

PENGARUH JENIS PELARUT DAN METODE EKSTRAKSI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN PENGHAMBATAN RADIKAL BEBAS EKSTRAK KULIT KAYU BANGKAL (*Nauclea subdita*) (*The Effect of Solvents and Extraction Methods on Antibacterial and Free Radical Scavenging Activities from Bangkal (*Nauclea subdita*) Bark Extracts*)

Nazarni Rahmi^{1*}, Rais Salim¹, Miyono¹ & M. Ikhwan Rizki²

¹Balai Riset dan Standardisasi Industri Banjarbaru

Jl. Panglima Batur Barat No. 2 Banjarbaru 70711, Telp. (0511) 4774861, Faks. (0511) 4772115

²Prodi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat

Jl. A.Yani Km. 36, Banjarbaru 70714, Telp. (0511) 4774167, Faks. 0511-4773112

*E-mail: nazarni.rahmi@gmail.com

Diterima 6 Januari 2020, direvisi 10 Desember 2020, disetujui 25 Januari 2021

ABSTRACT

*Bangkal bark is one of the plant materials widely used by local people of South Borneo for medicine and beauty care. The limited research explores the extraction process and biological activity of bangkal bark for this use, especially for acne treatment. This study was conducted to determine the difference of extraction methods and solvent polarity to phytochemical contents, antibacterial and radical scavenging activities of bangkal bark extracts. Bangkal bark was extracted by maceration, percolation and soxhletation methods with various solvents, namely water, 96% ethanol, 70% ethanol and ethyl acetate. Total phenolic content by Folin ciocalteu, total flavonoids with AlCl₃, and total tannins with vanillin were determined. Free radicals scavenging activity was determined with DPPH free radicals and antibacterial with agar diffusion method. Soxhlet method with 96% ethanol solvent showed the highest phenolic content about 81.12±1.66 mg/gr GAE. The highest flavonoid content was found on the percolation method with ethyl acetate about 24.24± 0.057 mg/gr QE. Total tannin content was found on percolation methods with 96% ethanol about 36.92±0.81 mg/gr CE. All of 70% ethanol extract showed high inhibitory strength of DPPH radical above 87% at a 1 mg/ml concentration. Antibacterial activity in the extract showed that all methods and solvents had inhibitory properties against *P. acne* with various inhibitory zones. In contrast, only ethyl acetate and water extracts were able to inhibit *P. acne* and *S. aureus* both.*

Keywords: Antibacterial, bangkal, DPPH, extraction, solvent

ABSTRAK

Kulit kayu bangkal merupakan salah satu bahan alami yang banyak dimanfaatkan oleh penduduk lokal Kalimantan Selatan untuk pengobatan dan perawatan kecantikan. Masih terbatas penelitian yang mengeksplorasi ekstrak kulit kayu bangkal dalam hal penentuan proses ekstraksi yang optimal, pemilihan pelarut, kandungan senyawa kimia serta aktivitas biologis yang dimiliki oleh ekstrak bangkal. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh metode ekstraksi dan jenis pelarut terhadap kandungan senyawa aktif berikut aktivitas antibakteri dan aktivitas penghambatan radikal bebas dari ekstrak kulit kayu bangkal. Kayu bangkal diekstraksi dengan metode maserasi, perkolasi dan soxhletasi dengan berbagai pelarut yaitu akuades, etanol 96, etanol 70% dan etil asetat. Total senyawa fenolik ditentukan dengan metode *Folin ciocalteu*, total flavonoid dengan AlCl₃, dan total tanin dengan vanilin. Pengujian aktivitas penghambatan radikal bebas menggunakan metode DPPH dan antibakteri dengan metode difusi agar. Hasil pengujian menunjukkan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 96% mempunyai kandungan total fenolik yang tertinggi sebesar 81,12±1,66 mg/gr GAE. Total

flavonoid tertinggi terdapat pada metode perkolasi dengan pelarut etil asetat yaitu $24,24 \pm 0,057$ mg/gr QE dan total tanin terbaik pada metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% sebesar $36,92 \pm 81$ mg/gr CE. Ekstrak etanol 70% pada ketiga metode ekstraksi menunjukkan penghambatan radikal DPPH yang sama besar di atas 80%. Aktivitas antibakteri pada ekstrak menunjukkan semua perlakuan metode dan jenis pelarut mempunyai daya hambat terhadap *P. acne* dengan zona hambat yang bervariasi sementara hanya ekstrak etil asetat dan air yang mampu menghambat *P. acne* dan *S. aureus* sekaligus. Metode ekstraksi dan polaritas pelarut memegang peran penting dalam menentukan metode yang efisien dalam mengekstraksi fitokimia dan aktivitas biologis pada bangkal.

Kata kunci: Antibakteri, bangkal, DPPH, ekstraksi, pelarut

I. PENDAHULUAN

Kayu bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) Steud.) adalah salah satu dari 35 spesies tanaman dari genus *Nauclea* (Famili Rubiaceae) yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. *Nauclea* termasuk tanaman hijau sepanjang tahun yang tumbuh menyebar sepanjang hutan tropis yang lembap sampai savannah. *Nauclea* banyak tumbuh di daerah Asia seperti Thailand, Malaysia, bahkan sampai Afrika (Liu et al., 2011; Sichaem & Worawalai, 2012). Di Kalimantan Selatan, tanaman ini banyak tumbuh secara alami di tepian sawah dan bagian pinggir sungai yang berfungsi sebagai penahan erosi. Sampai saat ini pohon bangkal tumbuh dan berkembang secara alami dan belum dibudidayakan secara optimal, sehingga potensi lahannya belum dapat diketahui secara pasti. Meskipun demikian Orwa et al. (2009) menyebutkan bahwa tanaman jenis *Nauclea* tumbuh tersebar hampir di seluruh kepulauan Indonesia, meliputi pulau Kalimantan, Papua, Sumatera, dan Sulawesi.

Jenis *Nauclea* banyak digunakan dalam terapi berbagai penyakit oleh penduduk lokal. Ekstrak dari kulit batang, daun, dan biji dari tanaman ini digunakan untuk mengobati batuk, demam, sakit perut, dan diare (Abbah et al., 2010; Traore et al., 2000). Kandungan senyawa aktif dan aktivitas farmakologi yang telah diteliti meliputi antimikrobia (El-Mahmood, Doughari, & Chanji, 2008), genotoksis, dan klastogenik (Liu et al., 2011). Hasil investigasi fitokimia menemukan komponen aktif seperti monoterpen (Kakuguchi et al., 2009), glikosida indol alkaloid (Liu et al., 2011) dan saponin (Traore et al., 2000). Selain itu kayu bangkal juga mengandung senyawa tanin dan glikosida yang bersifat antimikrobia (El-Mahmood, Doughari, & Chanji, 2008).

Bagi penduduk lokal Kalimantan Selatan seperti suku Banjar dan Dayak, kulit kayu bangkal dimanfaatkan secara tradisional sebagai bahan bedak dingin. Tujuannya untuk melindungi kulit wajah dari radiasi ultra violet, menghaluskan permukaan kulit, memberi kesan putih kekuningan, menghilangkan flek-flek hitam, mencegah jerawat, dan membersihkan sel-sel mati pada kulit wajah (Soendjoto & Riefani, 2013). Hasil penelitian Rahmawanty et al. (2015) menyebutkan fraksi etil asetat dari kulit kayu bangkal mempunyai kemampuan sebagai tabir surya alami dengan nilai proteksi yang tinggi yaitu sebesar 18,21 dan 24 (proteksi ultra). Sementara itu, Charissa, Djajadisastra, dan Elya (2017) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa antioksidan dari gel ekstrak kulit batang *Nauclea subdita* tergolong kuat dengan IC_{50} sebesar 48,78 $\mu\text{g/ml}$ serta mampu menghambat enzim tironase pembentuk melanin/ penggelapan kulit wajah pada dosis IC_{50} sebesar 568,58 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu bangkal efektif dalam pencegahan penuaan atau *antiaging*.

Penggunaan kulit kayu bangkal sebagai bedak dingin untuk antijerawat juga telah lama dimanfaatkan oleh penduduk lokal. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang menyebutkan bahwa ekstrak kulit batang dan ekstrak akar dari tanaman *Nauclea* efektif sebagai antiplasmodial (Benoit-Vical et al., 1998), antimikrobia (Deeni & Hussain, 1991), anti-inflammasi (Otimenyin, 2006), dan antipiretik (Ngo Bum et al., 2009). Lebih lanjut disebutkan ekstrak daun, kulit batang, dan akar *Nauclea* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumonia*, dan *S. dysenteriae* (El-Mahmood, Doughari & Chanji, 2008). Ekstrak *Nauclea* mempunyai potensi penghambatan pada bakteri

gram positif dan gram negatif. Sampai saat ini masih terbatas penelitian yang mengeksplorasi ekstrak kayu bangkal sebagai bahan baku farmasi dan kosmetika terutama untuk fungsi *antiaging* (pencegah radikal) dan antijerawat. Metode ekstraksi dan jenis pelarut yang tepat dapat berpengaruh terhadap kedua aktivitas tersebut. Teknologi ekstraksi yang tepat dapat menghasilkan ekstrak yang berkualitas dan terstandar (Handa et al., 2008).

Banyak teknik yang dapat digunakan untuk memperoleh senyawa aktif pada tanaman seperti ekstraksi dengan sokhlet, perkolasi, maserasi, ekstraksi ultrasound, dan *Supercritical Fluid Extraction* (Handa et al., 2008). Namun, rendemen dan aktivitas senyawa aktif seperti antioksidan dan antibakteri tidak hanya tergantung pada metode ekstraksi melainkan juga pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Pelarut yang berbeda akan mempengaruhi aktivitas biologis ekstrak tanaman (Kamarudin, Markom, & Latip, 2016). Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan, terhadap aktivitas antiradikal dan antibakteri terutama bakteri penyebab gangguan kulit dan jerawat dari ekstrak kulit kayu bangkal.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan adalah bagian kulit dari kayu bangkal (*Nauclea subdita*) yang diperoleh dari daerah Banjarbaru, Kalimantan Selatan dan telah dideterminasi di Pusat Konservasi Tanaman, LIPI, Bogor. Pelarut organik yang digunakan terdiri dari etanol 96% (teknis), etanol p.a (Merck), etanol 70%, etil asetat teknis, metanol p.a (Merck), dan akuades. Bahan kimia berupa 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), reagen Folin Ciocalteu, kuersetin, katekin, dan asam galat yang diperoleh dari (Sigma), pereaksi Vanilin, Na_2CO_3 2%, NaNO_3 5%, NaOH 10%, dan AlCl_3 10%. Media dan kultur antara lain *Buffered pepton water* (Merck), *nutrient broth* (Oxoid), *agar bacteriological* (Oxoid), *Baird Parker agar* (Oxoid), *tellurite* (Oxoid), *kloramfenikol* (Oxoid), kultur bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 6919, dan kultur bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat ekstraksi skala laboratorium meliputi unit maserasi, unit sokhletasi, dan unit perkolasi, *water bath*, *rotary evaporator* (Buchi), oven (Memmert), inkubator (Memmert ICP-500), *Autoclave* (TOMY SX-500), spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV 1800), *crusher machine*, blender (Philip), timbangan digital (CHQ DJ 1002B, saringan (30 mesh), *blank disc* (oxoid), mikro-pipet (*Eppendorf*), pH meter, dan alat-alat gelas. Penelitian dilakukan di laboratorium aneka komoditi dan laboratorium mikrobiologi Baristand Industri Banjarbaru, Kalimantan Selatan, sedangkan pengujian total fenolik dilakukan di Prodi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

B. Metode Penelitian

1. Ekstraksi

Kulit kayu bangkal dihilangkan bagian kulit terluar, dicuci bersih dan dikeringanginkan sampai kadar air ($\pm 12\%$) kemudian dihaluskan. Sebanyak 20 gr bubuk kayu bangkal diekstrak secara terpisah dengan pelarut air, etil asetat, etanol 70%, dan etanol 96% @ 200 ml (1:10). Metode ekstraksi menggunakan maserasi (suhu $\pm 30^\circ\text{C}$), sokhletasi (suhu 80–100°C) dan perkolasi (suhu $\pm 30^\circ\text{C}$). Masing-masing ekstrak yang diperoleh disaring dan dievaporasi dengan *rotary evaporator* (suhu 60–65°C).

2. Penentuan total fenolik

Masing-masing ekstrak ditentukan kadar senyawa fenolik menggunakan pereaksi *Folin-ciocalteu* sesuai prosedur (Singleton & Rossi, 1965) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak diambil sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan 2,50 ml reagen *Folin-ciocalteu* konsentrasi 5%. Setelah 8 menit ditambahkan 2 ml NaOH 1% dan divortex, kemudian diinkubasi selama 22 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV 1800) pada panjang gelombang 745 nm. Hasil absorbansi dimasukkan dalam persamaan kurva standar $Y = 0,01087X + 0,0432$ yang telah dibuat menggunakan larutan asam galat konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Nilai X yang didapat selanjutnya dimasukkan dalam rumus:

$$\text{Kadar total senyawa} = \frac{X \times Fp \times Vol}{\text{Berat sampel (g)}} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan (*Remarks*):

X = Kadar senyawa dalam mg/ml (fenolik/flavonoid/tanin)

Fp = Faktor pengenceran

Vol = Volume sampel uji pada konsentrasi tertentu yang diambil untuk diuji (ml)

Berat sampel adalah berat ekstrak yang digunakan untuk membuat sampel uji pada konsentrasi tertentu(g). Hasil akhir ditunjukkan dalam mg/g ekuivalen senyawa standar (asam galat/kuersetin/katekin).

3. Penentuan total flavonoid

Total flavonoid ditentukan menggunakan *aluminium chloride* (AlCl₃) sesuai dengan metode Ordonez et al. (2006) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,1 ml ekstrak ditambahkan 0,3 ml aquades dan 0,03 ml NaNO₃5%. Setelah lima menit ditambahkan 0,03 ml AlCl₃ 10%, kemudian diinkubasi selama 5 menit dan ditambahkan kembali 0,2 ml NaOH 10%, selanjutnya ditambahkan akuades sampai total volume menjadi 1 ml. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV 1800) pada panjang gelombang 510 nm. Hasil absorbansi dimasukkan dalam persamaan kurva standar $Y = 0,6187X - 0,007$ yang telah dibuat menggunakan larutan kuersetin konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 mg/ml. Nilai X yang diperoleh dimasukkan ke rumus (1). Hasil akhir ditunjukkan dalam mg/g kuersetin.

4. Penentuan total tanin

Total tanin ditentukan sesuai prosedur Rebaya et al. (2015) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak diambil 0,5 ml, ditambahkan dengan 3 ml larutan vanilin 1% dan divortex. Sebanyak 1,5 ml HCl pekat ditambahkan ke dalam larutan, divortex, dan didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar. Pembacaan absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 498 nm. Hasil absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan $Y = 0,00313X + 0,15956$ yang telah dibuat menggunakan larutan katekin konsentrasi 60, 80, 140, 180, dan 200 ppm. Nilai X yang diperoleh dimasukkan ke rumus (1). Hasil akhir ditunjukkan dalam mg/g katekin.

5. Penentuan aktivitas penghambatan radikal DPPH

Penentuan aktivitas penghambatan radikal bebas dengan metode DPPH dilakukan sesuai prosedur dari Sreeramulu dan Raghunath (2010) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 100 µl ekstrak sampel uji ditambah 2,9 ml reagen DPPH (0,1 mM dalam metanol) dan divortex merata. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar dalam ruang gelap selama 30 menit. Perubahan warna DPPH diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persentase hambatan dari ekstrak dihitung dengan persamaan (2) berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko DPPH} - \text{Absorbansi sampel uji}}{\text{Absorbansi blanko DPPH}} \times 100\% \dots\dots(2)$$

6. Penentuan aktivitas antibakteri

Bakteri uji *P. acne* dan *S. aureus* diremajakan di media *blood agar*, kemudian ditumbuhkan satu malam dalam media *nutrient broth* pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode difusi sumuran (Valgas et al., 2007; Balouiri, Sadiki & Ibsouda, 2016). *Nutrient agar* steril disiapkan (suhu dipertahankan 45°C dalam *waterbath*) dan diinokulasi dengan masing-masing bakteri uji (1 x 10⁵ Cfu/ml) dan dibiarkan memadat. Media kemudian dipotong dengan *borer* berdiameter 6 mm dan diisi dengan masing-masing ekstrak dan kontrol. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif sementara pelarut masing-masing ekstrak digunakan sebagai kontrol negatif. Terbentuknya zona jernih di sekitar sumuran menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri uji.

7. Analisa data

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan metode ekstraksi (tiga taraf yaitu maserasi, perkolasi, sokhletasi) dan jenis pelarut (empat taraf yaitu air, etil asetat, etanol 70%, dan etanol 96%). Data kuantitatif yang diperoleh dari tiga kali ulangan dinyatakan dalam rata-rata ± standar deviasi. Data diuji statistik dengan analisis keragaman (ANOVA) dua arah, namun karena hasil uji data tidak terdistribusi normal maka data dianalisa dengan statistik non-parametrik uji Friedman menggunakan Software SPSS statistik 22.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Komponen bioaktif pada tanaman umumnya terdapat dalam jumlah yang relatif kecil. Teknik ekstraksi adalah teknik yang mampu memperoleh ekstrak dengan hasil/rendemen yang tinggi tanpa mengubah sebagian besar sifat fungsional ekstrak tersebut (Dhanani et al., 2017). Beberapa penelitian melaporkan adanya variasi aktivitas biologis ekstrak yang dibuat menggunakan teknik ekstraksi yang berbeda, oleh karena itu perlu dipilih metode ekstraksi dan pelarut yang sesuai berdasarkan matriks sampel, sifat kimia analit, interaksi keduanya, terutama efisiensi, dan sifat yang diinginkan (Hayouni et.al., 2007 & Ishida et al., 2001 dalam Dhanani et al., 2017). Pada penelitian ini dilakukan variasi metode ekstrak dan jenis pelarut yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak bangkal dengan aktivitas biologi yang baik. Rendemen ekstrak bangkal hasil ekstraksi dengan tiga metode ekstrak dan empat jenis pelarut disajikan dalam Tabel 1.

Rendemen ekstrak yang diperoleh berkisar antara 0,37–10,22%. Rendemen terkecil terdapat pada metode perkolasi dengan pelarut etil setat, sedangkan tertinggi pada metode sokhletasi menggunakan pelarut air. Diduga hal ini terjadi karena tingginya derajat polaritas air dan suhu ekstraksi. Air memiliki konstanta dielektrik yang serupa dengan pelarut organik seperti metanol dan asetonitril (Dhanani et al., 2017), sehingga mampu melarutkan senyawa dengan tingkat polaritas yang cenderung sama. Dengan kata lain kulit kayu bangkal mengandung lebih banyak ekstrak polar yang larut air, seperti gula, zat warna, gum, tanin, dan pati (Pari, 1996), serta beberapa protein dan garam-garam mineral (Fengel & Wegener,

1989 dalam Lukmandaru, Susanti, & Widyorini, 2018) Selain itu, penggunaan suhu tinggi pada metode sokhletasi diduga memberikan dampak pada kinetika panas dan efek tekanan pada struktur membran dinding sel. Pemanasan akan menghasilkan laju difusi atau partisi yang lebih tinggi serta cepat dari zat terlarut pada matriks padat ke pelarut seperti halnya halnya ekstraksi menggunakan *microwave solvent extraction* (Terigar et al., 2011). Menurut Lukmandaru, Susanti, dan Widyorini (2018), kadar ekstrak larut air panas cenderung meningkat jumlahnya seiring dengan meningkatnya suhu. Secara umum pelarut etil asetat memberikan rendemen yang paling kecil pada semua metode ekstraksi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Isa et al. (2017) yang menyebutkan ekstrak etil asetat dari daun *Nauclea* mempunyai rendemen paling kecil dibanding pelarut metanol dan n-heksan.

A. Total Fenolik Ekstrak Bangkal

Kandungan total fenolik ekstrak kulit bangkal berkisar antara $2,64 \pm 0,07$ – $81,12 \pm 1,66$ mg/g GAE. Kandungan terendah terdapat pada ekstrak yang dimaserasi menggunakan etanol 70% dan tertinggi pada ekstrak yang disokhletasi dengan pelarut etanol 96% (Tabel 2). Hasil uji Friedman (Chi-square tabel 5,991 < Chi-square hitung 58,800 dan Nilai Asymp Sig 0,00 < 0,05) menunjukkan bahwa metode ekstraksi berpengaruh terhadap kandungan fenolik dari ekstrak bangkal. Metode sokhlet memberikan hasil yang lebih baik dibanding maserasi dan perkolasi. Hal ini diduga karena proses pemanasan pada metode sokhlet memudahkan pelarut masuk ke dalam pori-pori sel dan melarutkan senyawa ekstrak lebih banyak

Tabel 1. Rendemen ekstrak
Table 1. Extract yield

| Metode ekstraksi (<i>Extraction methods</i>) | Rendemen (<i>Yield, %</i>) | | | |
|---|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|
| | Akuades (<i>Aquades</i>) | Etanol 96% (<i>96% Ethanol</i>) | Etanol 70% (<i>70% Ethanol</i>) | Etil asetat (<i>Ethyl acetate</i>) |
| Maserasi (<i>Maceration</i>) | 4,47 | 4,20 | 4,90 | 0,46 |
| Perkolasi (<i>Percolation</i>) | 5,50 | 3,13 | 5,23 | 0,37 |
| Sokhletasi (<i>Sokhlet</i>) | 10,22 | 1,30 | 5,90 | 0,50 |

dibanding perkolasi dan maserasi yang bersifat difusi pasif. Handa et al. (2008) menyebutkan metode sokhlet dapat mengekstraksi lebih banyak senyawa aktif dengan pemakaian pelarut yang lebih sedikit dibandingkan dengan maserasi dan perkolasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Murugan dan Parimelazhagan (2014) yang menyebutkan metode sokhlet lebih efektif dalam mengekstraksi komponen fenolik pada tanaman *O. parvifolia* dibandingkan metode maserasi dan fraksinasi.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif/produk bahan alam dari tanaman ataupun jaringan hewan yang diinginkan menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standar (Handa et al., 2008; Zhang, Lin & Ye, 2018). Pemilihan pelarut yang efektif dan efisien merupakan salah satu sasaran akhir ekstraksi bahan alam. Pada penelitian ini, total fenolik tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol diikuti oleh ekstrak etil asetat pada proses sokhlet. Hasil pengujian Friedman (Chi-square tabel $5,991 < \text{Chi-square hitung } 58,800$ dan Nilai Asymp Sig $0,00 < 0,05$) menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh terhadap kandungan total fenolik. Ekstrak dengan pelarut etanol mempunyai kandungan fenolik yang lebih tinggi dibanding pelarut lainnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Do et al. (2014) dan Rebaya et al. (2015) yang menyatakan bahwa pelarut etanol memberikan kandungan fenolik yang lebih tinggi dibandingkan pelarut air dan etil asetat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% lebih efisien dalam mengekstrak komponen polifenol dibanding pelarut etil asetat maupun air (Tabel 2). Komponen fenolik umumnya lebih mudah larut dalam pelarut organik yang bersifat polar sesuai prinsip "*like dissolve like*" (Shimizu, 1998). Tingginya kelarutan fenolik dalam pelarut etanol menyebabkan tingginya konsentrasi senyawa ini dalam ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut etanol untuk ekstraksi (Zhou & Yu, 2004; Mohsen & Ammar, 2009). Pelarut alkohol juga mampu merusak struktur kompartemen sel dan secara efisien menembus membran sel, sehingga memungkinkan ekstraksi komponen endoseluler dalam jumlah tinggi (Gloria, Lee, & Kinghorn, 1998). Hal ini memberikan kesimpulan bahwa ekstrak bangkal

mengandung banyak senyawa golongan fenolat dengan berat molekul reaktif yang rendah dan mudah larut dalam etanol.

B. Total Flavonoid Ekstrak Bangkal

Total flavonoid pada ekstrak kulit kayu bangkal berkisar antara $48,68 \pm 0,45 - 242,36 \pm 0,57$ mg/g QE, dengan kandungan tertinggi pada ekstrak perkolasi etil asetat. Kandungan terendah ada pada ekstrak maserasi menggunakan pelarut akuades (Tabel 2). Hasil analisis Friedman (Chi-square tabel $5,991 < \text{Chi-square hitung } 58,800$ dan Nilai Asymp Sig $0,00 < 0,05$) menunjukkan metode ekstraksi dan jenis pelarut berpengaruh terhadap kandungan flavonoid dalam ekstrak. Pada penelitian ini, metode perkolasi memberikan hasil ekstraksi terbaik dengan kandungan flavonoid yang lebih besar dibanding maserasi dan sokhletasi terutama yang menggunakan pelarut etanol 96% dan etil asetat. Hasil penelitian ini sejalan dengan Zhang et al. (2018) yang menyebutkan kandungan fukosantin pada *Undaria pinnatifida* lebih tinggi diperoleh dengan metode perkolasi dibanding dengan metode sokhletasi. Perkolasi merupakan salah satu prosedur yang paling sering digunakan dalam mengekstrak bahan aktif untuk preparasi ekstrak bahan alam dan lebih efisien daripada maserasi, karena perkolasi merupakan proses berkelanjutan dengan pelarut jenuh yang terus menerus digantikan oleh pelarut baru (Handa et al., 2008; Zhang, Lin, & Ye, 2018).

Pada penelitian ini, pelarut etil asetat mampu mengekstraksi senyawa flavonoid lebih baik dibanding pelarut air dan etanol yang sifatnya polar. Hal ini menunjukkan bahwa komponen flavonoid pada kulit kayu bangkal lebih mudah larut dalam pelarut organik etil asetat dibandingkan dengan pelarut lainnya. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar pada tumbuhan dan umumnya terdapat dalam bentuk glikosida, yaitu gugusan gula yang bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil (Markham, 1988; Sirait, 2007). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan melalui cincin piran heterosiklik (Kumar & Pandey, 2013). Pengaruh glikosilasi menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air atau bersifat polar, namun glikosida

Tabel 2. Total fenolik, flavonoid dan tanin ekstrak bangkal
Table 2. Total phenolic, flavonoid, and tannin content of bangkal extract

| Metode (Methods) | Pelarut (Solvent) | Kadar Fenolik* (Phenolic content, mg/g) GAE | Kadar Flavonoid* (Flavonoid content, mg/g) QE | Kadar Tanin* (Tannin content, mg/g) CE |
|----------------------------|--------------------------------|--|--|---|
| Maserasi (Maceration) | Akuades (Aquadest) | 13,07±0,29 | 4,86 ± 0,045 | 3,74 ± 1,62 |
| | Etanol 70% (Ethanol, 70%) | 2,64±0,07 | 5,06 ± 0,14 | 16,59 ± 0,47 |
| | Etanol 96% (Ethanol, 96%) | 26,06±0,93 | 6,78± 0,26 | 26,45 ± 0,13 |
| | Etil Asetat (Ethyl acetate) | 11,41±0,24 | 18,71 ± 0,02 | 12,46 ± 0,70 |
| Sokhlet (Sokhlet) | Akuades (Aquadest) | 11,78±0,23 | 5,81± 0,09 | 5,65 ± 0,57 |
| | Etanol 70% (Ethanol, 70%) | 18,14±1,07 | 6,53 ± 0,05 | 7,18 ± 0,35 |
| | Etanol 96% (Ethanol, 96%) | 81,12±1,66 | 12,05± 0,59 | 35,70± 0,35 |
| | Etil Asetat (Ethyl acetate) | 62,01±0,92 | 18,85 ± 0,06 | 16,59± 0,17 |
| Perkolasi (Percolation) | Akuades (Aquadest) | 13,47±0,04 | 5,29 ± 0,22 | 3,82± 0,73 |
| | Etanol 70% (Ethanol, 70%) | 15,12±0,20 | 5,78 ± 0,68 | 12,99 ± 0,95 |
| | Etanol 96% (Ethanol, 96%) | 20,37±6,17 | 13,59 ± 0,06 | 36,92± 5,81 |
| | Etil Asetat (Ethyl acetate) | 31,33±0,62 | 24,24± 0,057 | 14,06 ± 0,80 |

Keterangan (Remarks): * Uji Friedman menunjukkan terdapat pengaruh perlakuan metode ekstraksi dan jenis pelarut terhadap kadar fenolik, kadar flavonoid, dan kadar tannin (Nilai Asymp Sig 0,00 < 0,05). (Friedman test showed that was an influence of the methods and solvent type to the phenolic, flavonoid and tannin contents (Asymp sig. value is 0.00 < 0.05).

pada tumbuhan cenderung mudah teroksidasi, berubah menjadi aglikon yang bersifat kurang polar. Selain itu, juga terdapat jenis aglikon kurang polar lainnya seperti flavanon, flavon, dan flavonol (Markham, 1988). Menurut Haudecoeur et al. (2018) jenis flavonoid yang terdapat pada *Nauclea* adalah scopoletin yang merupakan senyawa kumarin fenolik. Selanjutnya Riyanto dan Rohman (2014), Sukmawati, Harlia, dan Rudiyansyah (2017) menyebutkan bahwa scopoletin dapat diisolasi menggunakan pelarut yang bersifat kurang polar yaitu etil asetat dan kloroform.

C. Total Tanin Ekstrak Bangkal

Kandungan tanin pada ekstrak kulit kayu bangkal berkisar antara 3,74+1,62-36,92+5,81 mg/g CE. Kandungan tertinggi ada pada ekstrak perkolasi menggunakan etanol 96%

(Tabel 2). Hasil pengujian Friedman (Chi-square tabel 5,991 < Chi-square hitung 55,393 dan Nilai Asymp Sig 0,00 < 0,05) menunjukkan bahwa metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap kadar tanin yang diperoleh. Pada penelitian ini, metode perkolasi mampu mengekstrak tanin lebih baik dibanding metode maserasi dan sokhletasi. Menurut de Hoyos-Martínez, Merle, Labidi, dan Charrier – El Bouhtoury, (2019) sokhletasi merupakan metode ekstraksi tanin yang paling umum digunakan dalam riset/eksperimen, namun untuk skala industri metode perkolasi yang banyak digunakan dalam mengekstrak kulit kayu.

Pelarut etanol 96% merupakan pelarut yang paling efektif dalam penelitian ini karena mampu mengekstraksi tanin paling tinggi dibanding pelarut etil asetat dan air. Hal ini mengindikasikan bahwa jenis tanin yang terkandung dalam kulit

bangkal adalah jenis tanin yang bersifat hidrofilik dan mudah larut dalam pelarut alkohol polar. Hal ini sejalan dengan pendapat Altemimi et al. (2017) yang menyatakan bahwa pelarut dengan polaritas yang mirip dengan zat terlarut akan mudah digunakan untuk melarutkan zat pelarut yang menjadi target. Markom et al. (2007) menyebutkan polaritas pelarut berperan penting dalam mengekstraksi komponen tanin dalam ekstrak *P. niruri*. Lebih lanjut disebutkan bahwa tanin terhidrolisa dalam *P. niruri* lebih efektif diperoleh dengan pelarut etanol. Dengan demikian, ekstraksi perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% dalam penelitian ini merupakan ekstraksi yang paling baik dalam mengekstrak komponen senyawa aktif tanin pada kayu bangkal.

D. Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas Ekstrak Kayu Bangkal

Pengujian aktivitas penghambatan radikal bebas dalam penelitian ini menggunakan DPPH

sebagai senyawa radikal bebas model. Pengujian dilakukan pada konsentrasi ekstrak 1 mg/ml dan hasil pengujian aktivitas penghambatan disajikan pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 terlihat aktivitas penghambatan radikal bebas yang terbesar ada pada ekstrak etanol 70% cara sokhlet ($87,91 \pm 0,15$ %) dan terendah pada ekstrak etil asetat cara maserasi ($33,65 \pm 5,44$ %). Secara umum ekstrak etanol 70% mempunyai aktivitas penghambatan yang paling besar pada semua metode ekstraksi termasuk maserasi dan perkolasi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antiradikal pada bangkal dapat diperoleh dengan efektif menggunakan pelarut etanol 70%. Sejalan dengan penelitian Dhanani et al. (2017) yang menyebutkan bahwa pelarut etanol-air mempunyai kemampuan menghambat radikal DPPH lebih baik dibanding dengan etanol 96%. Hal yang menarik adalah ternyata tingginya aktivitas penangkapan radikal pada ekstrak etanol 70% ini tidak dipengaruhi oleh kandungan total fenolik, flavonoid, dan

Tabel 3. Aktivitas penghambatan radikal DPPH ekstrak bangkal
Table 3. DPPH radical scavenging activity of bangkal extract

| Metode (Methods) | Pelarut (Solvent) | Persentase penghambatan radikal DPPH (percentage of DPPH Radical scavenging, %) |
|----------------------------|--------------------------------|--|
| Maserasi (Maceration) | Akuades (Aquadest) | $78,71 \pm 1,13$ |
| | Etanol 70% (Ethanol, 70%) | $87,76 \pm 0,06$ |
| | Etanol 96 % (Ethanol, 96%) | $62,68 \pm 3,15$ |
| | Etil Asetat (Ethyl acetat) | $33,65 \pm ,44$ |
| Sokhlet (Soxhlet) | Akuades (Aquadest) | $80,64 \pm 0,05$ |
| | Etanol 70% (Ethanol, 70%) | $87,91 \pm 0,15$ |
| | Etanol 96 % (Ethanol, 96%) | $86,16 \pm 0,01$ |
| | Etil Asetat (Ethyl acetat) | $55,33 \pm 3,24$ |
| Perkolasi (Percolation) | Akuades (Aquadest) | $79,36 \pm 0,48$ |
| | Etanol 70% (Ethanol, 70%) | $87,68 \pm 0,05$ |
| | Etanol 96 % (Ethanol, 96%) | $82,97 \pm 0,85$ |
| | Etil Asetat (Ethyl acetate) | $85,84 \pm 0,41$ |

Tabel 4. Aktivitas antibakteri ekstrak
Table 4. Antibacterial activity of extract

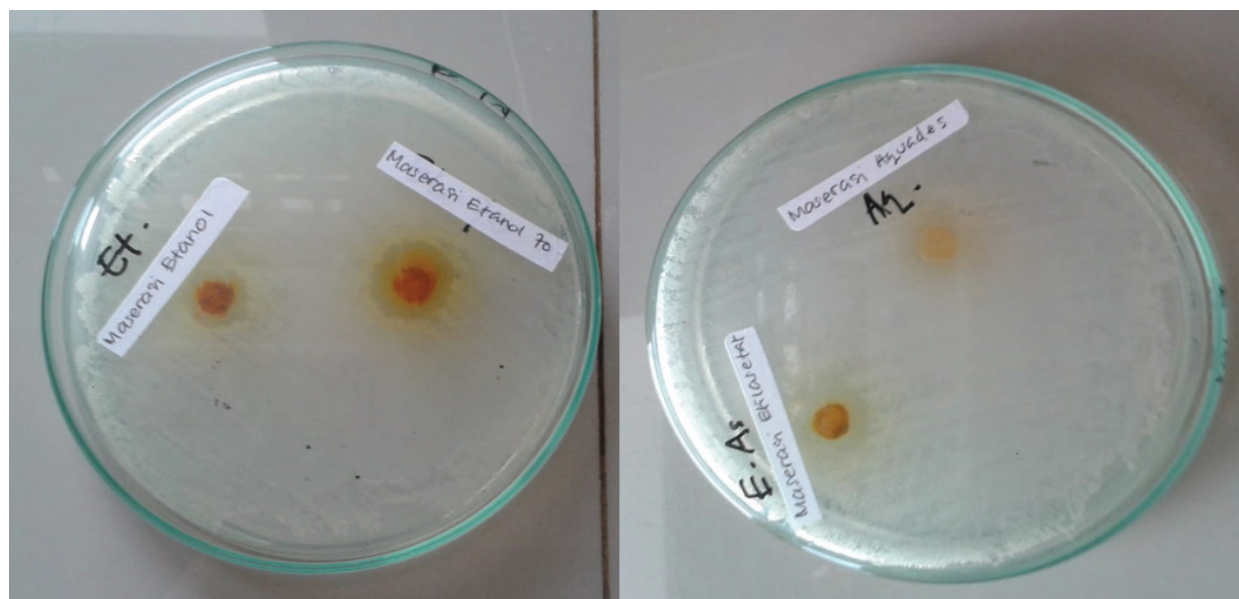
| Pelarut (Solvent) | Metode ekstraksi (Extraction methods) | Daya hambat ekstrak (mm) (Inhibition zone of extract/ mm) | | | |
|--------------------------------|--|--|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | | <i>S. aureus</i> | <i>P. acne</i> | Kontrol (+) (Positive control) | Kontrol (-) (Negative control) |
| Akuades (Aquadest) | Maserasi (Maceration) | - | 7,5 | 22 * | - |
| | Perkolasi (Percolation) | 7 | 9,0 | 27 ** | - |
| | Sokhlet (Soxhlet) | - | 15,0 | | - |
| Etanol 96% (Ethanol, 96%) | Maserasi (Maceration) | - | 15,5 | | - |
| | Perkolasi (Percolation) | - | 13,0 | | - |
| | Sokhlet (Soxhlet) | - | 14,0 | | - |
| Etanol 70% (Ethanol, , 70%) | Maserasi (Maceration) | - | 11,5 | | - |
| | Perkolasi (Percolation) | - | 10,0 | | - |
| | Sokhlet (Soxhlet) | - | 11,0 | | - |
| Etil asetat (Ethyl acetate) | Maserasi (Maceration) | - | 17,0 | | - |
| | Perkolasi (Percolation) | - | 10,0 | | - |
| | Sokhlet (Soxhlet) | 10 | 11,5 | | - |

Keterangan (Remarks): * kloramfenikol terhadap *P. acne* (*Chloramphenicol to P. acne*); ** kloramfenikol terhadap *S. aureus* (*Chloramphenicol to S. aureus*)

tanin pada ekstrak yang diperoleh dengan pelarut yang sama. Diduga aktivitas penghambatan radikal ini tidak sepenuhnya dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenolik, namun senyawa lain yang mempunyai kelarutan antara etanol dan air. Kandungan senyawa aktif *Nauclea* selain fenolik, tanin, dan flavonoid adalah monoterpen, glikosida indol alkaloid, dan saponin (Kakuguchi et al., 2009; Liu et al., 2011; Traore et al., 2000). Menurut Widyawati et al. (2014) senyawa fitokimia seperti saponin, fenol hidrokuinon, alkaloid, dan glikosida jantung/glikosida kardioaktif pada ekstrak *Pluchea* terbukti mempunyai aktivitas antioksidan. Lebih lanjut disebutkan bahwa air dapat melarutkan senyawa alkaloid dan glikosida, selain itu etanol juga cukup efektif untuk mengekstraksi sterol, flavonoid, fenolik, dan alkaloid.

E. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Bangkal

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap dua bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acne* yang merupakan bakteri penyebab gangguan kulit dan jerawat untuk membuktikan kemampuan penghambatan ekstrak bangkal. Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan terhadap *P. acne* berkisar antara 7,7–17 mm (Tabel 3). Penghambatan tertinggi dimiliki oleh ekstrak etil asetat yang diekstraksi dengan metode maserasi, sedangkan yang terendah dimiliki oleh ekstrak akuades yang diekstraksi dengan metode maserasi. Hal ini menunjukkan bahwa komponen senyawa yang bersifat semipolar pada kulit bangkal mempunyai aktivitas antibakteri



Gambar 1. Pengujian aktivitas antibakteri

Figure 1. Antibacterial activity assessment

terhadap *P. acne*. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Aisiah et al. (2018) yang menyebutkan ekstrak etil asetat pada daun *Nauclea subdita* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *A. hydrophila* yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol dan n-heksan. Lebih lanjut, Jamaluddin et al. (2012) menyebutkan bagian batang *N. subdita* yang muda dan tua mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, flavanoid, fenolik, dan fitosterol.

Senyawa alkaloid seperti golongan *quarternary* alkaloid dapat larut dalam pelarut semi polar dan non polar tergantung dari strukturnya (Prasetyo, Arfianto & Hudaya, 2015). Menurut Deeni dan Hussain (1991) senyawa alkaloid pada *Nauclea* mempunyai sifat antimikroba yang mampu menghambat bakteri dan jamur. Selain itu, senyawa flavonoid juga diduga berperan dalam aktivitas antibakteri ini. Seperti diketahui, sebagian besar senyawa flavonoid dan fenolik juga dapat larut dalam pelarut semipolar tergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksilnya (Verdiana, Widarta, & Permana, 2018). Sebelumnya pada Tabel 2 disebutkan bahwa total flavonoid pada pelarut etil asetat mempunyai kandungan yang lebih tinggi daripada pelarut lainnya, sehingga diduga komponen ini berperan besar dalam aktivitas biologis seperti antibakteri. Flavonoid mempunyai beberapa mekanisme antibakteri, antara lain membentuk kompleks dengan protein

secara non spesifik seperti ikatan hidrogen, efek hidrofobik serta membentuk ikatan kovalen, yang dapat me-non-aktifkan adhesin bakteri, enzim, protein transport dan lainnya, bahkan mengganggu membran bakteri (Kumar & Pandey, 2013).

Pada penelitian ini *S. aureus* cenderung resisten terhadap ekstrak bangkal. Hanya ekstrak akuades cara perkolasi dan etil asetat cara sokhletasi yang menunjukkan zona hambat terhadap *S. aureus*. Sejalan dengan hal tersebut Okwori et al. (2008), dan Sunday et al. (2015) menyebutkan bahwa ekstrak air dan alkohol dari *Nauclea* mempunyai aktivitas penghambatan yang relatif besar terhadap *S. aureus*. Namun bila dibandingkan dengan kontrol positif (kloramfenikol) aktivitas antibakteri dari semua jenis ekstrak masih relatif lebih kecil. Kloramfenikol menghasilkan zona hambat yang lebih besar >20 mm terhadap *P. acne* dan *S. aureus* dan tergolong antibiotik kuat. Kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik *broad spectrum* yang mampu menghambat bakteri gram positif dan negatif dengan mekanisme mengganggu sintesa protein dalam mitokondria (Dasgupta, 2012). Ekstrak bangkal masih berupa ekstrak kasar (*crude extract*), sehingga dimungkinkan masih mengandung bahan organik lain yang dapat mengganggu kontak senyawa aktif dengan sel bakteri dan menurunkan aktivitas antibakterinya, bila dibandingkan dengan

kloramfenikol yang sudah berupa senyawa murni tunggal. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Tarman, Purwaningsih, dan Negara (2013) yang membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak kasar bakau dengan kloramfenikol. Secara umum, semua ekstrak yang diekstraksi dengan metode dan pelarut yang berbeda menunjukkan kemampuan menghambat bakteri uji terutama *P. acne* meski dengan diameter yang berbeda-beda. Dengan demikian ekstrak bangkal pada dasarnya mempunyai kemampuan menghambat bakteri penyebab gangguan kulit terutama jerawat.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Metode ekstraksi dengan sokhletasi menghasilkan ekstrak bangkal dengan kandungan total fenolik yang paling tinggi demikian pula halnya dengan penggunaan pelarut etanol 96%. Kadar flavonoid terbesar diperoleh dengan menggunakan metode perkolasi dan pelarut etil asetat. Kadar tanin terbesar diperoleh dengan metode perkolasi dan pelarut etanol 96%. Aktivitas penghambatan radikal bebas paling baik terdapat pada ekstrak etanol 70% cara sokhlet, sedangkan aktivitas antibakteri yang tertinggi diperoleh dalam ekstrak etil asetat menggunakan metode maserasi. Tingginya kandungan senyawa fenolik pada ekstrak etanol 96% tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan (penangkapan radikal DPPH) maupun aktivitas antibakteri. Semua ekstrak mampu menghambat *P. acne* namun hanya ekstrak air dan ekstrak etil asetat yang mampu menghambat *P. acne* dan *S. aureus*. Dengan demikian ekstrak bangkal mempunyai potensi dalam mencegah dan menghambat bakteri penyebab jerawat.

KONTRIBUSI PENULISAN

NR sebagai kontributor utama dengan penulis lainnya sebagai kontributor anggota. Ide, desain, dan rancangan percobaan dilakukan oleh NR ; percobaan dan perlakuan pengujian dilakukan oleh NR, RS, MY dan MI; pengumpulan data dan analisis data dilakukan oleh NR; penulisan manuskrip oleh NR; perbaikan dan finalisasi manuskrip dilakukan oleh NR

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Kementerian Perindustrian yang telah memberikan dana penelitian melalui anggaran DIPA tahun 2018 dan Baristand Industri Banjarbaru atas dukungannya dalam pelaksanaan dan penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbah, J., Amos, S., Chindo, B., Ngazal, I., Vongtau, H. O., Adzu, B., Farida, T., ... Gamaniel, K. S. (2010). Pharmacological evidence favouring the use of *Nauclea latifolia* in malaria ethnopharmacy: Effects against nociception, inflammation, and pyrexia in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 85–90. doi: 10.1016/j.jep.2009.09.045.
- Aisiah, S., Prajitno, A., Maftuch, & Ating, Y. (2018). Bioactive content identification of bulubangkal leaf (*Nauclea subdita* [korth.] Steud.) and its analysis as *Aeromonas hydrophila* antibacterial by in vitro and in silico methods. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*, 6(June), 496–504.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., & Watson, D. G. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(42), 1–23. doi: 10.3390/plants6040042.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Benoit-Vical, F., Valentin, A., Cournac, V., Pélissier, Y., Mallié, M., & Bastide, J. M. (1998). In vitro antiplasmodial activity of stem and root extracts of *Nauclea latifolia* S.M. (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 61(3), 173–178. doi: 10.1016/S0378-8741(98)00036-1.
- Charissa, M., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2017). Uji aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase serta uji manfaat gel ekstrak kulit batang taya (*Nauclea subdita*) terhadap kulit. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 6(2). 98–107 doi: 10.22435/jki.v6i2.6224.98-107.

- Dasgupta, A. (2012). Advances in antibiotic measurement. Dalam G.S. Makowski (Eds). *Advances in Clinical Chemistry* (1st ed., Vol. 56). Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-394317-0.00013-3
- de Hoyos-Martínez, P. L., Merle, J., Labidi, J., & Charrier – El Bouhtoury, F. (2019). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*, 206, 1138–1155. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.09.243.
- Deeni, Y. Y., & Hussain, H. S. N. (1991). Screening for antimicrobial activity and for alkaloids of *Nauclea latifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(1), 91–96. doi: 10.1016/0378-8741(91)90137-3.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199. doi: 10.1016/j.arabjc.2013.02.015.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.
- El-Mahmood, A. M., Doughari, J. H., & Chanji, F. J. (2008). In vitro antibacterial activities of crude extracts of *Nauclea latifolia* and *Daniella oliveri*. *Scientific Research and Essays*, 3(3), 102–105.
- Gloria, L. S., Lee, I.-S., & A. Douglas Kinghorn. (1998). Special problem with the extraction plant. Dalam R. J. P. Channell (Ed.), *Natural product isolation* (pp. 343–363). New Jersey: Humana Press Inc.
- Handa, Sukhdev Swami, Fermeglia, M., Singh, J., Singh, A. K., Tandon, S., . . . & Vasisht, K. (2008). Dalam Sukhdev Swamio Handa, S. P. S. Dev Dutt RakeshKhanuja, & G. Long (Eds). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. ICS UNIDO.
- Haudecoeur, R., Peuchmaur, M., Pérès, B., Rome, M., Taïwe, G. S., Boumendjel, A., & Boucherle, B. (2018). Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of African *Nauclea* species: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 212(October), 106–136. doi: 10.1016/j.jep.2017.10.011.
- Isa, H., Katsayal, U. A., Agunu, A., Nuhu, A., & Abdulhamid, Z. (2017). Phytochemical screening and thin layer chromatographic profile of *Nauclea diderrichii* leaf extracts. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(1), 281–284. doi: 10.4314/bajopas.v10i1.42.
- Jamaluddin, F. R., Wahab, R., Daud, J. M., & Rahman, S. (2012). Total phenolic contents and free-radical scavenging activities from methanolic extracts of *Nauclea subdita* (Korth) Steud. heartwood. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 6(7), 1116–1124.
- Kakuguchi, Y., Ishiyama, H., Kubota, T., & Kobayashi, J. (2009). Naucleamide F, a new monoterpene indole alkaloid from *Nauclea latifolia*. *Heterocycles*, 79(C), 765–771. doi: 10.3987/COM-08-S(D)41.
- Kamarudin, N. A., Markom, M., & Latip, J. (2016). Effects of solvents and extraction methods on herbal plants *Phyllanthus niruri*, *Orthosiphon stamineus* and *Labisia pumila*. *Indian Journal of Science and Technology*, 9(21), 3–7. doi: 10.17485/ijst/2016/v9i21/95235.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 1–16. doi: 10.1155/2013/162750.
- Liu, W., Di Giorgio, C., Lamidi, M., Elias, R., Ollivier, E., & De Méo, M. P. (2011). Genotoxic and clastogenic activity of saponins extracted from *Nauclea* bark as assessed by the micronucleus and the comet assays in Chinese Hamster Ovary cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 176–183. doi: 10.1016/j.jep.2011.05.005.
- Lukmandaru, G., Susanti, D., & Widyorini, R. (2018). Chemical properties of modified mahogany wood by heat treatment. *Jurnal Penelitian Kebutanan Wallacea*, 7(1), 37–46. doi: 10.18330/jwallacea.2018.vol7iss1pp 37-46.

- Markham, K. (1988). *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Markom, M., Hasan, M., Ramli, W., Daud, W., Singh, H., & Jahim, J. (2007). Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. 52, 487–496. doi: 10.1016/j.seppur.2006.06.003.
- Mohsen, S. M., & Ammar, A. S. M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112(3), 595–598. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.014.
- Murugan, R., & Parimelazhagan, T. (2014). Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn. - An in vitro approach. *Journal of King Saud University - Science*, 26(4), 267–275. doi: 10.1016/j.jksus.2013.09.006.
- Ngo Bum, E., Taiwe, G. S., Moto, F. C. O., Ngoupaye, G. T., Nkanchoua, G. C. N., Pelanken, M. M., Rakotonirina, S. V., & Rakotonirina, A. (2009). Anticonvulsant, anxiolytic, and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* Smith in mice. *Epilepsy and Behavior*, 15(4), 434–440. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.05.014.
- Okwori, A. E. J., Okeke, C. I., Uzochina, A., Etukudoh, N. S., Amali, M. N., Adetunji, J. A., & Olabode, A. O. (2008). The antibacterial potentials of *Nauclea latifolia*. *African Journal of Biotechnology*, 7(10), 1394–1399.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. (2009). *Nauclea orientalis*. Agroforestry Database : A tree reference and selection guide version 4.0; World Agroforestry. org. doi: 10.1007/978-94-007-5653-3_36.
- Pari, G. (1996). Analisis kimia beberapa jenis Kayu dari Indonesia bagian timur. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 14(1), 1–6.
- Prasetyo, S., Arfianto, W., & Hudaya, T. (2015). The pre-chromatography purification of crude oleoresin of *Phaleria macrocarpa* fruit extracts by using 70%-v/v ethanol. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia UPN*. Yogyakarta 1–8.
- Rahmawanty, D., Zakiah, & Fadhilaturrahman. (2015). Uji potensi sebagai tabir surya secara in vitro fraksi etil asetat kulit batang tanaman bangkal (*Nauclea subdita*). *Prosiding Seminar Nasional Dan Workshop: Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik*, 6–7.
- Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J. K., & Ayadi, M. T. (2015). Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(1), 52–57. doi: 10.7324/JAPS.2015.50110.
- Riyanto, S., & Abdul Rohman. (2014). Isolasi skopoletin dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dan uji aktivitas antioksidannya. *Jurnal Agritech*, 27(3), 107–111. doi: 10.22146/agritech.9598.
- Otimenyin, S.O & Uguru, M. O. (2006). Acute toxicity studies, anti-inflammatory and analgesic activities of the methanolic extract of the stem bark of *Enantia chlorantha* and *Nauclea latifolia*. *Journal of Pharmacy and Bioresources*, 3(2), 111–115. doi: 10.4314/jpb.v3i2.32105.
- Sichaem, J., & Worawalai, W. (2012). Chemical constituents from the roots of *Nauclea orientalis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(5), 737–739.
- Singleton, V. L., & Joseph A. Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Sirait, M. (2007). Penuntun Fitokimia dalam farmasi. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Soendjoto, M. A., & Riefani, M. K. (2013). Bangkal (*Nauclea* sp.), a wetland plant, the material for the cool face powder. *Warta Konservasi Laban Basah*, 21(October 2013), 13–18.
- Sreeramulu, D., & Raghunath, M. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International*, 43(4), 1017–1020. doi: 10.1016/j.foodres.2010.01.009.

- Sukmawati, S. N., Harlia, & Rudiyanisya. (2017). Karakterisasi struktur senyawa kumarin glikosida dari biji buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(3), 1–5.
- Sunday, A., Unekwe, O., Okechukwu, P. C., & Chinenye, E. (2015). In vitro studies of antibacterial activities of *Nauclea latifolia* root extracts using micro dilution indicator technique. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 14(6), 29–34. doi: 10.9790/0853-14672934.
- Tarman, K., Purwaningsih, S., & Negara, A. A. A. P. (2013). Aktivitas antibakteri ekstrak daun bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri penyebab diare. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3), 249–258.
- Terigar, B. G., Balasubramanian, S., Sabliov, C. M., Lima, M., & Boldor, D. (2011). Soybean and rice bran oil extraction in a continuous microwave system: From laboratory- to pilot-scale. *Journal of Food Engineering*, 104(2), 208–217. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.012.
- Traore, F., Gasquet, M., Laget, M., Guiraud, H., Di Giorgio, C., Azas, N., Doumbo, O., & Timon-David, P. (2000). Toxicity and genotoxicity of antimalarial alkaloid rich extracts derived from *Mitragyna inermis* O. Kuntze and *Nauclea latifolia*. *Phytotherapy Research*, 14(8), 608–611. doi: 10.1002/1099-1573(200012)14:8<608::AID-PTR667>3.0.CO;2-D.
- Valgas, C., De Souza, S. M., Smânia, E. F. A., & Smânia, A. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369–380. doi: 1590/S1517-83822007000200034.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213-222. doi: 10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08.
- Widyawati, P. S., Dwi, T., Budianta, W., & Kusuma, F. A. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4). 850 - 855.
- Shimizu Y. (1998). Purification of water-soluble natural products. Dalam Richard J.P. Cannell (Ed.), *Natural Product Isolation* (pp. 329–339). Switzerland. Humana Press Inc.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. doi: 10.1186/s13020-018-0177-x.
- Zhou, K., & Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT - Food Science and Technology*, 37(7), 717–721. doi: 10.1016/j.lwt.2004.02.008.