28	79A	10.3	125	6	6
29	80H	10	125	6	6
30	80Ea	10	125	7.24	7.25
31	80Et	10.4	125	6	6
32	80A	10.3	125	6	6
33	81H	10	125	6.73	6.63
34	81Ea	10	125	8.43	6.08
35	81Et	10.4	125	6	6
36	81A	10.3	125	6	6
37	82H	10	125	7.14	7.12
38	82Ea	10	125	6.03	6.05
39	82Et	10.4	125	6	6
40	82A	10.3	125	6	6
41	83H	10	125	6.97	6.87
42	83Ea	10	125	6	6
43	83Et	10.4	125	6.89	6.7
44	83A	10.3	125	6	6
45	84H	10	125	6.77	6.82
46	84Ea	10	125	6	6
47	84Et	10.4	125	6	6
48	84A	10.3	125	6	6
49	85H	10	125	7.89	7.67
50	85Ea	10	125	6	6
51	85Et	10.4	125	6	6

52	86H	10.3	125	6.88	6.73
53	86Ea	10	125	6	6
54	86Et	10	125	6	6
55	87H	10.4	125	6.43	6.55
56	87Ea	10.3	125	6	6
57	87Et	10.2	125	6	6
58	88H	10.2	125	6.67	6.65
59	88Ea	10	125	6	6
60	88Et	10.1	125	7.12	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Tumbuhan memiliki kemampuan yang tidak terbatas dalam mensintesis senyawa aromatik. Golongan terbesar dari senyawa aromatik ini adalah fenol, mencapai hampir 12.000 jenis senyawa, kurang lebih 10% sudah diisolasi (Maddox, 2010). Pada beberapa kasus senyawa fenol, khususnya flavonoid, sangat terkait dengan pertahanan tumbuhan melawan predasi dari mikroorganisme, insekta dan herbivori. Walaupun demikian, kemungkinan metabolit sekunder lainnya, seperti terpenoid (minyak essensial), alkaloid, lektin dan polipeptida, memiliki potensi yang sama atau lebih kuat dalam hal kemampuan melawan predasi tersebut tetap ada.

Tabel 4.8. Golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri (Cowan, 1999)

Kelas	Subkelas	Contoh	Mekanisme
Fenolik	Fenol sederhana	Katekol epikatekin	Berikatan dengan substrat, merusak membran
	Asam fenolat	Asam sinamik	Berikatan dengan substrat, merusak membran
	Quinon	Hiperisin	Berikatan dengan adesin, berikatan dengan dinding sel, dan inaktivasi enzim
	Flavonoid	Krisia	Berikatan dengan adesin dan berikatan dengan dinding sel
	Flavon	Abisinon	inaktivasi enzim, dan menghambat enzim reverse transcriptase HIV
	Flavonol	Totarol	?
	Tannin	Elagitannin	Berikatan dengan protein, berikatan dengan adesin, menghambat kerja enzim, berikatan dengan substrat, berikatan dengan dinding sel, merusak membran, berikatan dengan ion metal
	Kumarin	Warfarin	Interaction with eucaryotic DNA (antiviral activity)
Terpenoids, essential oils		Capsaicin	Membrane disruption
Alkaloids		Berberine Piperine	Intercalate into cell wall and/or DNA
Lectins and polypeptides		Mannose-specific agglutinin, Fabatin	Block viral fusion or adsorption Form disulfide bridges

Secara sederhana, sampel yang menunjukkan reaksi positif pada uji kandungan fenolik (flavonoid dan tannin), alkaloid, terpenoid, hidrokuinon dari uji fitokimia simplisia dapat diasumsikan sebagai sampel yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba. Ekstrak kasar mengandung puluhan bahkan ratusan senyawa, senyawa paling potensial namun dalam jumlah sangat kecil atau adanya aktivitas antagonistik dapat menyebabkan aktivitas antibakterinya relatif kecil. Oleh karena itu, ekstrak yang menghasilkan zona hambat baik kecil maupun besar perlu dilanjutkan dengan proses fraksinasi dan isolasi yang idealnya dicapai senyawa murni.

Sebagai perbandingan juga dapat dilihat hasil uji skrining antibakteri pada penelitian pendahuluan, pada tabel dibawah berikut ini:

Tabel 4.9. Hasil Uji skrining antibakteri (penelitian pendahuluan)

Kons (%)	(+)		extraction						(-)
	tetra	chloram	<i>B. gymnorrhiza</i> (eth)			<i>R. mucronata</i> (eth)			
	22.10	20.80	SA	EC	SE	SA	EC	SE	
0.40			9.32	6.20	6.59	6.57	6.36	6.88	
0.20			8.32	6.00	6.32	6.46	6.76	6.55	
0.10			8.08	6.00	6.16	6.00	6.00	6.00	
0.05			6.40	6.00	6.20	6.00	6.00	6.00	
									6.00

Keterangan: (+): control positif, (-): control negative, kons: konsentrasi, tetra: tetrasiklin, chloram: chloramphenicol, SA: *Streptococcus aureus*, EC: *Escherichia coli*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, eth: ethanol, dan DMSO: Dimetil Sulfoksid

Hasil dari penelitian pendahuluan ini menghasilkan dua tulisan, salah satunya sudah dipresentasikan pada 3<sup>rd</sup> International Conference on Biological Sciences and Biotechnology (ICBSB), 23 Agustus 2017. Tulisan lainnya sudah diterima dengan revisi minor pada International Journal of Pharma and Bio Sciences.

Untuk uji skrining aktivitas antitumor, sejauh ini sudah 55 ekstrak yang diuji, 42 ekstrak diantaranya menunjukkan aktivitas antitumor, aktivitas antitumor ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> dibawah 1000 ppm. Uji lanjutan akan dilakukan dengan menggunakan *cell line* kanker payudara dan kanker leher Rahim (serviks). Hasil BSLT dapat dilihat pada tabel 4.10 berikut ini:

Tabel 4.10. Hasil BSLT

Sampel	Konsentrasi (ppm)				LC50 (ppm)	Sampel	Konsentrasi (ppm)				LC50 (ppm)
	1000	500	100	50			1000	500	100	50	
72H	6	4	4	6	734.36	74H	5	2	1	2	1438.64
	6	5	4	4			5	2	2	3	
	5	3	5	3			3	2	2	3	
72Ea	10	0	0	1	918.78	74Ea	10	10	2	1	200.78
	4	1	0	3			10	10	3	1	
	5	2	0	3			10	9	6	0	

72Et	8	6	1	0	722.40	74Et	9	3	0	0	650.96
	7	2	2	1			6	0	3	2	
	5	3	3	2			10	6	0	0	
72A	4	7	3	1	627.48	74A	1	0	0	0	1484.20
	8	4	1	1			0	0	0	0	
	9	4	2	1			0	0	0	0	
84H	5	2	2	2	878.62	86H	7	3	1	2	575.68
	6	1	1	2			10	2	0	0	
	7	3	2	1			10	3	4	3	
84Ea	4	3	3	0	1254.44	86Ea	10	10	10	0	64.02
	4	0	2	1			10	10	4	7	
	5	1	1	1			10	10	6	6	
84Et	10	9	3	1	229.77	86Et	10	10	4	3	351.52
	10	8	2	4			6	4	2	1	
	10	10	2	2			8	4	7	4	
84A	1	8	0	0	847.63	86A	9	9	1	1	408.2425
	10	10	3	1			10	10	0	0	
	2	1	1	0			10	10	0	0	
73H	7	2	3	3	532.51	75H	3	2	0	1	748.48
	7	5	1	3			9	8	3	1	
	8	7	4	3			5	4	0	1	
73Ea	10	10	3	1	163.93	75Ea	6	2	0	1	996.04
	10	10	2	1			5	2	0	1	
	10	10	2	1			4	2	1	0	
73Et	0	3	0	0	3168.15	75Et	10	9	3	10	291.61
	0	0	0	0			10	1	4	1	
	1	0	0	0			10	8	0	1	
73A	2	4	0	1	19427.71	75A	0	2	1	0	499.23
	1	0	2	2			0	0	1	0	
	2	0	2	2			0	0	0	2	
76H	4	5	1	4	799.85	82H	5	5	2	0	1077.76
	7	5	1	2			4	5	0	2	
	6	3	1	0			3	3	3	1	
76Ea	7	1	4	3	765.92	82Ea	9	3	1	1	582.66
	8	0	1	1			9	1	2	0	
	8	1	3	0			10	3	2	2	
76Et	0	0	0	0	1207.10	82Et	6	1	0	0	899.51
	0	0	0	0			10	0	0	0	
	4	0	0	0			4	0	1	1	
76A	1	5	2	2	23143.75	82A	4	1	2	0	1047.00
	0	3	2	3			5	2	3	0	
	2	1	3	2			6	2	2	0	
88H	8	7	3	3	633.59	77H	8	3	1	2	967.28
	7	5	0	1			5	3	0	3	
	4	5	2	2			3	2	3	1	
88Ea	1	0	0	0	1255.04	77Ea	10	7	1	0	525.45

88Et	1	0	0	0	1076.05	77Et	9	4	0	2	763.98
	1	0	0	0			8	3	2	2	
	1	0	0	0			7	2	3	4	
	7	0	0	0			4	2	2	1	
	4	1	0	0			9	3	5	2	
88A	3	2	2	0	1975.88	77A	2	0	0	0	1329.60
	2	3	3	1			0	0	0	0	
	3	2	2	0			0	0	0	0	
79H	6	6	5	5	160.43	87H	4	2	1	5	1327.08
	6	7	4	5			3	5	3	2	
	7	4	6	4			5	4	2	1	
79Ea	10	4	6	4	224.45	87Ea	5	2	3	2	988.37
	10	7	6	3			4	1	0	2	
	10	5	3	4			8	2	2	2	
79Et	9	6	3	2	498.28	87Et	3	1	2	0	3252.78
	10	5	4	1			3	3	4	4	
	8	2	1	0			5	2	2	5	
79A	5	4	1	3	772.70	87A	1	3	1	0	449.6206
	7	3	0	0			1	4	4	4	
	8	2	2	0			4	1	1	2	
85H	10	3	5	1	499.23	80H	8	6	0	0	711.40
	9	4	1	0			7	5	0	0	
	9	5	2	1			6	3	2	0	
85Ea	4	0	1	0	2179.41	80Ea	6	4	0	0	908.33
	3	3	3	1			6	2	0	0	
	2	2	3	2			4	2	0	0	
85Et	7	3	0	3	748.48	80Et	9	0	0	0	842.80
	5	3	2	0			9	0	0	0	
	10	7	3	3			6	1	0	0	
85A	3	1	1	0	1149.20	80A	3	2	3	4	32562.09
	6	2	0	1			4	2	4	3	
	4	1	1	1			3	3	3	2	
81H	2	3	0	0	1305.68	83H	5	3	0	0	943.17
	4	3	0	0			7	2	0	0	
	1	4	0	0			4	0	0	0	
81Ea	4	3	0	0	1062.91	83Ea	4	2	1	0	1074.54
	4	2	0	0			5	4	0	0	
	4	1	0	0			3	1	0	0	
81Et	7	2	0	0	859.75	83Et	10	0	0	0	658.32
	6	1	0	0			9	2	0	0	
	7	2	0	0			10	4	0	0	
81A	6	6	4	1	813.66		2	0	0	0	



	3	7	8	5		83AA	5	0	0	0	1082.90
	4	6	5	3			2	0	0	0	

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Hasil uji LC 50 sampel ekstraksi dari 16 jenis spesies Mangrove dengan 4 jenis pelarut:  
konsentrasi >1000 ppm = 22 ekstrak; < 1000 ppm = 29 ekstrak; < 500 ppm = 13 ekstrak.

Perkembangan dalam kemoterapi kanker pada saat ini merupakan hasil dari kontribusi isolasi alkaloid dari tumbuhan dan sumber bahan alam lainnya. sehingga secara sederhana, sampel yang menunjukkan reaksi positif pada uji alkaloid dari uji fitokimia simolisia dapat diasumsikan berpotensi memiliki aktivitas antikanker. Hal tersebut selanjutnya diverifikasi dengan hasil BSLT. Seperti halnya aktivitas antibakteri, hasil skrining aktivitas antikanker senyawa potensial tertentu tertutupi oleh senyawa lain yang jumlahnya lebih banyak.

Hasil positif palsu bisa didapati pada proses skrining, metode HTS mampu memverifikasi hal tersebut dan mengabaikannya. Karena uji yang dilakukan bersifat manual maka semua hasil positif baik palsu maupun asli tetap akan tercatat. Proses tersebut akan terverifikasi melalui fraksinasi dan isolasi senyawa tunggal dari ekstrak, yang dilanjutkan dengan proses skrining ulang. Jika mengalami kekurangan sampel, maka dilakukan rekoleksi dan ekstraksi difokuskan pada senyawa target atau dilakukan penyesuaian perlakuan (pelarut) spesifik sesuai senyawa target. Berikut disajikan pelarut yang disesuaikan dengan senyawa metabolit sekunder target.

Tabel 4.11 Pelarut untuk ekstraksi komponen aktif (Cowan, 1999)

Water	Etanol	Methanol	Kloroform	Diklorometanol	Eter	Aseton
Anthocyanins	Tannins	Anthocyanins	Terpenoids	Terpenoids	Alkaloids	Flavonols
<b>Starches</b>	Polyphenols	Terpenoids	Flavonoids		Terpenoids	
Tannins	<b>Polyacetylenes</b>	Saponins			<b>Coumarins</b>	
Saponins	Flavonol	Tannins			<b>Fatty acids</b>	
Terpenoids	Terpenoids	<b>Xanthoxylines</b>				
<b>Polypeptides</b>	<b>Sterols</b>	<b>Totarol</b>				
<b>Lectins</b>	Alkaloids	<b>Quassinoids</b>				
	<b>Propolis</b>	<b>Lactones</b>				
		Flavones				
		<b>Phenones</b>				
		Polyphenols				

### 4.3. Konsorsium *extract library* Indonesia

Pembentukan konsorsium *extract library* diinisiasi dalam rangka dalam rangka sinkronisasi usaha dalam proses penemuan obat yang meliputi agen antibakteri, antikanker dan penyakit lainnya. Konsorsium ini penting untuk dibentuk agar kegiatan-kegiatan penelitian obat dari bahan alam yang selama ini dilakukan secara terpisah oleh masing-masing peneliti dapat lebih terorganisir, bersinergi dan menghindari tumpang tindih satu sama lain.

*Forum group discussion* (FGD) “**ESTABLISHMENT OF INDONESIAN EXTRACT LIBRARY CONSORTIUM: OPPORTUNITIES AND CHALLENGES**” sudah dilaksanakan sebagai langkah awal dalam pembentukan konsorsium ini. Acara tersebut dihadiri oleh berbagai pihak yang terkait dengan pengembangan obat dari bahan alam, baik peneliti, industri dan pemerintah (daftar hadir terlampir). Dari FGD tersebut dihasilkan beberapa poin penting yang sangat mendukung dalam pembentukan *extract library*, yaitu seluruh peserta yang hadir menjadi anggota konsorsium *extract library* Indonesia, pembuatan MoU dan MoA dengan instansi-instansi terkait (sesama anggota konsorsium), audiensi dengan pemerintah mengenai ide *extract library*, adanya forum diskusi reguler dalam jangka waktu dekat yang membahas langkah selanjutnya atau update informasi dan perkembangan penelitian melalui website yang sudah disiapkan. Catatan lain yang dihasilkan dari FGD ini adalah perlu disusun protokol pembuatan *extract library* yang representatif dan dapat diaplikasikan pada berbagai sumber bahan obat dari alam, sehingga dapat menghindari overlap penelitian dan mencapai penelitian yang berkelanjutan. Demi mencapai penelitian yang lebih komprehensif, perlu adanya sinergi dengan peneliti ahli botani, etnobotani, etnofarmakologi, mikrobiologi, biologi molekuler dan lain-lain.

Rencana jangka panjang yang dapat dicapai dengan terbentuknya konsorsium ini adalah tersedianya koleksi bersama ekstrak senyawa murni atau senyawa calon obat (*lead compounds*) dari alam untuk proses skrining, terbentuknya kerjasama antara peneliti, industri dan pemerintah. Dukungan industri dan pemerintah dapat berupa investasi dana yang mendukung terbentuknya pusat-pusat kecemerlangan (*centers of excellent*) dan melengkapi fasilitas-fasilitas yang dibutuhkan, seperti ruang penyimpanan simplisia atau ekstrak modern (*natural product library*) dan laboratorium modern. Dengan tersedianya fasilitas dan calon obat dalam jumlah besar (*extract library*), maka kita sebagai bangsa akan dapat melakukan proses penemuan obat sendiri dengan biaya yang relatif lebih murah dan waktu yang relatif lebih singkat.

Pembentukan *Centers of Excellent* diperlukan untuk mewadahi kegiatan-kegiatan penelitian dalam bidang yang serupa. Pusat-pusat ini selanjutnya dapat dijadikan sebagai rujukan dan koordinasi khusus untuk jenis penyakit tertentu, tempat penyimpanan ekstrak dan berbagai jenis kultur sel atau jaringan, peralatan penelitian dan fasilitas pendukung lainnya.

Pusat-pusat kecemerlangan ini juga yang akan dijadikan sebagai pusat pembangunan kapasitas bagi para peneliti dan staf-staf lainnya melalui berbagai kegiatan pelatihan, kursus singkat, dan sertifikasi untuk kompetensi tertentu.

Ruang penyimpanan ekstrak merupakan salah satu komponen paling penting yang perlu disediakan terlebih jika jumlah koleksi ekstrak sudah mencapai ratusan ribu bahkan jutaan ekstrak. Penyimpanan ekstrak harus menjamin bahwa ekstrak yang ada dapat bertahan dalam kurun waktu tertentu. Karena itu selain pengembangan metode ekstraksi, pengembangan metode penyimpanan

ekstrak pun menjadi sangat penting. Fasilitas lain yang perlu disediakan untuk menunjang kegiatan penemuan obat dari bahan alam ini adalah perlu tersedianya koleksi sel dan jaringan (*bio bank*) dari berbagai jenis organisme dari sel-sel mikroba sampai sel manusia. Ketersediaan *bio bank* ini sangat diperlukan agar memungkinkan untuk melakukan uji-uji biologi terhadap jenis penyakit tertentu.

Fasilitas skrining dengan berbagai jenis peralatan dari mulai yang paling sederhana sampai dengan *high end* instrument perlu disediakan untuk melakukan proses penemuan obat dari bahan alam ini.

Berbagai jenis strategi *screening* diantaranya adalah *high throughput*, *focused screen*, *fragment screen*, *structural aided drug design*, *virtual screen*, *physiological screen*, dan *NMR screen* (Hughes et al., 2011). Metode HTS khususnya, adalah salah satu metode yang terkini dalam penemuan obat yang sepanjang pengetahuan penulis, belum diperkenalkan di Indonesia. Metode HTS memungkinkan untuk melakukan skrining bahan potensi obat sampai sebanyak 100000 per hari. Metode ini akan menjadi sangat unggul jika dikombinasikan dengan teknik komputasi biologi melalui *virtual screening* untuk mengurangi jumlah senyawa yang harus disaring.

Pusat informasi data merupakan komponen lain yang sangat penting yang diperlukan untuk penyimpan dan pengolahan berbagai informasi yang terkait dengan ketersediaan simpanan ekstrak, pemanfaatan, dan pengawasan lalu lintas ekstrak. Pengawasan lalu lintas atau pendistribusian ekstrak menjadi sangat penting jika dikaitkan dengan isu keselamatan biologi (*biosafety*) dan keamanan biologi (*biosecurity*).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

1. Protokol pembentukan *extract library* sangat penting untuk disusun demi tercapainya penelitian yang berkesinambungan, menghindari tumpang tindihnya penelitian dan dicapainya hasil yang diharapkan dalam hal proses penemuan obat. Protokol tersebut meliputi metode sampling (data lokasi, fisik, kimia, khasiat, populasi koleksi), metode preparasi simplisia (penyimpanan, pengeringan, dan penggilingan), metode preparasi ekstraksi (penyimpanan dan coding simplisia), metode ekstraksi dan penyimpanan ekstraksi.
2. Proses skrining potensi antibakteri dan antikanker dari ekstrak library mangrove menunjukkan bahwa beberapa fraksi ekstrak memiliki aktivitas tersebut. Hal ini membuktikan bahwa kekayaan alam sangat berkorelasi dengan kekayaan senyawa aktif yang sangat potensial sebagai calon obat. Untuk mendapatkan calon obat yang teruji aktivitas biologi dan keamanannya bukan proses yang mudah, namun pembentukan prototype *extract library* dari mangrove mungkin bisa jadi salah satu jalan pembuka terbentuknya *extract library* lainnya sehingga potensi senyawa aktif dari biodiversitas Indonesia tergali dan dimanfaatkan secara optimal menuju kemandirian bahan obat.
3. Kerjasama antara peneliti, industri dan pemerintah akan sangat mendukung terbentuknya pusat-pusat kecemerlangan (*centers of excellent*) dan melengkapi fasilitas-fasilitas yang dibutuhkan, seperti ruang penyimpanan simplisia atau ekstrak modern (*natural product library*) dan laboratorium modern. Dengan tersedianya fasilitas dan calon obat dalam jumlah besar (*extract library*), maka kita sebagai bangsa akan dapat melakukan proses penemuan obat sendiri dengan biaya yang relatif lebih murah dan waktu yang relatif lebih singkat.

## Daftar Pustaka

- Ahmed, Y., Sohrab, H., Al-Reza, S.M., Shahidulla Tareq, F., Hasan, C.M., Sattar, M.A., 2010. Antimicrobial and cytotoxic constituents from leaves of *Sapium baccatum*. *Food Chem Tox.* 48, 549-552.
- Anuradha Roy, Peter R. McDonald, Sitta Sittampalam, and Rathnam Chaguturu, 2010. Open Access High Throughput Drug Discovery in the Public Domain: A Mount Everest in the Making. *Curr Pharm Biotechnol.* 11(7): 764–778.
- Arslanyolu, M., Erdemgil, F. Z., 2006. Evaluation of the antibacterial activity and toxicity of isolated arctiin from the seeds of *Centaurea sclerolepis*. *J Fac Pharm.* 35, 103-109.
- Atanasov et al., 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances* 33 (2015) 1582–1614.
- Audah, K.A. Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology, 25-26 November 2015, BSD City, Indonesia, ISSN: 2477-1538.
- Ayoola et al., 2008. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, September 2008; 7 (3): 1019-1024
- Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK, 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2016) 71–79.
- Balunas MJ and Kinghorn AD, 2005. Drug discovery from medicinal plants. *ife Sciences* 78 (2005) 431 – 441.
- Bandaranayake, W.M. 2002. Bioactive compounds and Chemicals Constituents of Mangrove Plants, *Wetland Ecology and Management*, 10:421-452.
- Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahminiwati M, Djauhari E. 2010. Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *Journal of Biological Science.* 10(2):138144.
- Batubara I, Mitsunaga T. 2013. Use of Indonesian Medicinal Plant Products against Acne. *Reviews in Agricultural Science* Vol 1:11-30.
- Butler MS (2005) *Nat Prod Rep* 22:162
- Butler, M.S., 2004. The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products* 67 (12), 2141– 2153.
- Cowan MM, 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, p. 564±582
- Cragg, G.M., Newman, D.J., 2004. A tale of two tumor targets: topoisomerase I and tubulin. The Wall and Wani contribution to cancer chemotherapy. *Journal of Natural Products* 67 (2), 232–244.
- Dandapani S, Rosse G, Southall N, Salvino JM, Thomas CJ, 2012. Selecting, Acquiring, and Using Small Molecule Libraries for High-Throughput Screening. *Curr Protoc Chem Biol.* 2012 ; 4: 177–191. doi:10.1002/9780470559277.ch110252.
- de-Faria et al. (2012). Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *Rhizophora mangle L.* *Journal of Ethnopharmacology*, 139(1), 234-43.

- Demain AL, Vaishnav P, 2011. Natural products for cancer chemotherapy. *Microbial Biotechnology* (2011) 4(6), 687–699.
- Dickson, M., Gagnon, J.P., 2004. Key factors in the rising cost of new drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (5), 417–429.
- Do, Q.T., Bernard, P., 2004. Pharmacognosy and reverse pharmacognosy: a new concept for accelerating natural drug discovery. *IDrugs* 7 (11), 1017– 1027.
- Farnsworth, N.R., Soejarto, D.D. Global importance of medicinal plants, in: Akerele, O., Heywood, V., Syngé, H., 2009. *Conservation of medicinal plants*, first ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 25-52.
- Frantz, S., 2005. 2004 approvals: the demise of the blockbuster? *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (2), 93– 94.
- Frantz, S., Smith, A., 2003. New drug approvals for 2002. *Nature Reviews Drug Discovery* 2 (2), 95– 96.
- Ganesan, A., 2004. Natural products as a hunting ground for combinatorial chemistry. *Current Opinion in Biotechnology* 15 (6), 584– 590.
- Giri et al. (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 154–159.
- Graul, A.I., 2001. The year's new drugs. *Drug News and Perspectives* 14 (1), 12–31.
- Gryniewicz G, Achmatowicz O, Pucko W (2000) *Herba Pol* 46:151
- Guo Z, 2017. The modification of natural products for medical use. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2017;7(2):119–136
- Gurudeeban et al. (2012). Antidiabetic effect of a black mangrove species *Aegiceras corniculatum* in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Advance Pharmaceutical Technology and Research*, 3(1), 52–56.
- Harvey, AL: Natural Products in Drug Discovery. *Drug Discovery Today*, 13:894-901.
- Hassig, C.A., et al. 2014. Ultra-High-Throughput Screening of Natural Product Extracts to Identify Proapoptotic Inhibitors of Bcl-2 Family Proteins, *Journal of Biomolecular Screening*, 19(8):1201-1211.
- Islam et al. (2012). Antinociceptive activity of methanolic extract of *Acanthus ilicifolius* Linn. Leaves. *Turkish Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 9(1), 51-60
- JP Hughes, S Rees, SB Kalindjian, KL Philpott, 2010. Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology* (2011) 162 1239–1249
- Juyal D, Thawani V, Thaledi S, Joshi M, 2014. Ethnomedical Properties of *Taxus Wallichiana* Zucc. (Himalayan Yew). *J Tradit Complement Med*. 2014 Jul-Sep; 4(3): 159–161.
- Katiyar C, Gupta A, Kanjilal S, Katiyar S, 2012. Drug discovery from plant sources: An integrated approach. *Ayu*. 2012 Jan-Mar; 33(1): 10–19.
- Kazanietz, MG (2005) *Biochim Biophys Acta* 1754:296
- Koehn, F.E., Carter, G.T., 2005. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (3), 206– 220.
- Kramer, R., Cohen, D., 2004. Functional genomics to new drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (11), 965– 972.

- Li, JW, Vederas JC. 2008. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? *Science* 2009, 325:161-165.
- Liem et al. (2013). Isolasi Senyawa Saponin dari Mangrove Tanjung (*Bruguiera gymnorrhiza*) dan Pemanfaatannya sebagai Pestisida Nabati pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua*, 5(1), 29–36.
- Liu, 2008. Preparation of Botanical Samples for Biomedical Research. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 8(2): 112–121.
- Lotsch, J., Geisslinger, G., 2001. Morphine-6-glucuronide: an analgesic of the future? *Clinical Pharmacokinetics* 40 (7), 485–499.
- Maddox CE, Laur LM, Tian Li. 2010. Antibacterial Activity of Phenolic Compounds Against the Phytopathogen *Xylella fastidiosa*. *Curr Microbiol* (2010) 60:53–58.
- Mann J (2000) *Murder, Magic and Medicine*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford, UK
- Mayorga, P., Pérez, K.R., Cruz, S.M., Cáceres, A., 2010. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. *Bras J Pharm*. 20, 897-903.
- Mittermeier RA, Gil PR, Hoffman M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J, da Fonseca GAB, Seligmann PA, Ford H. 2005. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Conservation International, New York.
- Mouafi et al. (2014). Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Mangrove Leaves (*Avicenna marina* and *Rhizophora stylosa*) Against Some Pathogens. *World Applied Sciences Journal*, 29(4), 547-554.
- Newman, D.J., and Cragg, G.M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010, *Journal of Natural Products*, 75(3):311-335.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Journal of Natural Products* 66 (7), 1022–1037.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., Sneader, K.M., 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports* 17 (3), 215–234.
- Ochoa-Villarreal M, Howat S, Hong SM, Jang MO, Jin YW, Lee EK, Loake GJ, 2016. Plant cell culture strategies for the production of natural products. *BMB Rep*. 2016; 49(3): 149-158.
- Okouneva, T., Hill, B.T., Wilson, L., Jordan, M.A., 2003. The effects of vinflunine, vinorelbine, and vinblastine on centromere dynamics. *Molecular Cancer Therapeutics* 2 (5), 427–436.
- Pereira and Williams, 2007. Origin and evolution of high throughput screening. *British Journal of Pharmacology* (2007) 152, 53–61.
- Pirttila, T., Wilcock, G., Truyen, L., Damaraju, C.V., 2004. Long-term efficacy and safety of galantamine in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: multicenter trial. *European Journal of Neurology* 11(11), 734–741.
- Quinn, 2012 in *Chemical Genomics*, Edited by Haiyan Fu, Emory University School of Medicine CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 2012
- Rege, A.A., dan Chowdhary A. S. (2013). Evaluation of Mangrove Plants As Putative Hiv-Protease Inhibitors. *Indian Drugs*, 50(7), 41
- Rohaeti et al. 2010. *Potensi ekstrak Rhizophora sp. sebagai inhibitor tirosinase*. Bogor: Prosiding Seminar Nasional Sains III.

- Safari et al. (2016) Antipyretic, Antiinflammatory and Antinociceptive Activities of Aqueous Bark Extract of *Acacia Nilotica* (L.) Delile in Albino Mice. *Journal of Pain Management & Medicine*, 2, 113.
- Salim et al, 2008, in Ramawat KG, Mérillon JM (eds.), In: Bioactive Molecules and Medicinal Plants Chapter DOI: 10.1007 / 978-3-540-74603-4\_1, © Springer 2008
- Samuelsson G (2004) *Drugs of Natural Origin*, 5th edn, Apotekarsocieteten, Stockholm
- Singh, C.R., dan Kathiresan, K. (2015). Effect of cigarette smoking on human health and promising remedy by mangroves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(2), 162–167.
- Sneider W (2005) *Drug Discovery: a History*, Wiley, Chichester, UK
- Sulasmi ES, Indriwati SE, Suarsini E, 2016. Preparation of Various Type of Medicinal Plants Simplicia as Material of Jamu Herbal. INTERNATIONAL CONFERENCE ON EDUCATION 2016, p1014-1024.
- Sutarno dan Setiawan, 2015. Indonesia's biodiversity: the loss and management efforts to ensure the sovereignty of the nation. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. 1(1):1-13.
- Tambe, V.D., dan Bhambar, R.S. (2016). Studies on Diuretics and Laxative Activity of the *Hibiscus Tiliaceus* Linn. Bark Extracts. *International Journal of PharmTech Research*, 9(3), 305-310.
- Tan, D.S., 2004. Current progress in natural product-like libraries for discovery screening. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* 7 (7), 631–643.
- Tanvira, P., dan Seenivasan, R. (2014). Targeting Mangrove Species as an Alternative for Snake Bite Envenomation Therapy with Special Reference to Phospholipase A2 Inhibitory Activity: A Mini Review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical. Sciences*, 5(2), 1724-31
- Tiwari et al., 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *INTERNATIONALE PHARMACEUTICA SCIENCIA* 1(1): 98-106.
- Walters WP, Namchuk M (2003) *Nature Rev Drug Discov* 2:259
- WHO, 2005. WHO guidelines for sampling of pharmaceutical products and related materials. WHO Technical Report Series, No. 929, 2005.
- Yi et al. (2015). Four New Cyclohexylideneacetonitrile Derivatives from the Hypocotyl of Mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*). *Molecules*. 20(8), 14565-75.
- Yu, D., Suzuki, M., Xie, L., Morris-Natschke, S.L., Lee, K.H., 2003. Recent progress in the development of coumarin derivatives as potent anti-HIV agents. *Medical Research Reviews* 23 (3), 322– 345.

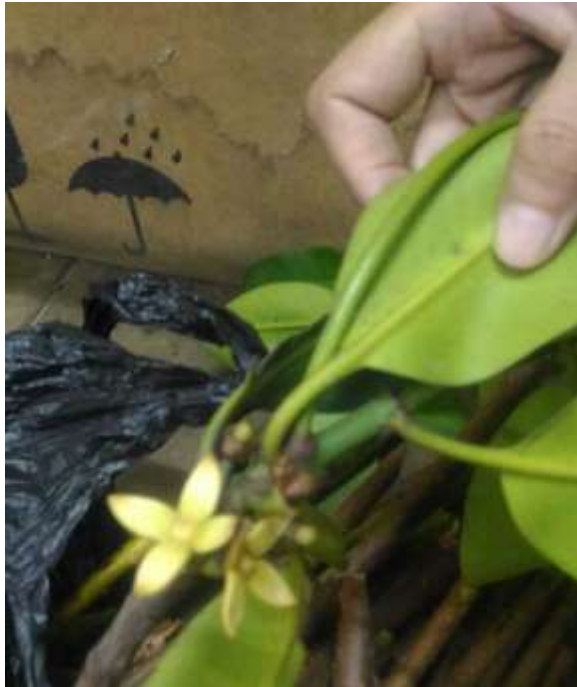


## Lampiran-lampiran

Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan sampling



Lampiran 2. Dokumentasi kegiatan preparasi simplisia



Lampiran 3. Bukti identifikasi tumbuhan mangrove dari LIPI Botani Cibinong, Bogor



(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI  
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)  
Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911  
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612  
Website: www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 28 Juli 2016

Nomor : 1699/IPH.1.01/II.07/VII/2016  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Kholis A. Audah, PhD**  
Swiss German University - ASIA

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Sampel 1	<i>Rhizophora mucronata</i> Lam.	Rhizophoraceae
2	Sampel 2	Tidak Teridentifikasi	Rhizophoraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepada Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,  
Dr. Jooni Setiyo Rahajoe  
NIP. 196706241993032004

Note : - Sampel 1 di lihat dari daunnya terdapat "Mucron" yang berada di ujung daun.  
- Sampel 2 tidak dapat teridentifikasi lebih detail karena hanya berupa helaian daun. Lebih baik jika specimen dalam satu tangkai



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI  
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911  
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612  
Website: www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 9 Juni 2017

Nomor : IS70/IPH.1.01/II.07/VI/2017  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Julkipli**  
Swiss German University

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	-	<i>Avicennia marina</i> (Forssk.) Vierh.	Acanthaceae
2	Waru Laut	<i>Thespesia populnea</i> (L.) Sol. ex Corrêa	Malvaceae
3	-	<i>Xylocarpus moluccensis</i> (Lam.) M. Roem	Meliaceae
4	-	<i>Bruguiera gymnorhiza</i> (L.) Lamk	Rhizophoraceae
5	-	<i>Ceriops tagal</i> (Perr.) C.B. Rob.	Rhizophoraceae
6	-	<i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.	Lythraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijo Rahajoe  
NIP. 196706241993032004

C:\Users\windows 7\Desktop\dokumen lia\Ident 2017\Julkipli.doc\Ismail A.-Rugayah

Page 1 of 1



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI  
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911  
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612  
Website : www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 26 Juli 2017

Nomor : 182/IPH.1.01/If.07/VII/2017  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Julkipli**  
Swiss German University

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

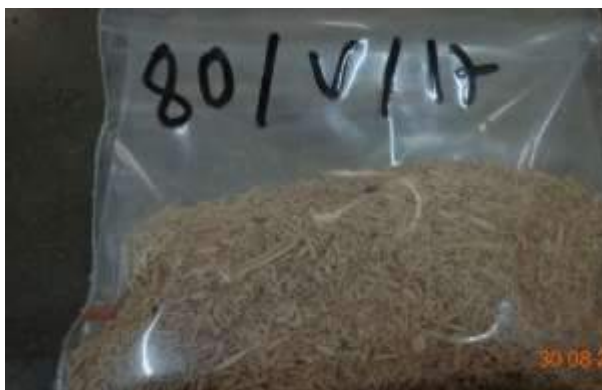
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	-	<i>Rhizophora apiculata</i> Blume	Rhizophoraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plh. Kepala Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Atik Retnowati, M.Sc.  
NIP. 197111152000032005

Lampiran 4. Dokumentasi kegiatan uji fitokimia simplisia



Lampiran 5. Dokumentasi kegiatan ekstraksi

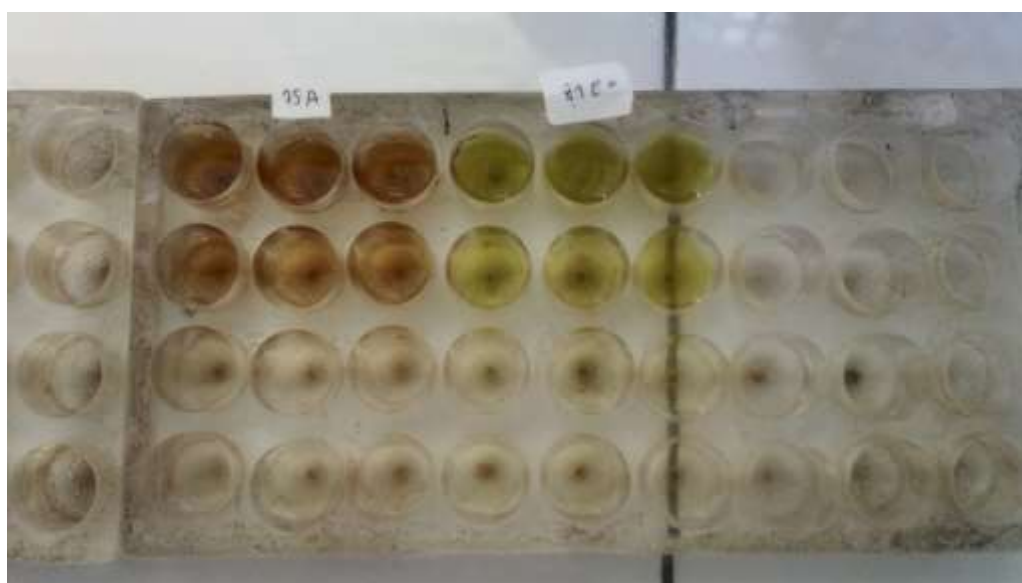


Lampiran 6. Dokumentasi kegiatan uji antibakteri





Lampiran 7. Dokumentasi uji anti kanker



## Lampiran 8. Surat Undangan sebagai Invited Speaker



### BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE

Universiti Malaysia Sabah,  
UMS Road, 88400  
Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.

Tel : (+6088-320 991)  
Fax : (+6088-320 993)  
Email : pejipb@ums.edu.my

23 June 2017

**Kholis A. Audah, PhD**  
Vice Director of Research  
Swiss German University  
Edu Town BSD City  
Tangerang 15339-INDONESIA

Dear Dr,

#### **INVITATION TO BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE, UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

I am very much pleased to invite you visit Biotechnology Research Institute, Universiti Malaysia Sabah (BRI-UMS), on **13-18 July 2017**. The visitation aims :

1. To have your talk as a a guest speaker in our Eminent Speaker Series on 14 July 2017, at 10.00, in BRI-UMS
2. To have further discussion on possible research and academic collaboration activities between our institutes.
3. To have courtesy visit to UMS facilities at Kota Kinabalu and Sandakan, Sabah.

It is an honor for us to have you in Sabah. Please feel free to contact us if you need any further information

Sincerely yours,

**Dr Cahyo Budiman**  
Deputy Director for Research and Innovation  
Biotechnology Research Institute  
Universiti Malaysia Sabah

## Lampiran 9. Surat keterangan penerimaan abstract



**UMS** BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE  
Universiti Malaysia Sabah,  
UMS Road,  
88400 Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.

Tel : (+6088-320000)  
Fax : (+6088-320993)  
Email : pejiqb@ums.edu.my

Our Ref. : UMS/IP7.3/800-2/3/23  
Date : 01 August 2017

Dear Prof/ Assoc./ Dr./Mr/Ms **Audah, Kholis Abdurachim,**

### **ACCEPTANCE OF ABSTRACT FOR THE 5<sup>TH</sup> BIOTECHNOLOGY SYMPOSIUM (SB5)**

Thank you for submitting an abstract to the **5th Biotechnology Symposium 2017** which will take place at the Ming Garden Hotel & Residences, **Kota Kinabalu, Sabah** on **15-16 November 2017**.

On behalf of the organizing committee, I am delighted to inform you that your abstract Title: **"Tetra-hydroxyl-ethyl-disulphate-2-sodium (THES): Peptidoglycan-targeting antibacterial agent as a novel non-resistant therapy to combat bacteria"**  
Authors: **Jogia, Gabriella Eldreen; Saidin, Syafiqah; Budiman, Cahyo; Audah, Kholis Abdurachim**  
has been accepted for **oral presentation**.

You will be allocated 15 min for the oral presentation, followed by 5 min discussion session. The exact date and time of your session will be available in a detailed schedule on the conference webpage shortly before the event.

You are requested to submit full text paper by 30 October 2017 for further peer-review process. Selected paper will be published in a special issue of the SCOPUS index "International Journal of Biopharma and Bioscience". Guidelines for author are available on [http://ijpbst.com/instructions%20\\_authors.php](http://ijpbst.com/instructions%20_authors.php).

We would like to remind you that the deadline for early-bird registration (with payment received) is on July 31, 2017 and full payment (in which regular rates apply) must be made on or before September 15, 2017.

Arrangements for the transportation to and from the conference venue are under the responsibilities of the presenters/participants. All expenses related to the conference should be borne by the presenters/participants of the conference.

Should you have further questions or encounter problems, please feel free to contact us. We look forward to seeing you in Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.

Sincerely yours,

**DR. CHRISTOPHER VOO LOK YUNG**

Chairman

The 5<sup>TH</sup> Biotechnology Symposium

c.c.: Acting Director, BRI

Dr. Cahyo Budiman, Pengerusi Bersama The 5<sup>th</sup> Biotechnology Symposium

File



Certified to ISO9001:2008  
Cert No. AR 3088

**BERTEKAD CEMERLANG**

[www.ums.edu.my](http://www.ums.edu.my)



No. : 11./FMIPA/ICBSB/VI./2017  
Object : Seminar Invitation  
Attachment : 1 (one) copy

Dear Participants,

The committee of 3rd International Conference on Biological Sciences and Biotechnology (ICBSB) is pleased to invite you for your participation in the seminar as **Oral Presenter** that will be held on:

Date / Time : August 23rd, 2017 / 08.00 a.m.  
(Registration starts at 07.30 a.m.)  
Location : Hotel Arya Duta Medan  
Jl. Kapten Maulana Lubis No.8, Petisah Tengah  
Medan Petisah, Kota Medan, Sumatera Utara  
20112

As a reminder, you are required to pay for the registration fee to Account Name: **ICBSB 2017**; Account Number: **0550408295** (Bank BNI) before August 15th, 2017. We would also like to inform you that the full paper of your article is still under review for the proceedings. Please check our websites regularly regarding the review process.

In addition, we need you to provide the **full name with title** of each presenters under your registered name to be printed in the certificate.

Thank you for your participation and we look forward to seeing you in Medan.

Chairman of ICBSB 2017,  
  
Prof. Dr. Dwi Suryanto, M.Sc



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

INSTITUT PENYELIDIKAN  
BIOTEKNOLOGI  
Jalan UMS,  
88400 Kota Kinabalu, Sabah Malaysia

Tel : +6088-320000 /  
320991  
Faks : +6088-320993  
Email : [pejipb@ums.edu.my](mailto:pejipb@ums.edu.my)

Date: 06 September 2017

**TO WHOMSOEVER IT MAY CONCERN**

To

Kholis Abdurachman Audah, PhD  
Department of Biomedical Engineering, Swiss German University, Prominence Tower,  
West Sutera Road, South Tangerang 15143, Banten Province, Indonesia

Dear Colleague,

I am inviting the chapters from eminent scientists working in this area at different laboratories including you. The main aim of this book publication is to compile the information on cutting edge researches on the emerging issues in-banner of book title is **"Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food"** to be published by **Springer Publisher (Cham, Switzerland)**. We, therefore, invite you to contribute a chapter on title **"Drug Discovery: A Biodiversity Perspective"**. We will send you further necessary guidelines of the book.

Yours sincerely

Editor

*Shafiquzzaman Siddiquee*

.....  
(Shafiquzzaman Siddiquee)  
Associate Professor  
Biotechnology Research Institute  
Universiti Malaysia Sabah  
(Cellphone: +60149294481)

Lampiran 12. Surat undangan sebagai peserta konferensi (penyaji poster)



**INTERNATIONAL BIOTECHNOLOGY CONFERENCE  
ON ESTATE CROPS (IBCEC) 2017**

Indonesian Research Institute for Biotechnology and Bioindustry  
Jl. Taman Kencana No.1, Bogor 16128- Indonesia  
Phone: (0251) 8324048, 8327449 Fax: (0251) 8328516 Email: [info@ibcec.net](mailto:info@ibcec.net)



---

---

**LETTER OF INVITATION**

Bogor, October 11<sup>th</sup> 2017

Dear Mr Julkipli

The Indonesian Research Institute for Biotechnology and Bioindustry (IRIBB) will host the **International Biotechnology Conference on Estate Crops (IBCEC) 2017** on October 18<sup>th</sup> – 20<sup>th</sup> 2017. This conference is in conjunction with the World Plantation Conference and Exhibition 2017 (WPLACE-2017).


This is to remind and invite you to attend IBCEC 2017 at the Grand Sahid Jaya Hotel, Jalan Jenderal Sudirman Kav. 86, Tanah Abang, Jakarta.

We also inform you that your abstract has been accepted by Scientific Committee of IBCEC-2017 under Microbe and Bioprocess Category with poster code C-09. For your information, the selected full paper will be published in IOP Proceeding : Environmental and Earth Science. We expect to accept the full-poster paper no later than 1 month after the conference. A peer-review process will be carried out for your paper. If accepted, the publication fee (1 million IDR) will be subjected to authors.

Details of the conference can be found on [www.ibcec.net](http://www.ibcec.net). Please do not hesitate to contact us if you have any further question.


Best regards,  
Organizing Committee

Dr. Asmini Budiani



Pusat Studi  
Biofarmaka Tropika  
LPPM-IPB

## Introduction of bioprospecting opportunities for Indonesian mangrove species



Julkipli<sup>1</sup>, RR Batubara<sup>2</sup>, GE Jogja<sup>1</sup>, I Batubara<sup>2</sup>, KA Audah<sup>1\*</sup>, KN Nunuk<sup>2</sup>, H Sutanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Engineering, Swiss German University, The Prominence Tower, Jalan Jalur Sutera Barat Kav 15, Alam Sutera, Kota Tangerang 15143, Banten, Indonesia, <sup>2</sup>Pusat Studi Biofarmaka IPB (LPPM IPB), Jl. Sempur Kidul No.69, Sempur, Kota Bogor, Jawa Barat 16129, Indonesia

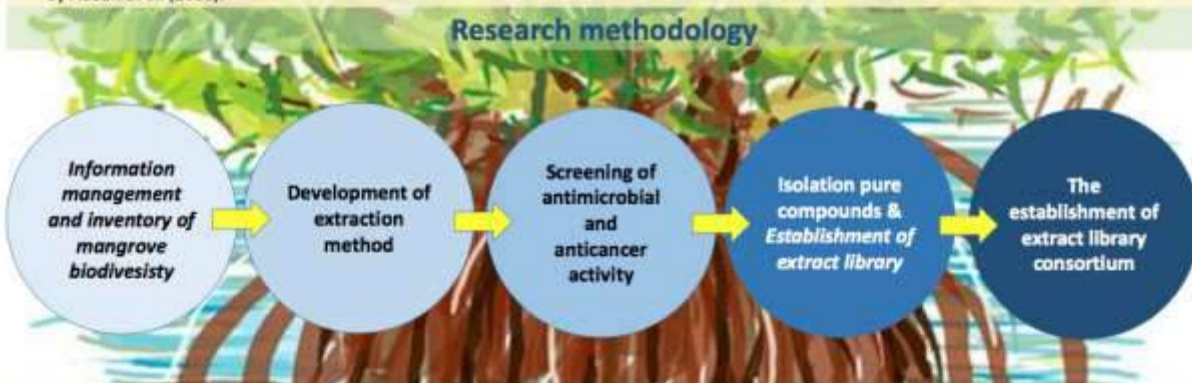
\*E-mail: kholis.audah@sgu.ac.id

**Abstract.** Indonesia is one of the world's most biodiverse countries. This study will be only focused on the Indonesian mangrove forests biodiversity. There are about three million hectares of mangrove forests that grew along the 95,000 kilometers of Indonesian coastline. Mangrove forests have ecology, social, economic and medicinal value that have been used by people who live along coastal area for centuries. Many studies shown that mangrove extracts contain many bioactive compounds that have the medicinal potential for a variety of diseases. However, mangrove plants extracts are yet to be commercially formulated as modern medicines. Although Indonesia is home to one of the largest biodiversity, the interest of pharmaceutical industries in the development of herbal medicine as drugs is not as promising as those from synthetics. One of the causes of this phenomena is the low interest of synthesizing bulks of natural products. In addition, that there has not been adequate facilities which can provide optimization of the herbal materials. The aim of this article is to give a rational approach for design a bioprospecting program as an initiation on the primary screening of novel drugs from Indonesian mangrove species.

**Introduction**

- Indonesian mangrove biodiversity represents approximately 22.6% of the total mangrove ecosystems in the world (Giesen et al., 2006; Giri et al., 2011).
- A number of mangrove's secondary metabolites have significant pharmacological properties that have been used traditionally for treatment of number diseases (Bandaranayake, 2002).
- Mangrove plants have numerous bioactive compounds should be suitable for bioprospecting program.
- The aim of this article is to give a rational approach for design a bioprospecting program as an initiation on the primary screening of novel drugs from Indonesian mangrove species. Also, as a Following up the research of establishment extract library of Indonesian mangrove which is initiated by Audah et al. (2016).

**Research methodology**



```

graph LR
    A((Information management and inventory of mangrove biodiversisty)) --> B((Development of extraction method))
    B --> C((Screening of antimicrobial and anticancer activity))
    C --> D((Isolation pure compounds & Establishment of extract library))
    D --> E((The establishment of extract library consortium))
    
```

**Results and Discussions**

- The extraction was conducted by remaceration with four different solvent (hexane, ethyl acetate, ethanol and water) and yielded 64 extracts.
- most extract are effective against gram positive bacteria and have potential to be anticancer agent. Mangrove plants that used in the research are 8 species out of more than 20 species, so there is more bioactive compound that has not been explored since different species might contain different bioactive compound.
- The crude extracts that are shown significant activity will be further fractionated and isolated to obtain a single compound
- The single compound can be optimized to achieve safety and efficacy according to established medical and standard requirements. Preclinical testing of mammalian objects from mice, rabbits, or even primates will be performed to ensure the desired safety and efficacy.
- Access to genetic resources should be undertaken taking into consideration the equitable sharing of benefits from the resulting product To be able to make genetic resources as the backbone of socioeconomic development, human resource development, science and technology capability, market analysis, sustainable capital, and strategic plan should be developed (Senthilkumar et al., 2012; Juan, 2017).

**Acknowledgments**

The author would like to express the deepest gratitude to thank

- SGU (Swiss German University), ARCS Director and SGU ARCS staff
- lecturers staff of FK UNILA , DKKP staff and all parties who have helped the author's research activities either directly or indirectly

**Conclusions**

- Mangrove plants are potential for bioprospecting program
- Bioprospecting should be based on sustainable use of biodiversity.

**References**

1. Giesen et al. (2006). *Mangrove guide book for Southeast Asia*. FAO and Wetlands International, Thailand: Dharmasara Co., Ltd
2. Giri et al. (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 154–159.
3. Bandaranayake, W.M. (2002). Bioactive Compounds and Chemicals Constituents of Mangrove Plants. *Wetland Ecology and Management* 2002, 10(6), 421-452.
4. Audah K.A. (2016). Development of Extract Library from Indonesian Biodiversity Towards National Independence in Drug Discovery. *Prosiding Seminar Nasional Kimia-Lombok 2016*. No. B002, 11-19
5. Senthilkumar et al., (2012). Bioprospecting the Renewable Forest Resources: An Overview. *Current Biotech*, 5 (4), 522–540.
6. Juan B. 2017. Bioprospecting and Drug Development, Parameters for a Rational Search and Validation of Biodiversity. *J Microb Biochem Technol* 2017, 9:1. DOI: 10.4172/1948-5948.1000e128

Lampiran 14. Daftar hadir kegiatan FGD "Pembentukan Konsorsium Extract Library Indonesia"



FOCUS GROUP DISCUSSION  
ESTABLISHMENT OF INDOONESIAN EXTRACT LIBRARY CONSORTIUM: OPPORTUNITIES AND CHALLENGES  
The Prominence Tower, 27 July 2017

NO	NAME	INSTITUTION	ADDRESS			REMARKS	SIGNATURE
			HOME/OFFICE	EMAIL	HANDPHONE		
1	Dr. Eng Agus Haryono	Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia					
2	Prof. Hanafi Muhammad	LIPI	Puripisih	hanafi@ipb.ac.id	08158199312		
3	Dr. Irmanida Batubara	Institut Pertanian Bogor	Jl. Taman Kencana No. 1 Bogor	irmanida@ipb.ac.id	08121105101		
4	Lany Marliony S.Si., Apt	PT Indofarma	Jl. Indofarma No 1 Cisarung barat	lany.marliony@indofarma.co.id	0811811133		
5	Kholis A. Audah, Ph.D	Swiss German University					
6	Dr. Heru Susanto	LIPI	LIPI CAROT SIKREK	SUSANTO.HERU@MATIC.CO.ID	08571801480		
7	Evi K	FK UNILA	Jl. Prof. Dr. Sumartono No. 1 Bandar Lampung	evikurniawati@gmail.com	081722777		
8	Purpa Dewi W. M. Eng	LIPI	Puripisih	purpa@ipb.ac.id	08128032311		
9	Eti Roharti	Kimia - IPB	Depart IPB Bogor	eti.roharti@ipb.ac.id	08188988977		
10	Mohamad Rafi	Trop BRC - IPB	Jl. Taman Kencana No. 3 Bogor	mra@ipb.ac.id	081318358054		
11	Henny Saraswati	Univ. Esa Unggul	Jl. Arjuna Utara no. 1 Jak Bar	hennysaraswati@esaunggul.ac.id	081281701911		
12	HE						
13	Oran Karmila	SGU					
14	Vera	SGU					
15	Ery Arcs	SGU					
16	Dindy Arcs	SGU					
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							
33							
34							



Lampiran 15. Dokumentasi kegiatan FGD “Pembentukan Konsorsium Extract Library Indonesia“



Lampiran 16. Surat pernyataan tanggung jawab belanja



**SWISS GERMAN UNIVERSITY**

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB BELANJA

Yang bertanda tangan di bawah ini :

1. Nama : Kholis Abdurachim Audah, Ph.D
2. Alamat : Universitas Swiss German, Prominence Tower, Jalan Sutera Barat No. 15, Alam Sutera, Tangerang 15413, Banten

Berdasarkan Surat Keputusan Nomor: 1598/K4/KM/2017 (3) dan Perjanjian / Kontrak Nomor: A/REC/0209/V/2017 (4) mendapatkan Anggaran Penelitian (5) sebesar Rp 324500000 (6) dengan jumlah yang sudah diterima sampai dengan tanggal 30 Oktober 2017 adalah sebesar Rp 227150000

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Biaya Kegiatan penelitian di bawah ini meliputi :

No	Uraian	Jumlah
1.	Honorarium	Rp. 64,500,000
2.	Bahan habis pakai	Rp. 108,351,920
3.	Perjalanan	Rp. 12,084,017
4.	Non-operasional	Rp. 43,515,202
	Jumlah	Rp. 228,451,139

2. Jumlah uang tersebut pada angka 1, benar – benar dikeluarkan untuk pelaksanaan kegiatan penelitian dimaksud.
3. Bersedia menyimpan dengan baik seluruh bukti pengeluaran belanja yang telah dilaksanakan
4. Bersedia untuk dilakukan pemeriksaan terhadap bukti – bukti pengeluaran oleh aparat pengawas fungsional Pemerintah
5. Apabila di kemudian hari, pernyataan yang saya buat ini mengakibatkan kerugian Negara maka saya bersedia dituntut peggantian kerugian negara dimaksud sesuai dengan ketentuan peraturan perundang – undangan.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

ng, 30 Oktober 2017  
  
6000  
RUPIAH

Kholis Abdurachim Audah, Ph.D

**Swiss German University**  
The Prominence Tower  
Jalan Jalur Sutera Barat No.15, Alam Sutera  
Tangerang, Banten 15143 - Indonesia

Tel. +62 21 2977 9596/9597  
Fax. +62 21 2977 9598  
marketing@sgu.ac.id  
www.sgu.ac.id