KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Gedung Rektorat Lantai 5, Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
Telepon (0721) 705173, Fax. (0721) 773798, e-mail : lppm@kpa.unila.ac.id
www.lppm.unila.ac.id

KONTRAK PENELITIAN
Penelitian Produk Terapan Tahun Anggaran 2017
Nomor: 583 /UN26.21/KU/2017

Pada hari ini Rabu tanggal Tujuh bulan Juni tahun Dua Ribu Tujuh Belas, kami yang bertandatangan di bawah ini :

1. **Warsono, Ph.D** : Ketua Lembaga Penelitian Universitas Lampung dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Lembaga Penelitian Universitas Lampung ,yang berkedudukan di Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No 1 Bandar Lampung, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA;**
2. **Dr Noviany, M.Si** : Dosen FAKULTAS MIPA Universitas Lampung dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2017 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Penelitian Produk Terapan Tahun Anggaran 2017 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut:

Pasal 1
Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA,** untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian Produk Terapan Tahun Anggaran 2017 dengan judul Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari TumbuhanTuri (Sesbania grandiflora) yang BerpotensiSebagai Agen Antituberkulosis

Pasal 2
Dana Penelitian

(1) Besarnya dana untuk melaksanakan penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar **383 Enam Puluh Dua Juta Lima Ratus Ribu Rupiah** sudah termasuk pajak.
(2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2017, tanggal 06 Desember 2016.

Pasal 3
Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

(1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
   a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total dana penelitian yaitu 70%x 62500000 = 43750000 (***Empat Puluh Tiga Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah***) yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PARA PIHAK** membuat dan melengkapi rancangan pelaksanaan penelitian yang memuat judul penelitian, pendekatan dan metode penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, anggaran yang akan digunakan, dan tujuan penelitian berupa luaran yang akan dicapai.

Dipindai dengan CamS

b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar 30% dari total dana penelitian yaitu 30%x 62500000 18750000 **Delapan Belas Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah** dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah ke SIMLITABMAS yaitu Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian dan Catatan Harian.

c. Biaya tambahan dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** bersamaan dengan pembayaran Tahap Kedua dengan melampirkan Daftar luaran penelitian yang sudah di validasi oleh **PIHAK PERTAMA**

(2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

Nama	:	Noviany
Nomor Rekening	:	0070927974
Nama Bank	:	BNI

(3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4
Jangka Waktu

Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sampai selesai 100%, adalah terhitung sejak **Tangga l3 April 2017** dan berakhir pada **Tanggal 31 Oktober 2017**

Pasal 5
Target Luaran

(1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian berupa :
1. Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional : Submitted
2.Pemakalah Dalam Pertemuan Ilmiah Nasional : Terdaftar

(2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian berupa tidak ada

(3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA.**

Pasal 6
Hak dan Kewajiban Para Pihak

(1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** luaran penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7;
b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3.

(2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1);
b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** luaran Penelitian Produk Terapan dengan judul Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari TumbuhanTuri {Sesbania grandiflora) yang BerpotensiSebagai Agen Antituberkulosis dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;

Dipindai dengan CamS

d. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** laporan penggunaan dana sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7.

Pasal 7
Laporan Pelaksanaan Penelitian

(1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa laporan kemajuan dan laporan akhir mengenai luaran penelitian dan rekapitulasi penggunaan anggaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA**yang tersusun secara sistematis sesuai pedoman yang ditentukan oleh **PIHAK PERTAMA**.

(2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Kemajuan dan Catatan harian penelitian yang telah dilaksanakan ke SIMLITABMAS paling lambat **30 Agustus 2017.**

(3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* Laporan Kemajuan dan Rekapitulasi Penggunaan Anggaran 70% kepada **PIHAK PERTAMA,** paling lambat **8 September 2017**

(4) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Akhir, capaian hasil, Poster, artikel ilmiah dan profil pada SIMLITABMAS paling lambat **31 Oktober 2017** (bagi penelitian tahun terakhir).

(5) Laporan hasil Penelitian sebagaiman tersebut pada ayat (4) harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
   a. Bentuk/ukuran kertas A4;
   b. Di bawah bagian cover ditulis:

Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor : 071/SP2H/LT/DRPM/IV/2017

Pasal 8
Monitoring dan Evaluasi

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2017 ini sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 9
Penilaian Luaran

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

Pasal 10
Perubahan Susunan Tim Pelaksana dan Substansi Pelaksanaan

Dipindai dengan CamS

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

Pasal 11
Penggantian Ketua Pelaksana

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

Pasal 12
Sanksi

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

Pasal 13
Pembatalan Perjanjian

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

Pasal 14
Pajak-Pajak

Hal-hal dan/atau segala sesuatu yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa PPN dan/atau PPh menjadi tanggungjawab **PIHAK KEDUA** dan harus dibayarkan oleh **PIHAK KEDUA** ke kantor pelayanan pajak setempat sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 15

Dipindai dengan CamS

Peralatan dan/alat Hasil Penelitian

Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas Lampung sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Pasal 16
Penyelesaian Sengketa

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

Pasal 17
Lain-lain

(1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.

(2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

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

PIHAK PERTAMA

Warsono., Ph.D
NIDN. 0016026303

PIHAK KEDUA

METERAI TEMPEL
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Dr Noviany, M.Si
0019117301

Mengetahui
DEKAN FAKULTAS

Prof. Warsito, S.Si, Ph.D.
0012027105

Dipindai dengan CamS

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN
GEDUNG REKTORAT LANTAI 5
Jalan. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
Telp. (0721) 705173, 701609 Ext. 136 Fax. 773798 E-Mail:Lemlit@Unila.ac.id

Diunduh dengan Cam

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB MUTLAK

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dr Noviany, M.Si
NIDN : 0019117301
Fakultas : MIPA
Alamat : Jl.Prof.Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa :

1. Dana penelitian yang saya terima sudah dihitung dengan benar dan akan digunakan sepenuhnya untuk mendanai penelitian yang saya laksanakan yaitu penelitian yang didanai oleh Dana DIKTI TA 2017. Jenis Hibah " **Penelitian Produk Terapan** Judul **Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari TumbuhanTuri (Sesbania grandiflora) yang BerpotensiSebagai Agen Antituberkulosis** " dengan jumlah dana sebesar 70% dari nilai pekerjaan Rp. 62500000,- yaitu Rp 43750000 (Empat Puluh Tiga Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah).
2. Semua penggunaan, pengeluaran keuangan dan pertanggungjawabannya yang terkait dengan *output* kegiatan pelaksanaan penelitian menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya-benarnya.

Bandar Lampung, 7 Juni 2017

Peneliti,

METERAI TEMPEL 6000

Dr Noviany, M.Si
NIDN. 0019117301

BERITA ACARA PEMBAYARAN

Pada hari ini **Rabu** tanggal **Tujuh** bulan **Juni** tahun **Dua Ribu Tujuh Belas**, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

I. Nama : Warsono, Ph.D.
Jabatan : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung
Alamat : Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung
Disebut Sebagai **PIHAK PERTAMA.**

II. Nama : Dr Noviany, M.Si
Jabatan : Peneliti Utama (penanggung jawab penelitian)
Fakultas : MIPA
Alamat : Jl. Prof.Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung.
Disebut Sebagai **PIHAK KEDUA.**

Sehubungan dengan pelaksanaan kegiatan Penelitian Penelitian Produk Terapan di Lingkungan Universitas Lampung, sesuai dengan Surat Penugasan Penelitian Nomor: 583/UN26.21/KU/2017, tanggal 07 Juni 2017 dengan judul "**Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari TumbuhanTuri (Sesbania grandiflora) yang BerpotensiSebagai Agen Antituberkulosis**", maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** sebesar 70% dari nilai kontrak = 70 % x Rp.62500000,- = Rp. 43750000,- (Empat Puluh Tiga Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah) dan disalurkan langsung ke Rekening PIHAK KEDUA sebagai Penanggung Jawab Kegiatan Penelitian.

Demikian Berita Acara Pembayaran ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 7 Juni 2017

I. PIHAK PERTAMA.

Ketua LPPM
Universitas Lampung,

Warsono, Ph.D.
NIDN. 0016026303

II. PIHAK KEDUA.

Ketua Penelitian/
Penanggung Jawab Kegiatan

Dr Noviany, M.Si
NIDN. 0019117301

Dipindai dengan CamS

No 383

KWITANSI

Sudah terima dari : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung

Banyaknya uang : ***Empat Puluh Tiga Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah***

Untuk pembayaran : Dana Penelitian Produk Terapan yang didanai oleh Dana DIKTI T.A. 2017 Tahap I 70 % Dari Nilai Penugasan sebesar Rp. 62500000,- Berdasarkan Surat Penugasan Penelitian Penelitian Produk Terapan Nomor: 583 /UN26.21/KU/2017 Tanggal 07 Juni 2017

Bandar Lampung, 7 Juni 2017

Yang Menerima,

METERAI TEMPEL D77A2ADF763799201 6000 ENAM RIBU RUPIAH

Dr Noviany, M.Si

NIDN : 0019117301

Rp. 43750000

Diunduh dengan Cams

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENELITIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS LAMPUNG
GEDUNG REKTORAT LANTAI 5
Jalan. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
Telp.(0721) 705173, 701609 Ext. 136 Fax.773798 email:lppm@kpa.Unila.ac.id

ADDENDUM KONTRAK PENELITIAN

PRODUK TERAPAN Tahun Anggaran 2017

Nomor: 1638 /UN26.21/KU/2017

Pada hari ini **Kamis** tanggal **Dua** Bulan **November** tahun **Dua Ribu Tujuh Belas**, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Warsono, Ph.D : Ketua Lembaga Penelitian dan Penelitian, Universitas Lampung, dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Universitas lampung, yang berkedudukan di Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA;**

2. Dr Noviany, M.Si : Dosen MIPA, Universitas lampung, dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2017 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, bersama-sama membuat kesepakatan addendum untuk kontrak penelitian skema PRODUK TERAPAN Tahun Anggaran 2017 dengan ketentuan sebagai berikut:

Tertulis dalam Dokumen Nomor: 583 /UN26.21/KU/2017

Pasal 3

Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

(1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:

a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total dana Penelitian yaitu 70%x 62500000 = 43750000 (**Empat Puluh Tiga Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah**) yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PARA PIHAK** membuat dan melengkapi rancangan pelaksanaan Penelitian yang memuat judul Penelitian, pendekatan dan metode Penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, anggaran yang akan digunakan, dan tujuan Penelitian berupa luaran yang akan dicapai.

b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar 30% dari total dana Penelitian yaitu 30%x 62500000= 18750000 (**Delapan Belas Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah**) dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengumpulkan Laporan Kemajuan, Laporan Akhir dan Laporan keuangan.

Dipindai dengan CamS

Pasal 7

Laporan Pelaksanaan Penelitian

(4) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Akhir, capaian hasil, Poster, artikel ilmiah dan profil pada SIMLITABMAS paling lambat 31 Oktober 2017 (bagi Penelitian tahun terakhir).

Dikoreksi Menjadi

Pasal 3

Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

(2) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:

a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar dari total dana Penelitian yaitu 49393000 = 43750000 **(Empat Puluh Tiga Juta Tujuh Ratus Lima Puluh Ribu Rupiah)** yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PARA PIHAK** membuat dan melengkapi rancangan pelaksanaan Penelitian yang memuat judul Penelitian, pendekatan dan metode Penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, anggaran yang akan digunakan, dan tujuan Penelitian berupa luaran yang akan dicapai.

b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar dari total dana Penelitian yaitu 49393000 = 5643000 **(Lima Juta Enam Ratus Empat Puluh Tiga Riburupiah)** dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengumpulkan Laporan Kemajuan, Laporan Akhir dan Laporan keuangan.

Pasal 7

Laporan Pelaksanaan Penelitian

(4) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Akhir, capaian hasil, Poster, artikel ilmiah dan profil pada SIMLITABMAS paling lambat 15 November 2017 (bagi Penelitian tahun terakhir).

PIHAK PERTAMA

Warsono, Ph.D
NIDN : 0016026303

PIHAK KEDUA

METERAI TEMPEL 7D19AAEF729954103 6000 ENAM RIBU RUPIAH

Dr Noviany, M.Si
NIDN : 0019117301

Mengetahui
DEKAN FAKULTAS MIPA

Prof. WARSITO S.Si, Ph.D, D.E.A
NIDN: 0012027105

Dipindai dengan CamS

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Gedung Rektorat Lantai 5, Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
Telepon (0721) 705173, Fax. (0721) 773798, e-mail : lppm@kpa.unila.ac.id
www.lppm.unila.ac.id

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB MUTLAK

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dr Noviany, M.Si
NIDN : 0019117301
Fakultas : MIPA
Alamat : Jl.Prof.Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa :

1. Dana penelitian yang saya terima sudah dihitung dengan benar dan akan digunakan sepenuhnya untuk mendanai penelitian yang saya laksanakan yaitu penelitian yang didanai oleh Dana DIKTI TA 2017. Jenis Hibah **PRODUK TERAPAN** Judul **Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari TumbuhanTuri {Sesbania grandiflora) yang BerpotensiSebagai Agen Antituberkulosis** dengan jumlah dana sebesar Tahap II dari nilai pekerjaan Rp. 49393000,- (Empat Puluh Sembilan Juta Tiga Ratus Sembilan Puluh Tiga Riburupiah) yaitu Rp.5643000,- (Lima Juta Enam Ratus Empat Puluh Tiga Riburupiah).
2. Semua penggunaan, pengeluaran keuangan dan pertanggungjawabannya yang terkait dengan *output* kegiatan pelaksanaan penelitian menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya-benarnya.

Bandar Lampung, 27 Desember 2017

Peneliti,

Dr Noviany, M.Si
NIDN: 0019117301

Dipindai dengan Cam

19

BERITA ACARA PEMBAYARAN

Pada hari ini **Rabu** tanggal **Dua Puluh Tujuh** bulan **Desember** tahun **Dua Ribu Tujuh Belas**, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

I. Nama : Warsono, Ph.D.
Jabatan : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung
Alamat : Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung
Disebut Sebagai **PIHAK PERTAMA.**

II. Nama : Dr Noviany, M.Si
Jabatan : Peneliti Utama (penanggung jawab penelitian)
Fakultas : MIPA
Alamat : Jl. Prof.Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung.
Disebut Sebagai **PIHAK KEDUA.**

Sehubungan dengan pelaksanaan kegiatan Penelitian Dikti Skema PRODUK TERAPAN di Lingkungan Universitas Lampung, sesuai dengan Surat Addendum Kontrak Penelitian Nomor. 1638/UN26.21/KU/2017, tanggal 02 November 2017 dengan judul **"Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari TumbuhanTuri {Sesbania grandiflora) yang BerpotensiSebagai Agen Antituberkulosis"**, maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** sebesar tahap Ke Dua dari Nilai Addendum Rp. 49393000 (Empat Puluh Sembilan Juta Tiga Ratus Sembilan Puluh Tiga Riburupiah)= Rp. 5643000,- (Lima Juta Enam Ratus Empat Puluh Tiga Riburupiah) dan disalurkan langsung ke Rekening PIHAK KEDUA sebagai Penanggung Jawab Kegiatan Penelitian.

Demikian Berita Acara Pembayaran ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 27 Desember 2017

I. PIHAK PERTAMA.

Ketua LPPM
Universitas Lampung,

Warsono, Ph.D.
NIDN: 0016026303

II. PIHAK KEDUA.

Ketua Penelitian/
Penanggung Jawab Kegiatan

METERAI TEMPEL A75AFAEF850222 6000 ENAM RIBU RUPIAH

Dr Noviany, M.Si
NIDN: 0019117301

Dipindai dengan CamS

KWITANSI

No. 1638

Sudah terima dari : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung

Banyaknya uang : ***Lima Juta Enam Ratus Empat Puluh Tiga Riburupiah***

Untuk pembayaran : Dana Penelitian PRODUK TERAPAN yang didanai oleh Dana DIKTI T.A. 2017 Tahap II Dari Nilai Addendum Kontrak Penelitian sebesar Rp. 49393000,- Berdasarkan Surat Addendum Kontrak Penelitian PRODUK TERAPAN Nomor: 1638/UN26.21/KU/2017 Tanggal 02 November 2017

Bandar Lampung, 27 Desember 2017

Yang Menerima,

METERAI TEMPEL
2402DAEF850226491
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Noviany, M.Si

NIDN: 0019117301

Rp. 5643000,00

Dipindai dengan CamS

LAPORAN AKHIR TAHUN
PENELITIAN PRODUK TERAPAN

Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif Dari Tumbuhan Turi (*Sesbania grandiflora*) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis

Tahun ke-1 dari rencana 3 tahun

TIM PENELITI

Dr. Noviany, M.Si	**NIDN: 0019117301**
Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc	**NIDN: 0030056902**
Neny Purwitasari, S.Farm, M.Sc, Apt	**NIDN: 0019048006**

Didanai Dengan No. Kontrak : 071/SP2H/LT/DRPM/IV/2017
Tahun Anggaran 2017

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG

NOVEMBER 2017

HALAMAN PENGESAHAN

Judul	: Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktifdari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis
Peneliti/Pelaksana	
Nama Lengkap	: Dr NOVIANY, S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi	: Universitas Lampung
NIDN	: 0019117301
Jabatan Fungsional	: Lektor
Program Studi	: Kimia
Nomor HP	: 081377792816
Alamat surel (e-mail)	: noviany@fmipa.unila.ac.id
Anggota (1)	
Nama Lengkap	: Dr SUTOPO HADI S.Si, M.Sc.
NIDN	: 0030056902
Perguruan Tinggi	: Universitas Lampung
Anggota (2)	
Nama Lengkap	: NENY PURWITASARI S.Farm, M.Sc.
NIDN	: 0019048006
Perguruan Tinggi	: Universitas Airlangga
Institusi Mitra (jika ada)	
Nama Institusi Mitra	: -
Alamat	: -
Penanggung Jawab	: -
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan	: Rp 49,393,000
Biaya Keseluruhan	: Rp 185,807,800

Mengetahui,
Dekan FMIPA Unila

(Prof. Warsito, S.Si., DEA. Ph.D)
NIP/NIK 19710212 199512 1001

Kota Bandar Lampung, 6 - 11 - 2017
Ketua,

(Dr NOVIANY, S.Si, M.Si)
NIP/NIK 197311191998022001

Menyetujui,
Ketua LPPM Universitas Lampung

(Warsono, Ph.D)
NIP/NIK 196302161987031003

RINGKASAN

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang paling banyak menyebabkan kematian manusia. Untuk mengatasi masalah ancaman kematian yang disebabkan TB sudah banyak digunakan obat diantaranya pirazinamid, rifampisin, isoniazid, streptomisin, dan etambutol. Ada kekurangan pada penggunaan obat-obat tersebut yaitu penggunaannya secara berlebih dapat menyebabkan patogen TB resisten terhadap obat-obatan tersebut (*multi-drug resistant*). Untuk mengurangi kekurangan obat TB diperlukan agen antituberkulosis yang lebih baik. Salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai sumber bahan agen anti-TB adalah tumbuhan turi (*Sesbania grandiflora*). Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi tiga senyawa murni, dua diantaranya adalah senyawa jenis 2-arilbenzofuran baru dari kulit batang *S. grandiflora* yang dinamai sebagai sesbagrandiflorain A dan B, dan satu merupakan senyawa golongan flavonoid. Ketiga senyawa hasil isolasi diperoleh melalui beberapa tahapan isolasi dan ekstraksi dengan teknik maserasi bertingkat, dilanjutkan dengan fraksinasi dan pemurnian senyawa dengan metode kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom gravitasi (KKG), dan kromatografi lapis tipis preparatif (KLT Preparatif). Karakterisasi dan identifikasi senyawa-senyawa hasil isolasi dilakukan dengan cara fisika maupun spektroskopi, diantaranya penentuan titik leleh, uji kromatografi lapis tipis menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda, dan analisis spektroskopi UV, IR, NMR (1D dan 2D), dan MS. Fraksinasi dan pemurnian pada fraksi-fraksi yang lebih polar dan berpotensi sebagai anti-TB akan dilanjutkan pada penelitian tahun kedua untuk mendapatkan kandidat senyawa bioaktif lainnya. Senyawa-senyawa isolat murni yang telah diidentifikasi kemudian akan diuji bioaktivitas anti-TB secara *in vitro* terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode dilusi agar pada tahap penelitian lanjutan. Hasil penelitian pada tahun pertama ini telah dipublikasikan pada seminar internasional ICASMI (13-15 Juli 2017) dan ISNM (24-25 Agustus 2017), serta telah dipresentasikan juga pada seminar nasional SNK (11-12 September 2017). Selain itu senyawa-senyawa baru hasil isolasi yang diperoleh pada penelitian ini juga telah ditulis sebagai artikel ilmiah yang dipublikasikan pada jurnal *Natural Products Research* (*Impact Factor* 2016: 1,828) dengan status *under reviewed*. Sebagai luaran tambahan, hasil penelitian pada tahun pertama ini juga telah dibuat sebagai draft paten sederhana dan rencana akan diusulkan pendaftarannya pada tahun kedua penelitian.

Kata Kunci: antituberkulosis, arilbenzofuran, *Mycobacterium tuberculosis*, senyawa bioaktif, sesbagrandiflorain, *Sesbania grandiflora*

PRAKATA

Bismillah,

Alhamdulillah puji dan syukur penulis ucapkan ke hadirat Alloh Subhanahu wata'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya laporan kemajuan penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik sesuai dengan doa dan harapan. Laporan kemajuan dengan tema penelitian:" **Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (*Sesbania grandiflora*) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis**" ini merupakan salah satu persyaratan yang harus dibuat dan menjadi bagian dari rangkaian kegiatan penelitian secara keseluruhan.

Dalam pelaksanaan kegiatan penelitian dan penulisan laporan kemajuan ini tidak lepas dari berbagai kesulitan dan rintangan, namun itu semua dapat penulis lalui berkat rahmat dan pertolongan-Nya serta bantuan dan dorongan semangat dari berbagai pihak yang membantu baik secara langsung maupun tidak langsung.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terimakasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas dana hibah penelitian yang diberikan melalui skim Penelitian Produk Terapan Tahun Anggaran 2017.
2. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung yang telah memberikan banyak dukungan dan fasilitas sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
3. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung atas fasilitas sarana dan prasarana laboratorium demi terselenggaranya penelitian ini.
4. Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc, selaku anggota dalam tim penelitian, terimakasih atas bantuan, saran, dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
5. Neny Purwitasari, S.Farm, M.Sc, Apt, selaku anggota dalam tim penelitian, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian dilakukan.

6. Prof. Muhammad Aziz dari Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, Tokyo, Japan, atas bantuannya dalam pengukuran spektrum MS serta saran dan masukannya yang berharga dalam penulisan artikel ilmiah.
7. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung atas dukungannya selama penelitian.
8. Bapak Andi Setiawan, Ph.D., dan Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S yang telah memberikan saran, kritik, dan masukan berharga kepada penulis.
9. Prof. Yana Maolana Syah dari Institut Teknologi Bandung, atas diskusi, saran, dan masukannya yang bernilai.
10. Dr. Iman Subasman, M.Si dari STAI Al Ihya Kuningan dan Bapak Tarso Rudiana, M.Si dari Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulloh Jakarta atas bantuannya dalam penelusuran literatur.
11. Wiwit Kasmawati, PLP Laboratorium Kimia Organik, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik dalam pelaksanaan penelitian ini.
12. Arief Nurhidayat dan Ayu Setianingrum serta semua anggota NRG atas segala bantuan, dukungan, kerjasama, dan kesabarannya yang luar biasa dalam menjalani penelitian ini
13. Rekan-rekan akademisi di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang selalu memberikan inspirasi dan semangat dalam pencapaian target-target riset.
14. Semua pihak yang tidak dapat dituliskan satu persatu yang telah membantu penulis sehingga penelitian ini dapat terselenggara dengan baik.

Semoga Alloh Subhanahu wata'ala membalas segala kebaikan bapak dan ibu serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Penulis sangat menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kesempurnaan, namun semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat yang banyak kepada para pembaca khususnya baik penulis pribadi. Aamiin.

Bandar Lampung, 25 Oktober 2017
Penulis

Dr. Noviany, M.Si

DAFTAR ISI

HALAMAN

HALAMAN PENGESAHAN 2
RINGKASAN..... 3
PRAKATA 4
DAFTAR ISI 6
DAFTAR TABEL 7
DAFTAR GAMBAR 7
DAFTAR LAMPIRAN..... 8
BAB 1. PENDAHULUAN..... 9
BAB 2.TINJAUAN PUSTAKA 11
2.1 Kajian Pustaka ……..... 11
2.2 Studi Pendahuluan yang Sudah Dilaksanakan/Hasil yang Sudah Dicapai.....14
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN....…… 17
3.1. Tujuan Penelitian 17
3.2. Manfaat Penelitian..... 17
BAB 4. METODE PENELITIAN .....…… 19
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian 19
4.2. Bahan dan Alat..... 19
A. Bahan Tumbuhan.... 19
B. Bahan Kimia/Reagen 19
C. Bahan Uji Bioaktivitas 19
D. Alat-Alat Yang Digunakan..... 18
4.3.Prosedur Penelitian 20
A. Skrining Fitokimia 20
B. Ekstraksi ..... ……... 22
C. Isolasi dan Pemurnian 22
D. Elusidasi Struktur 24
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI ..……..... 25
5.1. Hasil .....……..... 25
5.2 Luaran yang Dicapai ..... ……. 29
BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....……..... 32

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN..... 34
7.1. Kesimpulan 34
7.2 Saran 34
DAFTAR PUSTAKA ……..... 35
LAMPIRAN ..... …….. 39

DAFTAR TABEL

HALAMAN

Tabel 1. Peta Jalan Penelitian..... 16
Tabel 2. Data ^{1}H and ^{13}C NMR senyawa **N1** dan **N2** 27
Tabel 3 Rencana Target Capaian Tahunan 30
Tabel 4. Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah..... 31

DAFTAR GAMBAR

HALAMAN

Gambar 1. Bagan alir penelitian 20
Gambar 2 Kromatogram hasil KCV 22
Gambar 3. Senyawa isolasi pertama (**N1**)..... 23
Gambar 4. Kromatogram hasil KLT Preparatif subfraksi E3.2 (a); Kromatogram hasil fraksinasi subfraksi E3.2 (b) 23
Gambar 5. Senyawa isolasi ke-2 (**N2**) (a); Senyawa isolasi ke-3 (**N3**) (b)..... 24
Gambar 6. Diagram *fishbone* penelitian 24
Gambar 7. Struktur senyawa-senyawa hasil isolasi 25
Gambar 8. Kromatogram hasil analisis KLT 3 sistem eluen **N1** (a) dan **N2** (b).. 25
Gambar 9. Spektrum ^{1}H NMR senyawa **N1** 26
Gambar 10. Korelasi jarak jauh proton dan karbon senyawa **N1** 28
Gambar 11. Spektrum IR senyawa **N3** 29

DAFTAR LAMPIRAN

HALAMAN

Lampiran 1. Artikel Ilmiah 39
Lampiran 2. Bukti Penyerahan Artikel online 55
Lampiran 3. Seminar I: ICASMI 56
Lampiran 4. Seminar II: ISNM 59
Lampiran 5. Seminar III: SNK 2017 62
Lampiran 6. Purwarupa 66
Lampiran 7. Draft Paten Sederhana 67

BAB 1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis atau *Tubercle Bacillus* (TB) adalah satu dari penyebab kematian terbesar di dunia yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Janin, 2007). Penyakit TB merupakan sejenis penyakit menular yang sangat mudah penyebarannya melalui udara oleh mikroorganisme, *Mycobacterium tuberculosis*, suatu bakteri aerobik patogenik yang menyerang sistem pernafasan. Sejak satu dekade terakhir, sekitar satu pertiga populasi manusia di dunia terinfeksi oleh *M. tuberculosis* (Zumla, 1998). Berdasarkan data World Health Organization (WHO) pada tahun 2006, sekitar 2 juta kematian disebabkan hanya penyakit TB setiap tahun. Untuk mengatasi wabah ini, pencarian beberapa agen antituberkulosis yang efektif berhasil dilakukan, diantaranya penemuan seperti pirazinamid, rifampisin, isoniazid, streptomisin, dan etambutol. Dengan ditemukannya obat-obatan tersebut, sejumlah kasus penyakit TB dapat dikurangkan secara drastis terutama di negara-negara berkembang. Namun sejak akhir tahun 1980-an, beberapa kasus penyakit TB di seluruh dunia kembali meningkat pesat disebabkan oleh *multidrug resistant* (MDR) dari *M. tuberculosis* (Sandra, dkk., 2000). Survey yang telah dilakukan oleh lembaga kesehatan dunia menyatakan Indonesia menempati urutan ketiga penderita TB setelah India dan Cina (DepKes, 2006). Oleh sebab itu, diperlukan usaha-usaha intensif dan terpadu dari para peneliti untuk mengidentifikasi target obat baru yang potensial sebagai agen anti-TB.

Sumber-sumber bahan alam khususnya tumbuhan, sudah sejak lama digunakan secara luas oleh masyarakat di dunia dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit termasuk yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Senyawa-senyawa bahan alam telah banyak terbukti dapat dijadikan sebagai sumber terpenting dalam pencarian obat-obatan baru yang relatif aman dari efek samping dan murah (Kone, 2004). Penemuan terkini artemisinin sebagai antimalaria dan taksol sebagai antikanker dari organisme di alam adalah indikasi pentingnya bahan-bahan alami dalam rangka penemuan obat-obatan baru. Tumbuh-tumbuhan yang secara traditional berkhasiat sebagai obat, sampai saat ini masih menjadi alternatif utama untuk penemuan dan pengembangan agen anti-TB baru. Namun demikian, hanya

sebagian kecil saja dari tumbuhan berpotensi tersebut yang dieksplorasi untuk diteliti kandungan aktifnya (Frame, dkk., 1998).

Corona dkk. pada tahun 2008 telah mengevaluasi bioaktivitas 9 tumbuhan obat yang digunakan secara tradisional di Meksiko terhadap *M. tuberculosis*. Dari penelitian tersebut dilaporkan bahwa diantara 9 tumbuhan yang diujikan, *Nasturtium officinale* menunjukkan aktivitas antituberculosis terbaik dengan nilai *MIC* 100 µg/mL. Newton dkk. (2000) dalam suatu literatur reviewnya melaporkan bahwa terdapat lebih dari 350 spesies tumbuhan di seluruh dunia telah diuji aktivitas antituberkulosis. Dari hasil reviewnya dilaporkan bahwa sejumlah ekstrak tumbuhan dan senyawa tertentu menunjukkan aktivitas antimikroba yang potensial.

Berdasarkan penelusuran literatur yang telah dilakukan, hingga saat ini belum ada kajian atau studi intensif terhadap tumbuh-tumbuhan di Indonesia khususnya di daerah Lampung dalam rangka pencarian obat alternatif untuk anti-TB. Tumbuhan *Sesbania grandiflora* atau yang dikenal dengan nama lokal turi, merupakan salah satu tumbuhan obat tradisional yang sering digunakan di kawasan Asia Tenggara dan India. Semua bagian tumbuhan turi seperti akar, kulit batang, daun, bunga, biji, dan buah dapat digunakan untuk pengobatan secara tradisional (Wagh dkk., 2009). Kajian fitofarmakologi sebelumnya yang telah dilakukan pada bagian akar tumbuhan turi (*S. grandiflora*) menunjukkan bioaktivitas antituberkulosis yang cukup signifikan pada isolat yang diperoleh (Noviany, dkk., 2012a; 2012b). Berdasarkan paparan di atas dapat dinyatakan bahwa tumbuhan *S. grandiflora* sangat prospek untuk diteliti dalam rangka pencarian sumber-sumber alami obat anti-TB. Penelitian yang dilakukan saat ini merupakan kelanjutan dari kajian fitokimia pada tumbuhan *S. grandiflora* terkait dengan pemanfaatannya sebagai salah satu sumber senyawa bioaktif baru yang potensial sebagai agen anti-TB. Dari hasil penelitian ini telah berhasil dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa-senyawa fenolik jenis 2-arilbenzofuran dari ekstrak etilasetat kulit batang tumbuhan *S. grandiflora*. Proses fraksinasi dan pemurnian fraksi-fraksi lainnya dari ekstrak etilasetat masih terus dilanjutkan untuk menggali senyawa-senyawa bioaktif yang berbeda yang berpotensi sebagai agen anti-TB.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

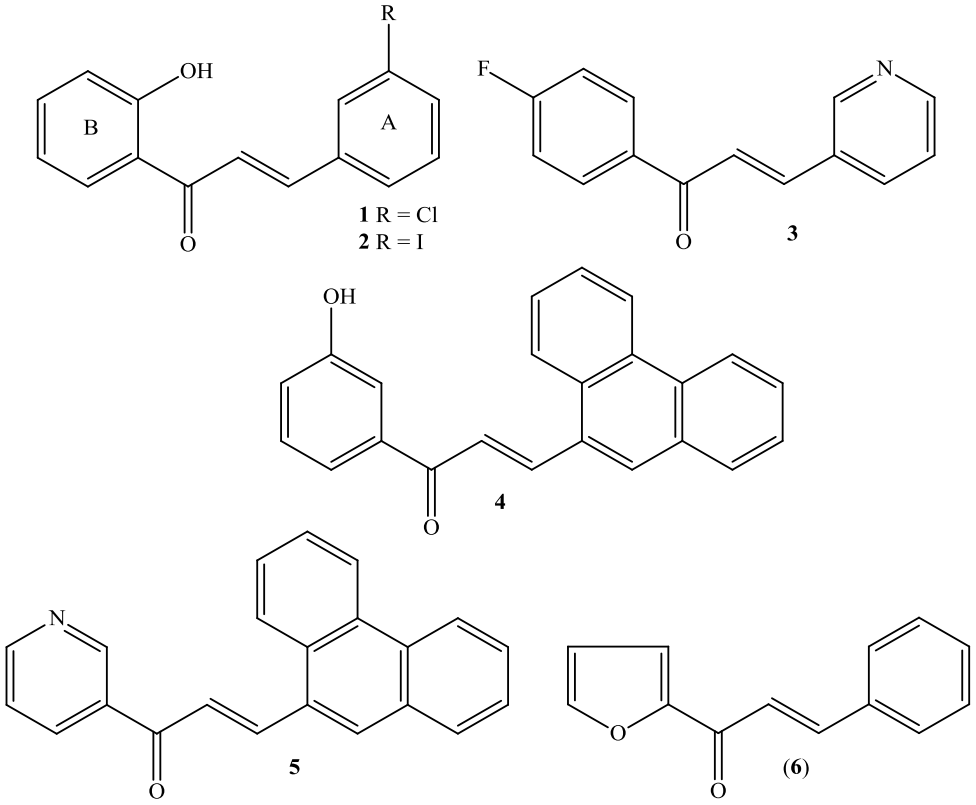
2.1 Kajian Pustaka

Indonesia merupakan salah satu negara 'megadiversity' ketiga dalam hal keberagaman tumbuh-tumbuhan baik tingkat tinggi maupun rendah. Sebagai negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, eksplorasi sumber-sumber senyawa bioaktif baru dari tumbuhan akan menjadi lebih praktis dan menguntungkan. Karena hingga saat ini, tumbuhan masih memegang peranan penting dalam penemuan obat-obatan baru untuk mengatasi berbagai penyakit manusia (Balunas dan Kinghorn, 2005). Bahkan menurut Tulp dkk. (2006), diperkirakan hampir 50% obat-obat yang beredar sekarang bersumber dari tumbuh-tumbuhan. Oleh sebab itu ketertarikan akan sumber senyawa bioaktif dapat membantu industri pembuatan obat baru yang lebih efisien.

Beberapa pendekatan sudah dilakukan untuk menekan jumlah kematian yang disebabkan oleh penyakit ini, diantaranya pencarian sumber-sumber alam dan pembuatan turunan semi sintesis aktif terhadap penyakit TB. Sejumlah obat-obatan anti-TB saat ini adalah diisolasi dari spesies mikroorganisme jamur. Streptomycin adalah salah satu contoh obat anti-TB yang popular yang berhasil diisolasi dari *Streptomyces griseus*. Senyawa-senyawa aktif lain yang berhubungan seperti kanamycin, amikacin dan capreomycin juga berhasil diisolasi dari *S. capreolus (*Herr, dan Redstone, 1966; Nomoto, dkk., 1978). Turunan-turunan senyawa tersebut saat ini digunakan dalam kombinasi antibiotik TB yang lain sebagai *second-line drugs.*

Beberapa kelompok senyawa calkon dan analognya telah dievaluasi bioaktivitasnya terhadap *M. tuberculosis* H37Rv (Lin, dkk., 2002). Diantara senyawa-senyawa tersebut, dua senyawa calkon **1**, **2**, dan empat senyawa mirip calkon **3**-**6** menunjukkan aktivitas daya hambat >90% terhadap *M. tuberculosis*. Bioaktivitas tersebut mengindikasikan bahwa adanya subtituen halogen pada cincin A dari 2'-hidroksicalkon (senyawa **1**-**2**) meningkatkan aktivitas anti-TB senyawa, dimana subtitusi halogen pada posisi 3 memperlihatkan aktivitas anti-TB yang lebih tinggi daripada substitusi halogen pada posisi 2 atau 4. Selain itu, senyawa-senyawa mirip calkon kebanyakan menunjukkan aktivitas anti-TB yang signifikan diantara semua senyawa yang diuji. Diperkirakan dalam seri senyawa tersebut kemungkinan

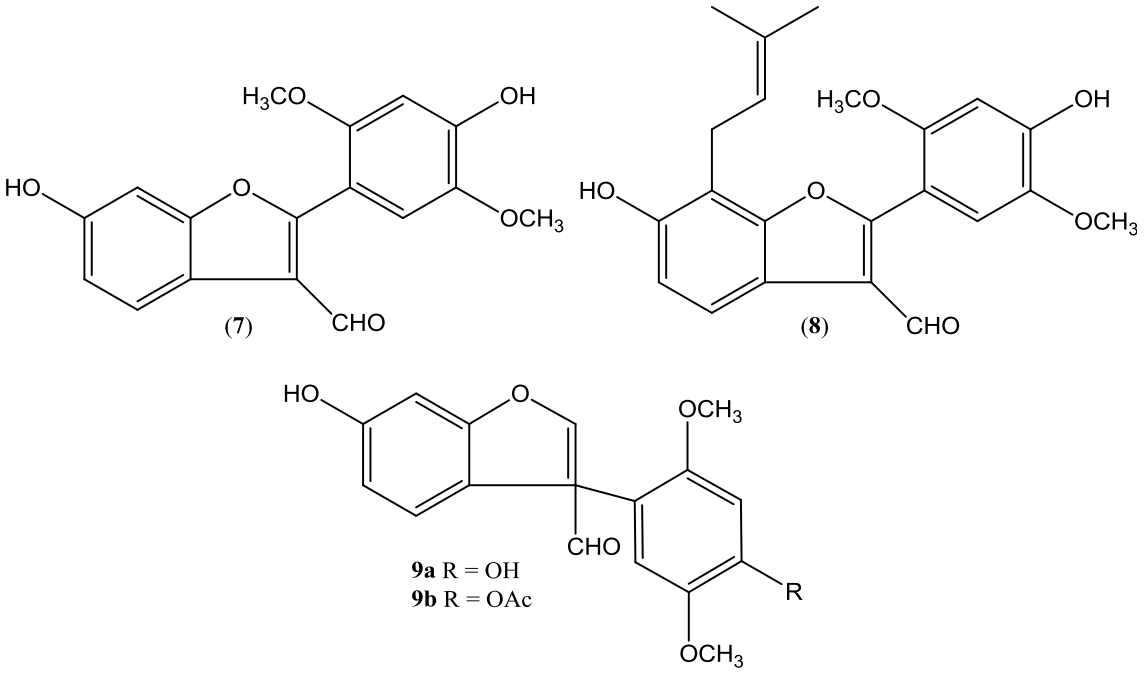
diperlukan suatu gugus lipofilik di satu sisi dan gugus hidrofilik di sisi lain dari 2-propen-1-on (senyawa **3**-**6**)



Famili tumbuhan Fabaceae, khususnya spesies-spesies dalam subfamili Papilionoideae sudah sejak lama menarik perhatian para peneliti tidak hanya disebabkan oleh variasi struktur senyawa yang dihasilkan, tetapi juga karena keaktifan biologisnya yang menarik. Beberapa jenis golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, kumarin, fenilpropanoid, antrakuinon, terpenoid dan glikosida sianogenat telah berhasil diisolasi dari famili tumbuhan ini (Wink, dan Mohamed, 2003). Diantara berbagai golongan senyawa tersebut, jenis isoflavonoid merupakan komponen utama yang ditemukan dalam subfamili Papilionoideae.

Veitch pada tahun 2007 melaporkan bahwa lebih dari 420 senyawa baru jenis isoflavonoid berhasil diisolasi dari tanaman ini. Sejalan dengan penemuan tersebut, ternyata di alam, kelompok senyawa ini memiliki sebaran fungsi biologis yang luas seperti antimikroba, anti serangga, bersifat sebagai zat allelopati (Dixon dan Sumner, 2003), inhibitor terhadap serangan pathogen/penyakit (Graham dan Graham, 2000). Selain itu hasil kajian klinis terhadap kelompok senyawa isoflavonoid memperlihatkan pengaruhnya yang positif dalam kesehatan dan nutrisi manusia,

diantaranya dalam pencegahan penyakit jantung, gejala menopausal dan osteoporosis (Cogolludo, dkk., 2007; Cornwell, dkk., 2004; Di, dkk., 2008; Joung, dkk., 2003; Kottra dan Daniel, 2007). Selain jenis isoflavonoid, senyawa golongan arilbenzofuran juga telah ditemukan oleh Tanaka dkk (2004) dari akar *Erythrina variegata*. Dari hasil penelitiannya dilaporkan bahwa dua senyawa tipe 2-arilbenzofuran, eryvarins P (**7**) dan Q (**8**), serta suatu 3-aril-2,3-dihidrobenzofuran, eryvarin R (**9**) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Dari ketiga senyawa isolat tersebut, eryvarin Q (8) menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling potensial terhadap bakteri uji yang digunakan.



Diantara lebih dari 13000 spesies dalam subfamili Papilionoideae, *Sesbania grandiflora* adalah salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif baru. Seluruh bagian tanaman ini, meliputi akar, kulit batang, gum, daun, bunga dan buah, sudah digunakan secara turun temurun dalam pengobatan tradisional terutama di daerah Asia Tenggara dan India. Beberapa kajian efek farmakologi dari ekstrak pada tanaman ini telah banyak dilakukan dalam rangka memberikan validasi ilmiah mengenai pemanfaatannya secara tradisional. Penggunaan daun *S. grandiflora* sebagai suplemen pada perokok dapat mencegah kerusakan oksidatif pada paru-paru, hati dan ginjal (Ramesh dan

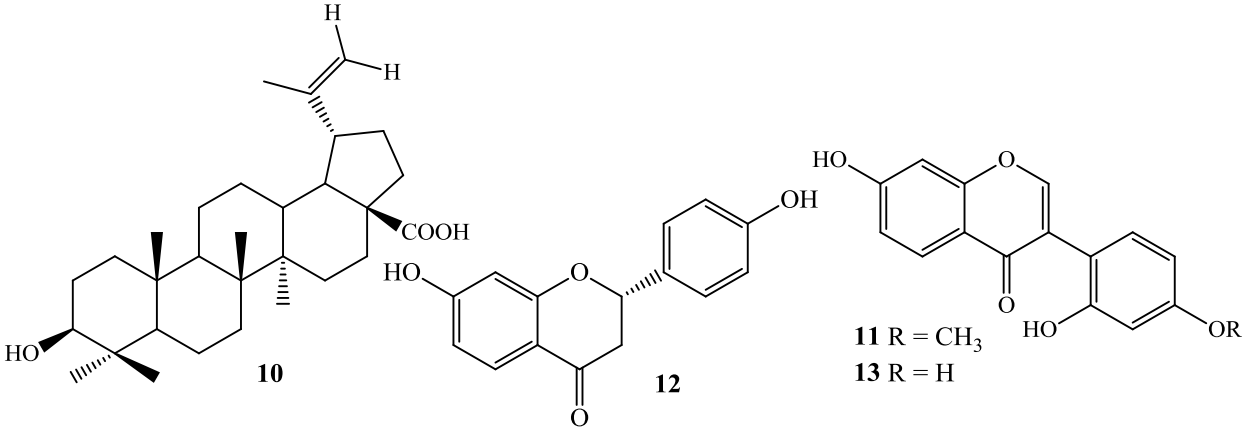
Begum, 2006; Ramesh, dkk., 2007; 2010). Penelitian lain yang dilakukan oleh Doddola *et al.* (2008) menunjukkan bahwa jus daun *S. grandiflora* memberikan aktivitas *antiurolithiatic* yang signifikan terhadap kandungan batu jenis kalsium oksalat. Pada tahun 2010, Laladhas dkk. melakukan uji secara *in vivo* dan *in vitro* terhadap ekstrak bunga *S. grandiflora* menggunakan sel kanker yang berbeda, hasil penelitian menunjukkan bahwa bunga tersebut dapat dijadikan sebagai kandidat obat antikanker yang potensial. Selain itu, kajian fitofarmakologi pada ekstrak *n*-heksana dari biji *S. grandiflora* memperlihatkan aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, analgesik dan antipiretik (Shareef, dkk., 2012). Kebanyakan penelitian yang telah dilakukan pada *S. grandiflora* hanya sebatas skrining fitokimia dan uji efek farmakologi dari ekstrak tanaman.

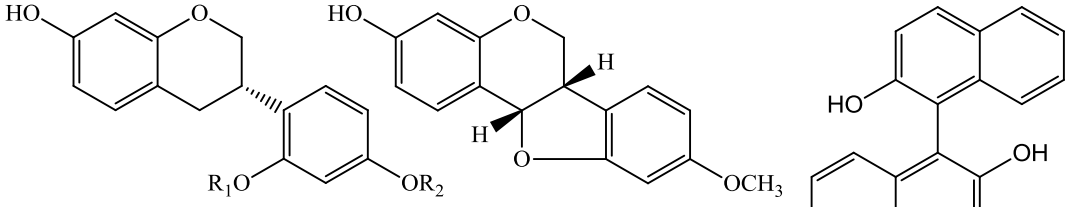
Dari penelusuran literatur yang telah dilakukan, penelitian kimia tumbuhan *S. grandiflora* yang tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan. Sejak satu dekade terakhir ini, penulis telah mengeksplorasi secara intensif senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan tersebut dan mengkaji efek farmakologinya (Noviany, dkk., 2012a; 2012b). Penelitian awal dilakukan pada bagian akar tumbuhan *S. grandiflora* untuk mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif murni yang memiliki aktivitas anti-TB. Penelitian yang telah dilakukan saat ini merupakan penelitian kimia pada *S. grandiflora* khususnya bagian kulit batang kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas anti-TB senyawa-senyawa murni yang diperoleh. Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan bahwa jenis senyawa metabolit sekunder pada kulit batang *S. grandiflora* merupakan jenis fenolik yang berbeda dari kandungan senyawa metabolit sekunder pada bagian akar *S. grandiflora*. Penelitian ini masih terus dilanjutkan untuk mendapatkan data secara menyeluruh mengenai profil kandungan kimia kulit batang *S. grandiflora* dan potensinya sebagai agen anti-TB.

2.2 Studi Pendahuluan yang Sudah Dilaksanakan/Hasil yang Sudah Dicapai

Dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan terhadap akar *S. grandiflora*, diperoleh 9 senyawa murni dan satu campuran isomer. Sembilan senyawa yang berhasil diisolasi yaitu suatu terpenoid, asam betulinat (**10**), dan tujuh senyawa isoflavonoid, yaitu xenognosin B (**11**), liquiritigenin (**12**), 7,2',4'-trihydroxyisoflavone (**13**), demethylvestitol (**14**), vestitol (**15**), medicarpin (**16**),

sativan (**17**), bersama-sama dengan satu senyawa fenolik alam baru, yaitu 1,1'-bi-2-naftol (**18**) (Noviany, dkk., 2012a; 2012b). Semua senyawa hasil isolasi diuji aktivitasnya secara *in vitro* terhadap *strain* bakteri *M. tuberculosis*. Di antara semua senyawa uji, 1,1'-bi-2-naftol ditemukan paling aktif pada uji anti-TB dengan nilai konsentrasi hambat minimum 312.5 x 10^{-2} µg/mL.



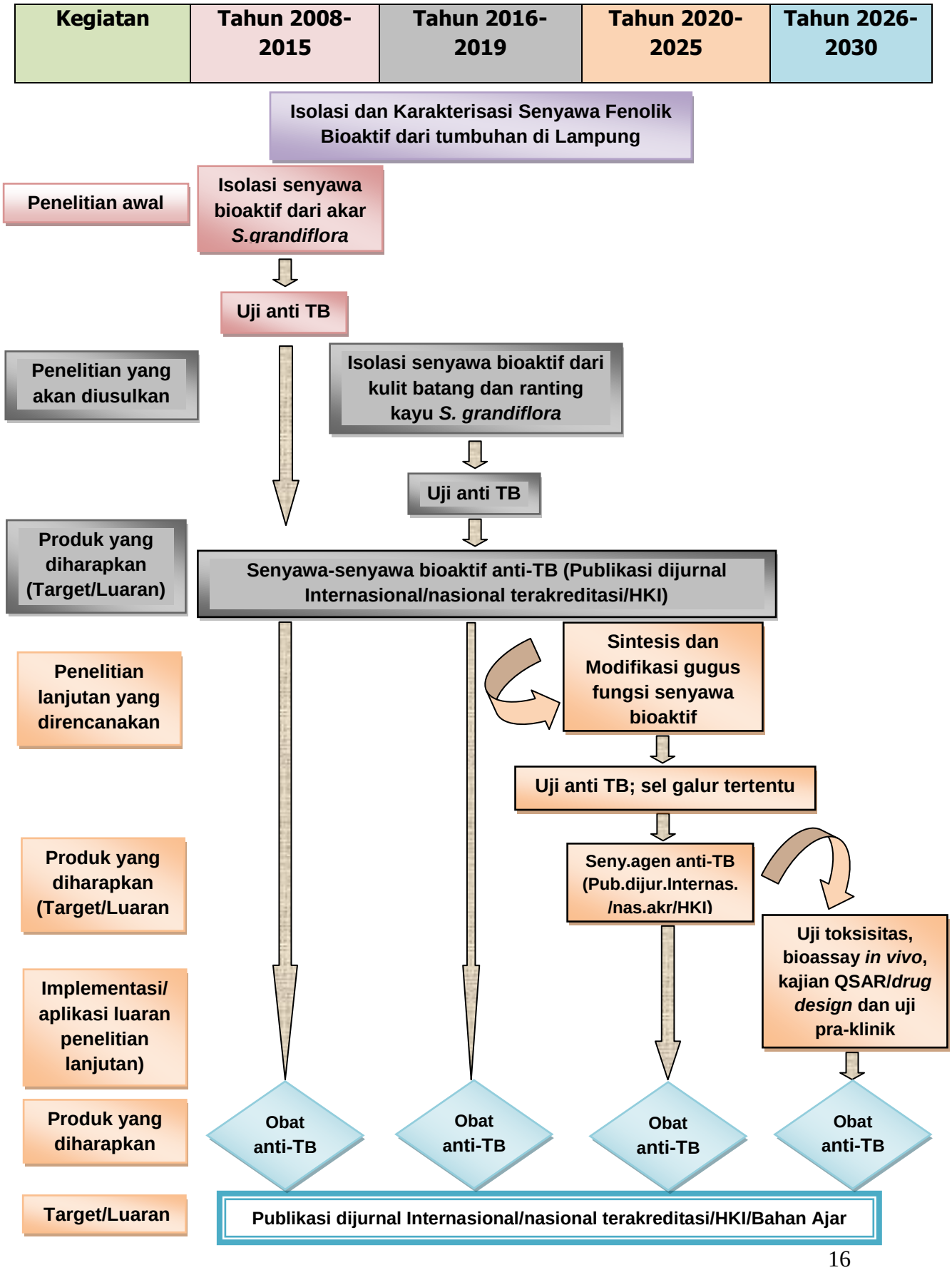


14 R_1 = H; R_2 = H
15 R_1 = H; R_2 = CH_3
17 R_1 = CH_3; R_2 = CH_3

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan sebelumnya serta studi pendahuluan yang dilakukan, dapat dinyatakan bahwa *S. grandiflora* merupakan tumbuhan obat tradisional yang bernilai terutama dalam mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi. Studi lebih lanjut pada *S. grandiflora* masih perlu dilakukan untuk mencari senyawa-senyawa aktif lainnya dan mengklarifikasi potensi lain dari tanaman tersebut sebagai sumber yang bermanfaat bagi penemuan jenis obat baru khususnya obat anti-TB. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dari kulit batang dan ranting kayu tumbuhan *S. grandiflora*, dilanjutkan dengan uji aktivitas anti-TB senyawa isolat terhadap *M. tuberculosis*. Senyawa-senyawa murni yang menunjukkan aktivitas anti-TB diharapkan dapat dijadikan sebagai agen anti-TB baru yang dapat menggantikan obat anti-TB yang telah resisten.

2.3 Peta Jalan Penelitian

Tabel 1. Peta Jalan Penelitian



BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang dilakukan meliputi tujuan umum dan tujuan khusus. Secara umum penelitian kimia pada kulit batang *S. grandiflora* bertujuan untuk mengeksplorasi kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan dan menguji efek farmakologinya. Tujuan umum dilakukan melalui 4 tahapan yaitu (1) skrining fitokimia; (2) ekstraksi dan isolasi; (3) fraksinasi dan pemurnian; dan (4) uji bioaktivitas senyawa murni secara *in vitro* terhadap *M. tuberculosis*. Adapun tujuan khusus dalam setiap tahap adalah mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif murni yang bersifat anti-TB dari kulit batang tumbuhan *S. grandiflora* yang dilakukan melalui tahapan berikut:

Tahap pertama

Mendapatkan informasi mengenai jenis kandungan senyawa metabolit sekunder (seperti flavonoid, alkaloid, fenolik, terpenoid/steroid, dan saponin) dari kulit batang tumbuhan *S. grandiflora* dan mendapatkan senyawa-senyawa murni dari jaringan tumbuhan tersebut. Untuk mencapai tujuan pada tahap ini langkah-langkah yang akan dilakukan adalah proses isolasi, fraksinasi dan pemurnian yang meliputi maserasi menggunakan pelarut bergradien kepolaran, partisi menggunakan teknik-teknik kromatografi seperti kromatografi cair vakum, kromatografi kolom gravitasi, kromatografi kolom flash, dan kromatotron. Senyawa hasil partisi yang diperoleh kemudian dimurnikan dengan cara kristalisasi, rekristalisasi, kromatografi kolom, atau kromatografi lapis tipis preparatif. Senyawa yang sudah murni selanjutnya dikarakterisasi secara fisika dan spektroskopi UV-VIS, IR, NMR, dan MS.

Tahap kedua

Mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif murni yang menunjukkan aktivitas antituberkulosis. Untuk mencapai tujuan pada tahap ini, senyawa-senyawa murni yang diperoleh pada tahap pertama kemudian diuji aktivitas biologisnya secara *in vitro* terhadap *M. tuberculosis* menggunakan metode dilusi agar.

3.2 Manfaat Penelitian

Berdasarkan dari paparan di awal bahwa tanaman adalah terbukti sebagai salah satu sumber terpenting dalam pengembangan bahan-bahan obat baru (Newman,

dan Cragg, 2007; Newman, dkk., 2003), sehingga perhatian para peneliti tertumpu pada tumbuhan sebagai sumber potensial agen anti TB yang baru (Pauli, dkk., 2005; Sanchez dan Kouznetsov, 2010). Beberapa peneliti dalam reviewnya melaporkan bahwa sejumlah spesies tumbuhan yang diteliti menunjukkan aktivitas anti TB yang menjanjikan (Arya, 2011; Negi, dkk., 2010). Selain itu sejumlah ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari beberapa tumbuhan dan spesies yang berhubungan, dilaporkan memperlihatkan aktivitas menghambat yang baik terhadap *M.tuberculosis* (Newman, dkk., 2002; Copp dan Pearce, 2007). Dari penemuan-penemuan tersebut, masih belum dijumpai kandidat obat TB yang lulus uji klinik. Tumbuhan *S. grandiflora* merupakan salah satu kandidat obat TB yang berpotensi untuk diteliti dan dikembangkan.

Sejalan dengan isu permasalahan penyakit TB tersebut dan merujuk dari hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan oleh penulis dan tim terhadap jaringan akar dan kulit batang tumbuhan *S. grandiflora*, maka dapat diuraikan beberapa manfaat penelitian yang dilakukan diantaranya:

a. Senyawa-senyawa murni hasil isolasi (isolat) dari kulit batang *S. grandiflora* yang diperoleh dapat digunakan untuk melakukan berbagai uji aktivitas biologis terhadap sel galur yang berbeda seperti sel tumor/kanker, virus, fungi/jamur, dan berbagai jenis mikroba.
b. Di bidang farmasi, kedokteran, dan pengobatan, isolat-isolat yang didapatkan dapat dimanfaatkan sebagai senyawa rujukan (*lead compounds*) atau bahan awal/model molekul untuk sintesis, semi sintesis, modifikasi struktur kimia maupun senyawa-senyawa analog dalam rangka mendesain secara rasional pola/bentuk obat baru untuk penemuan dan pengembangan obat-obatan.
c. Senyawa-senyawa murni yang menunjukkan bioaktivitas anti-TB yang tinggi, dapat dipromosikan sebagai obat/agen anti-TB baru dalam rangka menunjang kesehatan masyarakat.
d. Struktur senyawa bioaktif anti-TB yang diperoleh dapat memberikan kontribusi pada bidang ilmu kimia organik khususnya dalam mempelajari hubungan struktur dan keaktifan senyawa (SAR) yang menunjang kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian tahun pertama ini telah dilaksanakan selama kurang lebih 6 bulan terhitung dari bulan Maret 2017 hingga Agustus 2017, di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Lampung.

4.2 Bahan dan Alat

A. Bahan Tumbuhan

Bagian tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang tumbuhan turi (*S. grandiflora*) yang diperoleh dari daerah stasiun kereta api Labuhan Ratu, Bandar Lampung. Determinasi spesies tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense, LIPI, Bogor.

B. Bahan Kimia/Reagen

Bahan kimia yang digunakan diantaranya asam sulfat pekat (H2SO4), serium (IV) sulfat, kalium iodida, bismuth (III) nitrat, barium klorida, kalium bromida, $FeCl_3$, $HgCl_2$, serbuk Mg, asam asetat glasial, asam klorida, etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), etanol, *n*-heksana (n-C_6H_{14}), aseton (C_3H_6O), aseton-d_6, akuades (H_2O), serium sulfat 1,5% dalam asam sulfat 2 N, diklorometana (CH_2Cl_2), silika gel Merck G 60 (0.063-0.200 mm), silika gel 60 GF_{254}, plat KLT, dan plat KLT preparatif

C. Bahan Uji Bioaktivitas

Mycobacterium tuberculosis, Middle Brook 7H9 broth, Middle Brook 7H10 broth, Media Lowenstein Jensen, OADC, Tween-80, dimetil sulfoksida, gliserol, etambutol, akuades steril, akua bidestilata, petridis, mikropipet tips.

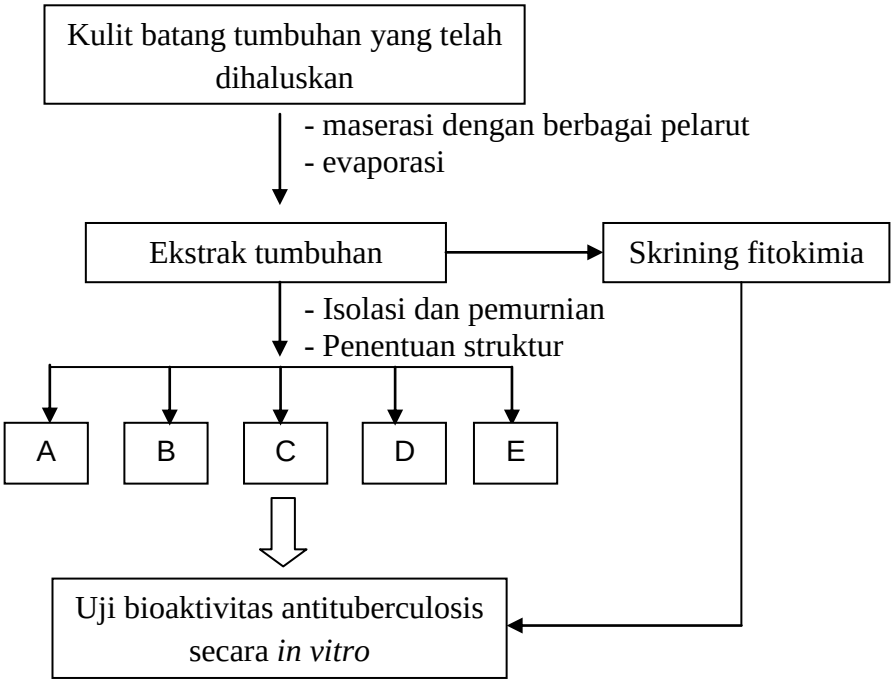
D. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain alat-alat gelas laboratorium, penguap putar vakum, komatografi lapis tipis, satu set alat kromatografi cair vakum, satu set kolom kromatografi, kromatotron, inkubator, timbangan analitik, *vortex*, tabung *Eppendrof*, pengukur titik leleh Fisher John, lampu UV merk Spektroline model ENF-240 C/F, pipet kapiler, spektrofotometer FT-IR Nicolet Avatar 360 spektrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), NMR 500 MHz (^{1}H) dan 125 MHz (^{13}C) spektrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA),

micrOTOF-Q II™ spektrometer massa (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA), serta UV-Vis Cary 100 spektrofotometer (Agilent Technologies).

4.3 Prosedur Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan secara garis besarnya meliputi tahapan berikut: skrining fitokimia, ekstraksi, isolasi, dan pemurnian senyawa dari kulit batang *S. grandiflora*; identifikasi struktur senyawa murni secara fisika dan spektroskopi UV, IR, MS dan NMR; kemudian uji bioaktifitas antituberkulosis secara *in vitro* terhadap ekstrak/fraksi dan senyawa murni yang sudah teridentifikasi strukturnya. Bagan alir penelitian secara ringkas dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Bagan alir penelitian

A. Skrining Fitokimia

Kulit batang *S. grandiflora* dicuci bersih dengan air dan diiris kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah panas sinar matahari selama kurang lebih satu minggu. Kulit batang yang telah kering lalu digiling hingga menjadi serbuk halus. Sebanyak 100 gram serbuk halus kulit batang *S. grandiflora* direndam menggunakan metanol selama 24 jam sehingga didapatkan ekstrak metanol yang digunakan untuk skrining fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan jenis/golongan senyawa metabolit sekunder dalam kulit

batang *S. grandiflora*, diantaranya uji flavonoid, alkaloid, fenolik, uji terpenoid/steroid dan saponin.

1. Pemeriksaan Alkaloid

Senyawa alkaloid dalam sampel dapat diketahui keberadaanya dengan cara menambahkan lima tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Meyer ke dalam 1 mL sampel. Terbentuknya endapan putih menunjukan adanya alkaloid. Pereaksi Mayer dibuat dari satu gram KI yang dilarutkan dengan 20 mL akuades. Kemudian ke dalam larutan KI tersebut ditambahkan 0, 271 gram $HgCl_2$ hingga larut (Ratu, 2015).

2. Pemeriksaan Flavanoid

Pemeriksaan senyawa flavanoid dilakukan dengan cara menambahkan satu gram serbuk Mg dan 10 mL HCL pekat ke dalam 1 mL sampel. Perubahan warna larutan menjadi kuning atau merah menandakan adanya senyawa flavanoid (Ratu, 2015).

3. Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

Pemeriksaan senyawa terpenorid dan steroid dilakukan dengan cara menambahkan 1mL asam asetat glasial dan 1 mL H_2SO_4 pekat (Lieberman-Burchard) ke dalam 1 mL sampel. Jika warna berubah menjadi biru/ungu menandakan adanya senyawa steroid. Sedangkan jika berubah menjadi merah atau kuning menandakan adanya senyawa terpenoid (Ratu, 2015).

4. Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan senyawa tanin dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes $FeCl_3$ 1% ke dalam 1 mL sampel. Perubahan warna menjadi biru tua menunjukan adanya senyawa fenolik. Kemudian ditambahkan 0,5 mL gelatin 2% jika terbentuk endapan menandakan positif adanya senyawa tanin (Ratu, 2015).

5. Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan senyawa saponin menggunakan metode Forth dilakukan dengan cara memasukan 1 mL sampel kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml aquades lalu dikocok selama 30 detik. Apabila terbentuk busa yang mantab (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukan adanya saponin pada sampel tersebut (Ratu, 2015).

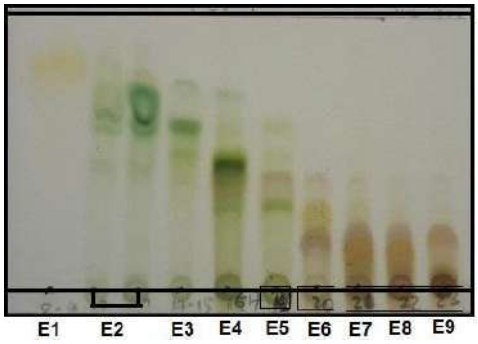
B. Ekstraksi

Serbuk halus kulit batang turi ditimbang sebanyak 1500 gram kemudian direndam dengan menggunakan beberapa pelarut seperti *n*-heksana selama 1x 24 dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, perlakuan yang sama juga dilakukan menggunakan pelarut etil asetat dan metanol. Ketiga ekstrak hasil perendaman

masing-masing disaring dengan kertas saring. Masing-masing filtrat dari berbagai pelarut yang didapat lalu dipekatkan dengan penguap putar vakum sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana (15 g), etil asetat (60 g), dan metanol (53 g). Pada penelitian awal ini, ekstrak etil asetat dipilih terlebih dahulu untuk diisolasi dan dimurnikan lebih lanjut karena memberikan tes positif fenolik pada skrining fitokimia.

C. Isolasi dan Pemurnian

Pada tahap ini ekstrak EtOAc (60 gram) dibagi menjadi tiga bagian, disebabkan jumlah sampel maksimal yang sesuai dengan ukuran kolom adalah kurang lebih 20 gram. Masing masing ekstrak EtOAc (20 gram) kemudian difraksinasi menggunakan teknik KCV menggunakan eluen EtOAc/*n*-heksana dengan gradien kepolaran (0-100% EA) dan diakhiri dengan metanol 100%. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari hasil KCV I-III kemudian digabungkan berdasarkan nilai *Rf* pada kromatogram KLT, sehingga diperoleh 9 fraksi gabungan utama (Fr. E1–E9) (Gambar 2).

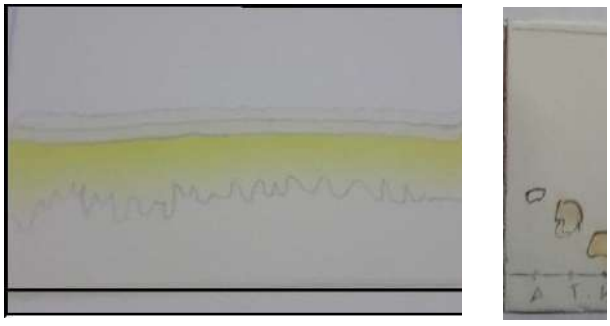


Gambar 2. Kromatogram hasil KCV

Fraksi E7 (237 mg) kemudian difraksinasi lebih lanjut dengan teknik KKG menggunakan eluen aseton/*n*-hexane (2:98–65;35 v/v) secara gradien kepolaran, sehingga dihasilkan 87 subfraksi (Fr. E7.1–E7.87). Kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning terbentuk pada sub-fraksi ke-38-52. Kristal tersebut tumbuh setelah dibiarkan selama satu hari pada suhu kamar. Rekristalisasi sejumlah kristal yang terbentuk kemudian menghasilkan senyawa murni pertama yang diberi kode **N1** (5,2 mg) (Gambar 3).

Gambar 3. Senyawa isolasi pertama (**N1**)

Pemisahan dan pemurnian kemudian dilanjutkan pada fraksi E8 (325 mg) dengan teknik yang sama menggunakan eluen aseton/*n*-heksana (5:95–4;60 v/v) secara gradien kepolaran, sehingga diperoleh 42 subfraksi (Fr. E8.1–E8.42). Subfraksi-subfraksi yang menunjukkan profil KLT yang sama kemudian digabung sehingga diperoleh 3 gabungan subfraksi utama (Fr. E8.1–E8.3). Sufraksi E8.2 (38 mg) lalu dimurnikan lebih lanjut dengan teknik KLT preparatif *(plates*: 20 × 7 × 0.5 mm) (Gambar 4a dan 4b) menggunakan eluen aseton/:*n*-heksana (3:7 v/v) secara gradien kepolaran untuk menghasilkan senyawa murni kedua berupa kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning yang diberi kode **N2** (4.9 mg) (Gambar 5a). Selain itu subfraksi-subfraksi hasil fraksinasi fraksi E-7 dengan nilai Rf yang lebih rendah kemudian dimurnikan lebih lanjut dengan eluen aseton/*n*-heksana (5:95 v/v) dengan gradien kepolaran. Setelah dibiarkan selama 4 hari, diperoleh padatan berbentuk amorf berwarna kuning diberi kode **N3** (39 mg) (Gambar 5b).



(a) (b)

Gambar 4. Kromatogram hasil KLT Preparatif subfraksi E3.2 (a); Kromatogram hasil fraksinasi subfraksi E3.2 (b)

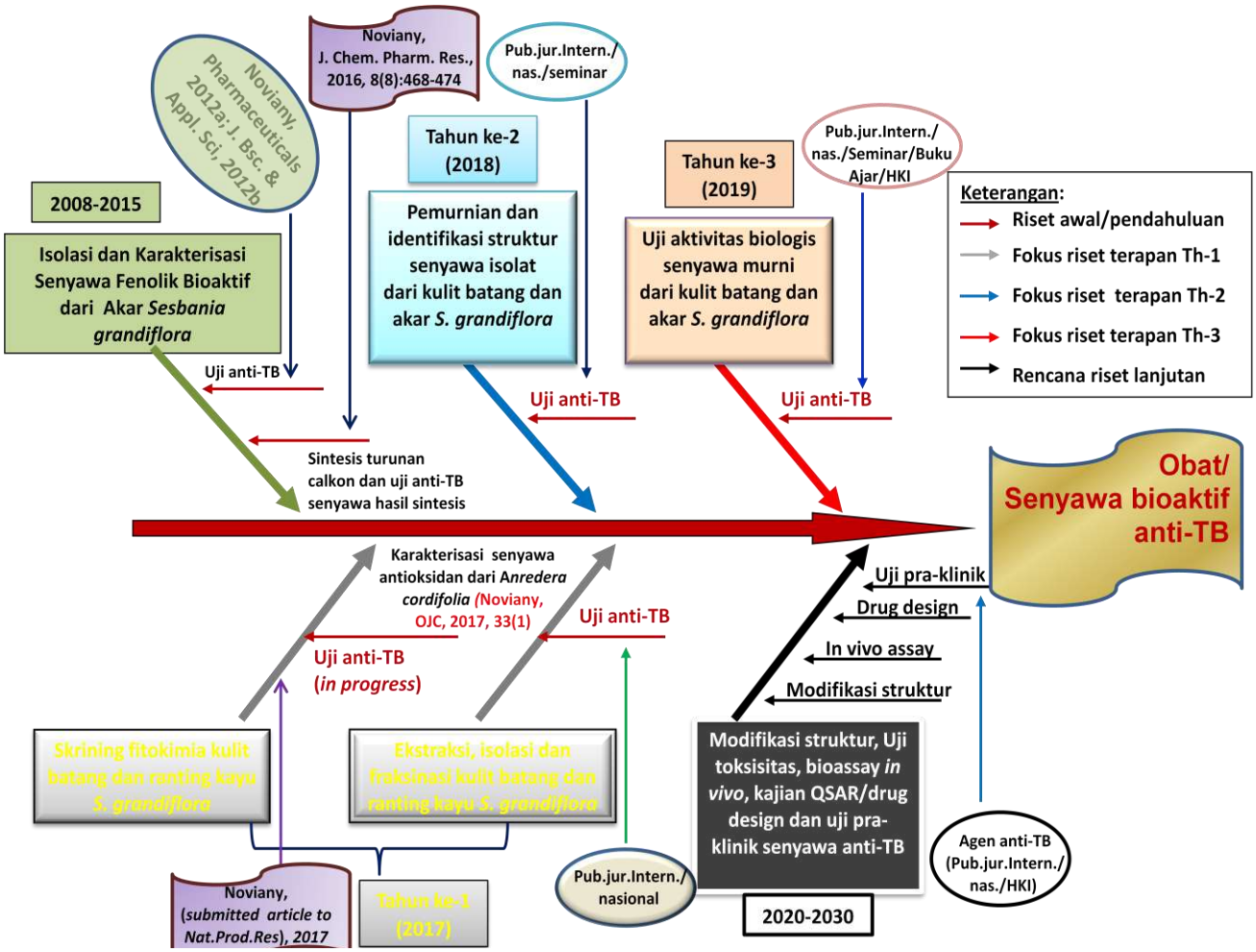
(a) (b)

Gambar 5. Senyawa isolasi ke-2 (**N2**) (a); Senyawa isolasi ke-3 (**N3**) (b)

D. Elusidasi struktur

Penentuan struktur senyawa hasil isolasi **N1**, **N2**, dan **N3** dilakukan secara fisika dan spektroskopi meliputi uji titik leleh dan analisis spektroskopi UV-Vis, IR, MS dan NMR.

Secara keseluruhan hasil penelitian dan outputnya dapat dilihat pada gambar 6

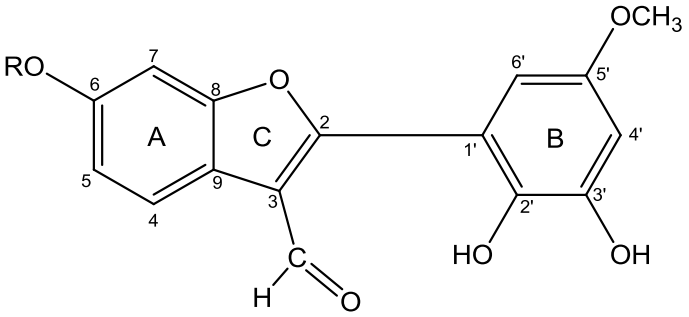


Gambar 6. Diagram *fishbone* penelitian

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Hasil

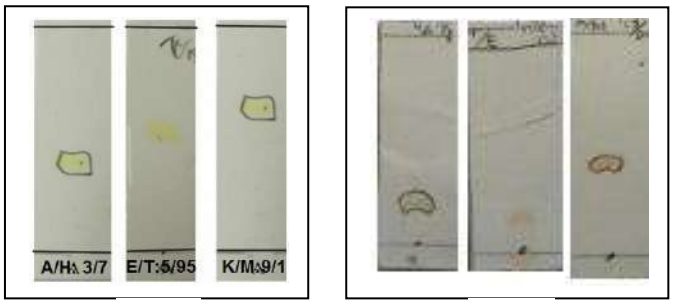
Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dua senyawa fenolik baru yang jarang ditemukan di alam yaitu senyawa tipe 2-arilbenzofuran yang diberi nama sebagai sesbagrandiflorain A (**N1**) dan B (**N2**), serta satu senyawa fenolik lain yang saat ini sedang dalam proses analisis dan identifikasi struktur (**N3**). Struktur kedua senyawa fenolik baru dapat dilihat pada Gambar 7. Kedua senyawa diperoleh dari ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora* (turi putih) melalui proses ekstraksi, isolasi, fraksinasi, dan pemurnian secara bertahap dan berulang.



(**N1**) R = OCH_3
(**N2**) R = H

Gambar 7. Struktur senyawa-senyawa hasil isolasi

Analisis kemurnian dilakukan dengan dua cara yaitu dengan teknik KLT menggunakan minimal 3 sistem eluen yang berbeda dan dengan penentuan titik leleh. Hasil analisis KLT senyawa **N1**, **N2**, dan **N3** dengan menggunakan 3 sistem eluen disajikan pada Gambar 8. Berdasarkan kromatogram hasil KLT dapat dinyatakan bahwa kristal yang diperoleh telah murni, yang ditunjukkan dengan noda tunggal pada 3 sistem eluen yang digunakan, yaitu aseton/*n*-heksana 3/7; etilasetat/toluena: 5/95; dan kloroform/metanol: 99/1.



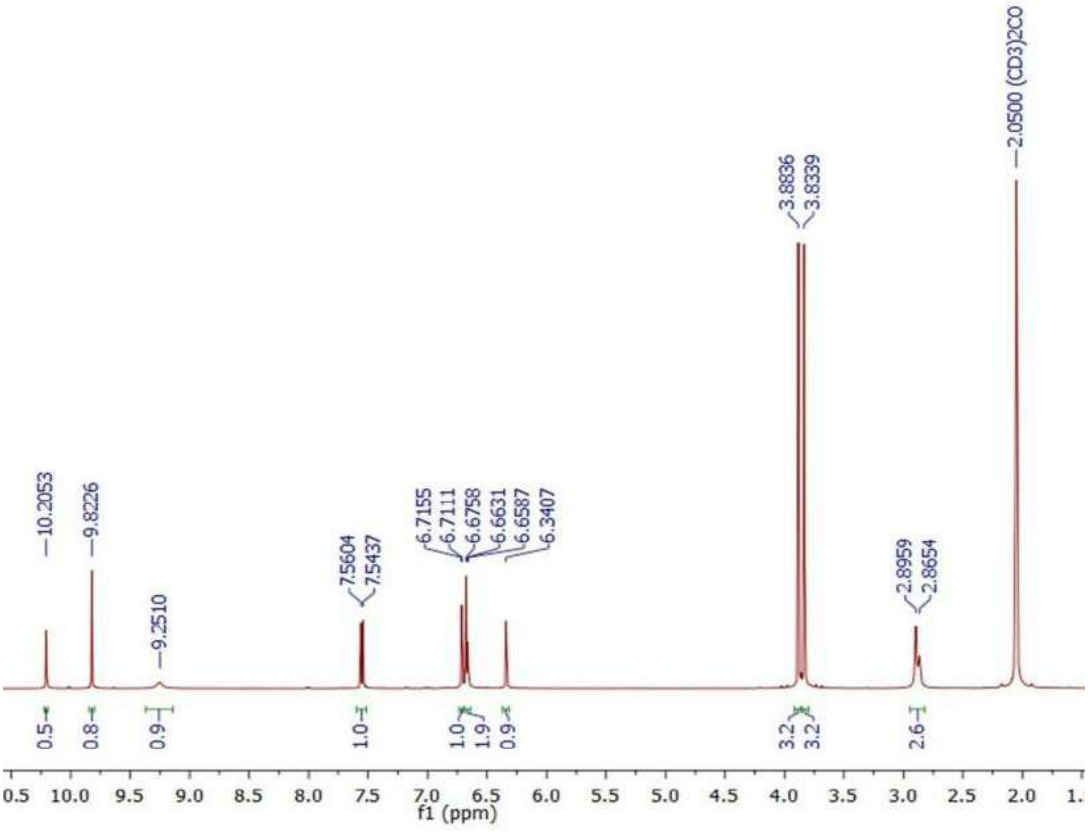
(a) (b)

Gambar 8. Kromatogram hasil analisis KLT 3 sistem eluen **N1** (a) dan **N2** (b)

A. Penentuan struktur Isolat I : Sesbagrandiflorain A (N1)

Senyawa **N1** diperoleh sebagai kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning; titik leleh. 215–216ºC; UV (MeOH) λ_{max} 213, 264, dan 363; serapan IR pada 3407, 2924, 1652, dan 1438 cm^{-1}; ESI-TOF-MS m/z 313.0709 $[M-H]^+$, sesuai dengan rumus formula for $C_{17}H_{14}O_6$; untuk data-data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada Tabel 1.

Spektrum ^1H NMR **N1** (Tabel 1; Gambar 9) memperlihatkan satu set proton aromatik dengan pola pemecahan AMX pada cincin A dengan nilai δ_H6.67 (*dd*, *J* = 8.4; 2.2 Hz, H-5), 6.71 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-7), dan 7.55 (*d*, *J* = 8.4 Hz, H-4), dan suatu gugus metoksil (OCH_3) pada δ_H3.88 (*s*), serta satu proton dari gugus aldehid CHO pada δ_H9.82 (*s*) dari suatu kerangka benzofuran. Sepasang proton lainnya yang saling kopling *meta* terlihat pada δ_H 6.34 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-4') dan 6.68 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-6') bersama-sama dengan satu gugus metoksil pada δ_H 3.83 (*s*), mengindikasikan adanya suatu 1,2,3,5-tetrasubstitusi benzene di cincin B.



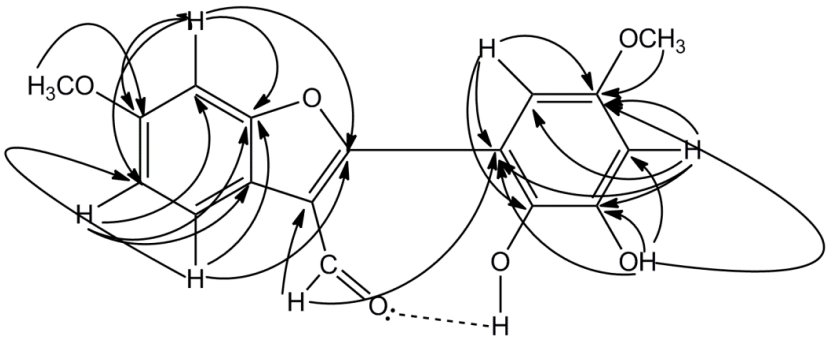
Gambar 9. Spektrum^1H NMR senyawa **N1**

Tabel 1. Data ^{1}H and ^{13}C NMR senyawa **N1** dan **N2**

Cincin	No atom C	1[a]		2[a]	
		δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]	δ_c (ppm)	δ_H (ppm); *J* (Hz) [b]	δ_c (ppm)
A	4	7.55 (*d*, *J* = 8.4)	133.75	7.53 (*d*, *J* = 8.4)	133.52
	5	6.67 (*dd*, *J* = 8.4 & 2.2)	109	6.61 (*dd*, *J* = 8.4 & 2.2)	109.17
	6	-	160	-	157.85
	7	6.71 (*d*, *J* = 2.2)	100.56	6.64 (*d*, *J* = 2.2)	104.2
	8	-	162.91	-	162.51
	9	-	109.34	-	108.25
	MeO-CHO	3.88 (*s*)	56.17	- 9.42 (*s*)	- -
B	1’	-	107.79	-	107.89
	2’	-	157.36	-	157.34
	3’	-	152.79	-	152.79
	4’	6.34 (*d*, *J* = 2.2)	98.89	6.34 (*d*, *J* = 2.2)	98.84
	5’	-	161.96	-	161.89
	6’	6.68 (*d*, *J* = 2.2)	88.5	6.67 (*d*, *J* = 2.2)	88.5
C	2	-	164.44	-	164.68
	3	-	119.18	-	118.71
	MeO-CHO	3.83 (*s*) 10.21 (*s*)	56.11	3.83 (*s*) 9.23 (*s*) & 10.26 (*s*)	56.1
	CHO	9.82 (*s*)	191.1	9.97 (*s*)	191.29

[a] ^{1}H NMR dan ^{13}C NMR (500 MHz) diukur dalam Aseton-d_6.
[b] Multiplisitas sinyal dalam tanda kurung: *s*, singlet; *d*, doublet; *dd*, doubledoublet

Data spektrum ^{13}C NMR yang ditabulasikan pada Tabel 1 juga mengindikasikan adanya kerangka suatu arilbenzofuran yang didukung dengan munculnya sinyal karbon pada δ_C 133,8 (C-4), 109,0 (C-5), 100,6 (C-7), 98,9 (C-4’), dan 157,4 (C-6’). Dari data-data ^{1}H and ^{13}C NMR tersebut di atas, struktur senyawa **N1** disarankan sebagai jenis 2-arilbenzofuran. Karakterisasi selanjutnya dilakukan melalui analisis korelasi jarak jauh antara karbon dan proton (HMBC) (Gambar 10). Penempatan posisi substituen gugus OCH_3 dan OH dalam cincin A dan B berturut-turut dapat ditentukan dengan analisis HMBC. Dengan demikian, berdasarkan dari analisis spektroskopi UV, IR, MS, dan ^{1}H NMR dan ^{13}C NMR (1D dan 2D), maka senyawa **N1** diidentifikasi sebagai 6-metoksi-2-(2’,3’-dihidroksi-5’-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehid atau diberi nama sebagai sesbagrandiflorain A.



Gambar 10. Korelasi jarak jauh proton dan karbon senyawa **N1**

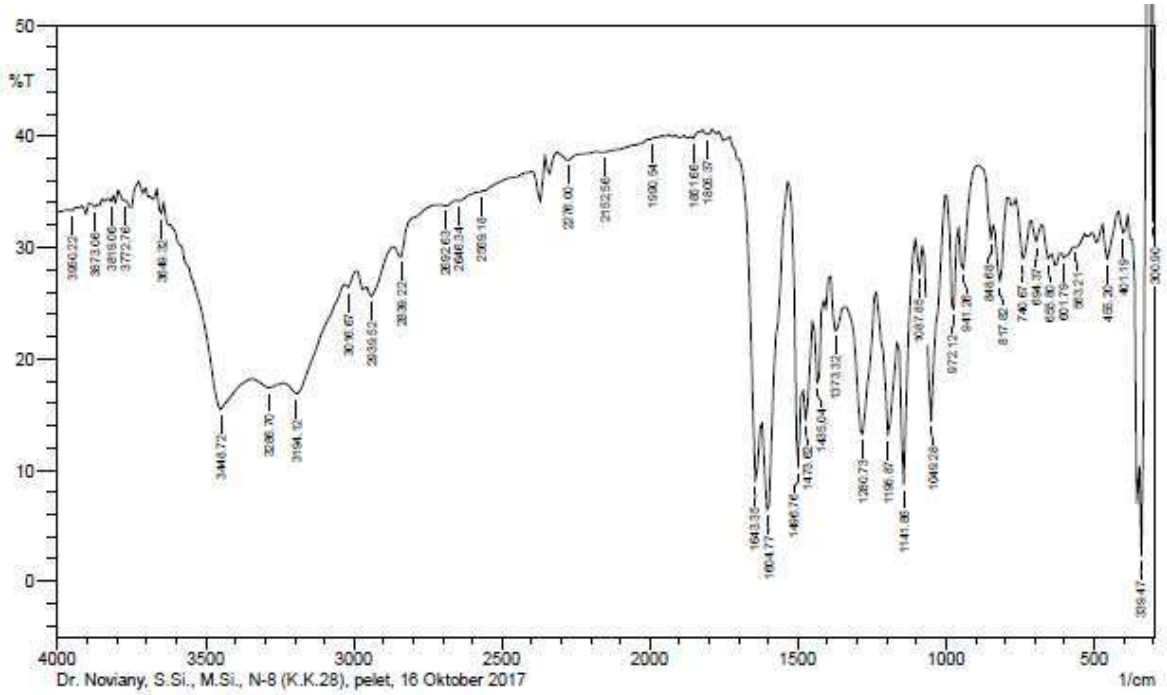
B. Penentuan struktur Isolat II : Sesbagrandiflorain B (N2)

Senyawa **N2** diperoleh sebagai kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning; titik leleh. 172–173ºC; UV (MeOH) λ_{max} 215, 265, and 368; serapan IR pada 3461 3407 dan 1640 cm^{-1}; ESI-TOF-MS m/z 299.0554 $[M-H]^+$, sesuai dengan rumus formula for $C_{16}H_{12}O_6$; untuk data-data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada Tabel 1.

Elusidasi struktur senyawa **N2** dilakukan dengan cara yang sama sebagaimana penentuan struktur senyawa **N1**. Berdasarkan analisis data-data spektroskopi UV, IR, MS, dan ^1H NMR dan ^{13}C NMR (1D dan 2D), maka senyawa **N2** diidentifikasi sebagai 6-hidroksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehid atau diberi nama sebagai sesbagrandiflorain B. Senyawa **N2** sangat mirip dengan senyawa **N1**, perbedaan keduanya hanya terletak pada substituen yang terikat pada C-6 pada cincin A. Pada posisi C-6 dari senyawa **N1**, gugus yang terikat adalah gugus metoksil, sedangkan pada senyawa **N2** gugus yang terikat adalah gugus hidroksi. Jenis senyawa 2-arilbenzofuran (senyawa **7** dan **8**) yang berbeda, pernah diisolasi sebelumnya oleh Tanaka dkk. pada tahun 2004 dari akar *Erythrina variegata.* Senyawa tipe 2-arilbenzofuran baru pertama kali ditemukan pada spesies *S. grandiflora*. Sejauh penelusuran literatur yang telah dilakukan, kedua senyawa hasil isolasi pada penelitian ini termasuk senyawa baru dan belum pernah ditemukan sampai saat laporan ini dibuat. Adapun pengujian bioaktivitas anti-TB senyawa **N1** dan **N2** saat ini sedang dilakukan oleh tim peneliti lain yang berkompetensi di bidang bioassay dan saat ini masih menunggu hasil pengujian.

C. Penentuan struktur Isolat III : Kode N3

Senyawa **N3** diperoleh sebagai padatan amorf berwarna kuning; spektrum IR dapat dilihat pada gambar 11; ^{1}H NMR (Aseton-d_6) 3.70 (3H, *s*, H-OCH_3), 3.73 (3H, *s*, H-OCH_3), 3.84 (3H, *s*, H-OCH_3), 3,89 (3H, *s*, H-OCH_3), 7,12 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz), 7,09 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz), 7,21 (1H, *d*, *J* = 2.3 Hz), 7,01 (1H, *dd*, *J* = 2.3; 8,6 Hz), 6.86 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz), 6,85 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz), 6,71 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz), 6,36 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz), 8,02 (1H, *d*, *J* = 8,6 Hz), 8,53 (1H, *br s*, H-OH), 9,81 (1H, *s*, H-OH), 10,03 (1H, *s*), 10.17 (1H, *s*).



Gambar 11. Spektrum IR senyawa **N3**

Dari hasil analisis spektrum IR dan ^{1}H NMR senyawa **N3**, dapat diperkirakan bahwa senyawa **N3** merupakan suatu senyawa golongan flavonoid yang berbeda dengan **N1** dan **N2**. Elusidasi dan identifikasi struktur senyawa **N3** masih terus dilakukan sampai saat ini. Setelah diperoleh kemungkinan prediksi struktur senyawa **N3**, selanjutnya akan dilakukan analisis spektrometri massa untuk memastikan hasil elusidasi struktur.

5.2 Luaran Yang Dicapai

Luaran yang dicapai pada penelitian tahun pertama ini telah terlaksana dengan baik sesuai dengan rencana capaian yang diusulkan (Tabel 2) pada proposal.

Tabel 2. Rencana Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			TS[1)]	TS+1	TS+2
1	Publikasi ilmiah[2)]	Internasional	submitted	accepted	published
		Nasional Terakreditasi		submitted	published
2	Pemakalah dalam temu ilmiah[3)]	Internasional		terdaftar	Sudah dilaksanakan
		Nasional Terakreditasi	terdaftar	Sudah dilaksanakan	
3	Invited Speaker dalam temu ilmiah[4)]	Internasional	Tidak ada		
		Nasional Terakreditasi	Tidak ada		
4	Visiting Lecturer[5)]	Internasional	Tidak ada		
5	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)[6)]	Paten			terdaftar
		Paten sederhana			
		Hak Cipta			
		Merek dagang			
		Rahasia dagang			
		Desain Produk Industri			
		Indikasi Geografis			
		Perlindungan Varietas Tanaman			
		Perlindungan Topografi Sirkuit Terpadu			
6	Teknologi Tepat Guna[7)]				
7	Model/**Purwarupa**/Desain/Karya seni/Rekayasa Sosial[8)]		Ekstrak/ fraksi	Senyawa murni	Senyawa anti-TB
8	Buku Ajar (ISBN)[9)]				draft
9	Tingkat Kesiapan Teknologi[10)]				Skala 2

Berdasarkan rencana target capaian yang ditabulasikan pada Tabel 2, jenis luaran yang ditargetkan pada penelitian tahun ke-1 mencakup tiga jenis luaran, yaitu publikasi ilmiah, pemakalah dalam temu ilmiah, dan purwarupa. Ketiga target tersebut telah berhasil dicapai pada penelitian ini disertai dengan bukti-bukti pencapaian target sebagaimana terlampir (Lampiran 1-6). Berikut ini adalah rincian luaran yang telah berhasil dicapai dalam penelitian.

1. Publikasi Ilmiah

Hasil penelitian telah berhasil ditulis dalam bentuk artikel ilmiah (Lampiran 1) yang dipublikasikan pada jurnal *Natural Products Research* (*Impact Factor* pada tahun 2016: 1,828) dengan status *under review* (Lampiran 2).

2. Pemakalah dalam temu ilmiah

Hasil penelitian telah berhasil dipresentasikan secara oral pada pertemuan-pertemuan ilmiah internasional dan nasional sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu danTempat
1	The 1st International Conference on Applied Sciences Mathematics and Informatics (ICASMI) (Lampiran 3)	Phytochemical Analysis of Some Leguminosae Plants Used in Traditional Medicine	Universitas Lampung, 13-15 Juli, 2017
2	International Symposium on Natural Medicines 2017 (Lampiran 4)	Some New Phenolic Compounds from *Sesbania grandiflora*	International Convention Center IPB, Bogor, 24-25 Agustus 2017
3	Seminar Nasional Kimia (SNK) 2017 (Lampiran 5)	Pemisahan Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Turi *(Sesbania grandiflora*) Secara Kromatografi Kolom Gravitasi	Universitas Andalas Padang, 11 September 2017

Bukti pelaksanaan kegiatan seminar yang telah dan akan dilaksanakan dapat dilihat pada lampiran 3-5.

3. Purwarupa

Luaran capaian penelitian ketiga yang juga berhasil dilaksanakan adalah diperolehnya purwarupa berupa ekstrak etil asetat dari kulit batang *S. grandiflora* yang memberikan 3 senyawa hasil isolasi yaitu 2 senyawa berupa kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning dan 1 senyawa berupa padatan amorf berwarna kuning (Lampiran 6) sebagaimana dipaparkan secara terperinci sebelumnya.

4. Luaran Tambahan

Sebagai luaran tambahan pada penelitian tahun pertama, draft paten sederhana telah dibuat (capaian tahun ke-3 pada proposal), dan rencana akan diusulkan pendaftarannya pada tahun kedua penelitian (Lampiran 7). Berdasarkan paparan di atas, dapat dinyatakan bahwa penelitian pada tahun pertama ini telah berhasil dilakukan dengan pencapaian 100%.

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana tahapan penelitian selanjutnya akan dibuat berdasarkan pada diagram *fishbone* penelitian sebagaimana dapat dilihat pada gambar 6 (hal 24). Mengacu pada diagram tersebut, penelitian yang telah dilakukan pada tahun pertama terhadap fraksi semi polar etil asetat kulit batang *S. grandiflora* sudah mencapai 100%, sehingga penelitian pada tahun kedua akan dilanjutkan pada ekstrak polar metanol dan fraksinasi serta pemurnian 3 fraksi polar hasil KCV (E5, E6, dan E9) dari ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora* yang juga potensial dalam menghasilkan senyawa bioaktif baru.

Secara garis besar, tahapan penelitian berikutnya dijabarkan sebagai berikut:

1. Isolasi dan pemurnian senyawa dari fraksi-fraksi polar hasil KCV (E5, E6, dan E9) dari ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol kulit batang *S. grandiflora* (bunga putih). Komponen murni yang telah diisolasi selanjutnya dimurnikan secara kristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai atau dilakukan dengan kromatografi kolom. Kemurnian masing-masing senyawa isolat ditentukan melalui penentuan titik leleh dan secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan variasi eluen.
2. Isolasi dan pemurnian senyawa dari akar tumbuhan turi merah (*S. grandiflora*) (bunga merah). Akar tumbuhan turi berbunga merah dipilih untuk menggantikan ranting kayu tumbuhan turi. Dari perbandingan hasil ekstraksi dan pengujian KLT yang telah dilakukan pada akar tumbuhan turi merah, menunjukkan bahwa akar tumbuhan turi merah mengandung komponen-komponen yang memiliki profil kimia menarik dan sangat prospek untuk diteliti lebih lanjut daripada bagian ranting kayu tumbuhan turi yang lebih didominasi oleh klorofil. Isolasi, pemisahan berulang, dan pemurnian ekstrak etil asetat dari ranting kayu *S. grandiflora* sudah dilakukan bersamaan dengan fraksinasi dan pemurnian fraksi etil asetat dari kulit batang *S. grandiflora.* Namun proses fraksinasi dan pemurnian ekstrak etil asetat dari ranting kayu tidak begitu efektif, karena adanya klorofil yang selalu mengganggu pada setiap tahapan yang dilakukan, sehingga senyawa murni sulit diperoleh.
3. Identifikasi struktur senyawa murni yang diperoleh pada tahap 1 dan 2 secara fisika dan spektroskopi UV, IR, MS dan NMR
4. Pengujian bioaktifitas antituberkulosis secara *in vitro* terhadap ekstrak/fraksi dan senyawa murni yang sudah teridentifikasi strukturnya.

Pada tahun pertama dan kedua penelitian masih lebih banyak bertumpu pada penelitian kimia dalam rangka pencarian dan penemuan senyawa-senyawa murni (isolat) dari kulit batang *S. grandiflora* dan akar tumbuhan *S. grandiflora* berbunga merah. Namun pada tahun kedua penelitian juga senyawa-senyawa murni yang telah berhasil diidentifikasi akan dilanjutkan dengan uji bioaktivitasnya sebagai anti-TB. Pada tahun ketiga diharapkan didapatkan senyawa-senyawa murni yang memiliki aktivitas anti-TB yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen/obat anti-TB. Rencana tahapan penelitian berikutnya dapat dilihat pada jadual kegiatan penelitian di bawah ini.

No	Jenis Kegiatan	Tahun I				Tahun II				Tahun III			
		1-3	4-6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12
1	Pengambilan sampel												
2	Persiapan sampel												
3	Ekstraksi												
4	Uji Fitokimia												
5	Isolasi secara kromatografi												
6	Pemurnian senyawa												
7	Karakterisasi senyawa												
8	Uji anti-TB												
9	Laporan dan publikasi												

Keterangan: : Sudah dilaksanakan

: Rencana penelitian berikutnya

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi tiga senyawa jenis fenolik, dua diantaranya adalah senyawa fenolik alam baru tipe 2-arilbenzofuran yang diberi nama sesbagrandiflorain A dan B masing-masing sebanyak 5,2 mg dan 4,9 mg, serta satu senyawa golongan flavonoid sebanyak 39 mg.
2. Ketiga senyawa hasil isolasi diperoleh dari fraksi semipolar ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora*
3. Kandungan klorofil pada ekstrak etil asetat ranting kayu *S. grandiflora* menyebabkan fraksinasi dan pemurnian tidak efektif, sehingga senyawa murni sulit diperoleh pada kondisi tersebut.
4. Kulit batang *S. grandiflora* dapat digunakan sebagai sumber alami senyawa-senyawa bioaktif yang dikembangkan dalam berbagai bidang seperti kesehatan, farmasi, dan industri kecantikan.

5.2. Saran

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan sebagai berikut:

1. Penelitian lanjutan perlu dilakukan terhadap fraksi-fraksi polar lainnya dalam ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora* untuk mendapatkan informasi yang lengkap tentang kandungan metabolit sekundernya.
2. Perlu dicari teknik dan metode yang efektif dalam melakukan pemisahan dan pemurnian ekstrak dari ranting kayu *S. grandiflora*, misalnya dengan menggunakan silika fasa terbalik.
3. Modifikasi struktur senyawa hasil isolasi perlu dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari hubungan struktur dan keaktifannya.

DAFTAR PUSTAKA

Arya, V. 2011. A review on anti-tubercular plants. *Int. J. Pharm.Tech.Res*. 3(2):872-880.

Balunas, M.J., and Kinghorn, A.D., 2005, Drug discovery from medicinal plants, *Life Sci*. 78: 431-441.

Cogolludo, A., Frazziano, G., Briones, A. M., Cobeno, L., Moreno, L., Lodi, F., Salaices, M., Tamargo, J., and Perez-Vizcaino, F., (2007). The dietary flavonoid quercetin activates BKCa currents in coronary arteries via production of H_2O_2, role in vasodilatation. *Cardiovasc. Res., 73,* 424-431.

Copp, B.R., and Pearce, A.N. 2007, Natural product growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat.Prod.Rep*. 24(2):278-297.

Cornwell, T., Cohick, W., and Raskin, I. 2004. Dietary phytoestrogens and health *Phytochemistry, 65,* 995-1016.

Corona, M. del R. Camacho, Cabrera M. A. Ramírez, Santiago, Omar González-, Elvira Garza-González, Isidoro de Paz Palacios and Julieta Luna-Herrera. 2008. Activity against Drug Resistant-Tuberculosis Strains of Plants used in Mexican Traditional Medicine to treat Tuberculosis and Other Respiratory Diseases. *Phytother. Res.* 22, 82– 85,

Depkes RI. 2006. Pedoman nasional penanggulangan tuberkulosis. Jakarta

Di, X., Yu, L., Moore, A. B., Castro, L., Zheng, X., Hermon, T., and Dixon, D. 2008. A low concentration of genistein induces estrogen receptor-alpha and insulin-like growth factor-I receptor interactions and proliferation in uterine leiomyoma cells *Hum. Reprod., 23,* 1873-1883.

Dixon, R. A., and Sumner, L. W. 2003. Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiol., 131,* 878-885.

Doddola, S., Pasupulati, H., Koganti, B., and Prasad, K. V. S. R. G. 2008. Evaluation of *Sesbania grandiflora* for antiurolithiatic and antioxidant properties. *J. Nat. Med., 62,* 300-307.

Frame A.D., Rios-Olivares E, De Jesus L, Ortiz D, Pagan J, Mendez S. 1998. Plants from Puerto Rico with anti-*Mycobacterium tuberculosis* properties. *Health Sci. J*. 17: 243-252.

Global Health Council (GHC), 2011, Tuberculosis [Online]. Diakses dari: http://www.globalhealth.Org/infectious_diseases/mortality_morbidity/tb/, pada 28 Maret 2011.

Graham, T. L., and Graham, M. Y. 2000. Defence potential and competency, redox conditioning effects of salicylic acid genistein. *Plant Mic. Interac., 5*, 181-219.

Herr, E.B.Jr., and Redstone, M.O., 1966, Chemical and physical characterisation of capreomycin. *Ann.NY.Acad.Sci*.135: 940-946

Janin, Y.L. 2007. Antituberculosis drugs: Ten years of research. *Bioorg Med Chem*,15: 2479–2513

Joung, K. E., Kim, Y. W., and Sheen, Y. Y. 2003. Assessment of the estrogenicity of isoflavonoids, using MCF-7-ERE-Luc cells. *Arch. Pharm. Res., 26*, 756-762.

Koné, W.M., Atindehou, K. Kamanzi, Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., Dosso, M. 2004. Traditional medicine in North Cˆote-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharm.* 93, 43–49.

Kottra, G., and Daniel, H. 2007. Flavonoid glycosides are not transported by the human Na+/glucose transporter when expressed in *Xenopus laevis* oocytes, but effectively inhibit electrogenic glucose uptake. *J. Pharmacol. Exp. Ther. , 322*, 829-835.

Kuo, M.R., Morbidoni, H.R., Alland, D., Sneddon, S.F., and Gourlie, B.B. 2003. Targeting tuberculosis and malaria trough inhibition of enoyl reductase: compound activity and structural data. *J. Biol. Chem*. 278: 20851-20859.

Laladhas, K. P., Cheriyan, V. T., Puliappadamba, V. T., Bava, S. V., Unnithan, R. G., Vijayammal, P. L., and Anto, R. J. 2010. A novel protein fraction from *Sesbania grandiflora* shows potential anticancer and chemopreventive ffficacy, *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Mol Med., 14*(3), 636-646.

Lin, Y. M., Zhou, Y., Flavin, M. T., Zhou, L. M., Niea, W., and Chen, F. C. 2002. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg. Med. Chem., 10*, 2795-2802.

Marliana, S. D., Suryanti, V., Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule* Jacq. Swartz.) Dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31, ISSN: 1693-2242.

Negi, A.S., Kumar, J.K., Luqman, S., saikia, D., and Khanuja, S.P.S. 2010. Antitubercular potential of plants: A brief account of some important molecules. *Med.Res.Rev*. 30(4):603-645.

Newman, D.J. and Cragg, G.M. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J.Nat.Prod*., 70(3): 461-477

Newman, D.J. Cragg, G.M., and Snader, K.M. 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J.Nat.Prod*., 66: 1022-1037.

Newman, S.M., Lau, C., Gurcha, S.S., Besra, G.S., and Wright, C.W. 2002. The Evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities: isolation of active constituents from Psoralea corylifolia and Sanguinaria Canadensis. *J. Ethnopharmacol*. 79: 57-67.

Newton, S.M., Lau, C., and Wright, C.W. 2000. A review of antimycobacterial natural products. *Phytother. Res*. 14: 303-322.

Nomoto, S., Teshima, T., Wakamiya, T. and Shiba T. 1978. Total synthesis of capreomycin. *Tetrahedron*. 34: 921-927

Noviany, Osman, H., Mohamad, S., Wong, K. C., Awang, K., and Zahariluddin, A. S. M. 2012a. The Chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity. *Pharmaceuticals, 5*, 882-889.

Noviany, Osman, H., Wong, C. K., Awang, K., and Manshoor, N. 2012b. Isolation and characterisation of l,l'-binaphthalene-2,2'-diol, A New Biaryl Natural Product from *Sesbania grandiflora* Root. *J. Bsc. & Appl. Sci., 8*, 253-256.

Pauli, G.F., Case, R.J., Inui, T., Wang, Y., Cho, S., Fischer, N.H., and Franzblau, S.G. 2005. New perspectives on natural products in TB drug research. *Life Sci*. 78(5): 485-494.

Ramesh, T., and Begum, V. 2006. Hypolipidemic effect of *Sesbania grandiflora* on cigarette smoke exposed rats. *Pharmacologyonline, 3*, 309-323.

Ramesh, T., Mahesh, R., and Begum, V. H. 2007. Effect of *Sesbania grandiflora* on membrane-bound ATPases in cigarette smoke exposed rats. *J. Pharmacol. Toxicol, 2*, 559-566.

Ramesh, T., Sureka, C., Bhuvana, S., and Hazeena, B. V. 2010. *Sesbania grandiflora* diminishes oxidative stress and ameliorates antioxidant capacity in liver and kidney of rats exposed to cigarette smoke. *J. Phys. Pharm., 61*(4), 467.

Ratu, D., Arif, N., dan Ayu, S. 2015. Skrining fitokimia dan uji KLT Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan Yang Berpotensi Sebagai Obat Tradisional Lampung. *Prosiding Nasional Satek VI Unila*. LPPM Universitas Lampung. Lampung.

Sanchez, J.G.B and Kouznetsov, V.V. 2010. Antimycobacterial susceptibility testing methods for natural products research. *Braz.J.Microbiol*.41: 270-277.

Sandra M., Newton, Clara Lau and Colin W. Wright. 2000. Review Article, A Review of Antimycobacterial Natural Products, *Phytother. Res.* 14, 303–322.

Shareef, H., Rizwani, G. H., Zia-ul-Haq, M., Ahmad, S., and Zahid, H. 2012. Tocopherol and phytosterol profile of *Sesbania grandiflora* (Linn.) seed oil. *J. Med. Plants Res., 6*(18), 3478-3481.

Tanaka, H., M. Hirataa, H. Etoh, M. Sako, M. Sato, J. Murata, H. Murata, D. Darnaedi, T. Fukai, 2004 Six new constituents from the roots of *Erythrina variegata*, *Chem. Biodivers*. 1 1101–1108.

Tulp, M., Bruhn, J.G., dan Bohlin, L. 2006. Food for thought, *Drug Discov. Today*, 11 (23-24): 1115-1121.

Veitch, N. C. 2007. Isoflavonoids of the Leguminosae. *Natural Product Reports, 24*, 417-464.

Wagh, V. D., Wagh, K. V., Tandale, Y. N., and Salve, S. A. 2009. Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga): A review. *J. Pharm. Res., 2*(5), 889-892.

Wiegand, I., Hilpert, K., and Hancock, R. E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat. Prot., 3*(2), 163-175.

Wink, M., and Mohamed, G. I. A. 2003. Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbc*L gene. *Biochem. Syst. Ecol., 31*(8), 897-917.

World Health Organisation (WHO), 2012. Global Tuberculosis Report 2012 [Online]. Diakses dari: http://www.who.int/tb/publications/factsheet global.pdf., pada 22 Juni 2012.

WHO Report. 2006. Global Tuberculosis Control; *Surveillance, Planning, Financing*, pp. 1–250, WHO.

Zumla, A.and Grange, J. 1998, Tuberculosis. *BMJ*. 316 (7149), 1962-1964.

75.

LAMPIRAN 1. ARTIKEL ILMIAH

(Submitted to Natural Product Research)

Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*

Noviany[a,*], Arief Nurhidayat[a], Sutopo Hadi[a], Tati Suhartati[a], Muhammad Aziz[b], Neny Purwitasari[c], and Iman Subasman[d]

[a]Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia

[b]Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8550, Japan

[c]Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Airlangga, Surabaya, 60286, Indonesia

[d]STAI Al-Ihya, Kuningan, Jawa Barat, 45551, Indonesia

*Corresponding author:

E-mail address: noviany@fmipa.unila.ac.id

Tel.: +62-813777928

List of Abbreviations:

CC = Column chromatography

CHO = Aldehyde group

HMBC = Heteronuclear multiple bond correlation

IR = Infrared

MeOH = Aqueous methanol

NMR = Nuclear magnetic resonance

NOE = Nuclear Overhauser enhancement

OH = Hydroxyl group

TLC = Thin-layer chromatography

UV = Ultraviolet

Abstract

Native to tropical Asia, *Sesbania grandiflora* is a member of the Fabaceae family of flowering plants. All parts of *S. grandiflora* are used in traditional medicine, and phytochemical investigations have been conducted on extracts of the leaves, seeds, and roots of *S. grandiflora* to provide scientific validation of its properties. However, to date, no study has determined the phytochemical constituents of the stem bark of *S. grandiflora*. In this study, we successfully isolated two new 2-arylbenzofurans, sesbagrandiflorain A and B, from the stem bark of *S. grandiflora*. In addition, we evaluated the structures and phytochemical constituents of these compounds using one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance, ultraviolet and infrared spectroscopy, and electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. The heteronuclear multiple bond correlations of each compound were modeled. The finding expands the understanding of the natural constituents of the Fabaceae and, in particular, the *Papilionoideae* genera.

Keywords: 2-arylbenzofuran, sesbagrandiflorain, *Sesbania grandiflora*

1. Introduction

Plants of the family Fabaceae, particularly species of the Papilionoideae subfamily, have been extensively investigated for their phytochemical and pharmacologic properties [1]. Several secondary metabolites have been isolated from members of this family, including alkaloids, non-protein amino acids, flavonoids, isoflavonoids, coumarins, phenylpropanoids, anthraquinones, terpenoids, and cyanogenic glycosides [2]. Among them, isoflavonoids are predominantly found in plants of the Papilionoideae subfamily [3].

Sesbania grandiflora is a member of the Fabaceae family native to tropical Asia, including India, Malaysia, Indonesia, Myanmar, and the Philippines. All parts of *S. grandiflora* are used in traditional medicine. Several studies have been conducted on extracts obtained from *S. grandiflora* trees (local name: turi) to provide scientific validation of its properties [4,5].

The earliest phytochemical investigations of *S. grandiflora* were conducted in the 1960s, and resulted in the isolation of α-5-methyl-5-pentacosanol for the first time from *S. grandiflora* leaves [6]. Recently, Pollard *et al.* [7] reported the acquisition of a galactomannan from the seeds of *S. grandiflora*. In addition, Noviany *et al.* [8,9] obtained and evaluated the bioactivity of several phenolic compounds from the roots of *S. grandiflora*.

However, to the best of our knowledge, no study has determined the phytochemical constituents of the stem bark of *S. grandiflora*. Therefore, in this study, we investigated the phytochemical constituents of the stem bark of *S. grandiflora*. The ethyl acetate (EtOAc) extract of *S. grandiflora* stem bark was

subjected to further analysis, which led to the isolation of two new 2-arylbenzofurans.

2. Experimental

2.1. General experimental procedures

Thin-layer chromatography (TLC) was conducted on pre-coated silica gel 60 GF_{254} plates (Merck, Darmstadt, Germany) with an absorbent thickness of 0.25 mm sprayed with $Ce(SO_4)_2$ solution for spot visualization. In addition, preparative TLC was performed on square glass plates with a side length of 0.2 m coated with 0.5 mm Kieselgel F_{254} (Merck), which were air-dried and used without prior activation. Column chromatography (CC) was performed on silica gel (Kieselgel 60, 70-230 mesh ASTM; Merck).

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded for specimens dissolved in acetone-d_6, with tetramethylsilane as an internal standard, using 500 MHz (^{1}H) and 125 MHz (^{13}C) spectrometers (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS) was performed using a micrOTOF-Q II™ mass spectrometer (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA). Potassium bromide-type infrared (IR) spectra were recorded using a Nicolet Avatar 360 spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Finally, ultraviolet (UV) spectra were recorded using a UV-Vis Cary 100 spectrophotometer (Agilent Technologies).

2.2. Plant material

Samples of the stem bark of *S. grandiflora* were collected on June 2015 in Labuhan Ratu, Bandar Lampung, Indonesia. The identity of the plant specimens was

confirmed at the Herbarium Bogoriense, Research Centre for Biology, Indonesian Institute of Sciences, Bogor, Indonesia. A voucher specimen was deposited at the herbarium.

2.3. Extraction and isolation

Air-dried and powdered samples of the stem bark of *S. grandiflora* (1.5 kg) were extracted exhaustively with *n*-hexane, EtOAc, and 90% aqueous methanol (MeOH) sequentially at room temperature. Extraction was repeated three times, and the extracts were filtered and evaporated using a rotary vacuum evaporator at 40ºC. The masses of the *n*-hexane, EtOAc, and MeOH extracts obtained were 15, 60, and 53 g, respectively. The EtOAc extract was selected for further analysis. The EtOAc extract was fractionated by silica-gel vacuum liquid chromatography and eluted with EtOAc:*n*-hexane with a volume ratio ranging from 0–100%, yielding nine major fractions (*Fr.*), *Fr. E1–E9*. *Fr. E7* (237 mg) was further fractionated by CC on silica gel, and eluted with an acetone:*n*-hexane (2:98–65;35 v/v) gradient to yield 87 sub-fractions (*Fr. E7.1–E7.87*). A yellow crystal (Compound **1**) was obtained from sub-fractions *Fr. E7.38–E7.52* after recrystallization with acetone:*n*-hexane (3:7 v/v). The total amount of Compound **1** obtained was 5.2 mg. The fractionation of *Fr. E3* (325 mg) was performed in the same way, using the eluent of an acetone:*n*-hexane (5:95–4;60 v/v) gradient to yield 42 sub-fractions. The fractions were examined by TLC, and those with identical profiles were combined to give three major sub-fractions (*Fr. E3.1–E3.3*). *Fr. E3.2* (38 mg) was further purified by preparative TLC (plates: 20 × 7 × 0.5 mm) using an acetone:*n*-hexane (3:7 v/v) gradient to provide Compound **2** (4.9 mg).

*2.4. Sesbagrandiflorain A (Compound **1**)*

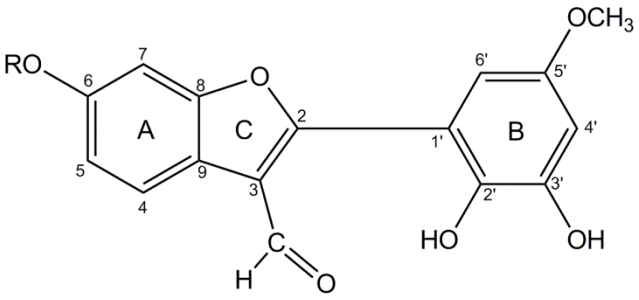
Needle-like yellow crystal; m.p. 215–216ºC; UV (MeOH) λ_{max} 213, 264, and 363; IR absorption 3407, 2924, 1652, and 1438 cm^{-1}; ESI-TOF-MS m/z 313.0709 $[M-H]^+$, calculated for $C_{17}H_{14}O_6$, 313.0718; for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data see Table 1.

*2.5. Sesbagrandiflorain B (Compound **2**)*

Needle-like yellow crystal; m.p. 172–173ºC; UV (MeOH) λ_{max} 215, 265, and 368; IR absorption 3461 and 1640 cm^{-1}; ESI-TOF-MS-MS m/z 299.0554 $[M-H]^+$, calculated for $C_{16}H_{12}O_6$, 299.0561; for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data see Table 1.

3. Results and discussion

The EtOAc extract of *S. grandiflora* stem bark contained two compounds, **1** and **2** (structures shown in Fig. 1), after repeated CC purification.



(**1**) R = OCH_3
(**2**) R = H

Fig. 1. The structures of the isolated compounds.

Sesbagrandiflorain A (Compound **1**) was obtained as a needle-like yellow crystal. The UV spectrum of Compound **1** in MeOH, with λ_{max} at 213, 264, and 363 nm, indicated the presence of a conjugated system in the isolated structure. The IR absorption of Compound **1** demonstrated the presence of a hydroxyl group (OH) at 3407 cm^{-1}, a saturated aliphatic carbon group (CH) at 2924 cm^{-1}, an aldehyde group (CHO) at 1652 cm^{-1}, and an olefinic group at 1438 cm^{-1}. ESI-TOF-MS of Compound **1** revealed a pseudomolecular ion peak $[M-H]^+$ at m/z 313.0709, which was consistent with a molecular formula of $C_{17}H_{14}O_6$. The structure elucidation of Compound **1** was deduced from detailed analysis of ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data aided by 2D NMR experiments such as ^1H-^1H COSY, HSQC, HMBC and NOESY.

The ^1H NMR spectrum of Compound **1** (Table 1) revealed a set of aromatic proton resonances with an AMX splitting pattern of the A-ring at δ_H6.67 (*dd*, *J* = 8.4; 2.2 Hz, H-5), 6.71 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-7), and 7.55 (*d*, *J* = 8.4 Hz, H-4), as well as a methoxyl group (OCH_3) at δ_H3.88 (*s*) and one proton of the CHO group at δ_H9.82 (*s*) on a benzofuran moiety. Another pair of meta-coupled aromatic protons were evident at δ_H 6.34 (*d, J* = 2.2 Hz, H-4') and 6.68 (*d, J* = 2.2 Hz, H-6') along with a OCH_3 group at δ_H 3.83 (*s*), which indicated a 1,2,3,5-tetrasubstituted benzene in the B-ring. The ^{13}C NMR data (Table 1) also indicated the presence of an arylbenzofuran moiety, which was supported by ^{13}C resonances at δ_C133.8 (C-4), 109 (C-5), 100.6 (C-7), 98.9 (C-4'), and 157.4 (C-6'). Thus, based on the ^1H and ^{13}C NMR data, Compound **1** was strongly suggested to be a 2-arylbenzofuran.

Table 1. ^{1}H and ^{13}C nuclear magnetic resonance data for Compounds **1** and **2**.

Ring	No atom C	1[a]		2[a]	
		δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]	δ_c (ppm)	δ_H (ppm); *J* (Hz) [b]	δ_c (ppm)
A	4	7.55 (*d*, *J* = 8.4)	133.75	7.53 (*d*, *J* = 8.4)	133.52
	5	6.67 (*dd*, *J* = 8.4 & 2.2)	109	6.61 (*dd*, *J* = 8.4 & 2.2)	109.17
	6	-	160	-	157.85
	7	6.71 (*d*, *J* = 2.2)	100.56	6.64 (*d*, *J* = 2.2)	104.2
	8	-	162.91	-	162.51
	9	-	109.34	-	108.25
	MeO-C	3.88 (*s*)	56.17	-	-
	HO			9.42 (*s*)	-
B	1’	-	107.79	-	107.89
	2’	-	157.36	-	157.34
	3’	-	152.79	-	152.79
	4’	6.34 (*d*, *J* = 2.2)	98.89	6.34 (*d*, *J* = 2.2)	98.84
	5’	-	161.96	-	161.89
	6’	6.68 (*d*, *J* = 2.2)	88.5	6.67 (*d*, *J* = 2.2)	88.5
C	2	-	164.44	-	164.68
	3	-	119.18	-	118.71
	MeO-C	3.83 (*s*)	56.11	3.83 (*s*)	56.1
	HO	10.21 (*s*)		9.23 (*s*) & 10.26 (*s*)	
	CHO	9.82 (*s*)	191.1	9.97 (*s*)	191.29

a ^{1}H NMR and ^{13}C NMR (500 MHz) measured in Acetone-d_6.

[b] Multiplicity of signals is given in parentheses: *s*, singlet; *d*, doublet; *dd*, doubledoublet; coupling constants (apparent splittings) are reported as numerical values in Hz.

Further characterization of Compound **1** was performed using heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) analysis (Fig. 2). The placement of the OCH_3 and OH groups in the A- and B-rings was determined by HMBC. The long-range correlations between H-OCH_3 (A-ring, δ_H 3.88) and C-6 (δ_C 160), H-OCH_3 (B-ring, δ_H 3.83) and C-5' (δ_C 161.9), and H-OH (B-ring, δ_H 10.21) and C-1' (δ_C 107.8)/C-4' (δ_C 98.9) supported the assigned positions for the OCH_3 and OH groups in the A and B-rings, respectively. The assignment of the CHO group at C(3) also was determined by HMBC, which displayed a cross-peak between the CHO group at C-3 (δ_C 119.2) and C-1' (δ_C 107.8). This conclusion was supported by nuclear Overhauser enhancement (NOE) analysis (Fig. 3). In this spectrum, a strong NOE association of H-C(4)/H-CHO(3); H-C(7)/MeO-C(6); H-C(4')/MeO-C(5') and H-C(6')/MeO-C(5'), established the location of the CHO and the OCH_3 groups, respectively.

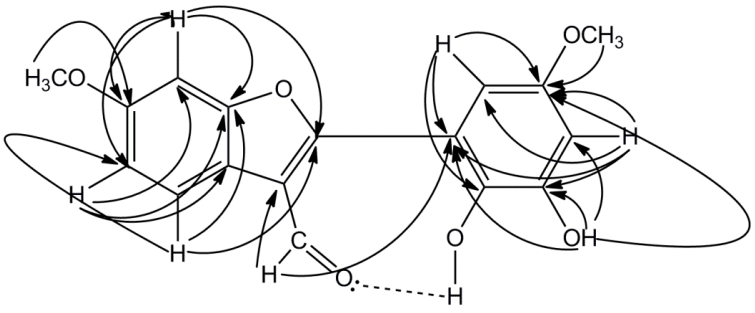


Fig. 2. The heteronuclear multiple bond correlations of Compound **1**.

From the above spectroscopic analyses, sesbagrandiflorain A was identified as 6-methoxy-2-(2',3'-dihydroxy-5'-methoxyphenyl)-1-benzofuran-3-carbaldehyde (Compound **1**).

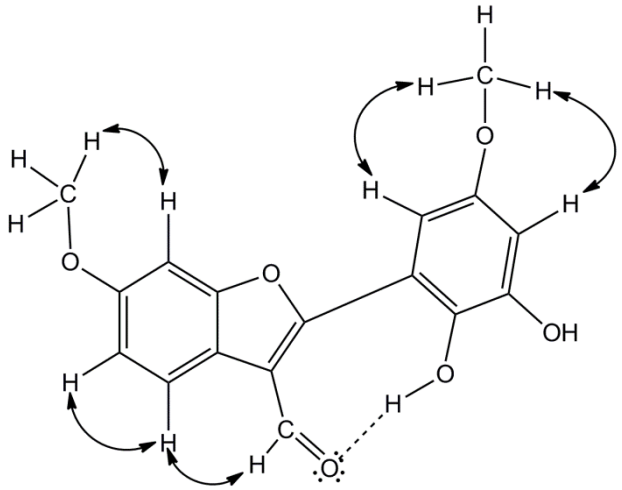


Fig. 3. The nuclear Overhauser enhancement interactions of Compound **1.**

Sesbagrandiflorain B (Compound **2**) was also isolated as a needle-like yellow crystal. Its molecular formula was determined to be $C_{16}H_{12}O_6$ by ESI-TOF-MS, which showed the $[M-H]^+$ ion at m/z 299.0554. This compound was found to be an arylbenzofuran on the basis of its characteristic spectral data. The presence of a conjugated CHO group in the molecular structure was demonstrated by means of UV (λ_{max} 215, 265, and 368 nm), IR (1640 cm^{-1}), ^1H NMR (δ_H9.97), and ^{13}C NMR (δ_C 191.3) spectra. Typical arylbenzofuran characteristics were also exhibited by the ^1H NMR spectrum (Table 1), which revealed three aromatic protons in an AMX system at δ_H6.61 (*dd*, *J* = 8.4; 2.2 Hz, H-5), 6.64 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-7), and δ_H7.53(*d*, *J* = 8.4 Hz, H-4), along with two aromatic protons at δ_H 6.34 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-4') and 6.67 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-6'), two *singlet* protons of the OH groups at δ_H 9.23 (HO-C(2')) and 10.26 (HO-C(3')), and one *singlet* proton of the OCH_3 group at δ_H3.83 (*s*, MeO-C(5)) on a 1,2,3,5-tetrasubstituted benzene moiety. The ^1H NMR spectral data of Compounds **1** and **2** displayed the same substitution-pattern signals of the 2-arylbenzofuran skeleton except for the substituent at C-6 on the A-ring. This sharing

of features by Compounds **1** and **2** was also supported by comparison of their ^{13}C NMR spectral data (Table 1).

Complete assignments of the ^{13}C and ^{1}H spectra were achieved from the results of extensive 2D NMR measurements of Compound **2**. The locations of the OH and OCH_3 groups were assigned based on nuclear Overhauser enhancement (NOE) spectroscopy data (NOE associations: H-C(7)/HO-C(6) and HO-C(1'); H-C(4')/MeO-C(5')) and the results of HMBC analysis (correlations: HO-C(6)/C(6); HO-C(3')/C(3'); and H-C(4')/C(5')). The NOE associations of Compound **2** are shown in Fig. 4. The HMBC correlation (Fig. 5) between H-C(6) in the B-ring and C-2 in the C-ring, as well as a cross-peak between H-CHO and C-1' in the B-ring, established the attachment of the B-ring to the benzofuran moiety at C(2).

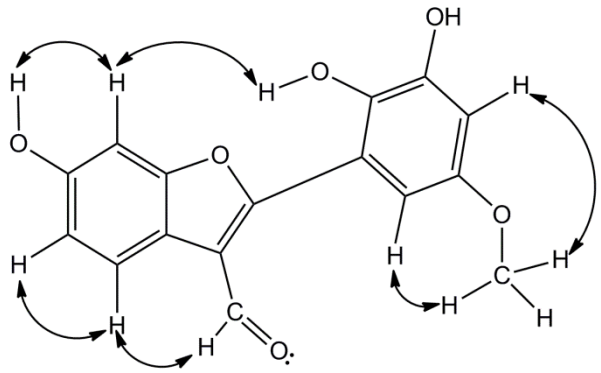


Fig. 4. The nuclear Overhauser enhancement interactions of Compound **2.**

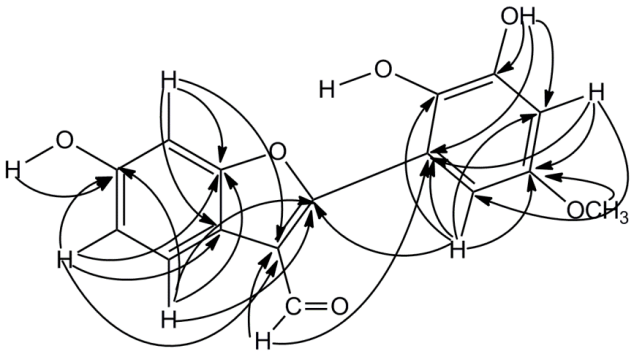


Fig. 5. The heteronuclear multiple bond correlations of Compound **2**.

Compound **2** displayed very similar one- and two-dimensional NMR profiles to those of Compound **1**. The only difference was that Compound **1** had a OCH_3 group attached at C-6 (A-ring) rather than the OH group found in Compound **2** at the same position. Therefore, Compound **2** was characterized as 6-hydroxy-2-(2',3'-dihydroxy-5'-methoxyphenyl)-1-benzofuran-3-carbaldehyde (sesbagrandiflorain B). This type of 2-arylbenzofuran compound was isolated previously by Tanaka *et al*. [10] from the roots of *Erythrina variegata.* This is the first report of the occurrence of 2-arylbenzofurans in the stem bark of *S. grandiflora*.

4. Conclusion

In this study, two new 2-arylbenzofuran compounds, namely sesbagrandiflorain A and B, were obtained from the EtOAc extract of *S. grandiflora* stem bark. These compounds are reportedly present in the genus *Sesbania* and other members of the family Fabaceae. The bioactivity of both isolated compounds remains under investigation. Our findings expand our understanding of the natural constituents of the Fabaceae and, in particular, the *Papilionoideae* genera.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Directorate of Research and Community Services, Directorate General of Higher Education, The Ministry of Research, Technology and Higher Education, Republic of Indonesia that provide fund for this project to be undertaken through Penelitian Produk Terapan Scheme 2017 (No.583/UN26.21/KU/2017). We also gratefully acknowledge Prof. Yana Maolana Syah from Institute Technology of Bandung, Indonesia, for the NMR spectra.

Noviany wish to thank Andi Setiawan, Ph.D from University of Lampung and Mr. Tarso Rudiana from UIN Syarif Hidayatulloh Jakarta for their valuable suggestions.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

[1] D. Godevac, G. Zdunic, K. Savikin, V. Vajs, N. Menkovic, Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro, Fitoterapia 79 (2008) 185–187.

[2] M. Wink, G.I.A. Mohamed, Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbc*L gene, Biochem. Syst. Ecol. 31 (2003) 897–917.

[3] H. Kırmızıbekmez, G.B. Uysal, M. Masullo, F. Demirci, Y. Bagci, Y. Kan, S. Piacente, Prenylated polyphenolic compounds from *Glycyrrhiza iconica* and their antimicrobial and antioxidant activities, Fitoterapia 103 (2015) 289–293.

[4] E. Goun, G. Cunningham, D. Chu, C. Nguyen, D. Miles, Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants, Fitoterapia 74 (2003) 592–596.

[5] V.D. Wagh, K.V. Wagh, Y.N. Tandale, S.A. Salve, Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga): a review, J. Pharm. Res. 2 (2009) 889–892.

[6] R.D. Tiwari, R.K. Bajpai, Chemical examination of *Sesbania grandiflora* leaves. II. Isolation and study of a saponin, Proc. Nat. Acad. Sci., India, Section A: Physical Sciences 34 (1964) 239–244.

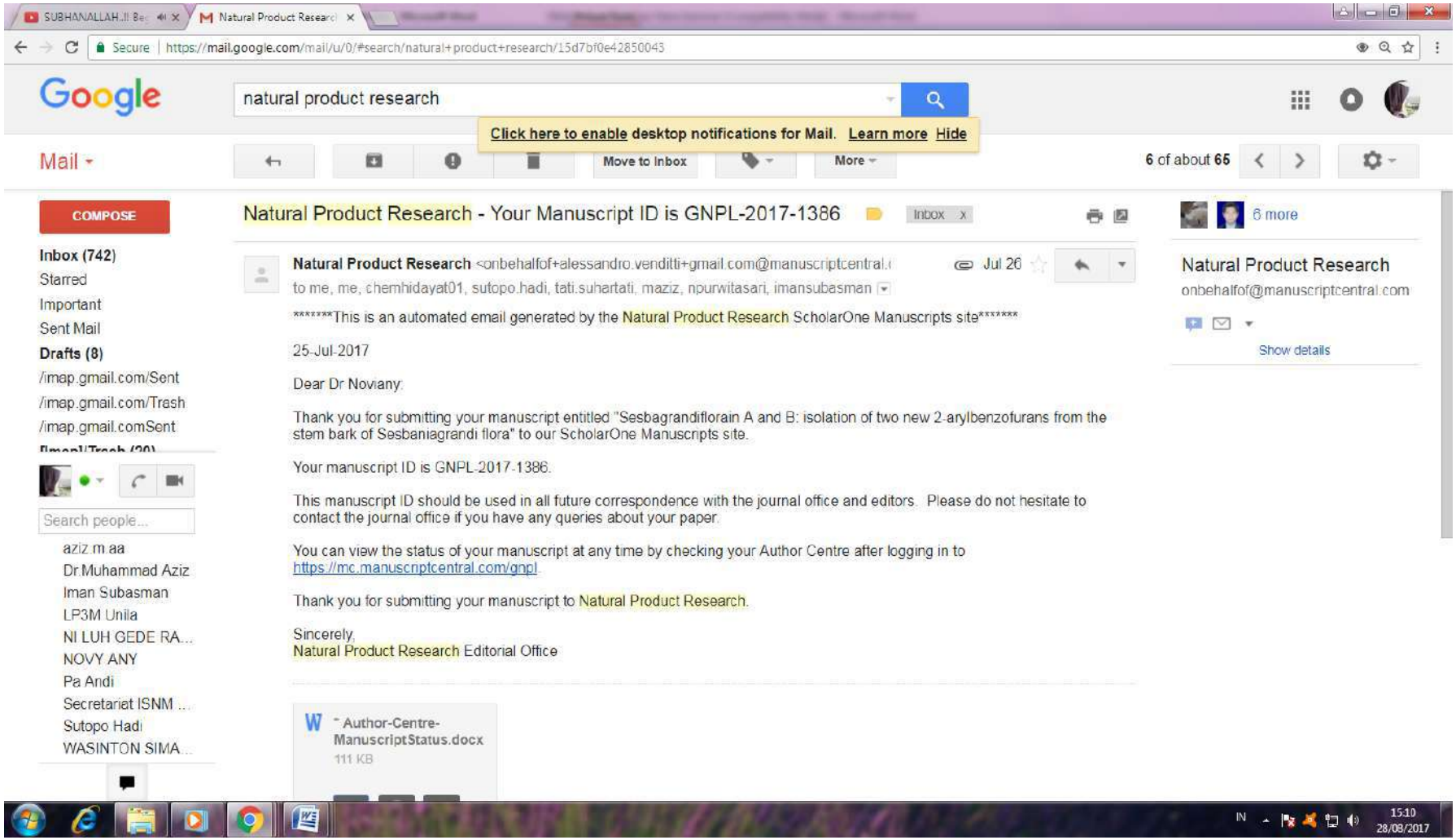
[7] M.A. Pollard, P. Fischer, E.J. Windhab, Characterization of galactomannans derived from legume endosperms of genus *Sesbania* (Faboideae), Carbohydr. Polym. 84 (2011) 550–559.

[8] H. Noviany, H. Osman, S. Mohamad, W. Keng Chong, K. Awang, A.S.M. Zahariluddin, The chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity, Pharmaceuticals 5 (2012a) 882–889.

[9] Noviany, H. Osman, W. Keng Chong, K. Awang, N. Manshoor, Isolation and characterisation of l,l'-binaphthalene-2,2'-diol, a new biaryl natural product from *Sesbania grandiflora* root, J. Basic Appl. Sci. 8 (2012b) 253–256.

[10] H. Tanaka, M. Hirataa, H. Etoh, M. Sako, M. Sato, J. Murata, H. Murata, D. Darnaedi, T. Fukai, Six new constituents from the roots of *Erythrina variegata*, Chem. Biodivers. 1 (2004) 1101–1108.

LAMPIRAN 2. BUKTI PENYERAHAN ARTIKEL *ONLINE*



LAMPIRAN 3. SEMINAR I: ICASMI

INTERNATIONAL CONFERENCE ON APPLIED SCIENCES
MATHEMATICS AND INFORMATICS (ICASMI)
Secretariat: Faculty of Mathematics and Natural Science University of Lampung
Jl. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
website: icasmi.fmipa.unila.ac.id e-mail: icasmi@fmipa.unila.ac.id

July,10, 2017

Subject: Notification of Acceptance

Dear Madame/Sir,
Noviany, *et al*

We are happy to inform you that your paper entitled "**Phytochemical Analysis of Some Leguminosae Plants Used in Traditional Medicine**" is accepted as oral presentation in the 1st International Conference on Applied Sciences Mathematics and Informatics *"The Role and Innovation of Sciences in the Strengthening of Natural Resources"*, that will be held in Lampung, July, 13-15, 2017.

We are looking forward to seeing you soon. If there is any question, please feel free to contact us.

Your sincerely,
Chairman,

Dr. Mustofa Usman, M.A.

Phytochemical Analysis of Some Leguminosae Plants Used in Traditional Medicine

Noviany[a,*], Erva Al Husna[a], Hidayatul Mufidah[a], Nur Laelatul K.[a], Sutopo Hadi[a]

[a]Department of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences, University of Lampung, 35145, Bandar Lampung, Indonesia
*Corresponding author E-mail: noviany@fmipa.unila.ac.id

Abstract

The preliminary phytochemical screening of twelve medicinal plants belonging of Leguminosae family from Lampung District was conducted. The plants were *Sesbania grandiflora*, *Adenanthera pavonina* L., *Parkia speciosa* Hassk, *Erythrina fusca* Lour, *Tamarindus indica* L., *Saraca asoca* (Roxb.) Wilde, *Calliandra calothyrsus*, *Acacia mangium, Cassia siamea* Lamk, *Albazia falcataria* (L.) Fosberg, *Leucaena leucocephala*, *Mimosa pudica, Caesalpinia pulcherima.* The screening of the stembarks of these selected plants was carried out using standard methods for detection of the bioactive principles present in the plants such as tannins, flavonoids, terpenoids, saponins, steroids, and alkaloids. The presence of the various phytochemicals indicated the correlation of the potential used of these plants as traditional medicine.

Keywords: Leguminosae, Traditional Medicine, Preliminary, Screening, Phytochemical.

CERTIFICATE OF APPRECIATION

This certify that

Noviany, Ph. D.

has Contributed as

PRESENTER

1st International Conference on Applied Sciences Mathematics and Informatics (ICASMI)

"The Role and Innovation of Sciences in the Strengthening of Natural Resources"

Held by Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung

July 13-15, 2017 at Horison Hotel, Lampung, Indonesia

Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D.
Dean

Dr. Mustofa Usman, M.A.
Chairman

LAMPIRAN 4. SEMINAR II: ISNM

ISNM 2017

International Symposium on Natural Medicines

August 24-25, 2017 | IPB International Convention Center, Bogor, West Java -Indonesia

ISNM 2017

August 5, 2017

LETTER OF ACCEPTANCE

Dear Noviany, Dr

Thank you for your interest to participate in the International Symposium on Natural Medicines (ISNM) 2017, which will be held on August 24-25, 2017 at IPB International Convention Center in Bogor, Indonesia

On behalf of the ISNM scientific committee, we are pleased to inform you that your abstract with the title **Some New Phenolic Compounds from Sesbania grandiflora** has been accepted as **oral presenter** in the ISNM 2017. The committee will not bear any airfare, accommodation, registration fee and not provide any financial reward for your work during your visit in the symposium.

We would like to remind you after July 31, 2017 the regular fee is applied. The dateline for regular registration is on August 18, 2017. If you would like to pay the registration fee on the day of symposium please email us (bfarmaka@apps.ipb.ac.id) before August 18, 2017. Reguiar registration fee as follow:

	Regular Registration fee
Local Student Presenter	Rp. 850.000
Local Non-Student Presenter	Rp. 1.500.000

Bank Name : Bank BNI
Account Number : 3898272
Account Holder : Rektor IPB cq BIOFARMAKA LPPM

Please send your payment receipt to bfarmaka@apps.ipb.ac.id with the following email subject: Payment receipt for ISNM2017 from <Your Name>

We are looking forward to seeing you in the ISNM 2017 and share your experiences and expertise with other participants.

Sincerely yours,

Organizing Committee of ISNM 2017
Chairman

ISNM 2017

Dr. Mohamad Rafi, SSi., MSi

hosted by:
Tropical Biopharmaca Research Center IPB
Metabolomic Research Cluster IPB
Indonesia Assosiation of Natural Drugs Researchers

Secretariat:
Tropical Biopharmaca Research Center IPB
Kampus IPB Taman Kencana, Jl. Taman Kencana No. 3,
Bogor 16128 http://isnm.ipb.ac.id |
bfarmaka@apps.ipb.ac.id | +62 251 8373561

Some New Phenolic Compounds from *Sesbania grandiflora*

Noviany[1]*, Sutopo Hadi[2], Muhammad Aziz[3], Neny Purwitasari[4], and Iman Subasman[5]

[1]*Department of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences, noviany@fmipa.unila.ac.id University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*

[2]*Department of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences, sutopo.hadi@fmipa.unila.ac.id University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*

[3]*Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8550, Japan, aziz.m.aa@m.titech.ac.jp*

[4]*Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Airlangga, Surabaya,60286, Indonesia, npurwitasari@gmail.com*

[5]*STAI Al-Ihya, Kuningan, Jawa Barat, 45551, Indonesia, imansubasman@gmail.com*

(*noviany@fmipa.unila.ac.id)

Abstract

Sesbania grandiflora (L.) Pers (Leguminosae) is a traditionally plant that has been used since ancient time for the treatment of various diseases particularly caused by bacterial infections. This study aimed to isolate the purified compounds from the stembarks and the roots of *S. grandiflora.* Some new natural phenolic compounds, two arylbenzofuran type together with one biaryl type, have been isolated from the ethylacetate extracts of *Sesbania grandiflora* plant. The structure elucidation of the compounds were assigned by various spectroscopic methods notably 1D- and 2D-NMR, UV, IR, and ESI TOF-MS. These compound isolated here for the first time from *Sesbania grandiflora* plant.

Keywords: arylbenzofuran, biaryl compound, phenolics, *Sesbania grandiflora*

CERTIFICATE

ISNM 2017

Sustainable Use of Natural Products for Human's Health & Welfare

Hosted by:

- Tropical Biopharmaca Research Center IPB
- Metabolomics Research Cluster IPB
- The Indonesian Association of Natural Drugs Researchers

12 SKP IAI

SK IAI: Kep. 046/SK.SKP/IAI-JBR/V/2017

This is to certify that

Noviany, Dr, M.Si

has participated as

Oral Presenter

in

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL MEDICINES

held at

IPB International Convention Center, Bogor – Indonesia

24-25 August 2017

Tropical Biopharmaca Research Center,
Director,

Dr. Irmanida Batubara, MSi.

Organizing Committee,
Chairman,

ISNM 2017

Dr. Mohamad Rafi, Msi.

Supported by:

RISTEKDIKTI

Sponsored by:

MAHKOTA DEWA

GeneCraft Labs

BIOFARINDO

BUCHI

LAMPIRAN 5. SEMINAR III: SNK 2017

SURAT PENERIMAAN ABSTRAK

Kepada Yth.
Ibu Noviany

Dengan hormat,

Melalui surat ini, kami sampaikan bahwa abstrak dengan judul "**Pemisahan Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Turi (Sesbania grandiflora) Secara Kromatografi Kolom Gravitasi**", untuk dipresentasikan secara oral/poster* telah kami terima. Kami berharap, naskah lengkap segera dikirimkan kepada panitia seminar paling lambat tanggal 15 Agustus 2017.

Seminar ini akan mencakup pemaparan dari pembicara utama, presentasi paralel dan pameran poster terkait dengan tema seminar: "**Green Chemistry dan Energi Terbarukan untuk kehidupan masa depan**".

Panitia akan bekerja maksimal dalam mempersiapkan seminar ini sehingga dapat mejadi pengalaman yang berharga bagi semua peserta. Untuk informasi lebih lanjut dapat menghubungi kami di: *snk@fmipa.unand.ac.id atau snk.unand@gmail.com*

Padang, 12 Agustus 2017
Panitia Seminar Nasional Kimia (SNK) 2017
Ketua,

Dr. UpitaSeptiani
NIP. 197009171999032 001

**coret yang tidak perlu*

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas
Kampus UNAND Limau Manis Padang
snk@fmipa.unand.ac.id
Telp. + 085322856729 (Emil)
+ 08197591119 (Jeri)

SEMINAR NASIONAL KIMIA (SNK) 2017
JURUSAN KIMIA FMIPA UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG, 11 SEPTEMBER 2017

Pemisahan Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Turi *(Sesbania grandiflora)* Secara Kromatografi Kolom Gravitasi

Noviany[a,*], Rizky Fijaryani[a], Risa Septiana[a], dan Sutopo Hadi[a]

[a]*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*
*E-mail: noviany@fmipa.unila.ac.id

ABSTRAK

Pada penelitian ini telah dilakukan studi pemisahan fraksi semipolar dari ekstrak etil asetat kulit batang turi secara kromatografi kolom gravitasi. Pemisahan atau fraksinasi dilakukan dengan menggunakan fasa diam silika G_{60} dan fasa gerak kloroform:heksana secara bergradien dan hasil fraksinasi memberikan 30 sub-fraksi. Kristal berbentuk jarum halus tak berwarna diperoleh dari fraksi ke 9-22. Pengujian hasil fraksinasi dengan menggunakan KLT menunjukkan bahwa pemisahan yang telah dilakukan cukup baik memisahkan campuran senyawa dalam fraksi semipolar ekstrak etilasetat. Hasil tersebut diindikasikan pada kromatogram hasil uji KLT masing-masing fraksi yang muncul sebagai noda-noda yang lebih sederhana di bawah lampu UV baik pada panjang gelombang 366 nm maupun 254 nm. Pemurnian dan analisis lebih lanjut dari fraksi-fraksi yang diperoleh tersebut masih terus dilakukan untuk mendapatkan senyawa murni yang cukup untuk analisis dan elusidasi strukturnya.

Kata Kunci: esktrak etilasetat, kromatografi kolom gravitasi, tumbuhan turi, *Sesbania grandiflora.*

SEMINAR NASIONAL KIMIA 2017

SNK 2017 "Green Chemistry dan Energi Terbarukan untuk Kehidupan Masa Depan"

SNK 2017

SERTIFIKAT

Diberikan kepada :

NOVIANY

Atas partisipasinya sebagai

PEMAKALAH

pada

SEMINAR NASIONAL KIMIA

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Andalas

The Axana Hotel, 11 September 2017

Dekan Fakultas MIPA	Ketua Jurusan Kimia	Ketua Panitia SNK 2017
Prof. Dr. Mansyurdin	Dr. Afrizal	Dr. Upita Septiani

LAMPIRAN 6: PURWARUPA

Senyawa **N1**

Senyawa **N2**

Senyawa **N3**

LAMPIRAN 7: DRAFT PATEN SEDERHANA

Deskripsi

METODE CEPAT PEMISAHAN DAN PEMURNIAN KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK ETILASETAT KULIT BATANG TUMBUHAN TURI (*Sesbania grandiflora* (L) Pers)

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan teknik cepat dalam proses pemisahan dan pemurnian komponen utama dalam ekstrak etil asetat tumbuhan turi bagian kulit batang. Lebih khusus invensi ini menggunakan komposisi eluen tertentu yang dapat menghasilkan senyawa murni dengan lebih cepat.

Latar Belakang Invensi

Teknik pemisahan dan pemurnian senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan dalam suatu ekstrak tumbuhan dikenal dengan istilah isolasi. Salah satu teknik isolasi yang sering digunakan adalah ekstraksi, pada dasarnya ekstraksi memiliki pengertian yang hampir sama dengan isolasi. Ekstraksi yaitu suatu metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan berdasarkan prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut yang dimulai dari pelapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Harborn, 1987).

Secara garis besar ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Teknik ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan kebanyakan menggunakan

ekstraksi dingin yaitu dengan metode maserasi. Maserasi merupakan suatu teknik ekstraksi dengan melakukan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang sesuai serta dilakukan pada temperatur ruangan (Lenny, 2006). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Menurut Markham (1988) proses ini dilakukan beberapa kali dengan tujuan untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal dan ekstrak kemudian disatukan lalu diuapkan dengan menggunakan penguap-putar vakum.

Kromatografi merupakan salah satu teknik lainnya yang biasanya digunakan untuk pemisahaan suatu senyawa yang didasarkan atas perpindahaan dari komponen-komponen dalam campuran. Pemisahaan dengan menggunakan teknik ini dilakukan dengan cara memanfaatkan sifat-sifat fisik dari suatu sampel, seperti kelarutan, absorbansi, serta kepolaran kelarutan merupakan kecenderungan molekul untuk melarut dalam cairan (Johnson *and* Stevenson, 1991). Jenis kromatografi yang digunakan diantaranya kromatografi lapis tipis, kromatografi cair vakum, kromatografi kolom, dan kromatotron (*Centrifugal Chromatography*).

Menurut Hu zhide *et al.*, (2012), tidak terdapat metode yang baku untuk ekstraksi suatu bahan alam disebabkan banyaknya variabel yang berpengaruh. Oleh karena itu, modifikasi pada metode perlu dilakukan untuk bahan yang akan diekstraksi. Satishkumar *et al.*, 2008 meyatakan bahwa banyak faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi

suatu senyawa metabolit sekunder, diantaranya adalah waktu ekstraksi, suhu, jenis, dan komponen pelarut, serta perbandingan pelarut terhadap bahan yang akan diekstraksi.

Sejauh penelusuran literatur yang dilakukan oleh inventor, sampai saat ini belum ada invensi yang memaparkan teknik pemisahan senyawa-senyawa bioaktif dari bahan alam. Pada invensi ini teknik isolasi, pemisahan/fraksinasi, dan pemurnian ekstrak etilasetat dari tumbuhan turi bagian kulit batang dilakukan dengan metode ekstraksi dan kromatografi menggunakan komposisi eluen tertentu yang dapat menghasilkan senyawa murni dengan lebih cepat.

Ringkasan Invensi

Invensi ini merupakan suatu invensi yang terkait dengan metode cepat dalam pemisahan dan pemurnian komponen utama dalam esktrak etil asetat kulit batang tumbuhan turi. Metode yang digunakan adalah modifikasi dari metode standar dalam pemisahan senyawa bahan alam yang dijabarkan dalam tiga tahapan isolasi/ekstraksi, pemisahan/fraksinasi, dan pemurnian. Tahapan ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dingin yaitu perendaman serbuk kulit batang turi (1,5 kg) selama 1x24 jam (3x pengulangan) dengan menggunakan pelarut yamg memiliki kepolaran berbeda yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Penyaringan dan pemekatan ekstrak hasil ekstraksi memberikan ekstrak kasar *n*-heksana, etil asetat, dan metanol masing-masing sebanyak 15, 60, dan 53 gram. Tahapan selanjutnya adalah fraksinasi ekstrak etil asetat (EA) secara bertahap dengan metode kromatografi

cair vakum (KCV). Kolom KCV disiapkan dalam keadaan kering kemudian dielusi dengan pelarut *n*-heksana 100%. Kemudian sampel yang telah siap di dalam kolom, dielusi dengan fasa gerak campuran etil asetat: *n*-heksana. Pengelusian dilakukan dengan menaikkan tingkat kepolaran eluen yaitu dari etil asetat: *n*-heksana (0:100; 10:90; 20:80; 30:70; 40:60; 50:50; 60:40; 80:20; 90:10; 100:0), dilanjutkan dengan etil asetat:metanol (100:20), kemudian metanol 100%. Dari tahap KCV ini didapatkan sejumlah fraksi masing masing pada KCV 1, II, dan III yakni 23, 22, dan 22 fraksi. Hasil gabungan fraksi KCV I, II, dan III memberikan 9 fraksi utama yang diberi kode A5, A6, B8, B9, B10, C10, C11, C12, dan C13. Tahap pemurnian selanjutnya dilakukan pada fraksi C11 dengan teknik KKG menggunakan silika gel 60 G. Pengelusian dilakukan dengan campuran pelarut aseton:*n*-heksana dengan rasio mulai dari aseton:*n*-heksana: 2:98 hingga 35:65. Pemurnian fraksi C11 menghasilkan senyawa murni (5 mg) berupa kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning dari sub-fraksi ke-38-52.

Nilai tambah dari invensi ini adalah senyawa murni diperoleh dengan cepat melalui 3 tahapan utama dengan hanya menggunakan 2 sistem pasangan eluen pada tahap kromatografi yaitu masing-masing campuran eluen etil asetat: *n*-heksana (0-100% EA) dan aseton:*n*-heksana (2-35% aseton).

Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dipaparkan pada latar belakang invensi bahwa banyaknya variabel yang berpengaruh pada teknik pemisahan dan pemurnian senyawa bahan alam mengakibatkan tidak adanya metode yang baku untuk

ekstraksi suatu bahan alam. Sehingga modifikasi pada metode untuk bahan alam tertentu yang akan diekstraksi perlu dilakukan.

Invensi ini terbagi menjadi tiga bagian yaitu metode isolasi/ekstraksi serbuk kulit batang tumbuhan turi, metode pemisahan/fraksinasi ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan turi, dan metode pemurnian fraksi yang mengandung komponen utama dari ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan turi. Metode pemisahan ekstrak etil asetat meliputi perendaman serbuk kulit batang turi (1,5 kg) dengan teknik maserasi dingin (pada temperatur kamar) menggunakan beberapa pelarut secara bergantian. Pemilihan pelarut didasarkan pada gradien kepolarannya, dimulai dari *n*-heksana (non polar), dilanjutkan dengan etil asetat (semi polar), dan terakhir dengan metanol (polar).

Perendamanan dengan teknik maserasi dilakukan dengan masing-masing pelarut selama 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Ketiga ekstrak hasil perendaman masing-masing disaring dengan kertas saring, kemudian dipekatkan dengan penguap *rotary evaporator.* Ekstrak pekat yang diperoleh lalu dikeringkan dan ditimbang, sehingga diperoleh ekstrak kasar *n*-heksana, etil asetat, dan metanol masing-masing sebanyak 15, 60, dan 53 gram. Selanjutnya ekstrak etil asetat (EA) dipilih untuk diisolasi dan difraksinasi lebih lanjut dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) dan dimonitoring hasil sebelum dan sesudah KCV dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT).

Pada proses KCV, ekstrak EA (60 gram) dibagi menjadi tiga bagian, dan digunakan kolom KCV dengan ukuran diameter kolom 8 cm dan perbandingan antara jumlah ekstrak EA (20 g), dan silika gel G60 (35-70

mesh)(impregnasi sampel)(40 g), dan silika gel 60 GF_{254} (adsorben)(200 g) adalah 1:2:10.

Proses KCV mula-mula dilakukan dengan persiapan sampel, kolom, dan vakum. Pertama-tama, sampel ekstrak EA sebanyak 20 gram dilarutkan dengan pelarut aseton, kemudian diimpregnasikan pada silika gel G60. Pada kolom KCV dimasukkan silika gel 60 GF_{254} dalam keadaan kering, kemudian dipadatkan dengan menggunakan vakum. Proses ini dilakukan secara hati-hati agar tidak terdapat rongga udara yang dapat mengganggu proses fraksinasi. Setelah itu dielusi dengan pelarut *n*-heksana 100% sebagai eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang paling rendah. Kemudian dimasukkan sampel yang telah diimpregnasi ke dalam silika kasar dan dilapisi kertas saring agar permukaan sampel merata dalam proses pengelusian. Pengelusian dilakukan dengan menaikkan tingkat kepolaran eluen yaitu dari etil asetat: *n*-heksana (0:100; 10:90; 20:80; 30:70; 40:60; 50:50; 60:40; 80:20; 90:10; 100:0), dilanjutkan dengan etil asetat:metanol (100:20), dan terakhir dengan metanol 100%. Proses KCV ekstrak kasar etil asetat dapat dilihat pada gambar 1.

Dari tahap KCV ini didapatkan sejumlah fraksi masing masing pada KCV 1, II, dan III yakni 23, 22, dan 22 fraksi. Seluruh hasil KCV masing-masing dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen *n*-heksana/etilasetat: 2/8. Berdasarkan profil kromatogram hasil KCV 1, II, dan III, masing-masing fraksi hasil KCV yang menunjukkan nilai Rf yang sama kemudian dilakukan penggabungan fraksi. Gabungan fraksi hasil KCV I, II, dan III masing-masing memberikan 12, 12, dan 13 fraksi utama (Gambar 2). Pemilihan fraksi untuk fraksinasi lebih lanjut didasarkan pada profil KLT yang menunjukkan kuantitas dan pola pemisahan yang cukup baik. Berdasarkan hasil monitoring

KLT tersebut, 9 fraksi utama dari KCV I-III yang diberi kode A5, A6, B8, B9, B10, C10, C11, C12, dan C13 (Gambar 3).

Tahap selanjutnya adalah pemurnian hasil fraksinasi. Metode pemurnian yang digunakan adalah kromatografi kolom gravitasi (KKG). Pemurnian selanjutnya dilakukan pada fraksi C11 karena profil kromatogram fraksi tersebut mengindikasikan adanya kandungan komponen utama yang menjadi target isolasi. Tahap pemurnian dengan teknik KKG menggunakan silika gel 60 G dengan eluen aseton:*n*-heksana secara gradien kepolaran dengan rasio mulai dari aseton:*n*-heksana: 2:98 hingga 35:65. Pemurnian fraksi C11 menghasilkan 87 sub-fraksi, diantara sub-fraksi tersebut, diperoleh kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning pada sub-fraksi ke-38-52 (5 mg). Kristal tersebut tumbuh setelah dibiarkan selama satu hari pada suhu kamar (Gambar 4).

Kristal yang diperoleh kemudian dianalisis kemurniannya dengan uji titik leleh dan teknik KLT menggunakan 3 sistem eluen yang berbeda. Hasil pengukuran titik leleh senyawa memberikan titik leleh sebesar 214°C-216°C (terdekomposisi). Nilai titik leleh yang tajam mengindikasikan kemurnian senyawa hasil isolasi. Pengamatan ini juga didukung dari hasil KLT (Gambar 5) dengan menggunakan 3 sistem eluen yang berbeda diperoleh noda tunggal dengan nilai Rf berturut-turut untuk sistem eluen aseton:*n*-heksana (3:7); etil asetat:aseton (9:1); dan kloroform/metanol (99/1) sebesar 0,35; 0,57; dan 0,70. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa kristal senyawa hasil isolasi telah murni.

Klaim

Invensi yang ingin didaftarkan adalah sebagai berikut:

1. Metode isolasi/ekstraksi serbuk kulit batang tumbuhan turi (*S. grandiflora* (L) Pers).
2. Metode pemisahan/fraksinasi ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan turi (*S. grandiflora* (L) Pers).
3. Metode pemurnian fraksi yang mengandung komponen utama dari ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan turi (*S. grandiflora* (L) Pers).

Berdasarkan uraian di atas, maka saya memerlukan perlindungan (klaim) tentang:

1. Proses isolasi/ekstraksi serbuk kulit batang tumbuhan turi dilakukan dengan tahapan:
   a. Perendaman/maserasi serbuk kulit batang turi dengan teknik maserasi dingin (pada temperatur kamar) menggunakan beberapa pelarut secara bergantian;
   b. pemilihan dan penggunaan pelarut untuk maserasi didasarkan pada gradien kepolarannya, yaitu dimulai dari pelarut *n*-heksana, lalu residu *n*-heksana direndam dengan etil asetat, dan terakhir residu etil asetat direndam dengan metanol;
   c. lamanya perendamanan dengan teknik maserasi dilakukan selama 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan untuk masing-masing pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol untuk mendapatkan ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol secara terpisah;
2. Proses pemisahan/fraksinasi ekstrak etil asetat seperti pada klaim 1 dilakukan menggunakan teknik KCV dengan tahapan:

a. Persiapan kolom KCV yang meliputi penentuan ukuran diameter kolom yang disesuaikan dengan jumlah sampel dengan perbandingan antara jumlah ekstrak EA, silika gel G60 (35-70 mesh)(impregnasi sampel), dan silika gel 60 GF_{254} (adsorben) adalah 1:2:10;
b. proses KCV mula-mula dilakukan dengan melarutkan sampel seperti pada klaim 1 dengan pelarut aseton, kemudian diimpregnasikan pada silika gel G60. Pada kolom KCV dimasukkan silika gel 60 GF_{254} dalam keadaan kering, kemudian dipadatkan dengan menggunakan vakum. Proses ini dilakukan secara hati-hati agar tidak terdapat rongga udara yang dapat mengganggu proses fraksinasi. Setelah itu dielusi dengan pelarut *n*-heksana 100% Kemudian dimasukkan sampel yang telah diimpregnasi ke dalam silika kasar dan dilapisi kertas saring;
c. proses elusi pada KCV dilakukan dengan menaikkan tingkat kepolaran eluen yaitu dari etil asetat: *n*-heksana (0:100; 10:90; 20:80; 30:70; 40:60; 50:50; 60:40; 80:20; 90:10; 100:0), etil asetat:metanol (100:20), dan metanol 100%.

3. Proses pemurnian fraksi seperti pada klaim 2 dilakukan dengan teknik kromatografi kolom gravitasi (KKG) pada fraksi yang mengindikasikan adanya kandungan komponen utama yang menjadi target isolasi. Tahap pemurnian dengan teknik KKG menggunakan silika gel 60 G dengan eluen aseton:*n*-heksana secara gradien kepolaran dengan rasio mulai dari aseton:*n*-heksana: 2:98 hingga 35:65.

Abstrak

METODE CEPAT PEMISAHAN DAN PEMURNIAN KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK ETILASETAT KULIT BATANG TUMBUHAN TURI (*Sesbania grandiflora* (L) Pers)

Invensi ini berhubungan dengan teknik cepat dalam proses pemisahan dan pemurnian komponen utama dalam ekstrak etil asetat tumbuhan turi bagian kulit batang. Lebih khusus invensi ini menggunakan komposisi eluen tertentu yang dapat menghasilkan senyawa murni dengan lebih cepat. Metode yang digunakan adalah modifikasi dari metode standar dalam pemisahan senyawa bahan alam. Pada invensi ini senyawa murni dapat diperoleh dengan cepat melalui 3 tahapan utama dengan hanya menggunakan 2 variasi eluen yaitu masing-masing campuran eluen etil asetat: *n*-heksana (0-100% EA) dan aseton:*n*-heksana (2-35% aseton). Tahapan awal adalah ekstraksi dengan cara perendaman serbuk kulit batang turi (1,5 kg) selama 1x24 jam (3x pengulangan) dengan menggunakan pelarut yamg memiliki kepolaran berbeda yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Tahapan kedua adalah fraksinasi ekstrak etil asetat dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan fasa diam silika GF254 dan fasa gerak campuran etil asetat: *n*-heksana. Pengelusian dilakukan dengan menaikkan tingkat kepolaran eluen yaitu dari etil asetat: *n*-heksana (0:100; 10:90; 20:80; 30:70; 40:60; 50:50; 60:40; 80:20; 90:10; 100:0), dilanjutkan dengan etil asetat:metanol (100:20), lalu metanol 100%. Dari tahap KCV ini didapatkan sejumlah fraksi yang digabung berdasarkan kesamaan profil kromatogram KLT sehingga dihasilkan 9 fraksi utama (kode A5, A6, B8, B9, B10, C10, C11, C12, dan C13). Tahap terakhir yaitu pemurnian fraksi C11

dengan teknik KKG menggunakan silika gel 60 G sebagai fasa diam dan campuran pelarut aseton:*n*-heksana sebagai fasa gerak. Pengelusian dilakukan dengan komposisi eluen aseton:*n*-heksana: 2:98 hingga 35:65 dan memberikan senyawa murni (5 mg) berupa kristal berbentuk jarum halus berwarna kuning.

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Gedung Rektorat Lantai 5, Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
Telepon (0721) 705173, Fax. (0721) 773798, e-mail : lppm@kpa.unila.ac.id
www.lppm.unila.ac.id

KONTRAK PENELITIAN
Penelitian Strategis Nasional Institusi Tahun Anggaran 2018
Nomor: 393 /UN26.21/PN/2018

Pada hari ini Senin tanggal Dua Belas bulan Februari tahun Dua Ribu Delapan Belas, kami yang bertandatangan di bawah ini :

1. **Warsono, Ph.D** : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Lampung dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Lembaga Penelitian Universitas Lampung ,yang berkedudukan di Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No 1 Bandar Lampung, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA;**
2. **Dr Noviany S.Si, M.Si** : Dosen FAKULTAS MIPA Universitas Lampung dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2018 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Penelitian Strategis Nasional Institusi Tahun Anggaran 2018 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut:

Pasal 1
Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA,** untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian Strategis Nasional Institusi Tahun Anggaran 2018 dengan judul "Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis"

Pasal 2
Dana Penelitian

(1) Besarnya dana untuk melaksanakan penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar **Rp. 140000000 (*Seratus Empat Puluh Juta Rupiah*)** sudah termasuk pajak.
(2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2018, tanggal 05 Desember 2017.

Pasal 3
Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

(1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
   a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total dana penelitian yaitu 70% x Rp. 140000000 (*Seratus Empat Puluh Juta Rupiah*)= Rp. 98000000 (*Sembilan Puluh Delapan Juta Rupiah)* yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PARA PIHAK** membuat dan melengkapi rancangan pelaksanaan penelitian yang memuat judul penelitian, pendekatan dan metode penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, anggaran yang akan digunakan, dan tujuan penelitian berupa luaran yang akan dicapai.

b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar 30% dari total dana penelitian yaitu 30% x Rp. 140000000 (*Seratus Empat Puluh Juta Rupiah*)= Rp. 42000000 (***Empat Puluh Dua Juta Rupiah***) dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah ke SIMLITABMAS yaitu Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian dan Catatan Harian.

c. Biaya tambahan dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** bersamaan dengan pembayaran Tahap Kedua dengan melampirkan Daftar luaran penelitian yang sudah di validasi oleh **PIHAK PERTAMA**

(2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

Nama	:	Noviany
Nomor Rekening	:	0070927974
Nama Bank	:	BNI

(3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4
Jangka Waktu

Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sampai selesai 100%, adalah terhitung sejak **Tanggal 12 Februari 2018 dan berakhir pada Tanggal 16 November 2018**

Pasal 5
Target Luaran

(1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian berupa :
1. Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional : reviewed
2. Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi : submitted
3. Pemakalah dalam pertemuan ilmiah Nasional : terdaftar
4. Pemakalah dalam pertemuan ilmiah Internasional : terdaftar
5. Paten Sederhana : draft
6. Purwarupa/Prototipe : draft
7. Keikutsertaan dalam Seminar Internasional : sudah dilaksanakan
8. Keikutsertaan dalam seminar Nasional : sudah dilaksanakan

(2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian berupa Tidak Ada

(3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA.**

Pasal 6
Hak dan Kewajiban Para Pihak

(1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** luaran penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7;
b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3

(2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1);
b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** luaran Penelitian Strategis Nasional Institusi dengan judul Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;

d. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** laporan penggunaan dana sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7.

Pasal 7
Laporan Pelaksanaan Penelitian

(1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa laporan kemajuan dan laporan akhir mengenai luaran penelitian dan rekapitulasi penggunaan anggaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA** yang tersusun secara sistematis sesuai pedoman yang ditentukan oleh **PIHAK PERTAMA**.

(2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Kemajuan dan Catatan harian penelitian yang telah dilaksanakan ke SIMLITABMAS paling lambat **7 September 2018.**

(3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* Laporan Kemajuan dan Rekapitulasi Penggunaan Anggaran 70% kepada **PIHAK PERTAMA,** paling lambat **14 September 2018**

(4) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Akhir, capaian hasil, Poster, artikel ilmiah dan profil pada SIMLITABMAS paling lambat **16 November 2018** (bagi penelitian tahun terakhir).

(5) Laporan hasil Penelitian sebagaiman tersebut pada ayat (4) harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
   a. Bentuk/ukuran kertas A4;
   b. Di bawah bagian cover ditulis:

Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor : 062/SP2H/LT/DRPM/2018

Pasal 8
Monitoring dan Evaluasi

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2018 ini sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 9
Penilaian Luaran

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

Pasal 10
Perubahan Susunan Tim Pelaksana dan Substansi Pelaksanaan

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

Pasal 11
Penggantian Ketua Pelaksana

Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib mengusulkan pengganti ketua pelaksana yang merupakan salah satu anggota tim kepada **PIHAK PERTAMA.**

) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas dan tidak ada pengganti ketua sebagaimana dimaksud pada ayat(1), maka **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan dana penelitian kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya disetor ke Kas Negara.

) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (2) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA.**

Pasal 12
Sanksi

1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Penelitian ini telah berakhir, namun **PIHAK KEDUA** belum menyelesaikan tugasnya, terlambat mengirim laporan Kemajuan, dan/atau terlambat mengirim laporan akhir, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi administratif berupa penghentian pembayaran dan tidak dapat mengajukan proposal penelitian dalam kurun waktu dua tahun berturut-turut.

(2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat mencapai target luaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 5, maka kekurangan capaian target luaran tersebut akan dicatat sebagai hutang **PIHAK KEDUA** kepada **PIHAK PERTAMA** yang apabila tidak dapat dilunasi oleh **PIHAK KEDUA**, akan berdampak pada kesempatan **PIHAK KEDUA** untuk mendapatkan pendanaan penelitian atau hibah lainnya yang dikelola oleh **PIHAK PERTAMA.**

Pasal 13
Pembatalan Perjanjian

(1) Apabila dikemudian hari terhadap judul Penelitian **Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis** sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran, itikad tidak baik, dan/atau perbuatan yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah dari atau dilakukan oleh **PIHAK KEDUA**, maka perjanjian Penelitian ini dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana penelitian yang telah diterima kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya akan disetor ke Kas Negara.

(2) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**

Pasal 14
Pajak-Pajak

Hal-hal dan/atau segala sesuatu yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa PPN dan/atau PPh menjadi tanggungjawab **PIHAK KEDUA** dan harus dibayarkan oleh **PIHAK KEDUA** ke kantor pelayanan pajak setempat sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 15
Peralatan dan/alat Hasil Penelitian

Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas Lampung sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Pasal 16
Penyelesaian Sengketa

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

Pasal 17
Lain-lain

(1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.

(2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

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

PIHAK PERTAMA

Warsono, Ph.D.
NIDN: 0016026303

PIHAK KEDUA

Dr. Noviany S.Si, M.Si
NIDN: 0019117301

Mengetahui
DEKAN FAKULTAS MIPA

Prof. Warsito, S.Si, Ph.D.
NIDN: 0012027105

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN STRATEGI NASIONAL
Institusi/~~Konsorsium~~
(TAHUN II)

Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif Dari Tumbuhan Turi (*Sesbania grandiflora*) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis

TIM PENELITI

Dr. Noviany, M.Si	**NIDN: 0019117301**
Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc	**NIDN: 0030056902**
Neny Purwitasari, S.Farm, M.Sc, Apt	**NIDN: 0019048006**

Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor: 393/UN26.21/PN/2018

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG

NOVEMBER 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul	: Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktifdari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis
Peneliti/Pelaksana	
Nama Lengkap	: Dr NOVIANY, S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi	: Universitas Lampung
NIDN	: 0019117301
Jabatan Fungsional	: Lektor
Program Studi	: Kimia
Nomor HP	: 081377792816
Alamat surel (e-mail)	: noviany@fmipa.unila.ac.id
Anggota (1)	
Nama Lengkap	: Dr SUTOPO HADI S.Si, M.Sc.
NIDN	: 0030056902
Perguruan Tinggi	: Universitas Lampung
Anggota (2)	
Nama Lengkap	: NENY PURWITASARI S.Farm, Apt, M.Sc.
NIDN	: 0019048006
Perguruan Tinggi	: Universitas Airlangga
Institusi Mitra (jika ada)	
Nama Institusi Mitra	:
Alamat	:
Penanggung Jawab	:
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke 2 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan	: Rp 140,000,000
Biaya Keseluruhan	: Rp 577.576,800

Mengetahui,
Dekan FMIPA Universitas Lampung

(Prof. Warsito, S.Si., DEA. Ph.D)
NIP/NIK 19710212 199512 1001

LAMPUNG, 13 - 11 - 2018
Ketua,

(Dr NOVIANY, S.Si, M.Si)
NIP/NIK 197311191998022001

Menyetujui,
Ketua LPPM Universitas Lampung

(Warsono, Ph.D)
NIP/NIK 19630216 198703 1003

RINGKASAN

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang paling banyak menyebabkan kematian manusia. Untuk mengatasi masalah ancaman kematian yang disebabkan TB sudah banyak digunakan obat diantaranya pirazinamid, rifampisin, isoniazid, streptomisin, dan etambutol. Ada kekurangan pada penggunaan obat-obat tersebut yaitu penggunaannya secara berlebih dapat menyebabkan patogen TB resisten (*multi-drug resistant*) terhadap jenis obat ini. Untuk mengurangi kekurangan obat TB diperlukan agen antituberkulosis yang lebih baik. Salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai sumber bahan agen anti-TB adalah tumbuhan turi (*Sesbania grandiflora*). Pada penelitian tahun pertama telah dilaporkan tiga senyawa hasil isolasi, dua diantaranya adalah senyawa jenis 2-arilbenzofuran baru dari kulit batang *S. grandiflora* yang dinamai sebagai sesbagrandiflorain A dan B, sementara satu senyawa diperkirakan merupakan senyawa golongan flavonoid. Sedangkan pada penelitian tahun kedua telah berhasil dilakukan uji aktivitas anti-TB terhadap sesbagrandiflorain A dan B, penemuan tiga senyawa baru 2-arilbenzofuran yang dinamakan sesbagrandiflorain C, D, dan E serta satu senyawa alkaloid piperin yang tidak lazim ditemukan pada keluarga tumbuhan Leguminosae. Hasil uji bioaktivitas menunjukkan bahwa sesbagrandiflorain A dan B masing-masing memiliki aktivitas lemah dan sedang terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv dengan nilai *MIC* 200 dan 12.5 µg/mL berturut-turut. Semua senyawa hasil isolasi diperoleh melalui beberapa tahapan isolasi dan ekstraksi yang lazim digunakan, dilanjutkan dengan fraksinasi dan pemurnian dengan metode kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom gravitasi (KKG), dan kromatotron. Karakterisasi dan identifikasi senyawa-senyawa hasil isolasi dilakukan dengan cara fisika dan spektroskopi, meliputi penentuan titik leleh, uji kromatografi lapis tipis, dan analisis spektroskopi UV, IR, NMR (1D dan 2D), dan MS. Dua senyawa baru, sesbagrandiflorain A dan B telah terbit (*published*) di jurnal *Natural Products Research* Vol.32, No. 21 tahun 2018 (*Impact Factor* 2017: 1,928, SJR = 0.671, Q2). Draft paten sederhana sebagai luaran tambahan saat ini telah memenuhi persyaratan formalitas dan sedang dalam proses review. Sementara itu hasil penelitian pada tahun kedua telah dipublikasikan pada seminar internasional ICNP (19-21 Maret 2018) dan Bromo Conference (11-12 Juli 2018)**.** Senyawa-senyawa baru hasil isolasi yang diperoleh pada penelitian tahap kedua ini juga telah dipublikasikan ke *Journal of Natural Medicines* (*IF* 1.920, SJR =0.64, Q1) dengan status *submitted*. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dari penelitian tahun kedua, maka penelitian pada tahun ketiga dilanjutkan dengan pemisahan campuran dua senyawa baru yang diperoleh dan melakukan modifikasi struktur terhadap senyawa-senyawa hasil isolasi. Senyawa-senyawa isolat dan hasil modifikasinya kemudian diuji bioaktivitas anti-TB secara *in vitro* terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan metode MTT assay dilusi agar. Senyawa bioaktif anti-TB yang dihasilkan dari penelitian ini akan dipublikasikan pada *Journal of Natural Medicines* (*IF* 1.920, SJR =0.64, Q1), selanjutnya akan didaftarkan dalam HKI, serta ditulis sebagai bahan ajar.

Kata Kunci: antituberkulosis, arilbenzofuran, *Mycobacterium tuberculosis*, senyawa bioaktif, sesbagrandiflorain, *Sesbania grandiflora*

PRAKATA

Bismillah,

Alhamdulillah puji dan syukur penulis ucapkan ke hadirat Alloh Subhanahu wata'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya laporan kemajuan penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik sesuai dengan doa dan harapan. Laporan kemajuan dengan tema penelitian:" **Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (*Sesbania grandiflora*) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis**" ini merupakan salah satu persyaratan yang harus dibuat dan menjadi bagian dari rangkaian kegiatan penelitian secara keseluruhan.

Dalam pelaksanaan kegiatan penelitian dan penulisan laporan kemajuan ini tidak lepas dari berbagai kesulitan dan rintangan, namun itu semua dapat penulis lalui berkat rahmat dan pertolongan-Nya serta bantuan dan dorongan semangat dari berbagai pihak yang membantu baik secara langsung maupun tidak langsung.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terimakasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas dana hibah penelitian yang diberikan melalui skim Penelitian Strategi Nasional (Institusi) Tahun Anggaran 2018.
2. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung yang telah memberikan banyak dukungan dan fasilitas sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
3. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung atas fasilitas sarana dan prasarana laboratorium demi terselenggaranya penelitian ini.
4. Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc, selaku anggota dalam tim penelitian, terimakasih atas bantuan, saran, dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
5. Neny Purwitasari, S.Farm, M.Sc, Apt, selaku anggota dalam tim penelitian, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian dilakukan.

6. Prof. Muhammad Aziz dari Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, Tokyo, Japan, atas bantuannya dalam pengukuran spektrum MS serta saran dan masukannya yang berharga dalam penulisan artikel ilmiah.
7. Prof. Taifo Mahmud, Ph.D dari Oregon State University, United States of America, atas bantuannya dalam pengukuran NMR, fasilitas alat HPLC, uji bioaktivitas dan toksisitas senyawa hasil isolasi serta saran dan masukannya yang berharga dalam penulisan artikel ilmiah.
8. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung atas dukungannya selama penelitian.
9. Wiwit Kasmawati, PLP Laboratorium Kimia Organik, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik dalam pelaksanaan penelitian ini.
10. Nita Yuliyan dan Risa serta semua anggota NRG atas segala bantuan, dukungan, kerjasama, dan kesabarannya yang luar biasa dalam menjalani penelitian ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat dituliskan satu persatu yang telah membantu penulis sehingga penelitian ini dapat terselenggara dengan baik.

Semoga Alloh Subhanahu wata'ala membalas segala kebaikan bapak dan ibu serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Penulis sangat menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kesempurnaan, namun semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat yang banyak kepada para pembaca khususnya baik penulis pribadi. Aamiin.

Bandar Lampung, 13 November 2018
Penulis

Dr. Noviany, M.Si

DAFTAR ISI

HALAMAN

HALAMAN PENGESAHAN 2

RINGKASAN..... 3

PRAKATA 4

DAFTAR ISI 6

DAFTAR TABEL 7

DAFTAR GAMBAR 7

DAFTAR LAMPIRAN..... 8

BAB 1. PENDAHULUAN..... 9

BAB 2.TINJAUAN PUSTAKA 11

2.1 Kajian Pustaka ……..... 11

2.2 Studi Pendahuluan yang Sudah Dilaksanakan/Hasil yang Sudah Dicapai..... 14

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN....……. 17

3.1. Tujuan Penelitian 17

3.2. Manfaat Penelitian..... 17

BAB 4. METODE PENELITIAN .....…… 19

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian 19

4.2. Bahan dan Alat..... 19

A. Bahan Tumbuhan.... 19

B. Bahan Kimia/Reagen 19

C. Bahan Uji Bioaktivitas 19

D. Alat-Alat Yang Digunakan..... 19

4.3.Prosedur Penelitian 20

B. Ekstraksi ..... ……..... 20

C. Isolasi dan Pemurnian 21

D. Elusidasi Struktur 24

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI ..……..... 26

5.1. Hasil .....……..... 26

5.2 Luaran yang Dicapai .....……. 29

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....……..... 32

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN..... 34

7.1. Kesimpulan 34
7.2 Saran 34
DAFTAR PUSTAKA ……..... 35
LAMPIRAN ..... …….. 39

DAFTAR TABEL

HALAMAN

Tabel 1. Peta Jalan Penelitian..... 16
Tabel 2. Data ^{1}H senyawa **1- 3 ……**..... 27
Tabel 3 Rencana Target Capaian Tahunan 29
Tabel 4. Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah..... 30
Tabel 5. *Timetable* Kegiatan Penelitian ……..... 33

DAFTAR GAMBAR

HALAMAN

Gambar 1. Bagan alir penelitian 20
Gambar 2 Kromatogram hasil KLT 5 fraksi polar utama dari KCV I-2..... 21
Gambar 3. Kromatogram KKG fraksi G dengan eluen etil asetat/*n*-heksana (3/7). 21
Gambar 4. Kromatogram hasil KLT KG1-4 menggunakan eluen aseton/*n*-heksana 22
Gambar 5. KKG (a) KG2 dan (b) KG3 ……..... 22
Gambar 6. Kristal senyawa N8 22
Gambar 7. Kromatogram KLT kristal N-8, senyawa sesbagrandiflorain A dan B. 23
Gambar 8. Kromatogram KLT senyawa N3 dengan 3 sistem eluen (a)aseton/DCM (1/9) ; (b) kloroform/metanol (95/5); (c) aseton/*n*-heksana (3/7)..... 23
Gambar 9. Padatan Tak Berwarna Senyawa **4** 24
Gambar 10. Kromatogram Senyawa **4** ……..... 24
Gambar 11. Diagram *fishbone* penelitian ……..... 25
Gambar 12. Struktur senyawa-senyawa hasil isolasi..... 26
Gambar 13. Spektrum^{1}H NMR isolat **N4**……..... 28
Gambar 14. Spektrum^{13}C NMR isolat **N4**……..... 28

DAFTAR LAMPIRAN

HALAMAN

Lampiran 1. Artikel Ilmiah yang Telah Terbit (published)..... 40
Lampiran 2. Draft Artikel Ilmiah Tahun Kedua 49
Lampiran 3. Seminar I ……..... 66
Lampiran 4. Seminar II ……..... 69
Lampiran 5. Purwarupa 71
Lampiran 6. Bukti Status Terkini Draft Paten Sederhana 72

BAB 1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis atau *Tubercle Bacillus* (TB) adalah satu dari penyebab kematian terbesar di dunia yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Janin, 2007). Penyakit TB merupakan sejenis penyakit menular yang sangat mudah penyebarannya melalui udara oleh mikroorganisme, *Mycobacterium tuberculosis*, suatu bakteri aerobik patogenik yang menyerang sistem pernafasan. Sejak satu dekade terakhir, sekitar satu pertiga populasi manusia di dunia terinfeksi oleh *M. tuberculosis* (Zumla, 1998). Berdasarkan data World Health Organization (WHO) pada tahun 2006, sekitar 2 juta kematian disebabkan hanya penyakit TB setiap tahun. Untuk mengatasi wabah ini, pencarian beberapa agen antituberkulosis yang efektif berhasil dilakukan, diantaranya penemuan seperti pirazinamid, rifampisin, isoniazid, streptomisin, dan etambutol. Dengan ditemukannya obat-obatan tersebut, sejumlah kasus penyakit TB dapat dikurangkan secara drastis terutama di negara-negara berkembang. Namun sejak akhir tahun 1980-an, beberapa kasus penyakit TB di seluruh dunia kembali meningkat pesat disebabkan oleh *multidrug resistant* (MDR) dari *M. tuberculosis* (Sandra, dkk., 2000). Survey yang telah dilakukan oleh lembaga kesehatan dunia menyatakan Indonesia menempati urutan ketiga penderita TB setelah India dan Cina (DepKes, 2006). Oleh sebab itu, diperlukan usaha-usaha intensif dan terpadu dari para peneliti untuk mengidentifikasi target obat baru yang potensial sebagai agen anti-TB.

Sumber-sumber bahan alam khususnya tumbuhan, sudah sejak lama digunakan secara luas oleh masyarakat di dunia dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit termasuk yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Senyawa-senyawa bahan alam telah banyak terbukti dapat dijadikan sebagai sumber terpenting dalam pencarian obat-obatan baru yang relatif aman dari efek samping dan murah (Kone, 2004). Penemuan terkini artemisinin sebagai antimalaria dan taksol sebagai antikanker dari organisme di alam adalah indikasi pentingnya bahan-bahan alami dalam rangka penemuan obat-obatan baru. Tumbuh-tumbuhan yang secara traditional berkhasiat sebagai obat, sampai saat ini masih menjadi alternatif utama untuk penemuan dan pengembangan agen anti-TB baru. Namun demikian, hanya

sebagian kecil saja dari tumbuhan berpotensi tersebut yang dieksplorasi untuk diteliti kandungan aktifnya (Frame, dkk., 1998).

Corona dkk. pada tahun 2008 telah mengevaluasi bioaktivitas 9 tumbuhan obat yang digunakan secara tradisional di Meksiko terhadap *M. tuberculosis*. Dari penelitian tersebut dilaporkan bahwa diantara 9 tumbuhan yang diujikan, *Nasturtium officinale* menunjukkan aktivitas antituberculosis terbaik dengan nilai *MIC* 100 µg/mL. Newton dkk. (2000) dalam suatu literatur reviewnya melaporkan bahwa terdapat lebih dari 350 spesies tumbuhan di seluruh dunia telah diuji aktivitas antituberkulosis. Dari hasil reviewnya dilaporkan bahwa sejumlah ekstrak tumbuhan dan senyawa tertentu menunjukkan aktivitas antimikroba yang potensial.

Berdasarkan penelusuran literatur yang telah dilakukan, hingga saat ini belum ada kajian atau studi intensif terhadap tumbuh-tumbuhan di Indonesia khususnya di daerah Lampung dalam rangka pencarian obat alternatif untuk anti-TB. Tumbuhan *Sesbania grandiflora* atau yang dikenal dengan nama lokal turi, merupakan salah satu tumbuhan obat tradisional yang sering digunakan di kawasan Asia Tenggara dan India. Semua bagian tumbuhan turi seperti akar, kulit batang, daun, bunga, biji, dan buah dapat digunakan untuk pengobatan secara tradisional (Wagh dkk., 2009). Kajian fitofarmakologi sebelumnya yang telah dilakukan pada bagian akar tumbuhan turi (*S. grandiflora*) menunjukkan bioaktivitas antituberkulosis yang cukup signifikan pada isolat yang diperoleh (Noviany, dkk., 2012a; 2012b). Berdasarkan paparan di atas dapat dinyatakan bahwa tumbuhan *S. grandiflora* sangat prospek untuk diteliti dalam rangka pencarian sumber-sumber alami obat anti-TB. Penelitian yang dilakukan saat ini merupakan kelanjutan dari kajian fitokimia pada tumbuhan *S. grandiflora* terkait dengan pemanfaatannya sebagai salah satu sumber senyawa bioaktif baru yang potensial sebagai agen anti-TB. Dari hasil penelitian ini telah berhasil dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa-senyawa fenolik jenis 2-arilbenzofuran dari ekstrak etilasetat kulit batang tumbuhan *S. grandiflora*. Proses fraksinasi dan pemurnian fraksi-fraksi lainnya dari ekstrak etilasetat masih terus dilanjutkan untuk menggali senyawa-senyawa bioaktif yang berbeda yang berpotensi sebagai agen anti-TB.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

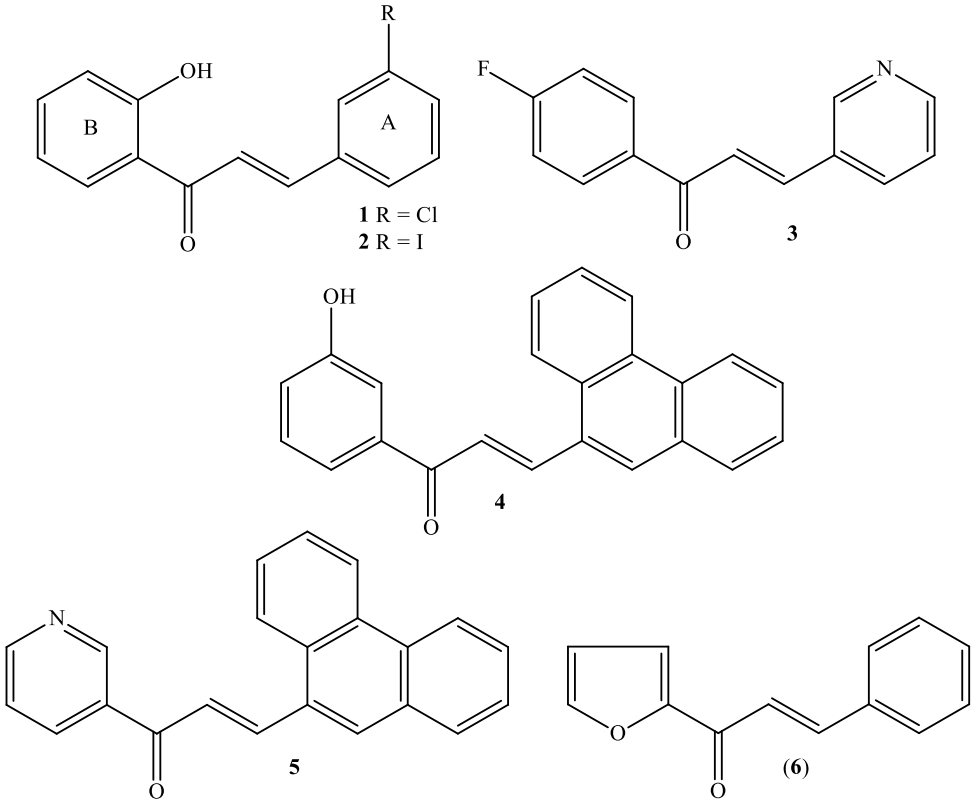
2.1 Kajian Pustaka

Indonesia merupakan salah satu negara 'megadiversity' ketiga dalam hal keberagaman tumbuh-tumbuhan baik tingkat tinggi maupun rendah. Sebagai negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, eksplorasi sumber-sumber senyawa bioaktif baru dari tumbuhan akan menjadi lebih praktis dan menguntungkan. Karena hingga saat ini, tumbuhan masih memegang peranan penting dalam penemuan obat-obatan baru untuk mengatasi berbagai penyakit manusia (Balunas dan Kinghorn, 2005). Bahkan menurut Tulp dkk. (2006), diperkirakan hampir 50% obat-obat yang beredar sekarang bersumber dari tumbuh-tumbuhan. Oleh sebab itu ketertarikan akan sumber senyawa bioaktif dapat membantu industri pembuatan obat baru yang lebih efisien.

Beberapa pendekatan sudah dilakukan untuk menekan jumlah kematian yang disebabkan oleh penyakit ini, diantaranya pencarian sumber-sumber alam dan pembuatan turunan semi sintesis aktif terhadap penyakit TB. Sejumlah obat-obatan anti-TB saat ini adalah diisolasi dari spesies mikroorganisme jamur. Streptomycin adalah salah satu contoh obat anti-TB yang popular yang berhasil diisolasi dari *Streptomyces griseus*. Senyawa-senyawa aktif lain yang berhubungan seperti kanamycin, amikacin dan capreomycin juga berhasil diisolasi dari *S. capreolus (*Herr, dan Redstone, 1966; Nomoto, dkk., 1978). Turunan-turunan senyawa tersebut saat ini digunakan dalam kombinasi antibiotik TB yang lain sebagai *second-line drugs.*

Beberapa kelompok senyawa calkon dan analognya telah dievaluasi bioaktivitasnya terhadap *M. tuberculosis* H37Rv (Lin, dkk., 2002). Diantara senyawa-senyawa tersebut, dua senyawa calkon **1**, **2**, dan empat senyawa mirip calkon **3**-**6** menunjukkan aktivitas daya hambat >90% terhadap *M. tuberculosis*. Bioaktivitas tersebut mengindikasikan bahwa adanya subtituen halogen pada cincin A dari 2'-hidroksicalkon (senyawa **1**-**2**) meningkatkan aktivitas anti-TB senyawa, dimana subtitusi halogen pada posisi 3 memperlihatkan aktivitas anti-TB yang lebih tinggi daripada substitusi halogen pada posisi 2 atau 4. Selain itu, senyawa-senyawa mirip calkon kebanyakan menunjukkan aktivitas anti-TB yang signifikan diantara semua senyawa yang diuji. Diperkirakan dalam seri senyawa tersebut kemungkinan

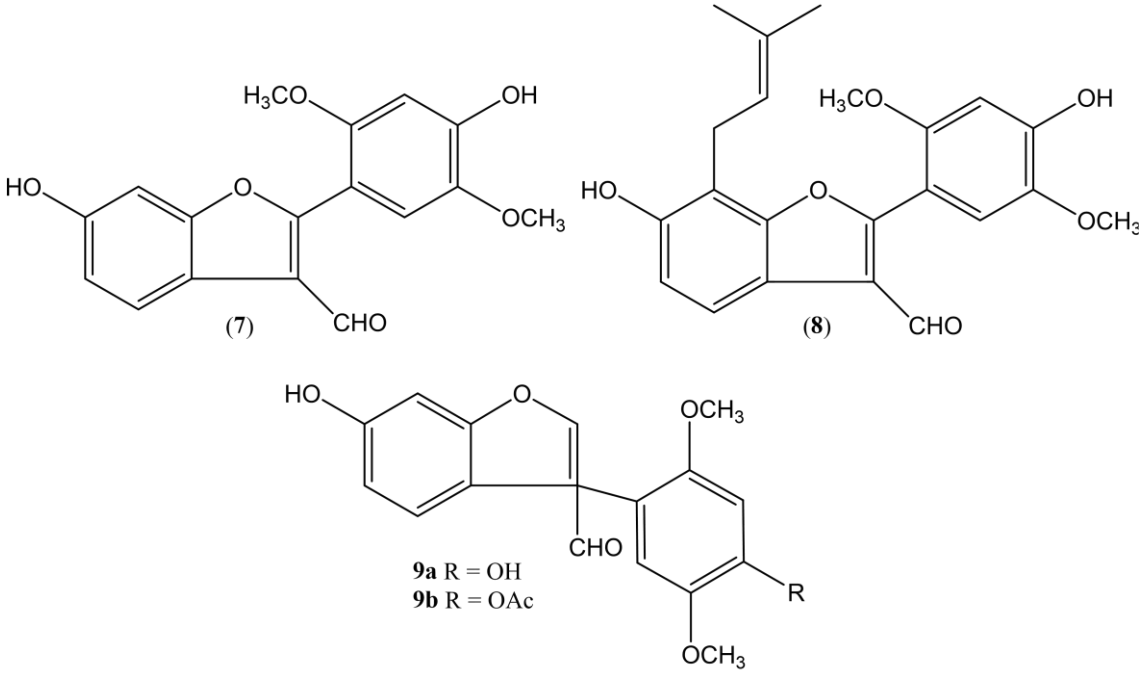
diperlukan suatu gugus lipofilik di satu sisi dan gugus hidrofilik di sisi lain dari 2-propen-1-on (senyawa **3**-**6**)



Famili tumbuhan Fabaceae, khususnya spesies-spesies dalam subfamili Papilionoideae sudah sejak lama menarik perhatian para peneliti tidak hanya disebabkan oleh variasi struktur senyawa yang dihasilkan, tetapi juga karena keaktifan biologisnya yang menarik. Beberapa jenis golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, kumarin, fenilpropanoid, antrakuinon, terpenoid dan glikosida sianogenat telah berhasil diisolasi dari famili tumbuhan ini (Wink, dan Mohamed, 2003). Diantara berbagai golongan senyawa tersebut, jenis isoflavonoid merupakan komponen utama yang ditemukan dalam subfamili Papilionoideae.

Veitch pada tahun 2007 melaporkan bahwa lebih dari 420 senyawa baru jenis isoflavonoid berhasil diisolasi dari tanaman ini. Sejalan dengan penemuan tersebut, ternyata di alam, kelompok senyawa ini memiliki sebaran fungsi biologis yang luas seperti antimikroba, anti serangga, bersifat sebagai zat allelopati (Dixon dan Sumner, 2003), inhibitor terhadap serangan pathogen/penyakit (Graham dan Graham, 2000). Selain itu hasil kajian klinis terhadap kelompok senyawa isoflavonoid memperlihatkan pengaruhnya yang positif dalam kesehatan dan nutrisi manusia,

diantaranya dalam pencegahan penyakit jantung, gejala menopausal dan osteoporosis (Cogolludo, dkk., 2007; Cornwell, dkk., 2004; Di, dkk., 2008; Joung, dkk., 2003; Kottra dan Daniel, 2007). Selain jenis isoflavonoid, senyawa golongan arilbenzofuran juga telah ditemukan oleh Tanaka dkk (2004) dari akar *Erythrina variegata*. Dari hasil penelitiannya dilaporkan bahwa dua senyawa tipe 2-arilbenzofuran, eryvarins P (**7**) dan Q (**8**), serta suatu 3-aril-2,3-dihidrobenzofuran, eryvarin R (**9**) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Dari ketiga senyawa isolat tersebut, eryvarin Q (8) menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling potensial terhadap bakteri uji yang digunakan.



Diantara lebih dari 13000 spesies dalam subfamili Papilionoideae, *Sesbania grandiflora* adalah salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif baru. Seluruh bagian tanaman ini, meliputi akar, kulit batang, gum, daun, bunga dan buah, sudah digunakan secara turun temurun dalam pengobatan tradisional terutama di daerah Asia Tenggara dan India. Beberapa kajian efek farmakologi dari ekstrak pada tanaman ini telah banyak dilakukan dalam rangka memberikan validasi ilmiah mengenai pemanfaatannya secara tradisional. Penggunaan daun *S. grandiflora* sebagai suplemen pada perokok dapat mencegah kerusakan oksidatif pada paru-paru, hati dan ginjal (Ramesh dan

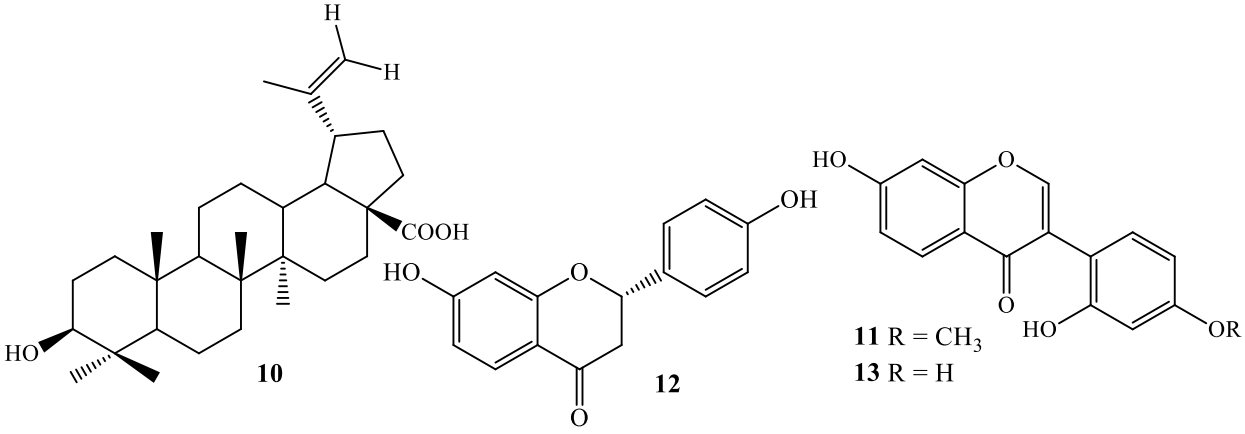
Begum, 2006; Ramesh, dkk., 2007; 2010). Penelitian lain yang dilakukan oleh Doddola *et al.* (2008) menunjukkan bahwa jus daun *S. grandiflora* memberikan aktivitas *antiurolithiatic* yang signifikan terhadap kandungan batu jenis kalsium oksalat. Pada tahun 2010, Laladhas dkk. melakukan uji secara *in vivo* dan *in vitro* terhadap ekstrak bunga *S. grandiflora* menggunakan sel kanker yang berbeda, hasil penelitian menunjukkan bahwa bunga tersebut dapat dijadikan sebagai kandidat obat antikanker yang potensial. Selain itu, kajian fitofarmakologi pada ekstrak *n*-heksana dari biji *S. grandiflora* memperlihatkan aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, analgesik dan antipiretik (Shareef, dkk., 2012). Kebanyakan penelitian yang telah dilakukan pada *S. grandiflora* hanya sebatas skrining fitokimia dan uji efek farmakologi dari ekstrak tanaman.

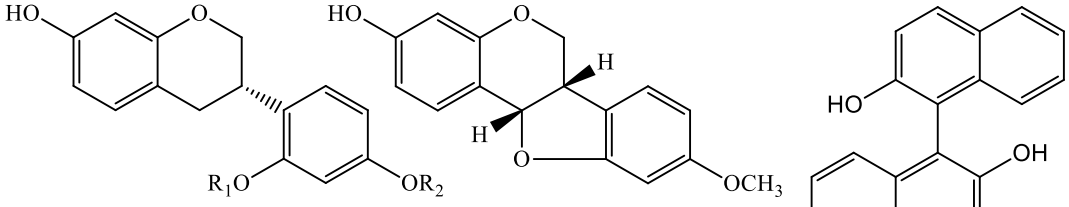
Dari penelusuran literatur yang telah dilakukan, penelitian kimia tumbuhan *S. grandiflora* yang tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan. Sejak satu dekade terakhir ini, penulis telah mengeksplorasi secara intensif senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan tersebut dan mengkaji efek farmakologinya (Noviany, dkk., 2012a; 2012b). Penelitian awal dilakukan pada bagian akar tumbuhan *S. grandiflora* untuk mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif murni yang memiliki aktivitas anti-TB. Penelitian yang telah dilakukan saat ini merupakan penelitian kimia pada *S. grandiflora* khususnya bagian kulit batang kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas anti-TB senyawa-senyawa murni yang diperoleh. Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan bahwa jenis senyawa metabolit sekunder pada kulit batang *S. grandiflora* merupakan jenis fenolik yang berbeda dari kandungan senyawa metabolit sekunder pada bagian akar *S. grandiflora*. Penelitian ini masih terus dilanjutkan untuk mendapatkan data secara menyeluruh mengenai profil kandungan kimia kulit batang *S. grandiflora* dan potensinya sebagai agen anti-TB.

2.2 Studi Pendahuluan yang Sudah Dilaksanakan/Hasil yang Sudah Dicapai

Dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan terhadap akar *S. grandiflora*, diperoleh 9 senyawa murni dan satu campuran isomer. Sembilan senyawa yang berhasil diisolasi yaitu suatu terpenoid, asam betulinat (**10**), dan tujuh senyawa isoflavonoid, yaitu xenognosin B (**11**), liquiritigenin (**12**), 7,2',4'-trihydroxyisoflavone (**13**), demethylvestitol (**14**), vestitol (**15**), medicarpin (**16**),

sativan (**17**), bersama-sama dengan satu senyawa fenolik alam baru, yaitu 1,1'-bi-2-naftol (**18**) (Noviany, dkk., 2012a; 2012b). Semua senyawa hasil isolasi diuji aktivitasnya secara *in vitro* terhadap *strain* bakteri *M. tuberculosis*. Di antara semua senyawa uji, 1,1'-bi-2-naftol ditemukan paling aktif pada uji anti-TB dengan nilai konsentrasi hambat minimum 312.5 x 10^{-2} µg/mL.





14 R_1 = H; R_2 = H
15 R_1 = H; R_2 = CH_3
17 R_1 = CH_3; R_2 = CH_3

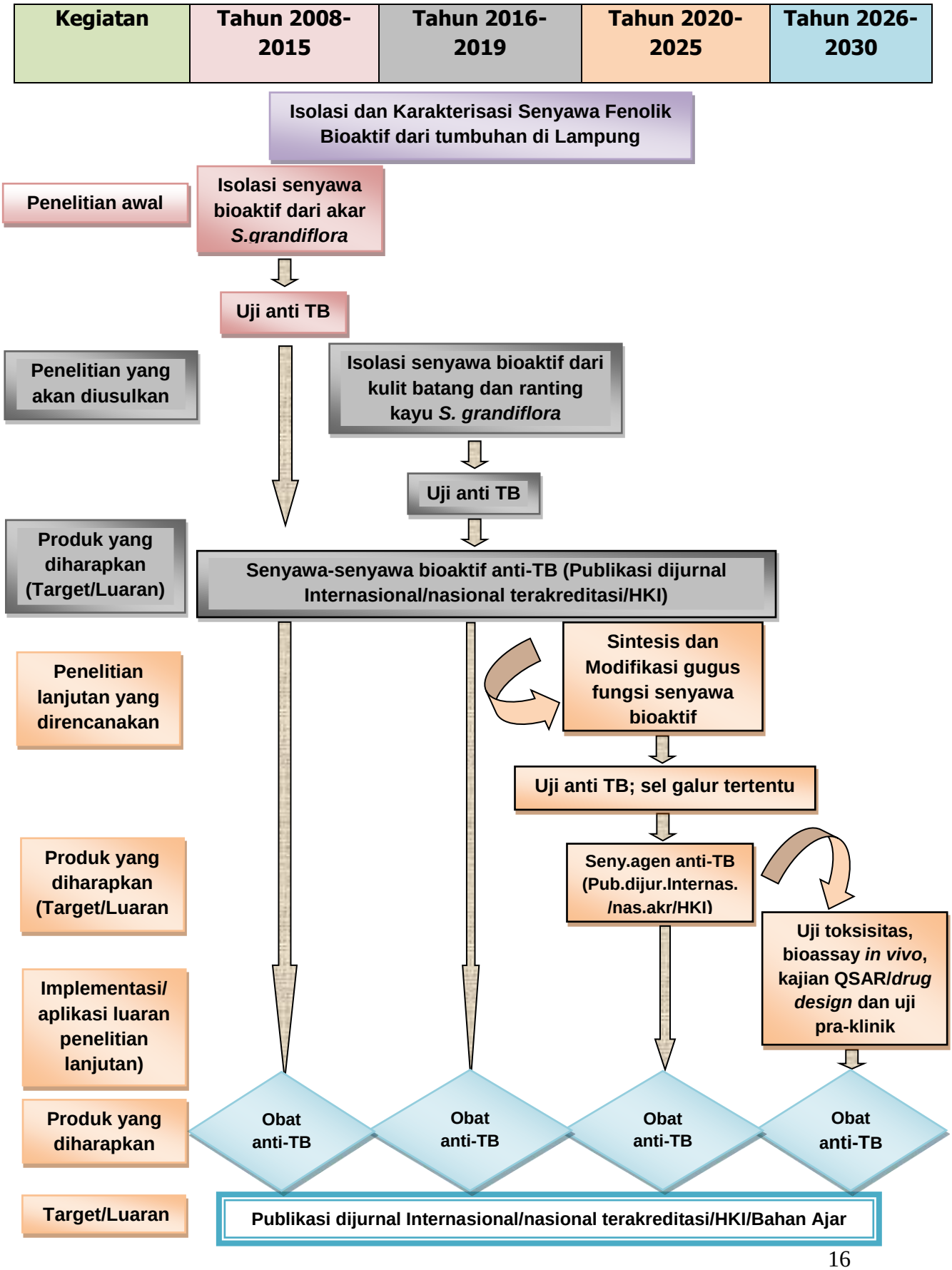
16

18

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan sebelumnya serta studi pendahuluan yang dilakukan, dapat dinyatakan bahwa *S. grandiflora* merupakan tumbuhan obat tradisional yang bernilai terutama dalam mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi. Studi lebih lanjut pada *S. grandiflora* masih perlu dilakukan untuk mencari senyawa-senyawa aktif lainnya dan mengklarifikasi potensi lain dari tanaman tersebut sebagai sumber yang bermanfaat bagi penemuan jenis obat baru khususnya obat anti-TB. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dari kulit batang dan ranting kayu tumbuhan *S. grandiflora*, dilanjutkan dengan uji aktivitas anti-TB senyawa isolat terhadap *M. tuberculosis*. Senyawa-senyawa murni yang menunjukkan aktivitas anti-TB diharapkan dapat dijadikan sebagai agen anti-TB baru yang dapat menggantikan obat anti-TB yang telah resisten.

2.3 Peta Jalan Penelitian

Tabel 1. Peta Jalan Penelitian



BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang dilakukan meliputi tujuan umum dan tujuan khusus. Secara umum penelitian kimia pada kulit batang *S. grandiflora* bertujuan untuk mengeksplorasi kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder dari kulit batang tumbuhan dan menguji efek farmakologinya. Tujuan umum dilakukan melalui 4 tahapan yaitu (1) skrining fitokimia; (2) ekstraksi dan isolasi; (3) fraksinasi dan pemurnian; dan (4) uji bioaktivitas senyawa murni secara *in vitro* terhadap *M. tuberculosis*. Adapun tujuan khusus dalam setiap tahap adalah mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif murni yang bersifat anti-TB dari kulit batang tumbuhan *S. grandiflora* yang dilakukan melalui tahapan berikut:

Tahap pertama

Mendapatkan informasi mengenai jenis kandungan senyawa metabolit sekunder (seperti flavonoid, alkaloid, fenolik, terpenoid/steroid, dan saponin) dari kulit batang tumbuhan *S. grandiflora* dan mendapatkan senyawa-senyawa murni dari jaringan tumbuhan tersebut. Untuk mencapai tujuan pada tahap ini langkah-langkah yang akan dilakukan adalah proses isolasi, fraksinasi dan pemurnian yang meliputi maserasi menggunakan pelarut bergradien kepolaran, partisi menggunakan teknik-teknik kromatografi seperti kromatografi cair vakum, kromatografi kolom gravitasi, kromatografi kolom flash, dan kromatotron. Senyawa hasil partisi yang diperoleh kemudian dimurnikan dengan cara kristalisasi, rekristalisasi, kromatografi kolom, atau kromatografi lapis tipis preparatif. Senyawa yang sudah murni selanjutnya dikarakterisasi secara fisika dan spektroskopi UV-VIS, IR, NMR, dan MS.

Tahap kedua

Mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif murni yang menunjukkan aktivitas antituberkulosis. Untuk mencapai tujuan pada tahap ini, senyawa-senyawa murni yang diperoleh pada tahap pertama kemudian diuji aktivitas biologisnya secara *in vitro* terhadap *M. tuberculosis* menggunakan metode dilusi agar.

3.2 Manfaat Penelitian

Berdasarkan dari paparan di awal bahwa tanaman adalah terbukti sebagai salah satu sumber terpenting dalam pengembangan bahan-bahan obat baru (Newman,

dan Cragg, 2007; Newman, dkk., 2003), sehingga perhatian para peneliti tertumpu pada tumbuhan sebagai sumber potensial agen anti TB yang baru (Pauli, dkk., 2005; Sanchez dan Kouznetsov, 2010). Beberapa peneliti dalam reviewnya melaporkan bahwa sejumlah spesies tumbuhan yang diteliti menunjukkan aktivitas anti TB yang menjanjikan (Arya, 2011; Negi, dkk., 2010). Selain itu sejumlah ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari beberapa tumbuhan dan spesies yang berhubungan, dilaporkan memperlihatkan aktivitas menghambat yang baik terhadap *M.tuberculosis* (Newman, dkk., 2002; Copp dan Pearce, 2007). Dari penemuan-penemuan tersebut, masih belum dijumpai kandidat obat TB yang lulus uji klinik. Tumbuhan *S. grandiflora* merupakan salah satu kandidat obat TB yang berpotensi untuk diteliti dan dikembangkan.

Sejalan dengan isu permasalahan penyakit TB tersebut dan merujuk dari hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan oleh penulis dan tim terhadap jaringan akar dan kulit batang tumbuhan *S. grandiflora*, maka dapat diuraikan beberapa manfaat penelitian yang dilakukan diantaranya:

a. Senyawa-senyawa murni hasil isolasi (isolat) dari kulit batang *S. grandiflora* yang diperoleh dapat digunakan untuk melakukan berbagai uji aktivitas biologis terhadap sel galur yang berbeda seperti sel tumor/kanker, virus, fungi/jamur, dan berbagai jenis mikroba.
b. Di bidang farmasi, kedokteran, dan pengobatan, isolat-isolat yang didapatkan dapat dimanfaatkan sebagai senyawa rujukan (*lead compounds*) atau bahan awal/model molekul untuk sintesis, semi sintesis, modifikasi struktur kimia maupun senyawa-senyawa analog dalam rangka mendesain secara rasional pola/bentuk obat baru untuk penemuan dan pengembangan obat-obatan.
c. Senyawa-senyawa murni yang menunjukkan bioaktivitas anti-TB yang tinggi, dapat dipromosikan sebagai obat/agen anti-TB baru dalam rangka menunjang kesehatan masyarakat.
d. Struktur senyawa bioaktif anti-TB yang diperoleh dapat memberikan kontribusi pada bidang ilmu kimia organik khususnya dalam mempelajari hubungan struktur dan keaktifan senyawa (SAR) yang menunjang kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian tahun kedua ini telah dilaksanakan selama kurang lebih 6 bulan terhitung dari bulan Maret 2018 hingga Oktober 2018, di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Lampung.

4.2 Bahan dan Alat

A. Bahan Tumbuhan

Kulit batang tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari dua daerah yang berbeda di Lampung, yaitu dari daerah dekat area persawahan Desa Sumber Dadi, Kec. Ambarawa, dan Desa Podomoro, Kec. Pringsewu, Kabupaten Pringsewu, Lampung. Determinasi spesies tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense, LIPI, Bogor.

B. Bahan Kimia/Reagen

Bahan kimia yang digunakan diantaranya $FeCl_3$, serbuk Mg, asam asetat glasial, etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), etanol, *n*-heksana (n-C_6H_{14}), aseton (C_3H_6O), aseton-d_6, akuades (H_2O), serium sulfat 1,5% dalam asam sulfat 2 N, diklorometana (CH_2Cl_2), silika gel Merck G 60 (0.063-0.200 mm), silika gel 60 GF_{254}, plat KLT, dan silica gel PF_{254}

C. Bahan Uji Bioaktivitas

Mycobacterium tuberculosis, Middle Brook 7H9 broth, Middle Brook 7H10 broth, Media Lowenstein Jensen, OADC, Tween-80, dimetil sulfoksida, gliserol, etambutol, akuades steril, akua bidestilata, petridis, mikropipet tips.

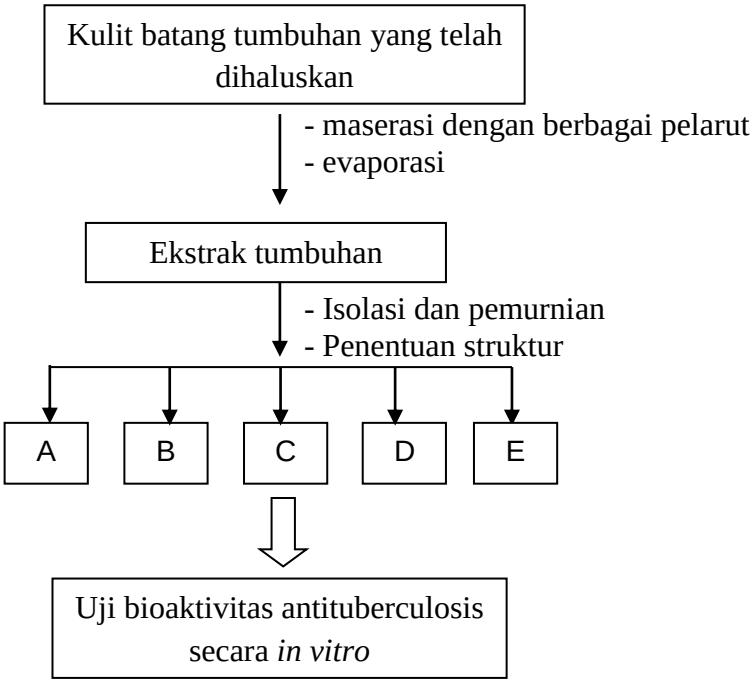
D. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain alat-alat gelas laboratorium, penguap putar vakum, komatografi lapis tipis, satu set alat kromatografi cair vakum, satu set kolom kromatografi, kromatotron, inkubator, timbangan analitik, *vortex*, tabung *Eppendrof*, pengukur titik leleh Fisher John, lampu UV merk Spektroline model ENF-240 C/F, pipet kapiler, spektrofotometer FT-IR Nicolet Avatar 360 spektrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), NMR 500 MHz (^{1}H) dan 125 MHz (^{13}C) spektrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA),

micrOTOF-Q II™ spektrometer massa (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA), serta UV-Vis Cary 100 spektrofotometer (Agilent Technologies).

4.3 Prosedur Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan secara garis besarnya meliputi tahapan berikut: skrining fitokimia, ekstraksi, isolasi, dan pemurnian senyawa dari kulit batang *S. grandiflora*; identifikasi struktur senyawa murni secara fisika dan spektroskopi UV, IR, MS dan NMR; kemudian uji bioaktifitas antituberkulosis secara *in vitro* terhadap ekstrak/fraksi dan senyawa murni yang sudah teridentifikasi strukturnya. Bagan alir penelitian secara ringkas dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Bagan alir penelitian

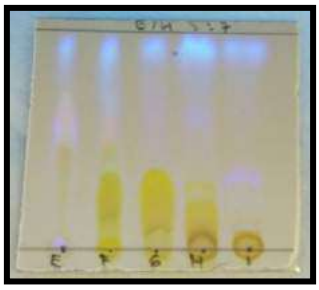
A. Ekstraksi

Serbuk halus kulit batang turi putih (3 kg) yang diambil dari Desa Sumber Dadi, Kec. Ambarawa, direndam dengan beberapa pelarut seperti *n*-heksana selama 1x 24 dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, perlakuan yang sama juga dilakukan menggunakan pelarut etil asetat dan metanol. Ketiga ekstrak hasil perendaman masing-masing disaring dengan kertas saring. Masing-masing filtrat dari berbagai pelarut yang didapat lalu dipekatkan dengan penguap putar vakum sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana (25 g), etil asetat (40 g), dan metanol (120 g).

Pada penelitian ini, semua fraksi polar yang berasal dari KCV dan KKG pada ekstrak etil asetat, dimonitoring menggunakan KLT untuk diisolasi dan dimurnikan lebih lanjut. Penelitian tahun kedua masih fokus pada ekstrak etil asetat karena fraksi polarnya memberikan tes positif fenolik pada skrining fitokimia dan prospek untuk mendapatkan komponen bioaktif lainnya.

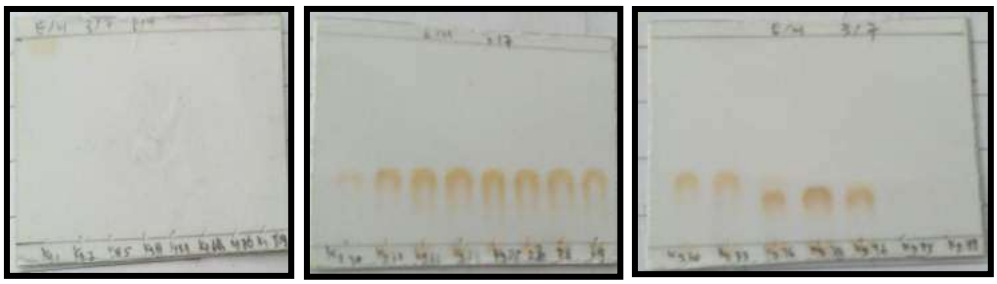
B. Isolasi dan Pemurnian

Pada tahap ini, ekstrak EtOAc dari semua fraksi polar yang berasal dari KCV dan KKG, di KLT dengan sistem eluen aseton/*n*-heksana dan diperoleh 5 fraksi polar utama E, F, G, H, dan I untuk difraksinasi lebih lanjut (Gambar 2).



Gambar 2. Kromatogram hasil KLT 5 fraksi polar utama dari KCV I-2

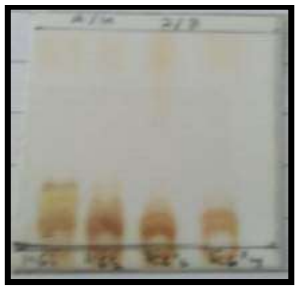
Fraksi G (1,0 g) selanjutnya dimurnikan menggunakan KKG dengan eluen etilasetat/*n*-heksana (5-50%) dan menghasilkan 48 subfraksi (G1-G48). Kromatogram hasil fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram KKG fraksi G dengan eluen etil asetat/*n*-heksan (3/7)

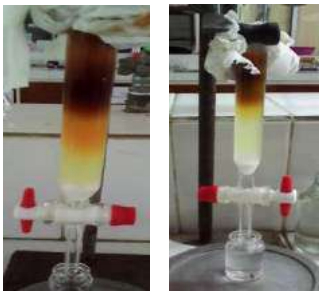
Sesbagrandiflorain A yang telah diisolasi sebelumnya (Noviany *et al*., 2018) kembali diperoleh dari subfraksi G21-34 hasil fraksinasi fraksi G dalam jumlah yang cukup

banyak yaitu 212,6 mg. Penggabungan fraksi polar kemudian kembali dilakukan berdasarkan kesamaan Rf, dan dihasilkan 4 subfraksi polar utama yang diberi kode KG1 (subfraksi 35-37; 134 mg), KG2 (38-40; 209 mg), KG3 (41-43; 169 mg), KG4 (44-48; 136 mg) (Gambar 4).



Gambar 4. Kromatogram hasil KLT KG1-4 menggunakan eluen aseton/*n*-heksana

Pemurnian lebih lanjut secara KKG (Gambar 5) pada subfraksi KG2 menggunakan eluen aseton/*n*-heksana (5-50%) menghasilkan 32 subfraksi, diantara subfraksi tersebut, diperoleh kristal berwarna kuning sebanyak 39 mg yang selanjutnya diberi kode N8 (Gambar 6).

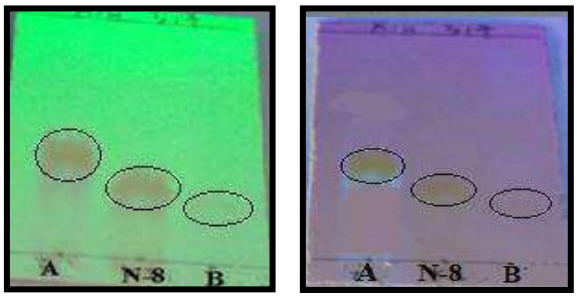


(a) (b)

Gambar 5. KKG (a) KG2 dan (b) KG3

Gambar 6. Kristal senyawa N8

Perbandingan KLT dilakukan antara senyawa N8, sesbagrandiflorain A dan B, ternyata nilai Rf kristal N8 yang diperoleh yaitu 0,33 (Gambar 7), berada diantara 2 senyawa yang telah dilaporkan sebelumnya. Pada awalnya kristal N8 diduga sudah murni karena menunjukkan spot tunggal pada uji KLT dengan 3 sistem eluen (Gambar 8), serta didukung pula data-data dari dari spektroskopi NMR 1D dan 2D yang baik sehingga dapat ditentukan dugaan struktur untuk N8 awalnya adalah suatu dimer dari senyawa 2-arilbenzofuran.



Gambar 7. Kromatogram KLT kristal N-8, senyawa sesbagrandiflorain A dan B

Analisis kemurnian pada senyawa N-8 dilakukan dengan teknik KLT menggunakan 3 sistem eluen sebagaimana disajikan pada Gambar 8.

Gambar 8. Kromatogram KLT senyawa N8 dengan 3 sistem eluen (a)aseton/DCM (1/9) ; (b) kloroform/metanol (95/5) ; (c) aseton/*n*-heksana (3/7)

Namun analisis lebih lanjut menggunakan data dari spektrometri massa mengindikasikan bahwa senyawa N8 merupakan campuran dua monomer 2-arilbenzofuran yang berbeda pada posisi substituen di cincin C. Pemurnian lebih lanjut kristal N8 menggunakan teknik HPLC fasa terbalik dengan fasa diam ODS dan fasa gerak campuran MeOH/H_2O (5-100%) selama 70 menit (3 ml/min) menghasilkan senyawa **1** (2,0 mg) dan senyawa **2 (**5,5 mg).

Selanjutnya dari fraksi E4.8 (1,4 g) difraksinasi dengan teknik KKG menggunakan eluen *n*-heksana–aseton (19:1 – 1:1 v/v), dihasilkan 32 subfraksi (E4.8.1- E4.8.32). Subfraksi E4.8.19 - E4.8.21 digabung berdasarkan profil KLT dan dimurnikan lebih lanjut dengan teknik HPLC fasa terbalik (isokratik 60% MeOH dalam H_2O selama 75 min; 3 ml/min). Dari hasil permurnian tersebut diperoleh senyawa **3** sebanyak 4,5 mg.

Ekstraksi, isolasi dan pemurnian juga dilakukan pada serbuk kulit batang turi putih yang diambil dari Desa Podomoro, Kec. Pringsewu, Kabupaten Pringsewu, Lampung. Metode yang digunakan dalam tahapan ini sama seperti yang telah diuraikan di atas. Dua senyawa, sesbagrandiflorain A dan B yang sudah pernah dilaporkan sebelumnya juga diperoleh dari ekstrak yang telah melalui proses fraksinasi berulang kali. Namun menariknya, dari fraksi yang kurang polar dibandingkan dengan sesbagrandiflorain A dan B, diperoleh satu senyawa **4** berupa padatan amorf berwarna keputihan sebanyak 6,1 mg (Gambar 8). Adapun kromatogram perbandingan KLT antara senyawa **4** (sebelah kiri pada gambar) dan sesbagrandiflorain A (kanan) dapat dilihat pada Gambar 9.

Gambar 9. Padatan tak berwarna senyawa **4**

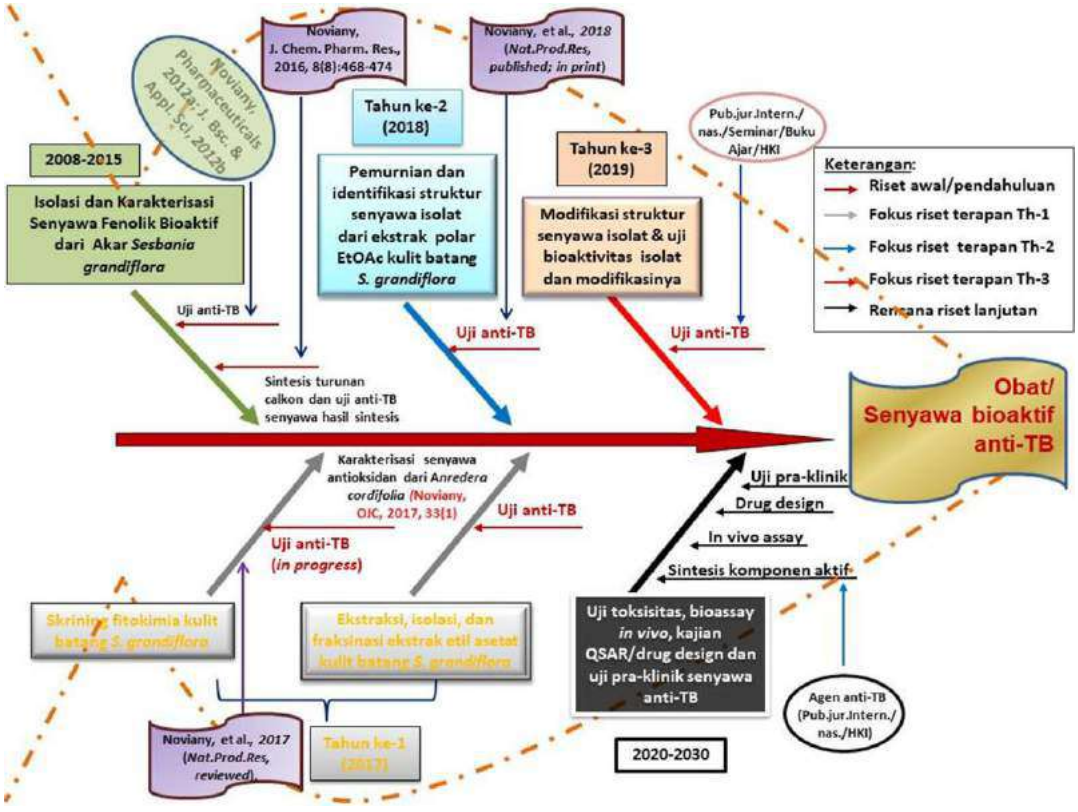
Gambar 10. Kromatogram Senyawa **4**

D. Uji aktivitas biologis

Pengujian bioaktivitas dilakukan dengan menggunakan metode Tetrazolium Microplate *Assay* (*MTT Assay*) dengan sedikit modifikasi (Caviedes et al., 2002). *M.*

tuberculosis H37Rv ATCC 27294 strain digunakan dalam kajian ini. Konsentrasi senyawa-senyawa uji (sesbagrandiflorain A dan B) dibuat dari rentang 200 hingga 0.391 µg/mL. Tiap senyawa diujikan dengan dua kali pengulangan. Senyawa uji kemudian diinkubasi pada suhu 37^0C selama 5 hari. Pada hari kelima, campuran larutan Tetrazolium-Tween 80 ditambahkan ke larutan uji, demikian juga dengan kontrol positif, kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Campuran larutan Tetrazolium-Tween 80 lalu ditambahkan pada semua sumur (96 *wells*) dan perubahan warna dicatat setelah 24 jam. Perubahan warna dari kuning menjadi ungu mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dicatat pada konsentrasi terendah senyawa uji yang tidak menyebabkan perubahan warna dari kuning menjadi ungu.

Secara keseluruhan hasil penelitian dan outputnya dapat dilihat pada gambar 10

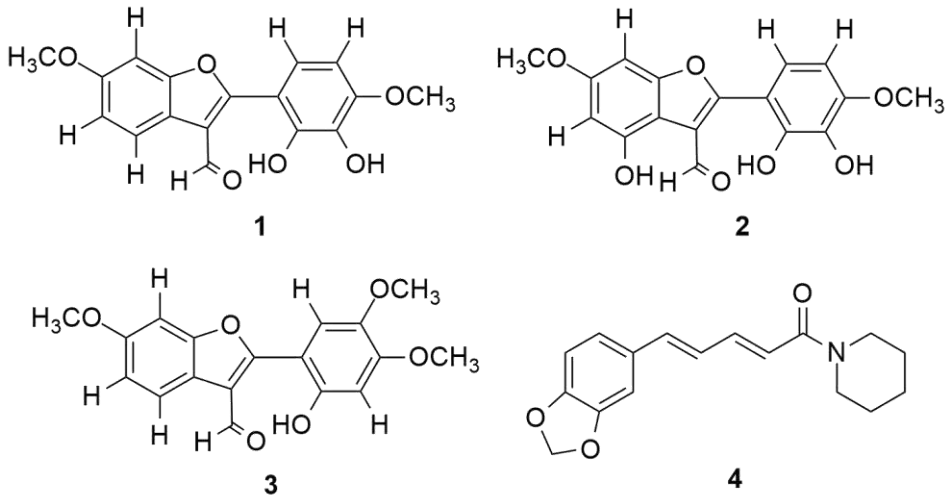


Gambar 11. Diagram *fishbone* penelitian

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Hasil

Pada penelitian tahun kedua ini telah berhasil diisolasi tiga senyawa fenolik baru tipe 2-arilbenzofuran, dinamai sebagai sesbagrandiflorain C (**1**), D (**2**), dan E (**3**) serta satu senyawa alkaloid, piperina (**4**) yang lazimnya ditemukan pada keluarga Piperaceae. Struktur senyawa-senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 12. Struktur senyawa-senyawa hasil isolasi

Sesbagrandiflorain C (1)

Senyawa **1** diperoleh sebagai padatan kekuningan, IR (KBr) v_{max} cm^{-1} 3397, 2927, 1654, 1498, 1193, 1142; UV (MeOH) λ_{max} (nm) (ε) 206 (9370), 240 (4970), 341 (2720); ESI-TOF-MS *m*/*z* 315.08765 $[M+H]^+$; ^1H NMR (aseton-d_6) dapat dilihat di Tabel 2.

Sesbagrandiflorain D (2)

Senyawa **2 d**iperoleh sebagai padatan kekuningan, IR (KBr) v_{max} cm^{-1} 3397, 3218, 2943, 1601, 1499, 1192, 1145; UV (MeOH) λ_{max} (nm) (ε) 216 (7190), 266 (3320), 359 (1610); ESI-TOF-MS *m*/*z* 331.08261 $[M+H]^+$; ^1H NMR (aseton-d_6) dapat dilihat di Tabel 2.

Sesbagrandiflorain E (3)

Senyawa **3** diperoleh sebagai padatan tak berwarna, IR (KBr) v_{max} cm^{-1} 3489, 2922, 1684, 1204; UV (MeOH) λ_{max} (nm) (ε) 211 (7470), 248 (4120), 288 (2080), 350

(2470). ESI-TOF-MS *m/z* 329.10330 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ^{1}H NMR (aseton-d_6) dapat dilihat di Tabel 2.

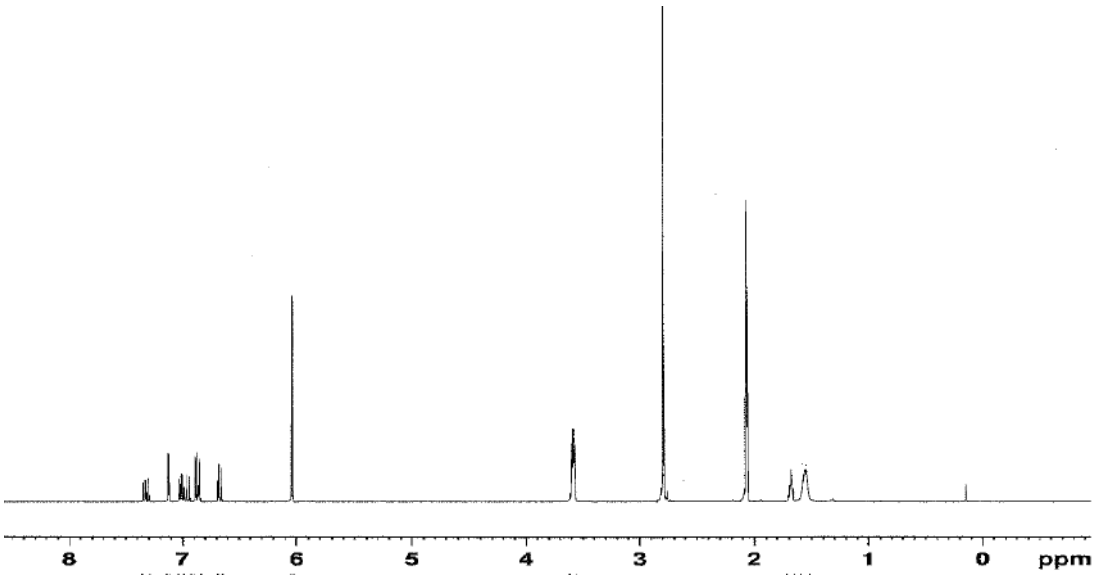
Tabel 2. ^{1}H NMR untuk senyawa **1**-**3**

Cincin	No atom C	**1**[a]	**2**[a]	**3**[a]
		δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]	**δ_H (ppm); *J* (Hz)** [b]	**δ_H (ppm); *J* (Hz)**[b]
A	4	8.04 (d, *J* = 8.5)	-	7.50 (d, *J* = 8.5)
	5	7.03 (dd, *J* = 8.5 & 2.0)	6.73 (d, *J* = 2.0)	6.68 (dd, *J* = 8.5 & 2.0)
	6	-	-	-
	7	7.23 (d, *J* = 2.0)	6.37 (d, *J* = 2.0)	6.78 (d, *J* = 2.0)
	8	-	-	-
	9	-	-	-
	MeO-C	3.91 (s)	3.86 (s)	3.87 (s)
B	1´	-	-	-
	2´	-	-	-
	3´	-	-	7.65 (s)
	4´	-	-	-
	5´	6.87 (d, *J* = 8.0)	6.88 (d, *J* = 7.0)	-
	6´	7.10 (d, *J* = 8.0)	7.13 (d, *J* = 7.0)	7.25 (s)
C	2	-	-	-
	3	-	-	-
	MeO-C	3.73 (s)	3.76 (s)	3.90 (s)
	MeO-C	-	-	3.91 (s)
	HO	-	10.18 (s)	-
	CHO	10.05 (s)	9.83 (s)	10.03 (s)

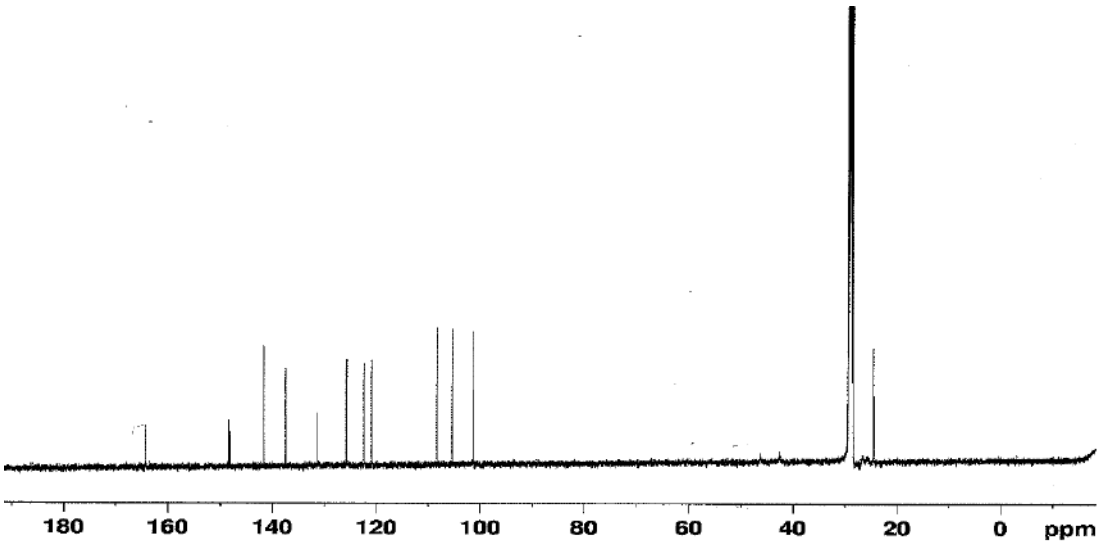
[a] ^{1}H NMR (500 MHz) dan ^{13}C NMR (125 MHz) diukur dalam aseton-d_6.
[b] Sinyal multiplisitas diberikan dalam tanda kurung: *s*, singlet; *d*, doblet; *dd*, dobel doblet; tetapan kopling (*J*) Jdilaporkan dalam Hz.

***Piperina* (4)**

Senyawa (**4**) diperoleh sebagai padatan berbentuk jarum halus berwarna keputihan; titik leleh. 137-139ºC; untuk data-data spektrum ^{1}H dan ^{13}C NMR dapat dilihat pada Gambar 12 dan 13 berturut-turut. Berdasarkan analisis data-data spektroskopi ^{1}H NMR dan ^{13}C NMR (1D dan 2D) serta perbandingan dengan senyawa standar (Rabaron et al., 1971), maka senyawa **4** diidentifikasi sebagai 2,4-pentadien-1-on,5-(1,3benzodioxol-5-il)-1-(1-piperidinil)-,(2E,4E) atau dikenal dengan piperina.



Gambar 13. Spektrum ^{1}H NMR senyawa **4**



Gambar 14. Spektrum ^{13}C NMR senyawa

Senyawa **4** yang diidentifikasi sebagai piperina merupakan senyawa golongan alkaloid yang telah lama dikenal dan termasuk jenis senyawa bahan alam yang biasa ditemukan pada keluarga Piperaceae atau lada-ladaan. Ditemukannya alkaloid piperina pada keluarga tumbuhan Leguminosae sangatlah tidak lazim, sebab tumbuhan Leguminosae karakteristik dengan senyawa jenis flavonoid dan fenolik. Oleh sebab itu, penemuan senyawa piperina dari *S.grandifora* masih perlu kajian dan penelitian lebih lanjut.

C. Uji Aktivitas Antituberkulosis

Senyawa-senyawa hasil isolasi yang diperoleh pada tahun pertama penelitian (sesbagrandiflorain A dan B) diujikan secara *in vitro* terhadap *M. tuberculosis* H37Rv. Positif kontrol yang digunakan adalah obat anti-TB line pertama, isoniazid. Aktivitas antiberkulosis kedua senyawa hasil isolasi menunjukkan bahwa sesbagrandiflorain A dan B masing-masing memiliki aktivitas lemah dan sedang terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv dengan nilai *MIC* 200 dan 12.5 µg/mL berturut-turut. Senyawa sesbagrandiflorain B memberikan aktivitas anti-TB yang lebih tinggi dibandingkan dengan sesbagrandiflorain A, kemungkinan disebabkan adanya gugus hidroksi pada posisi C7. Namun hubungan keaktifan dengan struktur senyawa hasil isolasi masih perlu kajian lebih mendalam melalui studi SAR (*Structure Activity Relationship*).

5.2 Luaran Yang Dicapai

Luaran yang dicapai pada penelitian tahun kedua ini telah terlaksana dengan baik sesuai dengan rencana capaian yang diusulkan (Tabel 3).

Tabel 3. Rencana Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			TS[1)]	TS+1	TS+2
1	Publikasi ilmiah[2)]	Internasional	Submitted	published	
		Nasional Terakreditasi		submitted	published
2	Pemakalah dalam temu ilmiah[3)]	Internasional		terdaftar	Sudah dilaksanakan
		Nasional Terakreditasi	Terdaftar	Sudah dilaksanakan	
3	Invited Speaker dalam temu ilmiah[4)]	Internasional	Tidak ada		
		Nasional Terakreditasi	Tidak ada		
4	Visiting Lecturer[5)]	Internasional	Tidak ada		
5	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)[6)]	Paten			terdaftar
		Paten sederhana			
		Hak Cipta			
		Merek dagang			
		Rahasia dagang			
		Desain Produk Industri Indikasi Geografis			
		Perlindungan Varietas Tanaman			
		Perlindungan Topografi Sirkuit Terpadu			

6	Teknologi Tepat Guna[7)]			
7	Model/**Purwarupa**/Desain/Karya seni/Rekayasa Sosial[8)]	Ekstrak/ fraksi	Senyawa murni	Senyawa anti-TB
8	Buku Ajar (ISBN)[9)]			draft
9	Tingkat Kesiapan Teknologi[10)]			Skala 2

Berdasarkan rencana target capaian yang ditabulasikan pada Tabel 3, jenis luaran yang ditargetkan pada penelitian tahun ke-2 mencakup tiga jenis luaran, yaitu publikasi ilmiah, pemakalah dalam temu ilmiah, dan purwarupa. Ketiga target tersebut telah berhasil dicapai pada penelitian ini disertai dengan bukti-bukti pencapaian target sebagaimana terlampir (Lampiran 1-6). Bahkan target artikel pertama yang semula direncanakan akan terpublikasi pada tahun ketiga penelitian, pada tahun kedua penelitian sudah berhasil terbit di jurnal bereputasi Internasional. Capaian tersebut melebihi dari capaian yang ditargetkan sebelumnya. Berikut ini adalah rincian luaran yang telah berhasil dicapai selama 2 tahun penelitian berjalan.

1. Publikasi Ilmiah

Hasil penelitian telah berhasil dipublikasikan pada jurnal *Natural Products Research* Vol.32, No. 21 tahun 2018 (*Impact Factor* pada tahun 2017: 1,928) (Lampiran 1). Sementara hasil penelitian pada tahun kedua sudah dipublikasikan pada jurnal *Journal of Natural Medicines* (*IF* 1.920, SJR =0.64, Q1) dengan status *submitted.*

2. Pemakalah dalam temu ilmiah

Hasil penelitian telah berhasil dipresentasikan secara oral pada pertemuan-pertemuan ilmiah internasional dan nasional sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu danTempat
1	International Conference on Natural Products 2018 (Lampiran 3)	Isolation and Structure Elucidation of A New Naturally Isolated Compound from *Sesbania grandiflora*	Penang, Malaysia 19-21 Maret 2018
2	Bromo Conference Symposium on Natural Products and Biodiversity (Lampiran 4)	A New Naturally Biisoflavonoid Compound Isolated from *Sesbania grandiflora*	Surabaya, Indonesia 11-12 Juli 2018

Bukti pelaksanaan kegiatan seminar yang telah dan akan dilaksanakan dapat dilihat pada lampiran 3-4.

3. Purwarupa

Luaran capaian penelitian ketiga yang juga berhasil dilaksanakan adalah diperolehnya purwarupa berupa tiga senyawa berupa kristal berbentuk jarum berwarna kuning dan satu senyawa berupa padatan amorf tak berwarna (Lampiran 5).

4. Luaran Tambahan

Sebagai luaran tambahan pada penelitian tahun kedua, draft paten sederhana telah memenuhi persyaratan formalitas dan sedang dalam proses review (Lampiran 6). Berdasarkan paparan di atas, dapat dinyatakan bahwa penelitian pada tahun kedua ini telah berhasil dilakukan dengan pencapaian 100%.

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana tahapan penelitian selanjutnya akan dibuat berdasarkan capaian yang telah diperoleh selama dua tahun penelitian dan mengacu pada diagram *fishbone* sebagaimana dapat dilihat pada gambar 10 (hal 25). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan selama dua tahun terakhir, penelitian pada tahun kedua terhadap fraksi polar hasil fraksinasi ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora* sudah mencapai 100%, dengan aktivitas anti-TB lemah hingga sedang. Keaktifan anti-TB yang kurang signifikan pada senyawa sesbagrandiforain A dan B hasil isolasi pertama, mendorong peneliti untuk merencanakan penelitian lanjutan berupa modifikasi struktur senyawa hasil isolasi.

Secara garis besar, tahapan penelitian berikutnya dijabarkan sebagai berikut:

1. Modifikasi gugus-gugus fungsi pada senyawa sesbagrandiflorain A hasil isolasi (khususnya pada gugus hidroksi dan aldehid), seperti metilasi, asetilasi, benzilasi, N-alkilasi, prenilasi, dan geranilasi. Senyawa-senyawa hasil modifikasi yang diperoleh kemudian akan dimurnikan secara kristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai atau dilakukan dengan kromatografi kolom. Kemurnian masing-masing senyawa hasil modifikasi ditentukan melalui penentuan titik leleh dan secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan variasi eluen.
2. Identifikasi struktur senyawa-senyawa murni hasil modifikasi yang diperoleh secara fisika dan spektroskopi UV, IR, MS dan NMR.
3. Pengujian bioaktifitas antituberkulosis secara *in vitro* terhadap senyawa-senyawa murni hasil modifikasi yang sudah teridentifikasi strukturnya.

Pada tahun pertama dan kedua penelitian masih lebih banyak bertumpu pada penelitian kimia dalam rangka pencarian dan penemuan senyawa-senyawa murni (isolat) dari kulit batang *S. grandiflora*. Namun pada tahun terakhir penelitian, senyawa-senyawa murni yang telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi akan dilanjutkan dengan derivatisasi atau modifikasi strukturnya, kemudian akan diuji bioaktivitasnya sebagai anti-TB. Pada tahun ketiga diharapkan didapatkan senyawa-senyawa murni hasil modifikasi yang memiliki aktivitas anti-TB yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen/obat anti-TB. Rencana tahapan penelitian berikutnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. *Timetable* Kegiatan Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Tahun I				Tahun II				Tahun III			
		1-3	4-6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12
1	Pengambilan sampel												
2	Persiapan sampel												
3	Ekstraksi												
4	Uji Fitokimia												
5	Isolasi secara kromatografi												
6	Pemurnian senyawa isolat												
7	Modifikasi senyawa isolat												
8	Pemurnian senyawa hasil modifikasi												
9	Karakterisasi senyawa												
10	Uji anti-TB												
11	Laporan dan publikasi												

Keterangan: : Sudah dilaksanakan
: Rencana penelitian berikutnya

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi tiga senyawa 2-arilbenzofuran baru, dinamakan sesbagrandiflorain C, D, dan E serta satu senyawa alkaloid piperina yang tidak lazim ditemukan pada keluarga tumbuhan Leguminosae.
2. Keempat senyawa hasil isolasi diperoleh dari fraksi polar ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora* berbunga putih
3. Kulit batang *S. grandiflora* dapat digunakan sebagai sumber alami senyawa-senyawa bioaktif yang dikembangkan dalam berbagai bidang seperti kesehatan, farmasi, dan industri kecantikan.

7.2. Saran

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan sebagai berikut:

1. Penelitian lanjutan perlu dilakukan terhadap ekstrak polar metanol dari kulit batang dan akar *S. grandiflora* untuk mendapatkan informasi yang lengkap tentang kandungan metabolit sekundernya.
2. Modifikasi struktur senyawa hasil isolasi perlu dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari hubungan struktur dan keaktifan.

DAFTAR PUSTAKA

Arya, V. 2011. A review on anti-tubercular plants. *Int. J. Pharm.Tech.Res*. 3(2):872-880.

Balunas, M.J., and Kinghorn, A.D., 2005, Drug discovery from medicinal plants, *Life Sci*. 78: 431-441.

Caviedes, L.; Delgado, J.; Gilman, R.H. Tetrazolium microplate assay as a rapid and inexpensive colorimetric method for determination of antibiotic susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 1873–1874

Cogolludo, A., Frazziano, G., Briones, A. M., Cobeno, L., Moreno, L., Lodi, F., Salaices, M., Tamargo, J., and Perez-Vizcaino, F., (2007). The dietary flavonoid quercetin activates BKCa currents in coronary arteries via production of H_2O_2, role in vasodilatation. *Cardiovasc. Res., 73*, 424-431.

Copp, B.R., and Pearce, A.N. 2007, Natural product growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat.Prod.Rep*. 24(2):278-297.

Cornwell, T., Cohick, W., and Raskin, I. 2004. Dietary phytoestrogens and health *Phytochemistry, 65*, 995-1016.

Corona, M. del R. Camacho, Cabrera M. A. Ramírez, Santiago, Omar González-, Elvira Garza-González, Isidoro de Paz Palacios and Julieta Luna-Herrera. 2008. Activity against Drug Resistant-Tuberculosis Strains of Plants used in Mexican Traditional Medicine to treat Tuberculosis and Other Respiratory Diseases. *Phytother. Res.* 22, 82– 85,

Depkes RI. 2006. Pedoman nasional penanggulangan tuberkulosis. Jakarta

Di, X., Yu, L., Moore, A. B., Castro, L., Zheng, X., Hermon, T., and Dixon, D. 2008. A low concentration of genistein induces estrogen receptor-alpha and insulin-like growth factor-I receptor interactions and proliferation in uterine leiomyoma cells *Hum. Reprod., 23*, 1873-1883.

Dixon, R. A., and Sumner, L. W. 2003. Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiol., 131*, 878-885.

Doddola, S., Pasupulati, H., Koganti, B., and Prasad, K. V. S. R. G. 2008. Evaluation of *Sesbania grandiflora* for antiurolithiatic and antioxidant properties. *J. Nat. Med., 62*, 300-307.

Frame A.D., Rios-Olivares E, De Jesus L, Ortiz D, Pagan J, Mendez S. 1998. Plants from Puerto Rico with anti-*Mycobacterium tuberculosis* properties. *Health Sci. J*. 17: 243-252.

Global Health Council (GHC), 2011, Tuberculosis [Online]. Diakses dari: http://www.globalhealth.Org/infectious_diseases/mortality_morbidity/tb/, pada 28 Maret 2011.

Graham, T. L., and Graham, M. Y. 2000. Defence potential and competency, redox conditioning effects of salicylic acid genistein. *Plant Mic. Interac., 5*, 181-219.

Herr, E.B.Jr., and Redstone, M.O., 1966, Chemical and physical characterisation of capreomycin. *Ann.NY.Acad.Sci*.135: 940-946

Janin, Y.L. 2007. Antituberculosis drugs: Ten years of research. *Bioorg Med Chem*,15: 2479–2513

Joung, K. E., Kim, Y. W., and Sheen, Y. Y. 2003. Assessment of the estrogenicity of isoflavonoids, using MCF-7-ERE-Luc cells. *Arch. Pharm. Res., 26*, 756-762.

Koné, W.M., Atindehou, K. Kamanzi, Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., Dosso, M. 2004. Traditional medicine in North Cˆote-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharm.* 93, 43–49.

Kottra, G., and Daniel, H. 2007. Flavonoid glycosides are not transported by the human Na+/glucose transporter when expressed in *Xenopus laevis* oocytes, but effectively inhibit electrogenic glucose uptake. *J. Pharmacol. Exp. Ther. , 322*, 829-835.

Kuo, M.R., Morbidoni, H.R., Alland, D., Sneddon, S.F., and Gourlie, B.B. 2003. Targeting tuberculosis and malaria trough inhibition of enoyl reductase: compound activity and structural data. *J. Biol. Chem*. 278: 20851-20859.

Laladhas, K. P., Cheriyan, V. T., Puliappadamba, V. T., Bava, S. V., Unnithan, R. G., Vijayammal, P. L., and Anto, R. J. 2010. A novel protein fraction from *Sesbania grandiflora* shows potential anticancer and chemopreventive ffficacy, *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Mol Med., 14*(3), 636-646.

Lin, Y. M., Zhou, Y., Flavin, M. T., Zhou, L. M., Niea, W., and Chen, F. C. 2002. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg. Med. Chem., 10*, 2795-2802.

Marliana, S. D., Suryanti, V., Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule* Jacq. Swartz.) Dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31, ISSN: 1693-2242.

Negi, A.S., Kumar, J.K., Luqman, S., saikia, D., and Khanuja, S.P.S. 2010. Antitubercular potential of plants: A brief account of some important molecules. *Med.Res.Rev*. 30(4):603-645.

Newman, D.J. and Cragg, G.M. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J.Nat.Prod*., 70(3): 461-477

Newman, D.J. Cragg, G.M., and Snader, K.M. 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J.Nat.Prod*., 66: 1022-1037.

Newman, S.M., Lau, C., Gurcha, S.S., Besra, G.S., and Wright, C.W. 2002. The Evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities: isolation of active constituents from Psoralea corylifolia and Sanguinaria Canadensis. *J. Ethnopharmacol*. 79: 57-67.

Newton, S.M., Lau, C., and Wright, C.W. 2000. A review of antimycobacterial natural products. *Phytother. Res*. 14: 303-322.

Nomoto, S., Teshima, T., Wakamiya, T. and Shiba T. 1978. Total synthesis of capreomycin. *Tetrahedron*. 34: 921-927.

Noviany N., Nurhidayat, A., Hadi, S., Suhartati, T., Aziz, M., Purwitasari, N. & Subasman, I. (2018). Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*. *Nat. Prod. Res.* (*In Press*). DOI: 10.1080/14786419.2018.1425858.

Noviany, Osman, H., Mohamad, S., Wong, K. C., Awang, K., and Zahariluddin, A. S. M. 2012a. The Chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity. *Pharmaceuticals, 5*, 882-889.

Noviany, Osman, H., Wong, C. K., Awang, K., and Manshoor, N. 2012b. Isolation and characterisation of l,l'-binaphthalene-2,2'-diol, A New Biaryl Natural Product from *Sesbania grandiflora* Root. *J. Bsc. & Appl. Sci., 8*, 253-256.

Pauli, G.F., Case, R.J., Inui, T., Wang, Y., Cho, S., Fischer, N.H., and Franzblau, S.G. 2005. New perspectives on natural products in TB drug research. *Life Sci*. 78(5): 485-494.

Rabaron, A., M. Koch, M. Plat, J. Peyroux, E. Wenkert, and D. W. Cochran, 1971 Carbon-^{13}Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substances. *J. Amer. Chem. Soc*., 93, 6270.

Ramesh, T., and Begum, V. 2006. Hypolipidemic effect of *Sesbania grandiflora* on cigarette smoke exposed rats. *Pharmacologyonline, 3*, 309-323.

Ramesh, T., Mahesh, R., and Begum, V. H. 2007. Effect of *Sesbania grandiflora* on membrane-bound ATPases in cigarette smoke exposed rats. *J. Pharmacol. Toxicol, 2*, 559-566.

Ramesh, T., Sureka, C., Bhuvana, S., and Hazeena, B. V. 2010. *Sesbania grandiflora* diminishes oxidative stress and ameliorates antioxidant capacity in liver and kidney of rats exposed to cigarette smoke. *J. Phys. Pharm., 61*(4), 467.

Ratu, D., Noviany, Arif, N., dan Ayu, S. 2015. Skrining fitokimia dan uji KLT Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan Yang Berpotensi Sebagai Obat Tradisional

Lampung. *Prosiding Nasional Satek VI Unila*. LPPM Universitas Lampung. Lampung.

Sanchez, J.G.B and Kouznetsov, V.V. 2010. Antimycobacterial susceptibility testing methods for natural products research. *Braz.J.Microbiol*.41: 270-277.

Sandra M., Newton, Clara Lau and Colin W. Wright. 2000. Review Article, A Review of Antimycobacterial Natural Products, *Phytother. Res.* 14, 303–322.

Shareef, H., Rizwani, G. H., Zia-ul-Haq, M., Ahmad, S., and Zahid, H. 2012. Tocopherol and phytosterol profile of *Sesbania grandiflora* (Linn.) seed oil. *J. Med. Plants Res.*, *6*(18), 3478-3481.

Tanaka, H., M. Hirataa, H. Etoh, M. Sako, M. Sato, J. Murata, H. Murata, D. Darnaedi, T. Fukai, 2004 Six new constituents from the roots of *Erythrina variegata*, *Chem. Biodivers*. 1 1101–1108.

Tulp, M., Bruhn, J.G., dan Bohlin, L. 2006. Food for thought, *Drug Discov. Today*, 11 (23-24): 1115-1121.

Veitch, N. C. 2007. Isoflavonoids of the Leguminosae. *Natural Product Reports, 24*, 417-464.

Wagh, V. D., Wagh, K. V., Tandale, Y. N., and Salve, S. A. 2009. Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga): A review. *J. Pharm. Res., 2*(5), 889-892.

Wiegand, I., Hilpert, K., and Hancock, R. E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat. Prot., 3*(2), 163-175.

Wink, M., and Mohamed, G. I. A. 2003. Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbc*L gene. *Biochem. Syst. Ecol., 31*(8), 897-917.

World Health Organisation (WHO), 2012. Global Tuberculosis Report 2012 [Online]. Diakses dari: http://www.who.int/tb/publications/factsheet global.pdf., pada 22 Juni 2012.

WHO Report. 2006. Global Tuberculosis Control; *Surveillance, Planning, Financing*, pp. 1–250, WHO.

Zumla, A.and Grange, J. 1998, Tuberculosis. *BMJ*. 316 (7149), 1962-1964.

75.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. ARTIKEL ILMIAH YANG TELAH TERBIT (PUBLISHED)

Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20

Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*

Noviany Noviany, Arif Nurhidayat, Sutopo Hadi, Tati Suhartati, Muhammad Aziz, Neny Purwitasari & Iman Subasman

To cite this article: Noviany Noviany, Arif Nurhidayat, Sutopo Hadi, Tati Suhartati, Muhammad Aziz, Neny Purwitasari & Iman Subasman (2018) Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*, Natural Product Research, 32:21, 2558-2564, DOI: 10.1080/14786419.2018.1425858

To link to this article: https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1425858

View supplementary material

Published online: 16 Jan 2018.

Submit your article to this journal

Article views: 86

View Crossmark data

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=gnpl20

NATURAL PRODUCT RESEARCH
2018, VOL. 32, NO. 21, 2558–2564
https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1425858

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Check for updates

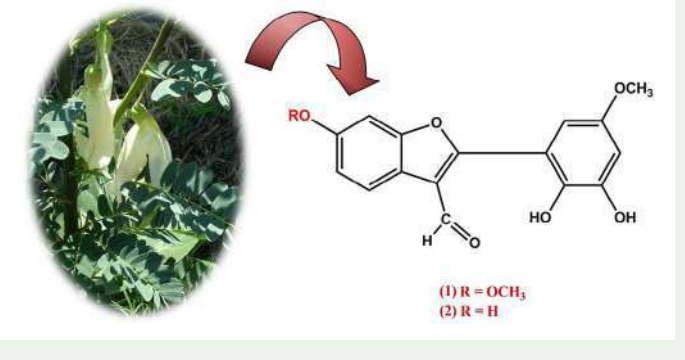
Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*

Noviany Noviany[a], Arif Nurhidayat[a], Sutopo Hadi[a], Tati Suhartati[a], Muhammad Aziz[b], Neny Purwitasari[c] and Iman Subasman[d]

[a]Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Department of Chemistry, University of Lampung, Bandar Lampung, Indonesia; [b]Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, Tokyo, Japan; [c]Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, University of Airlangga, Surabaya, Indonesia; [d]STAI Al-Ihya, Kuningan, Indonesia

ABSTRACT

Native to tropical Asia, *Sesbania grandiflora* (L.), Pers is a member of the Fabaceae family of flowering plants. All parts of *S. grandiflora* are used in traditional medicine and phytochemical investigations have been conducted on extracts of the leaves, seeds and roots of *S. grandiflora* to provide scientific validation of its properties. However, to date, no study has determined the phytochemical constituents of *S. grandiflora* stem bark. The stem bark powdered of *S. grandiflora* was extracted exhaustively with *n*-hexane, EtOAc and 90% aqueous MeOH sequentially. In this study, we successfully isolated two new 2-arylbenzofurans, sesbagrandiflorain A and B, from the EtOAc stem bark of *S. grandiflora*. The structure elucidation of these compounds was determined by using one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance, ultraviolet and infrared spectroscopy and electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry. The finding expands the understanding of the natural constituents of the Fabaceae and, in particular, the *Papilionoideae* genera.



ARTICLE HISTORY
Received 1 November 2017
Accepted 3 January 2018

KEYWORDS
2-arylbenzofuran; sesbagrandiflorain; *Sesbania grandiflora*

CONTACT Noviany Noviany noviany@fmipa.unila.ac.id
Supplemental data for this article can be accessed at https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1425858.

© 2018 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

1. Introduction

Plants of the family Fabaceae, particularly species of the Papilionoideae subfamily, have been extensively investigated for their phytochemical and pharmacological properties (Gođevac et al. 2008). Several secondary metabolites have been isolated from members of this family, including alkaloids, non-protein amino acids, flavonoids, isoflavonoids, coumarins, phenylpropanoids, anthraquinones, terpenoids and cyanogenic glycosides (Wink and Mohamed 2003). Among them, isoflavonoids are predominantly found in plants of the Papilionoideae subfamily (Kırmızıbekmez et al. 2015). A large number of new and known isoflavonoids has been characterised from plants in which the majority of these compounds were isolated from the Fabaceae (Dewick 2005; Veitch 2007). Isoflavonoids, with their structural diversity, were reported to possess wide range of biological activities against different strains of bacteria, fungi, viruses, plasmodium and various cancer cell lines (Kraft et al. 2001; Lo et al. 2002; Koysomboon et al. 2006).

Sesbania grandiflora is a member of the Fabaceae family native to tropical Asia, including India, Malaysia, Indonesia, Myanmar and the Philippines. All parts of *S. grandiflora* are used in traditional medicine particularly in south-eastern Asia and India to treat various diseases including bacterial infections. Generally, the root is applied as a poultice to relieve from inflammation and fever. Ground root of *S. grandiflora* var. *coccinea* mixed with water is applied externally as a poultice to treat rheumatic swellings. The bark is used as astringent to cure smallpox. In Philippines, the decoction from the crushed bark is used for the treatment of ulcers in the mouth and alimentary canal. In Java, the local healers use the crushed bark for the treatment of thrush and infantile disorders of the stomach, while in Cambodia, the pounded bark is applied to treat the scabies. The leaves juice is used to treat worms, biliousness, fever, gout, itchiness and leprosy. In Malaysia, the crushed leaves are applied to cure sprains and bruises. While in Ayurveda, the leaves are employed for the treatment of epileptic fits and the fruits are used for the treatment of anaemia, bronchitis, fever and tumours. The leaves and flowers juice is a popular remedy for nasal catarrh and headache, head congestion or stuffy nose. The flowers juice is dropped into the eyes to correct dim visions (Wagh et al. 2009).

Several studies have been conducted on extracts obtained from *S. grandiflora* trees (local name: turi) to provide scientific validation of its properties. The methylene chloride and methanol extracts of aerial parts of *S. grandiflora* have shown to have some antifungal activities (Goun et al. 2003). A subsequent research by Doddola et al. (2008) revealed that the leaf juice of *S. grandiflora* exhibits significant antiurolithiatic activity against calcium oxalate-type stones as well as antioxidant properties. Besides that, Laladhas et al. (2010) had evaluated the flowers of *S. grandiflora in vivo* and *in vitro* using different cancer cell lines, disclosed that the flowers may serve as a potential anticancer drug candidate. Moreover, the *n*-hexane extract of *S. grandiflora* seeds, which was investigated by Shareef et al. (2012), showed that it possessed antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities.

The earliest phytochemical investigations of *S. grandiflora* were conducted in the 1960s, and resulted in the isolation of α-5-methyl-5-pentacosanol for the first time from *S. grandiflora* leaves (Tiwari and Bajpai 1964). Recently, Pollard et al. (2011) reported the isolation of a galactomannan from the seeds of *S. grandiflora*. In addition, Hasan et al. (2012) and Noviany et al. (2012) obtained and evaluated the antituberculosis activity of several phenolic compounds from the roots of *S. grandiflora*.

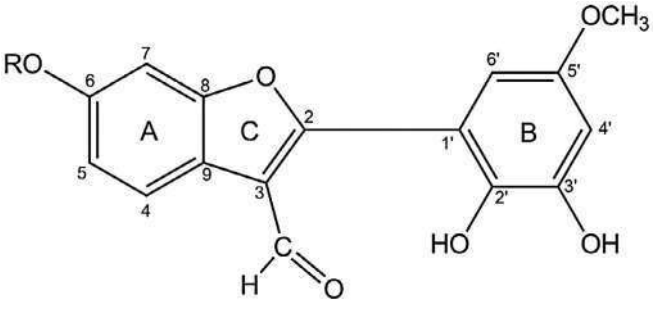
Nowadays, the discovery of lead compounds for development of new scaffolds of drugs from plants, has received considerable attention. Based on the explanation above, *S. grandiflora* is one of the potential medicinal plants that can be employed as a source of new biologically active compounds. Hence, the phytochemical study on this plant is considered essential. Even though *S. grandiflora* was extensively studied by other researchers for its phytopharmacological potential, especially the leaves, flowers and aerial parts of the plant, no phytochemical studies extensively have been performed on the stem bark of *S. grandiflora*. In terms of finding the lead compounds therefore, in this study, we investigated the phytochemical constituents of the stem bark of *S. grandiflora*. The ethyl acetate (EtOAc) extract of *S. grandiflora* stem bark was subjected to further analysis, which led to the isolation of two new 2-arylbenzofurans.

2. Results and discussion

The EtOAc extract of *S. grandiflora* stem bark contained two compounds, **1** and **2** (structures are shown in Figure 1), after repeated Column Chromatography (CC) separation.

Sesbagrandiflorain A (Compound **1**) was obtained as a needle-like yellow crystal. The UV spectrum of Compound **1** in MeOH, with λ_{max} at 213, 264, 348 and 363 nm, indicated the presence of a conjugated system in the isolated structure (Komatsu et al. 1981). The IR absorption of Compound **1** demonstrated the presence of a hydroxyl group (OH) at 3407 cm^{-1}, a saturated aliphatic carbon group (CH) at 2924 cm^{-1}, an aldehyde group (CHO) at 1652 cm^{-1}, and an olefinic group at 1438 cm^{-1}. ESI-TOF-MS of Compound **1** revealed a pseudomolecular ion peak $[M - H]^+$ at *m/z* 313.0709, which was consistent with a molecular formula of $C_{17}H_{14}O_6$. The structure elucidation of Compound **1** was deduced from detailed analysis of ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data aided by 2D NMR experiments such as ^1H-^1H COSY, HSQC, HMBC and NOESY.

The ^1H NMR spectrum of Compound **1** (Table S1) revealed a set of aromatic proton resonances with an AMX splitting pattern of the A-ring at δ_H 6.67 (dd, *J* = 8.4; 2.2 Hz, H-5), 6.71 (*d*, *J* = 2.2 Hz, H-7) and 7.55 (d, *J* = 8.4 Hz, H-4), as well as a methoxyl group (OCH_3) at δ_H 3.88 (*s*) and one proton of the CHO group at δ_H 9.82 (s) on a benzofuran moiety. Another pair of



(1) R = OCH_3
(2) R = H

Figure 1. The structures of the isolated compounds.

meta-coupled aromatic protons were evident at δ_H 6.34 (d, J = 2.2 Hz, H-4′) and 6.68 (d, J = 2.2 Hz, H-6′) along with a OCH_3 group at δ_H 3.83 (*s*), which indicated a 1,2,3,5-tetrasubstituted benzene in the B-ring. The ^{13}C NMR data showed peaks characteristic of arylbenzofuran moiety following the signals observed at δ_C133.8 (C-4), 109 (C-5), 100.6 (C-7), 98.9 (C-4′) and 157.4 (C-6′). Thus, based on the ^1H and ^{13}C NMR data (Table S1), Compound **1** was strongly suggested to be a 2-arylbenzofuran.

Further characterisation of Compound **1** was performed using heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) analysis (Figure S1). The placement of the OCH_3 and OH groups in the A- and B-rings was determined by HMBC. The long-range correlations between H-OCH_3 (A-ring, δ_H 3.88) and C-6 (δ_C 160), H–OCH_3 (B-ring, δ_H 3.83) and C-5′ (δ_C 161.9) and H–OH (B-ring, δ_H 10.21) and C-1′ (δ_C 107.8)/C-4′ (δ_C 98.9) supported the assigned positions for the OCH_3 and OH groups in the A and B-rings, respectively. The assignment of the CHO group at C(3) also was determined by HMBC, which displayed a cross-peak between the CHO group at C-3 (δ_C 119.2) and C-1′ (δ_C 107.8). This conclusion was supported by nuclear Overhauser enhancement (NOE) analysis (Figure S2). In this spectrum, a strong NOE association of H–C(4)/H–CHO(3); H–C(7)/MeO–C(6); H–C(4′)/MeO–C(5′) and H–C(6′)/MeO–C(5′), established the location of the CHO and the OCH_3 groups, respectively.

From the above spectroscopic analyses, sesbagrandiflorain A was identified as 6-methoxy-2-(2′,3′-dihydroxy-5′-methoxyphenyl)-1-benzofuran-3-carbaldehyde (Compound **1**).

Sesbagrandiflorain B (Compound **2**) was also isolated as a needle-like yellow crystal, and its molecular formula was determined as $C_{16}H_{12}O_6$ from ESI-TOF-MS, which exhibited $[M - H]^+$ at *m/z* 299.0554. The ^1H NMR spectral data of Compounds **1** and **2** displayed the same substitution-pattern signals of the 2-arylbenzofuran skeleton except for the hydroxyl group at C-6 on the A-ring. Similar features shown by Compounds **1** and **2** was also supported by comparison of their ^{13}C NMR spectral data (Table S1). The assignment of the OH group was afforded from the results of HMBC analysis (correlations: HO–C(6)/C(6); H–C(5)/C(6); and H–C(4)/C(6)) and nuclear Overhauser enhancement (NOE) spectroscopy data (NOE associations: H–C(7)/HO–C(6)). The HMBC correlation and the NOE associations of Compound **2** are shown in Figure S3 and S4, respectively.

Compound **2** displayed very similar one- and two-dimensional NMR profiles to those of Compound **1**. The only difference was that Compound **1** had a OCH_3 group attached at C-6 (A-ring) rather than the OH group found in Compound **2** at the same position. Therefore, Compound **2** was characterised as 6-hydroxy-2-(2′,3′-dihydroxy-5′-methoxyphenyl)-1-benzofuran-3-carbaldehyde (sesbagrandiflorain B). This type of 2-arylbenzofuran compound was isolated previously by Tanaka et al. (2004) from the roots of *Erythrina variegata*. This is the first report of the occurrence of 2-arylbenzofurans in the stem bark of *S. grandiflora*.

3. Experimental

3.1. General methods

Thin-layer chromatography (TLC) was conducted on pre-coated silica gel 60 GF_{254} plates (Merck, Darmstadt, Germany) with an absorbent thickness of 0.25 mm sprayed with $Ce(SO_4)_2$ solution for spot visualisation. In addition, preparative TLC was performed on square glass plates with a side length of 0.2 m coated with 0.5 mm Kieselgel F_{254} (Merck), which were

air-dried and used without prior activation. Column chromatography (CC) was performed on silica gel (Kieselgel 60, 70–230 mesh ASTM; Merck).

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded for specimens dissolved in acetone-d_6, with tetramethylsilane as an internal standard, using 500 MHz (^{1}H) and 125 MHz (^{13}C) spectrometers (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS) was performed using a micrOTOF-Q II™ mass spectrometer (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA). Potassium bromide-type infrared (IR) spectra were recorded using a Nicolet Avatar 360 spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Finally, ultraviolet (UV) spectra were recorded using a UV–Vis Cary 100 spectrophotometer (Agilent Technologies).

3.2. Plant material

Samples of the stem bark of *S. grandiflora* were collected on June 2015 in Labuhan Ratu, Bandar Lampung, Indonesia. The identity of the plant specimens (No. N-IV) was confirmed at the Herbarium Bogoriense, Research Centre for Biology, Indonesian Institute of Sciences, Bogor, Indonesia. A voucher specimen was deposited at the herbarium.

3.3. Extraction and isolation

Air-dried and powdered samples of the stem bark of *S. grandiflora* (1.5 kg) were extracted exhaustively with *n*-hexane, EtOAc and 90% aqueous methanol (MeOH) sequentially at room temperature. Extraction was repeated three times, and the extracts were filtered and evaporated using a rotary vacuum evaporator at 40ºC. The masses of the *n*-hexane, EtOAc and MeOH extracts obtained were 15, 60 and 53 g, respectively. The EtOAc extract was selected for further analysis. The EtOAc extract was fractionated by silica-gel vacuum liquid chromatography and eluted with EtOAc:*n*-hexane with a volume ratio ranging from 0–100%, yielding nine major fractions (*Fr.*), *Fr. E1–E9*. *Fr. E7* (237 mg) was further fractionated by CC on silica gel, and eluted with an acetone:*n*-hexane (2:98–65;35 v/v) gradient to yield 87 sub-fractions (*Fr. E7.1–E7.87*). A yellow crystal (Compound **1**) was obtained from sub-fractions *Fr. E7.38–E7.52* after recrystallisation with acetone:*n*-hexane (3:7 v/v). The total amount of Compound **1** obtained was 5.2 mg. The fractionation of *Fr. E3* (325 mg) was performed in the same way, using the eluent of an acetone:*n*-hexane (5:95–4;60 v/v) gradient to yield 42 sub-fractions. The fractions were examined by TLC, and those with identical profiles were combined to give three major sub-fractions (*Fr. E3.1–E3.3*). *Fr. E3.2* (38 mg) was further purified by preparative TLC (plates: 20 × 7 × 0.5 mm) using an acetone:*n*-hexane (3:7 v/v) gradient to provide Compound **2** (4.9 mg).

3.3.1. *Sesbagrandiflorain A* (1)*: 6-methoxy-2-(2′,3′-dihydroxy-5′-methoxyphenyl)-1-benzofuran-3-carbaldehyde*

$C_{17}H_{14}O_6$, needle-like yellow crystal, IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3407, 2924, 1652, 1438, m.p. 215–216ºC, UV (methanol) λ_{max} 213, 264, 348, 363, ESI-TOF-MS *m/z* 313.0709 $[M - H]^+$, calculated 313.0718, ^{1}H NMR (Acetone-d_6) 3.83 (1H, s, H–OCH_3), 3.88 (1H, s, H–OCH_3), 6.34 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-4′), 6.67 (1H, dd, J = 2.2, 8.4 Hz, H-5), 6.68 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6′), 6.71 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-7), 7.55 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-4), 9.82 (1H, s, H–CHO), 10.21 (1H, s, H–OH), ^{13}C NMR (Acetone-d_6): 56.1 (C–OCH_3), 56.2(C–OCH_3), 88.5 (C-6′), 98.9 (C-4′), 100.6 (C-7), 107.8 (C-1′), 109.0 (C-5), 109.3

(C-9), 119.2 (C-3), 133.8 (C-4), 152.8 (C-3′), 157.4 (C-2′), 160.0 (C-6), 162.0 (C-5′), 162.9 (C-8), 164.4 (C-2), 191.1 (CHO) (Table S1).

3.3.2. Sesbagrandiflorain B (2)*: 6-hydroxy-2-(2′,3′-dihydroxy-5′-methoxyphenyl)-1-benzofuran-3-carbaldehyde*

$C_{16}H_{12}O_6$, needle-like yellow crystal, IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3461, 1640, m.p. 172–173°C, UV (methanol) λ_{max} 215, 265, 348, 368; ESI-TOF-MS *m/z* 299.0554 $[M - H]^+$, calculated 299.0561, ^1H NMR (Acetone-d_6) 3.83 (1H, s, H–OCH_3), 6.34 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-4′), 6.61 (1H, dd, *J* = 2.2, 8.4 Hz, H-5), 6.64 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-7), 6.67 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-6′), 7.53 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 9.23 (1H, s, H-OH), 9.42 (1H, s, H–OH), 9.97 (1H, s, H–CHO), 10.26 (1H, s, H–OH), ^{13}C NMR (Acetone-d_6): 56.1 (C–OCH_3), 88.5 (C-6′), 98.8 (C-4′), 104.2 (C-7), 107.9 (C-1′), 108.3 (C-9), 109.2 (C-5), 118.7 (C-3), 133.5 (C-4), 152.8 (C-3′), 157.3 (C-2′), 157.9 (C-6), 161.9 (C-5′), 162.5 (C-8), 164.7 (C-2), 191.3 (CHO) (Table S1).

4. Conclusions

In this study, two new 2-arylbenzofuran compounds, namely sesbagrandiflorain A and B, were obtained from the EtOAc extract of *S. grandiflora* stem bark. These compounds are reportedly present in the genus *Sesbania* and other members of the family Fabaceae. The bioactivity of both isolated compounds remains under investigation. Our findings expand our understanding of the natural constituents of the Fabaceae and, in particular, the *Papilionoideae* genera.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Directorate of Research and Community Services, Directorate General of Higher Education, The Ministry of Research, Technology and Higher Education, Republic of Indonesia that provide fund for this project to be undertaken through Penelitian Produk Terapan Scheme 2017 (No.071/SP2H/LT/DRPM/IV/2017). We also gratefully acknowledge Prof. Yana Maolana Syah from Institute Technology of Bandung, Indonesia, for the NMR spectra. Noviany wish to thank Andi Setiawan, Ph.D from University of Lampung and Mr. Tarso Rudiana from UIN Syarif Hidayatulloh Jakarta for their valuable suggestions.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the Directorate of Research and Community Services, Directorate General of Higher Education, The Ministry of Research, Technology and Higher Education, Republic of Indonesia [grant number 071/SP2H/LT/DRPM/IV/2017].

ORCID

Muhammad Aziz http://orcid.org/0000-0003-2433-8500

References

Dewick, PM. 2005. Medicinal natural product. (2nd ed.), p.8–166, Chichester: John Wiley & Son, Ltd.

Doddola S, Pasupulati H, Koganti B, Prasad KVSRG. 2008. Evaluation of *Sesbania grandiflora* for antiurolithiatic and antioxidant properties. Journal of Natural Medicines. 62:300–307.

Gođevac D, Zdunić G, Šavikin K, Vajs V, Menković N. 2008. Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro. Fitoterapia. 79:185–187.

Goun E, Cunningham G, Chu D, Nguyen C, Miles D. 2003. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. Fitoterapia. 74:592–596.

Hasan N, Osman H, Mohamad S, Chong W, Awang K, Zahariluddin ASM. 2012. The chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity. Pharmaceuticals. 5:882–889.

Kırmızıbekmez H, Uysal GB, Masullo M, Demirci F, Bağcı Y, Kan Y, Piacente S. 2015. Prenylated polyphenolic compounds from *Glycyrrhiza iconica* and their antimicrobial and antioxidant activities. Fitoterapia. 103:289–293.

Komatsu M, Yokoe I, Shirataki Y. 1981. Studies on the constituents of *Sophora* species. XV. Constituents of the root of *Sophora franchetiana* Dunn. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 29:2069–2072.

Koysomboon S, van Altena IV, Kato S, Chantrapromma K. 2006. Antimycobacterial flavonoids from *Derris indica*. Phytochemistry. 67:1034–1040.

Kraft C, Jenett-Siems K, Siems K, Solis PN, Gupta MP, Bienzle U, Eich E. 2001. Andinermals A-C, antiplasmodial constituents from *Andira inermis*. Phytochemistry. 58:769–774.

Laladhas KP, Cheriyan VT, Puliappadamba VT, Bava SV, Unnithan RG, Vijayammal PL, Anto RJ. 2010. A novel protein fraction from *Sesbania grandiflora* shows potential anticancer and chemopreventive ffficacy, *in vitro* and *in vivo*. Journal of Cell and Molecular Medicine. 14:636–646.

Lo WL, Chang F-R, Liaw CC, Wu YC. 2002. Cytotoxic coumaronochromones from the Roots of *Euchresta formosana*. Planta Medica. 68:146–151.

Noviany, Osman H, Keng Chong, W, Awang, K, Manshoor, N. 2012. Isolation and characterisation of l, l'-binaphthalene-2,2'-diol, a new biaryl natural product from Sesbania grandiflora root. Journal of Basic Applied Sciences. 8:253–256.

Pollard MA, Fischer P, Windhab EJ. 2011. Characterization of galactomannans derived from legume endosperms of genus *Sesbania* (Faboideae). Carbohydate Polymers. 84:550–559.

Shareef H, Rizwani GH, Zia-ul-Haq M, Ahmad S, Zahid H. 2012. Tocopherol and phytosterol profile of *Sesbania grandiflora* (Linn.) seed oil. Journal of Medicinal Plants Research. 6:3478–3481.

Tanaka H, Hirata M, Etoh H, Sako M, Sato M, Murata J, Murata H, Darnaedi D, Fukai T. 2004. Six new constituents from the roots of *Erythrina variegate*. Chemistry & Biodiversity. 1:1101–1108.

Tiwari RD, Bajpai RK. 1964. Chemical examination of *Sesbania grandiflora* leaves. II. Isolation and study of a saponin. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section A: Physical Sciences. 34:239–244.

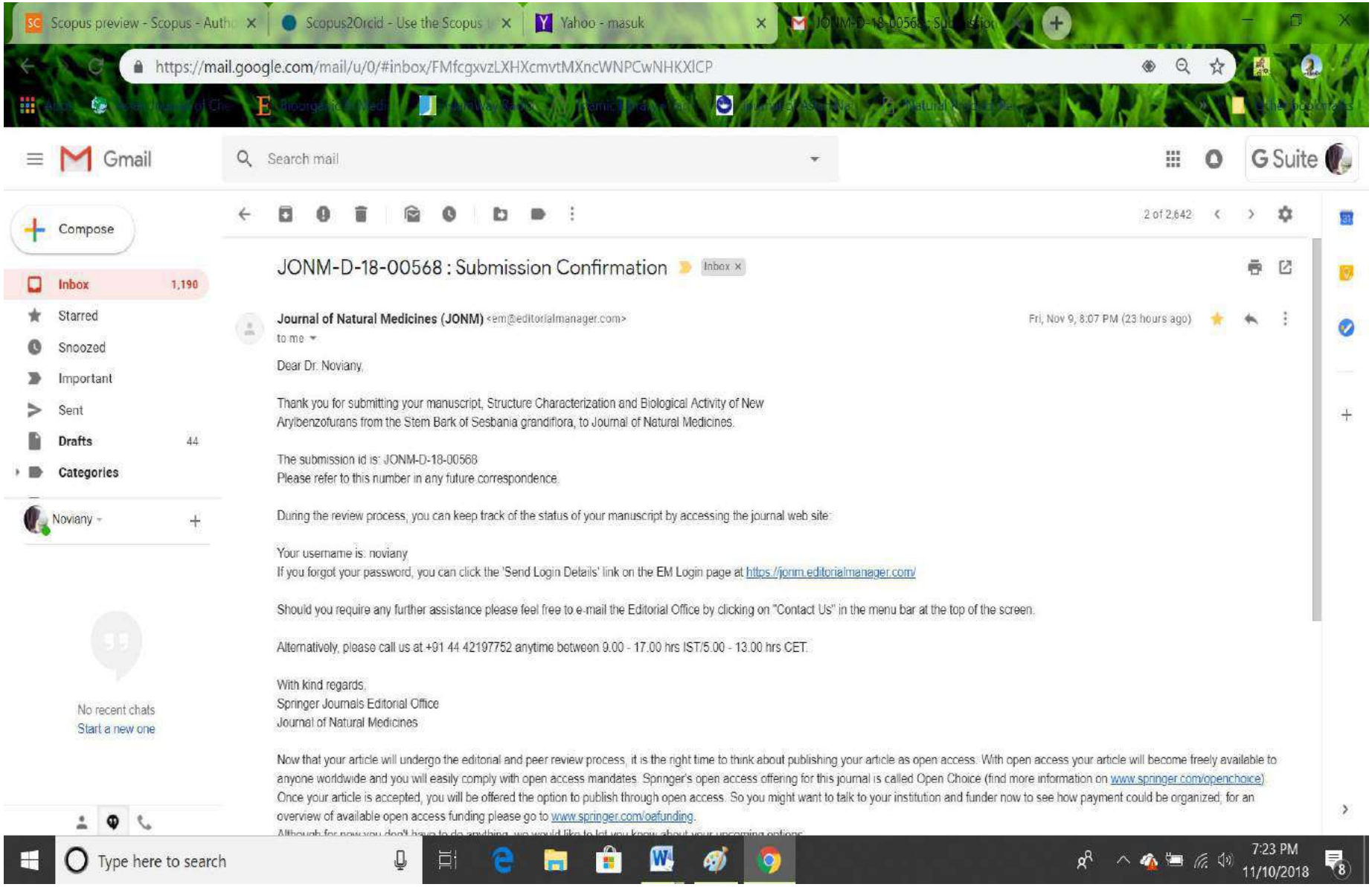
Veitch NC. 2007. Isoflavonoids of the leguminosae. Natural Product Reports. 24:417–464.

Wagh VD, Wagh kV, Tandale YN, Salve SA. 2009. Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga): a review. Journal of Pharmacy Research. 2:889–892.

Wink M, Mohamed GIA. 2003. Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbc*L gene. Biochemical Systematics and Ecology. 31:897–917.

LAMPIRAN 2.

DRAFT MANUSKRIP KEDUA


Scopus preview - Scopus - Auth
Scopus2Orcid - Use the Scopus
Yahoo - masuk
https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/FMfcgxvzLXHXcmvtMXncWNPCwNHKXlCP
Gmail
Search mail
G Suite
Compose
Inbox 1,190
Starred
Snoozed
Important
Sent
Drafts 44
Categories
Noviany
No recent chats
Start a new one
2 of 2,642
JONM-D-18-00568 : Submission Confirmation
Inbox ×
Journal of Natural Medicines (JONM) <em@editorialmanager.com>
to me
Fri, Nov 9, 8:07 PM (23 hours ago)
Dear Dr. Noviany,
Thank you for submitting your manuscript, Structure Characterization and Biological Activity of New Arylbenzofurans from the Stem Bark of Sesbania grandiflora, to Journal of Natural Medicines.
The submission id is: JONM-D-18-00568
Please refer to this number in any future correspondence.
During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the journal web site.
Your username is: noviany
If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at https://jonm.editorialmanager.com/
Should you require any further assistance please feel free to e-mail the Editorial Office by clicking on "Contact Us" in the menu bar at the top of the screen.
Alternatively, please call us at +91 44 42197752 anytime between 9.00 - 17.00 hrs IST/5.00 - 13.00 hrs CET.
With kind regards,
Springer Journals Editorial Office
Journal of Natural Medicines
Now that your article will undergo the editorial and peer review process, it is the right time to think about publishing your article as open access. With open access your article will become freely available to anyone worldwide and you will easily comply with open access mandates. Springer's open access offering for this journal is called Open Choice (find more information on www.springer.com/openchoice). Once your article is accepted, you will be offered the option to publish through open access. So you might want to talk to your institution and funder now to see how payment could be organized, for an overview of available open access funding please go to www.springer.com/oafunding.
Type here to search
7:23 PM
11/10/2018

Structure Characterization and Biological Activity of New Arylbenzofurans from the Stem Bark of *Sesbania grandiflora*

Noviany Noviany[a,*], Arash Samadi[b], Nita Yuliyan[a], Sutopo Hadi[a], Muhammad Aziz[c], Neny Purwitasari[d], Suriyati Mohamad[e], Nur Najihah Ismail[e], and Taifo Mahmud[b]

[a]*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*

[b]*Department of Pharmaceutical Sciences and Department of Chemistry, Oregon State University, Corvallis, Oregon 97331-3507, United States of America*

[c]*Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8550, Japan*

[d]*Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Airlangga, Surabaya, 60286, Indonesia*

[e]*School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia, Minden 11800, Penang, Malaysia*

*Corresponding author:

E-mail address: noviany@fmipa.unila.ac.id

Tel.: +62-81377792816

Abstract

Three new 2-arylbenzofurans, namely sesbagrandiflorains C (**1**), D (**2**) and E (**3**), together with two known compounds, sesbagrandiflorains A (**4**) and B (**5**), have been isolated from the stem bark of *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. The chemical structures of compounds **1**, **2**, and **3** were determined by UV, IR, MS, and NMR spectroscopic techniques. None of the compounds showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* in an agar diffusion assay. However, sesbagrandiflorains A (**4**) and B (**5**) exhibited moderate activity against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, with MIC values of 200 and 12.5 μg/ml. In addition, compounds **1** – **5** have moderate cytotoxicity against HeLa, HepG2, and MCF-7 cell lines.

Keywords: herbal medicine, natural product, 2-arylbenzofuran, sesbagrandiflorain, *Sesbania grandiflora*.

Introduction

The Fabaceae is the third largest and one of the most economically important families of flowering plants. Many fabaceous plants, particularly those from the subfamily Papilionoideae, are frequently used as traditional herbal medicines. These plants have a significant history of medicinal use for the treatment of disorders such as diabetes, cough, urinary disease, eye disease, lung disease, toothache, fever, dysentery and different kinds of infections [1-4]. Previous phytochemical examinations of fabaceous plants indicated the presence of alkaloids, non-proteinogenic amino acids, flavonoids, isoflavonoids, coumarins, phenylpropanoids, anthraquinones, terpenoids, and cyanogenic glycosides [5-8]. Among them, isoflavonoids are predominantly found in plants of the Papilionoideae subfamily [9]. Isoflavonoids provide a wide range of functions, for instance, as antimicrobial, anti-insecticidal, and allelopathic agents [10].

Sesbania grandiflora is a member of the Papilionoideae subfamily native to tropical Asia such as India, Malaysia, Indonesia, Myanmar, and the Philippines. Different parts of the plant have been used in traditional medicine to treat anemia, bronchitis, fever, and tumors [11]. The earliest phytochemical investigations of *S. grandiflora* were conducted in the 1960s, and resulted in the isolation of α-5-methyl-5-pentacosanol for the first time from *S. grandiflora* leaves [12]. Pollard et al. [13] reported the isolation of a galactomannan from the seeds of *S. grandiflora*. In addition, Hasan et al. [14] and Noviany et al. [15] obtained and evaluated the antituberculosis activity of several phenolic compounds from the roots of *S. grandiflora*. Recently, we reported the isolation of two new 2-arylbenzofurans, sesbagrandiflorains A (**4**) and B (**5**), from the stem bark of *S. grandiflora* [16]. In our continuing search for new lead compounds from plants, we further investigated the phytochemical constituents of the stem bark of *S. grandiflora* and determined their biological activities. We report herein the isolation and chemical characterization of three new 2-arylbenzofurans, sesbagrandiflorains C

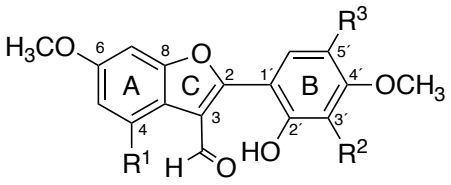
(**1**) D (**2**), and E (**3**) from the EtOAc extract of *S. grandiflora* stem bark. Furthermore, we determined the antituberculosis activity of the major compounds sesbagrandiflorains A (**4**) and B (**5**), and the cytotoxicity of **1** – **5**.

Results and Discussion

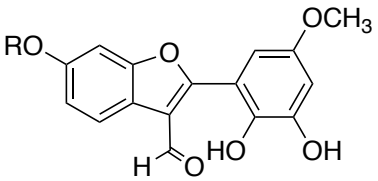
Stem bark of *S. grandiflora,* collected from Sumberdadi Village, Pringsewu, Bandar Lampung, Indonesia, was extracted exhaustively with *n*-hexane, EtOAc, and 90% aqueous MeOH sequentially at room temperature. Repeated silica gel column chromatography of the EtOAc extract afforded a single spot on TLC, which gave high quality 1D and 2D NMR spectra (Figures S1 – S4). Analysis of the NMR data showed two sets of resonances similar to those reported previously for sesbagrandiflorain A with equal intensities, suggesting a possibility of a dimer compound. However, high-resolution (+)-ESI-MS analysis of the compound showed signals corresponding to sesbagrandiflorain "monomers", indicating that the sample contained two equal amounts of closely related sesbagrandiflorain analogs. Further purification using high-performance liquid chromatography (HPLC) provided two new 2-arylbenzofurans, sesbagrandiflorains C (**1**) and D (**2**).

Sesbagrandiflorain C (**1**) was obtained as a yellowish solid and the molecular formula was determined as $C_{17}H_{14}O_6$ (*m/z* 315.08765 $[M+H]^+$) by HR-TOF-MS analysis. The ^1H NMR spectrum of **1** showed close similarity to that of sesbagrandiflorain A (**4**) including a unique aldehyde proton at 10 ppm. However, compound **1** lacks the two aromatic proton resonances with *J* values of ~2 Hz (typical for meta aromatic protons) found in **4**. Instead, compound **1** has two additional aromatic proton resonances (δ_H 6.87 and 7.10 ppm) with *J* values of 8.0 Hz, indicating different positions of aromatic substitutions in **1**. ^{13}C and DEPT-135 spectra of **1** showed the presence of two methyl carbons, five sp2 aromatic ring carbons, nine oxygenated/non-oxygenated quaternary carbons and a carbonyl carbon (δ 186.8).

Detailed analysis of 2D NMR data [HSQC and HMBC (Figure 2)] revealed that the A and B rings of **1** are identical to those in **4**, whereas the C ring is different (Figure 1). Based on the 1D and 2D NMR data, the chemical structure of **1** was determined as shown in Figure 1.



Sesbagrandiflorain C (**1**) $R^1 = R^3 = H$; $R^2 = OH$
Sesbagrandiflorain D (**2**) $R^1 = R^2 = OH$; $R^3 = H$
Sesbagrandiflorain E (**3**) $R^1 = R^2 = H$; $R^3 = OCH_3$



Sesbagrandiflorain A (**4**) R = CH_3
Sesbagrandiflorain B (**5**) R = H

Figure 1. Chemical structures of compounds **1** – **5**.

Table 1. ^{1}H nuclear magnetic resonance data for compounds **1**, **2** and **3**

Ring	No atom C	1[a]	2[a]	3[a]
		δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]	δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]	δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]
A	4	8.04 (d, *J* = 8.5)	-	7.50 (d, *J* = 8.5)
	5	7.03 (dd, *J* = 8.5 & 2.0)	6.73 (d, *J* = 2.0)	6.68 (dd, *J* = 8.5 & 2.0)
	6	-	-	-
	7	7.23 (d, *J* = 2.0)	6.37 (d, *J* = 2.0)	6.78 (d, *J* = 2.0)
	8	-	-	-
	9	-	-	-
	MeO-C	3.91 (s)	3.86 (s)	3.87 (s)
B	1′	-	-	-
	2′	-	-	-
	3′	-	-	7.65 (s)
	4′	-	-	-
	5′	6.87 (d, *J* = 8.0)	6.88 (d, *J* = 7.0)	-
	6′	7.10 (d, *J* = 8.0)	7.13 (d, *J* = 7.0)	7.25 (s)
C	2	-	-	-
	3	-	-	-
	MeO-C	3.73 (s)	3.76 (s)	3.90 (s)
	MeO-C	-	-	3.91 (s)
	HO	-	10.18 (s)	-
	CHO	10.05 (s)	9.83 (s)	10.03 (s)

[a] ^{1}H NMR (500 MHz); measured in acetone-d_6
[b] Multiplicity of signals is given in parentheses: s, singlet; d, doublet; dd, doublet of doublet; coupling constants (apparent splittings) are reported as numerical values in Hz.

Sesbagrandiflorain D (**2**) was obtained as a yellowish solid and the molecular formula was determined to be $C_{17}H_{14}O_7$ (*m/z* 331.08261 $[M+H]^+$), indicating an additional hydroxyl substitution in **2**. This is consistent with the ^{1}H NMR spectrum of **2**, in which only four aromatic protons are presence as opposed to five protons in **1**. ^{13}C and DEPT-135 spectra of **2** showed the presence of two methyl carbons, four sp2 aromatic ring carbons, ten oxygenated/non-oxygenated quaternary carbons and a carbonyl (δ 190.3 ppm). Further detailed analysis of 2D NMR (HSQC and HMBC) data for **2** (Figure 2) revealed that **2** is a hydroxylated analog of **1** and the substitution is located at the C-4 position (Figure 1).

From another fraction of the EtOAc extract, we also isolated a new 2-arylbenzofuran compound, sesbagrandiflorain E (**3**), using a combination of SiO_2 column chromatography and reversed-phase HPLC. Sesbagrandiflorain E (**3**) was obtained as a colorless solid. HR-TOF-MS analysis of **3** revealed a molecular formula of $C_{18}H_{16}O_6$ (*m/z* 329.10330 $[M+H]^+$), one carbon more than **1** or **2**. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of **3** showed the presence of an additional methoxy group in **3**. 1D and 2D NMR data for **3** indicate that the compound has a similar A-ring system as in **1** and **4**, however, it adopts a different C-ring substitution system than the other compounds.

Table 2. ^{13}C nuclear magnetic resonance data for compounds **1**, **2** and **3**

Ring	No atom C	1[a]	2[a]	3[b]
		δ_c (ppm)	δ_c (ppm)	δ_c (ppm)
A	4	122.0	156.6	132.5
	5	113.2	87.7	108.0
	6	159.0	161.3	159.0
	7	95.7	98.1	99.7
	8	155.5	152.1	161.8
	9	118.3	106.9	108.9
	$O\underline{C}H_3$	55.2	55.3	55.2
B	1′	113.6	113.2	117.3
	2′	149.5	149.9	149.1
	3′	138.8	138.8	103.3
	4′	147.1	146.9	148.0
	5′	111.6	111.7	149.0
	6′	122.1	122.2	95.4
C	2	162.9	163.8	162.5
	3	117.1	118.4	117.1
	$O\underline{C}H_3$	60.4	60.6	61.4
	$\underline{C}HO$	186.8	190.3	186.9

[a] ^{13}C NMR (125 MHz); [b] ^{13}C NMR (700 MHz) measured in acetone-d_6.

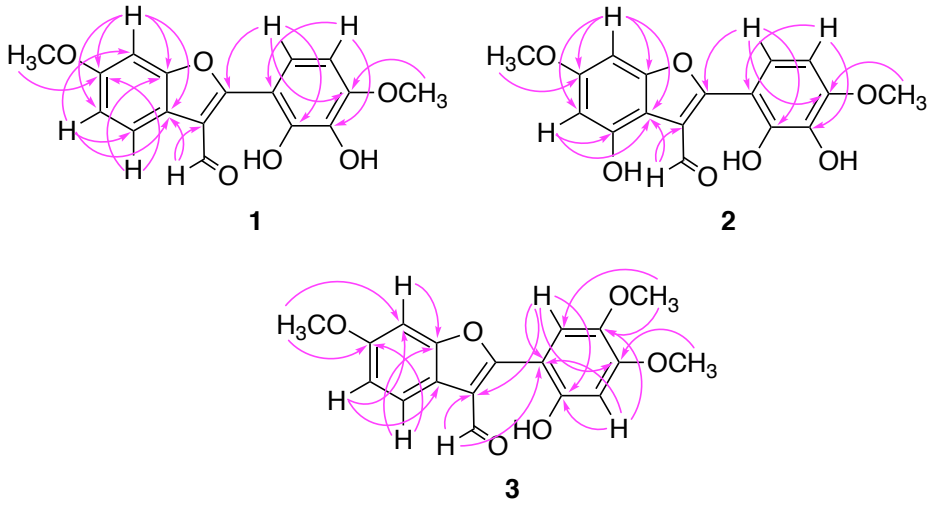


Figure 2. HMBC correlations of compounds **1** – **3**.

Together with the known compounds **4** and **5**, compounds **1** – **3** were tested for their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium*

smegmatis, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* using an agar diffusion assay. However, none of them showed any activity in this assay. The relatively abundant compound **4** and **5** were then evaluated for their antituberculosis activity against *M. tuberculosis* H37Rv by tetrazolium micro-plate assay (TEMA) [14]. The results showed that compounds **4** and **5** have moderate activity against *M. tuberculosis* with minimum inhibition concentration (MIC) values of 200 and 12.5 μg/ml, respectively. The greater activity of compound **5** compared to compound **4** suggests that a free hydroxy group at C-6 is important for their activity. However, a more detailed structure-activity relationship study is required to provide better understanding of their anti-TB activity. Additionally, compounds **1** – **5** were tested for their cytotoxicity against cancer cell lines HeLa (cervical adenocarcinoma), HepG2 (liver carcinoma), and MCF-7 (mammary adenocarcinoma). The results showed that **1** – **5** have moderate cytotoxicity against two or more of the tested cancer cell lines (Table 3). Our findings expand our understanding of the natural constituents of *S. grandiflora*, and possibly other fabaceous plants, and their biological activities.

Table 3. Cytotoxicity of compounds **1** – **5** against cancer cell lines

Compound	CC_{50} (μM)		
	HeLa	HepG2	MCF-7
1	>100	8.25	35.1
2	31.5	25.4	10.2
3	31.5	>100	9.0
4	31.3	30.8	0.65
5	30.5	31.3	21.3

Experimental Section

General methods

Thin-layer chromatography (TLC) was conducted on pre-coated silica gel 60 GF_{254} plates (Merck, Darmstadt, Germany) with an absorbent thickness of 0.25 mm sprayed with $Ce(SO_4)_2$ solution for spot visualization. Preparative TLC was performed on square glass plates with a side length of 0.2 m coated with 0.5 mm Kieselgel F_{254} (Merck), which were air-dried and used without prior activation. Column chromatography (CC) was performed on silica gel (Kieselgel 60, 70-230 mesh ASTM; Merck). HPLC was performed using a Shimadzu dual LC-20AD solvent delivery system with a Shimadzu SPD-M20A UV/vis photodiode array detector. Nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR and ^{13}C NMR) spectra were recorded in acetone-d_6, with tetramethylsilane as an internal standard, on an Agilent 500 MHz spectrophotometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) or Bruker Avance III 700 MHz spectrometer equipped with a 5 mm ^{13}C cryogenic probe or a Bruker 500 MHz spectrometer. High-resolution ESI mass spectrometry was performed in positive ion mode on a 6230 TOF mass spectrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Potassium bromide-type infrared (IR) spectra were recorded using a Nicolet IR100 FT-IR spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Finally, ultraviolet (UV) spectra were recorded using an Eppendorf BioSpectrometer® kinetic instrument.

Plant material

Samples of the stem bark of *S. grandiflora* were collected on 27 November 2016 from Sumberdadi Village, Pringsewu, Bandar Lampung, Indonesia. The identity of the plant

specimens (No. N-V) was confirmed at the Herbarium Bogoriense, Research Centre for Biology, Indonesian Institute of Sciences, Bogor, Indonesia. A voucher specimen was deposited at the herbarium.

Extraction and isolation

The experiment was carried out following the method that has been described in our previous study [16]. Briefly, air-dried and powdered samples of the stem bark of *S. grandiflora* (3.0 kg) were extracted exhaustively with *n*-hexane, EtOAc, and 90% aqueous methanol (MeOH) sequentially at room temperature. The masses of the *n*-hexane, EtOAc, and MeOH extracts afforded were 25, 40, and 120 g, respectively. The EtOAc extract was fractionated by silica-gel vacuum liquid chromatography (VLC) and eluted with *n*-hexane–EtOAc with a volume ratio ranging from 100% *n*-hexane to 100% EtOAc, yielding five major fractions (Fr.), Fr. E1–E5. Fr. E4 (9.5 g) was fractionated repeatedly by VLC on silica gel by the same way, to yield nine major sub-fractions (Fr. E4.1–E4.9). A yellow crystal (Compound **4**) was obtained from sub-fractions Fr. E4.6 after repeated fractionated by VLC and CC on silica gel with *n*-hexane–acetone (23:2 v/v). The total amount of Compound **4** obtained was 230 mg. The fractionation of Fr. E4.7 (1.0 g) was separated by silica-gel CC using *n*-hexane–EtOAc (19:1–1:1 v/v) as eluent, yielding 48 sub-fractions. The fractions were monitored by TLC, and those with identical profiles were combined to give six major sub-fractions (Fr. E4.7.1–E4.7.6). Fr. E4.7.3 (134 mg), Fr. E4.7.4 (209 mg) and Fr. E4.7.5 (169 mg) were further purified separately by CC using the same eluent system of an *n*-hexane–acetone (19:1–1:1 v/v) gradient, afforded 25 (E4.7.3.1-E4.7.3.25), 32 (E4.7.4.1- E4.7.4.32) and 28 (E4.7.5.1-E4.7.5.28) sub-fractions, respectively. A mixture

of compounds **1** and **2** were obtained as yellow solid (amorph) from sub-fractions E4.7.3.23 (8.5 mg) and Fr. E4.7.4.20-E4.7.4.30 (39 mg), while compound **5** was produced as yellow crystal from sub-fractions Fr. E4.7.5.21- E4.7.5.22 (5 mg) after kept for few days in room temperature. Compounds **1** and **2** obtained from sub-fractions E4.7.3.23 (8.5 mg) were further purified from the mixture by RP HPLC using gradient 5-100% MeOH in H_2O for 70 min; 3 ml/min) to yield compound **1** (2.0 mg) and compound **2 (**5.5 mg).

Fraction E4.8 (1.4 g) was separated by silica-gel CC using *n*-hexane–acetone (19:1 – 1:1 v/v) gradient as eluent, afforded 32 sub-fractions (E4.8.1- E4.8.32). Sub-fractions E4.8.19 - E4.8.21 were combined based on the TLC profile and further purified by RP HPLC (isocratic 60% MeOH in H_2O for 75 min; 3 ml/min) to afford compound **3** (4.5 mg).

Sesbagrandiflorain C (1)

Obtained as yellowish solid, IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3397, 2927, 1654, 1498, 1193, 1142; UV (MeOH) λ_{max} (nm) (ε) 206 (9370), 240 (4970), 341 (2720); ESI-TOF-MS *m*/*z* 315.08765 $[M+H]^+$, calculated for $C_{17}H_{15}O_6$ for 315.08631; ^1H NMR and ^{13}C NMR (acetone-d_6) can be seen in Tables 1 and 2.

Sesbagrandiflorain D (2)

Obtained as yellowish solid, IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3397, 3218, 2943, 1601, 1499, 1192, 1145; UV (MeOH) λ_{max} (nm) (ε) 216 (7190), 266 (3320), 359 (1610); ESI-TOF-MS *m*/*z* 331.08261 $[M+H]^+$, calculated for $C_{17}H_{15}O_7$ for 331.08233; ^1H NMR and ^{13}C NMR (acetone-d_6) can be seen in Tables 1 and 2.

Sesbagrandiflorain E (3)

Obtained as colorless solid, IR (KBr) ν_{max} cm^{-1} 3489, 2922, 1684, 1204; UV (MeOH) λ_{max} (nm) (ε) 211 (7470), 248 (4120), 288 (2080), 350 (2470). ESI-TOF-MS *m*/*z* 329.10330 $[M+H]^+$, calculated for $C_{18}H_{17}O_6$ for 329.10196; ^1H NMR and ^{13}C NMR (acetone-d_6) can be seen in Tables 1 and 2.

Antibacterial Activity Assay. Agar disc diffusion assay was used to test the activity of the EtOAc extract. Five different bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis*, and *Escherichia coli* were used. The EtOAc extract was dissolved in MeOH to a concentration of 10 mg/ml. The positive control for this experiment was either ampicillin (for *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, and *E. coli*) or apramycin (for *M. smegmatis*). Both the extract and the positive control (10 µl each) were loaded onto sterile diffusion discs and left to dry for 20 min. For *S. aureus, B. subtilis, P. aeruginosa, and M. smegmatis*, the agar plates were prepared by adding a layer of bacterial infused YMG soft agar to an YMG plate and left to solidify. The bacterial infused YMG soft agar was prepared by growing each of the bacteria in separate 15 ml falcon tubes with liquid YMG medium for two days and mixed it with warm YMG agar. The paper discs, impregnated with the extract and the positive control, were placed onto each plates using antiseptic techniques. All plates were incubated for 24 h at 30 °C. For *E. coli*, all procedures mentioned above were done using Luria-Bertani (LB) medium instead of YMG. In addition, the *E. coli* plates and liquid cultures were incubated at 37 °C. After

24 hours of incubation, the plates were stained with MTT (1 mg/ml in de-ionized water) to enhance the contrast of the inhibition zones to the bacterial growth.

Antituberculosis assay

The *M. tuberculosis* inoculum was prepared from a log phase culture in Middle brook 7H9 broth (Difco, USA) supplemented with albumin, dextrose, and catalase (ADC) and its turbidity was adjusted to McFarland standard no. 1 [approximately 3×10^7 colony forming unit (CFU)/ml]. The bacterial suspension was then further diluted 1:20 in Middle brook 7H9 broth supplemented with OADC (oleic acid, albumin, dextrose and catalase). The antituberculosis activity was performed by a colorimetric tetrazolium micro-plate assay (TEMA) with minor modification. First, sterile distilled water (200.0 µl) was added to all outer wells of a sterile 96-well micro plate. One hundred micro litre of Middle brook 7H9 broth supplemented with OADC was added into the wells in columns B to G, rows 3 to 11. Then, 100 µL of each compound's working solution (200.0 µg/ml) was added in triplicate into the wells in columns 2 and 3. The solutions were then serially diluted with multichannel pipette from wells 3 to 4 until wells 10 with the concentration ranging from 200.0 to 39.1 x 10^{-2} µg/ml. 100 µl of *M. tuberculosis* inoculum was added into the wells in columns B to G, rows 2 to 11. The wells in column 11 served as inoculum-growth controls with no tested compounds. Isoniazid, a standard drug for tuberculosis was used as a positive control. The microtiter plates were then sealed with parafilm and incubated at 37 °C in 8% -carbon dioxide for 5 days. On day 5, 50 µl of tetrazolium-tween 80 mixtures (1.5 ml of 1mg/ml MTT in absolute ethanol and 1.5 ml of 10% Tween-80) was added into well

B11 and incubated again for 24 hours. If well B2 turned purple, the reagent mixture was added into all wells and minimum inhibitory concentration (MIC) were recorded.

Cytotoxicity Assay

Cytotoxicity assay was performed based on a method described by O'Brien [17]. HepG2, MCF-7, and HeLa cells were maintained in culture in Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, ATCC, cat # 30-2003) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS, Heat Inactivated, Gibco, cat # 10082-147) at 37 °C and 5% CO_2. Cells were dispensed into black, clear bottom, 384-well plates 24 h prior to compound treatment. One column in each plate did not receive cells to serve as a low-signal controls. Compounds dissolved in DMSO were added with the D300 digital dispenser (HP) as a 12-point, half-log titration series in triplicate. Sixteen wells in each plate were left untreated to serve as high-signal controls. DMSO was normalized to 0.5% in every well. After 48 h at 37 °C and 5% CO_2, a solution of resazurin (Acros, cat # 189900050) in PBS was added to every well to a final concentration of 44 μM. After 4-6 h at 37 °C and 5% CO_2, fluorescence was measured with the microplate reader (Synergy 4, Biotek).

Acknowledgments

The authors thank the Directorate of Research and Community Services, Directorate General of Higher Education, The Ministry of Research, Technology and Higher Education, Republic of Indonesia for providing funds for this project through PSN Grant (No.393/UN26.21/PN/2018) and World Class Professor Program-Scheme B 2018

(No.123.44/D2.3/KP/2018). Cytoxicity assay was done in the Oregon State University College of Pharmacy High Throughput Screening Services Facility. We acknowledge the support of the Oregon State University NMR Facility funded in part by the National Institutes of Health, HEI Grant 1S10OD018518, and by the M. J. Murdock Charitable Trust grant #2014162.

.

References

1. Neto MM, Neto MA, Filho RB, Lima MAS, Silveira ER. (2008) Flavanoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia ungulate* L. *Biochem System and Ecol* 36: 227-229.
2. Roosita K, Kusharto CM, Sekiyama M, Fachrurozi Y, Ohtsuka R. (2008) Medicinal plants used by the villagers of a Sundanese community. *J Ethnopharmacol* 115: 72-81.
3. Vitor RF, Mota-Filipe H, Teixeira G, Borges C, Rodrigues AI, Teixeire A, Paulo A. (2004) Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury. *J Ethnopharmacol* 93: 363-370.
4. Watjen W, Kulawik A, Suckow-Schnitker AK, Chovolou Y, Rohrig R, Ruhl S, Kampkotter A, Addae-Kyereme J, Wright CW, Passreiter CM. (2007) Pterocarpans phaseollin and neurautenol isolated from *Erythrina addisoniae* induce apoptotic cell death accompanied by inhibition of ERK phosphorylation. *Toxicology* 242: 71-79.
5. Wink M, Mohamed GIA. (2003) Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbcL* gene. *Biochem System Ecol* 31: 897–917.
6. Kobayashi M, Mahmud T, Yoshioka N, Shibuya H, Kitagawa I. (1997) Indonesian medicinal plants. XXI. Inhibitors of Na+/H+ exchanger from the bark of *Erythrina variegata* and the roots of *Maclura cochinchinensis*. *Chem Pharm Bull* 45: 1615-1619.
7. Kitagawa I, Simanjuntak P, Mahmud T, Kobayashi M, Fujii S, Uji T, Shibuya H. (1996) Indonesian medicinal plants. XIII. Chemical structures of caesaldekarins c, d, and e, three additional cassane-type furanoditerpenes from the roots of *Caesalpinia major* (Fabaceae). Several interesting reaction products of caesaldekarin a provided by *N*-bromosuccinimide treatment. *Chem. Pharm. Bull.* 44: 1157-1161.
8. Kobayashi M, Mahmud T, Yoshioka N, Hori K, Shibuya H, Kitagawa I. (1996) Indonesian medicinal plants. XVIII. Kompasinol A, a new stilbeno-phenylpropanoid from the bark of *Koompassia malaccensis* (Fabaceae). *Chem. Pharm. Bull.* 44: 2249-2253.

9. Kırmızıbekmez H, Uysal GB, Masullo M, Demirci F, Bagci Y, Kan Y, Puiacente S. (2015) Prenylated polyphenolic compounds from Glycyrrhiza iconica and their antimicrobial and antioxidant activities. *Fitoterapia* 103: 289–293.
10. Dixon RA, Sumner LW. (2003) Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiol* 131: 878-885.
11. Wagh VD, Wagh KV, Tandale YN, Salve SA. (2009) Phytochemical, pharmacological and phytopharmaceutics aspects of *Sesbania grandiflora* (Hadga): a review. *J Pharmacy Res* 2: 889–892.
12. Tiwari RD, Bajpai RK. (1964) Chemical examination of *Sesbania grandiflora* leaves. II. Isolation and study of a saponin. . *Proc Nat Acad Sci, India Section A: Physical Sciences* 34: 239–244.
13. Pollard MA, Fischer P, Windhab EJ. (2011) Characterization of galactomannans derived from legume endosperms of genus *Sesbania* (Faboideae). *Carbohydrate Polymers* 84: 550–559.
14. Hasan N, Osman H, Mohamad S, Chong WK, Awang K, Zahariluddin ASM. (2012) The chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity. *Pharmaceuticals* 5: 882–889.
15. Noviany, Osman H, Chong WK, Awang K, Manshoor N. (2012) Isolation and characterisation of l,l′-binaphthalene-2,2′-diol, a new biaryl natural product from *Sesbania grandiflora* root. *J Basic Appl Sci* 8: 253–256.
16. Noviany N, Nurhidayat A, Hadi S, Suhartati T, Aziz M, Purwitasari N, Subasman I. (2018) Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*. *Nat Prod Res* 32: 2558-2564.
17. O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. (2000) Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur J Biochem* 267: 5421-5426.

LAMPIRAN 3. SEMINAR I

34th International Conference on Natural Products 2018

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

APEX

SOARING UPWARDS

MALAYSIAN NATURAL PRODUCT SOCIETY

Certificate of Participation

presented to

Dr. Noviany

in recognition of the contribution as

Oral Presenter

in the

34th International Conference on Natural Products 2018 (ICNP 2018)

on

19th – 21st March 2018

at

Bayview Beach Resort, Batu Ferringhi, Penang, Malaysia

Prof. Dr. Afidah Abdul Rahim
Dean
School of Chemical Sciences
Universiti Sains Malaysia

Prof. Dato' Dr. Hasnah Osman
Chairperson
ICNP 2018

Scanned by CamScanner

Isolation and Structure Elucidation of A New Naturally Isolated Compound from *Sesbania grandiflora*

Noviany[*1], Sutopo Hadi[1], Muhammad Aziz[2]

[1]*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*
[2]*Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8550, Japan*

*Corresponding author: noviany@fmipa.unila.ac.id

This study aimed to isolate and purify the secondary metabolites from the ethyl acetate extract of *Sesbania grandiflora* stem barks. In a previous study, we isolated a new natural occurring binaphtol compound from the root of *S. grandiflora* for the first time. As part of our continuing investigations, we report the isolation and identification of another new phenolic compound obtained from the stem bark of *S. grandiflora.* The structure elucidation of the purified compound was performed using one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance, ultraviolet and infrared spectroscopy, and electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. To the best of our knowledge, the isolated compound was identified as a new natural occurring phenolic compound isolated from the Leguminosae plant for the first time, particularly from *S. grandiflora*.

Keywords: new naturally isolated; phenolic compound; *Sesbania grandiflora*; structure elucidation

34th International Conference on Natural Products 2018

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

MALAYSIAN NATURAL PRODUCT SOCIETY

34TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS
Exploring Natural Products for Drug Discovery and Healthcare
19-21 March 2018, Bayview Beach Resort, Penang, Malaysia
Email: icnp2018@gmail.com, Tel: 04-6533576, 6533091

Our Reference : **ORL 077**

Paper Title : **Isolation and Structure Elucidation of A New Naturally Isolated Compound from Sesbania grandiflora**

Dear Mr/Mrs,

RE: Acceptance of Oral Abstract Submission

On behalf of the Program Committee, I am pleased to inform that your abstract has been accepted for **ORAL PRESENTATION** at the 34th International Conference Natural Products 2018 (ICNP 2018) on 19 − 21 March 2018. For the information the abstract has been peer reviewed by ICNP 2018 Scientific committee and would be published in ICNP 2018 abstract book.

Please pay (Early bird is recommended) to:

Beneficiary name : Usains Holding Sdn. Bhd.
Name of the bank : AmBank (M) Berhad,
Level 21, Menara Dion, Jalan Sultan Ismail,
50250 Kuala Lumpur, Malaysia.
Account Number : 888-100-985-0380
Swift Code : ARBKMYKL
Methods of Payment:

Electronic Fund Transfer (EFT)	
Telegraphic Transfer	
Bank - in / ATM machine	
Cheque (only accept Cheque from company)	
Money order	
Bank draft	
Local order (LO)/ Purchase order (PO)	

Kindly please refer to the reviewers' comments on your abstract and you are advised to revise it in your full paper. Please visit our website at (http://www.icnp2018.usm.my/index.php) for registration and payment purposes. Please fill up the registration form and upload the proof of payment **(**Rename the file using reference no. given and email to **limgk@usm.my)** as well as your full paper (**tanwn@usm.my**) before **1st MARCH 2018**.

"Exploring Natural Products for Drug Discovery and Healthcare"

Yours sincerely,

LAMPIRAN 4. SEMINAR II

A New Naturally Biisoflavonoid Compound Isolated from *Sesbania grandiflora*

Noviany[*1], Sutopo Hadi[1], Neny Purwitasari[2], and Hasnah Osman[3]

[1]*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*

[2] *Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Airlangga, Surabaya,60286, Indonesia*

[3]*School of Chemical Sciences, Universiti Sains Malaysia, Minden 11800, Penang, Malaysia*

*Corresponding author: noviany@fmipa.unila.ac.id

Some new naturally phenolic compounds have been successfully isolated from the ethyl acetate extract of *Sesbania grandiflora* roots and stem barks. In our previous paper, we isolated a new naturally occurring binaphtol compound from the root of *S. grandiflora*, as well as an arylbenzofurans type from the stembarks of the same plant. We report herein, another new phenolic constituent from the ethyl acetate extract of *S. grandiflora* root, identified as 3,4-*trans*-4-[(3*S*)-7,2'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavan-6-yl]-7,2'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavan. This compound was found for the first time as a new naturally biisoflavonoid with (4→6) inter-isoflavanyl linkage from the Leguminosae plant, particularly from *S. grandiflora*.

Keywords: biisoflavonoid, phenolic compound; *Sesbania grandiflora*

Certificate

BROMO CONFERENCE
SYMPOSIUM ON NATURAL PRODUCTS & BIODIVERSITY
Surabaya, July 11-12, 2018

Certificate of participation is awarded to:

Dr. Noviany, M.Si.

In recognition of his/her contribution as

Participant

IAI Accredited
Decree No: 256/SK-SKP/PP.IAI/2018
Participant: 12 SKP, Speaker: 4.5 SKP
Oral/Poster Presenter: 3 SKP
Moderator: 1.5 SKP, Committee : 3 SKP

PERHIPBA
PUSAT UNGGULAN IPTEK PERGURUAN TINGGI
Phytochemical Society of Asia PSA

Chairman

Prof. Dr. Bambang Prajogo E.W., MS., Apt.

Certificate

BROMO CONFERENCE
SYMPOSIUM ON NATURAL PRODUCTS & BIODIVERSITY
Surabaya, July 11-12, 2018

Certificate of participation is awarded to:

Dr. Noviany, M.Si.

In recognition of his/her contribution as

Oral Presenter

IAI Accredited
Decree No: 256/SK-SKP/PP.IAI/2018
Participant: 12 SKP, Speaker: 4.5 SKP
Oral/Poster Presenter: 3 SKP
Moderator: 1.5 SKP, Committee : 3 SKP

PERHIPBA
PUSAT UNGGULAN IPTEK PERGURUAN TINGGI
Phytochemical Society of Asia
PSA

Chairman

Prof. Dr. Bambang Prajogo E.W., MS., Apt.

A New Naturally Biisoflavonoid Compound Isolated from *Sesbania grandiflora*

Noviany[*1], Sutopo Hadi[1], Neny Purwitasari[2], and Hasnah Osman[3]

[1]*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*
[2] *Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Airlangga, Surabaya,60286, Indonesia*
[3]*School of Chemical Sciences, Universiti Sains Malaysia, Minden 11800, Penang, Malaysia*

*Corresponding author: noviany@fmipa.unila.ac.id

Some new naturally phenolic compounds have been successfully isolated from the ethyl acetate extract of *Sesbania grandiflora* roots and stem barks. In our previous paper, we isolated a new naturally occurring binaphtol compound from the root of *S. grandiflora*, as well as an arylbenzofurans type from the stembarks of the same plant. We report herein, another new phenolic constituent from the ethyl acetate extract of *S. grandiflora* root, identified as 3,4-*trans*-4-[(3*S*)-7,2'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavan-6-yl]-7,2'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavan. This compound was found for the first time as a new naturally biisoflavonoid with (4 →6) inter-isoflavanyl linkage from the Leguminosae plant, particularly from *S. grandiflora*.

Keywords: biisoflavonoid, phenolic compound; *Sesbania grandiflora*

LAMPIRAN 5.

PURWARUPA

Kristal senyawa N3

Padatan senyawa N4

LAMPIRAN 6.

BUKTI STATUS TERKINI
DRAFT PATEN SEDERHANA

REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: http://www.dgip.go.id Surel: dopatent@dgip.go.id

Nomor : HKI.3-HI.05.01.02.P00201708879
Lampiran : 1 (satu) berkas
Hal : Pemberitahuan Persyaratan Formalitas Telah Dipenuhi

Jakarta, 14 Desember 2017

Yth. LPPM Unila
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1
Gedong Meneng Rajabasa
Bandar Lampung 35145

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

	Tanggal Pengajuan	:	11 Desember 2017
(21)	Nomor Permohonan	:	P00201708879
(71)	Pemohon	:	LPPM Unila
(54)	Judul Invensi	:	METODE CEPAT PEMISAHAN DAN PEMURNIAN KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK ETILASETAT KULIT BATANG TUMBUHAN TURI (Sesbania grandiflora (L) Pers)
(30)	Data Prioritas	:	
(74)	Konsultan HKI	:	
(22)	Tanggal Penerimaan	:	11 Desember 2017

telah melewati tahap pemeriksaan formalitas dan semua persyaratan formalitas telah dipenuhi. Untuk itu akan dilakukan:

1. Pengumuman, segera 7 (tujuh) hari setelah 18 (delapan belas) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas dalam hal Paten Biasa (Pasal 46 UU No 13 Tahun 2016); atau segera 7 (tujuh) hari setelah 3 (tiga) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas, dalam hal Paten Sederhana (Pasal 123 UU No 13 Tahun 2016).
2. Pemeriksaan Substantif segera setelah masa publikasi selesai dan pemohon telah mengajukan permohonan pemeriksaan substantif (Pasal 51 UU No 13 Tahun 2016).

Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut:

1. Permohonan pemeriksaan substantif diajukan selambat-lambatnya 36 (tiga puluh enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten biasa dan selambat-lambatnya 6 (enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten sederhana, dengan disertai biaya sesuai yang tercantum pada PP No. 45 Tahun 2016.
2. Tidak diajukan permohonan pemeriksaan substantif dalam jangka waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali.
3. Harap melakukan pembayaran kelebihan 0 buah klaim (@50.000) sebesar Rp. 0.
4. Pembayaran tambahan biaya akibat kelebihanjumlah klaim, dilakukan selambat-lambatnya pada saat pengajuan pemeriksaan substantif. Apabila tambahan biaya tidak dibayarkan dalam jangka waktu sebagaimana dimaksud maka kelebihan jumlah klaim dianggap ditarik kembali (Pasal 28 ayat 2 dan 3 PP 34 Tahun 1991).
5. Jumlah halaman deskripsi yang terbayar halaman (Bila halaman deskripsi lebih dari 30).

a.n. Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang
Kasubdit Permohonan dan Publikasi,

Ir. Arif Syamsudin, S.H., M.Si.
NIP. 196303021987111001

00-2017-312700

Tembusan:
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Gedung Rektorat Lantai 5, Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
Telepon (0721) 705173, Fax. (0721) 773798, e-mail : lppm@kpa.unila.ac.id
www.lppm.unila.ac.id

KONTRAK PENELITIAN
Penelitian Terapan Tahun Anggaran 2019
Nomor: 860/UN26.21/PN/2019

Pada hari ini Senin tanggal Delapan bulan April tahun Dua Ribu Sembilan Belas, kami yang bertandatangan di bawah ini :

1. **Warsono, Ph.D** : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Lampung dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Lembaga Penelitian Universitas Lampung ,yang berkedudukan di Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No 1 Bandar Lampung, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA;**
2. **Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D** : Dosen FAKULTAS Mipa Universitas Lampung dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2019 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Penelitian Terapan Tahun Anggaran 2019 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut:

Pasal 1
Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA,** untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian TerapanPenelitian Terapan Tahun Anggaran 2019 dengan judul "Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis"

Pasal 2
Dana Penelitian

(1) Besarnya dana untuk melaksanakan penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar **Rp. 193600000 (*Seratus Sembilan Puluh Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah*)** sudah termasuk pajak.
(2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2019, tanggal 05 Desember 2018.

Pasal 3
Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

(1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
   a. Pembayaran pada skema Penelitian Dasar, Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi, Penelitian Terapan, Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi, Penelitian Pengembangan, Penelitian Pengembangan Perguruan Tinggi, Penelitian Kerjasama antar Perguruan Tinggi, dan Penelitian Pasca Sarjana-Pasca Doktor dibayarkan secara bertahap sebesar 70% dan 30%
   b. Pembayaran tahap pertama 70% dari total dana penelitian yaitu 70% x Rp. 193600000 (*Seratus Sembilan Puluh Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah*) = Rp. 135520000 (*Seratus Tiga Puluh Lima Juta Lima Ratus Dua Puluh Ribu Rupiah)* yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** merevisi proposal penelitian dan telah di unggah ke laman SIMLITABMAS dan menyerahkan/menyampaikan *hardcopy* sebanyak 2 eksemplar dan *softcopy* sebanyak 2
   Tahap Kedua 30% dari total dana penelitian yaitu 30% x Rp. 193600000 (*Seratus Sembilan Puluh Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah*)= Rp. 58080000 (*Lima Puluh Delapan Juta Delapan Puluh Ribu rupiah*) dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah ke SIMLITABMAS dan Menyerahkand *Hardcopy* sebanyak 2 Eksemplar dan *Softcopy* 2
   Pembayaran Dana Luaran Tambahan sebesar : Rp 15.000.000
   c. Dana Luaran tambahan Penelitian sebagaimana dimaksud pada pasal 3 huruf b dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** bersamaan dengan pembayaran Tahap Kedua.
   d. Apabila luaran tambahan dinyatakan tidak valid oleh PIHAK PERTAMA, maka dana luaran tambahan tidak bisa dibayarkan ke PIHAK KEDUA, dan dana luaran tambahan tersebut akan disetorkan kembali ke kas negara oleh PIHAK PERTAMA.

Dipindai dengan CamScanner

(2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

Nama	:	Noviany
Nomor Rekening	:	
Nama Bank	:	BNI

(3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4
Jangka Waktu

Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 sampai selesai 100%, adalah terhitung sejak **Tanggal 8 April 2019 dan berakhir pada Tanggal 16 November 2019**

Pasal 5
Target Luaran

(1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian berupa :
Dokumentasi hasil uji coba produk : Ada/Tersedia
(2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian berupa :
Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional
(3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA.**

Pasal 6
Hak dan Kewajiban Para Pihak

(1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** *hardcopy* Proposal Penelitian, Laporan Kemajuan, Laporan Akhir, luaran Wajib Penelitian dan Luaran Tambahan yang valid disertai *Softcopy*
b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3
c. Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3;
d. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** *hardcopy* Proposal Penelitian, Laporan Kemajuan, Laporan Akhir, luaran Wajib Penelitian dan Luaran Tambahan yang valid disertai *Softcopy* Penelitian Terapan dengan judul Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;
c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan laporan penggunaan dana kepada **PIHAK PERTAMA**

Pasal 7
Laporan Pelaksanaan Penelitian

(1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian dan Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan ke SIMLITABMAS paling lambat **14 September 2019.**
(2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan *Hardcopy* sebagaimana tercantum pasal 7 ayat 1 kepada **PIHAK PERTAMA**, paling lambat **16 September 2019**
(3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah dokumen sebagai berikut :
a. Revisi proposal penelitian
b. Catatan harian pelaksanaan penelitian
c. Laporan kemajuan pelaksanaan penelitian
d. Surat pernyataan Tanggungjawab belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan
e. Laporan akhir penelitian
f. Luaran penelitian
pada lama SIMLITABMAS paling lambat **16 November 2018**

Dipindai dengan CamScanner

(4) Laporan hasil Penelitian sebagaiman tercantum pada ayat 3 huruf c dan e harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:

a. Bentuk/ukuran kertas A4;
b. Di bawah bagian cover ditulis:

Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor : 065/SP2H/LT/DRPM/2019

Pasal 8
Monitoring dan Evaluasi

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2019 ini sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 9
Penilaian Luaran

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

Pasal 10
Penggantian Keanggotaan

1. Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi penelitian dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan dari Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
2. Apabila Ketua tim pelaksana penelitian tidak dapat menyelesaikan penelitian atau mengundurkan diri, maka PIHAK KEDUA wajib menunjuk pengganti Ketua Tim Pelaksana penelitian yang merupakan salah satu anggota tim setelah mendapat persetujuan tertulis dari Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
3. Dalam hal tidak adanya pengganti ketua tim pelaksana penelitian sesuai dengan syarat ketentuan yang ada, maka penelitian dibatalkan

Pasal 11
Penggantian Ketua Pelaksana

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

Pasal 12
Sanksi

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

Dipindai dengan CamScanner

Pasal 13
Pembatalan Perjanjian

(1) Apabila dikemudian hari terhadap judul Penelitian **Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis** sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran, itikad tidak baik, dan/atau perbuatan yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah dari atau dilakukan oleh **PIHAK KEDUA**, maka perjanjian Penelitian ini dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana penelitian yang telah diterima kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya akan disetor ke Kas Negara.

(2) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**

Pasal 14
Pajak-Pajak

Hal-hal dan/atau segala sesuatu yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa PPN dan/atau PPh menjadi tanggungjawab **PIHAK KEDUA** dan harus dibayarkan oleh **PIHAK KEDUA** ke kantor pelayanan pajak setempat sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 15
Peralatan dan/alat Hasil Penelitian

Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas Lampung sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Pasal 16
Penyelesaian Sengketa

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

Pasal 17
Amandemen Kontrak

Apabila terdapat hal lain yang belum diatur atau terjadi perubahan dalam Kontrak penelitian ini, maka akan dilakukan amandemen Kontrak Penelitian

Pasal 18
Lain-lain

(1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.

(2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

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

PIHAK PERTAMA

Warsono, Ph.D.
NIDN: 0016026303

PIHAK KEDUA

METERAI TEMPEL
6000

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN: 0019117301

Mengetahui
DEKAN FAKULTAS Mipa

Dr. Suratman M.Sc.
NIDN: 0004066403

Dipindai dengan CamScanner

BERITA ACARA PEMBAYARAN

Pada hari ini **Senin** tanggal **Delapan** bulan **April** tahun **Dua Ribu Sembilan Belas**, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

I. Nama : Warsono, Ph.D.
Jabatan : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung
Alamat : Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung
Disebut Sebagai **PIHAK PERTAMA.**

II. Nama : Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
Jabatan : Peneliti Utama (penanggung jawab penelitian)
Fakultas : Mipa
Alamat : Jl. Prof.Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung.
Disebut Sebagai **PIHAK KEDUA.**

Sehubungan dengan pelaksanaan kegiatan Penelitian Terapan di Lingkungan Universitas Lampung, sesuai dengan Surat Penugasan Penelitian Nomor: 860 /UN26.21/PN/2019, tanggal 8 April 2019 dengan judul **" Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis** maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** sebesar 70% dari nilai kontrak 70 % x Rp. 193600000,- Seratus Sembilan Puluh Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah = Rp. 135520000,- (Seratus Tiga Puluh Lima Juta Lima Ratus Dua Puluh Ribu Rupiah) dan disalurkan ke Rekening PIHAK KEDUA sebagai Penanggung Jawab Kegiatan Penelitian.

Demikian Berita Acara Pembayaran ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 8 April 2019

I. PIHAK PERTAMA.

Ketua LPPM
Universitas Lampung.

Warsono, Ph.D.
NIDN. 0016026303

II. PIHAK KEDUA.

Ketua Penelitian/
Penanggung Jawab Penelitian/Kegiatan

Materai

METERAI TEMPEL E6C1FAFF840840572 6000 ENAM RIBU RUPIAH

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN.0019117301

Dipindai dengan CamScanner

Sudah terima dari : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung

Banyaknya uang : **Seratus Tiga Puluh Lima Juta Lima Ratus Dua Puluh Ribu Rupiah**

Untuk pembayaran : Dana Penelitian Terapan dengan judul " Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis" yang didanai oleh Dana DIKTI T.A. 2019 Tahap 1 70 % Dari Nilai Kontrak sebesar Rp. 193600000 Berdasarkan Surat Penugasan Nomor: 860/UN26.21/PN/2019 Tanggal 8 April 2019

Bandar Lampung, 8 April 2019

Yang Menerima,

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D

NIDN. 0019117301

Rp. **135520000**

No.

KWITANSI

Sudah terima dari : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung

Banyaknya uang : **Seratus Tiga Puluh Lima Juta Lima Ratus Dua Puluh Ribu Rupiah**

Untuk pembayaran : Dana Penelitian Terapan dengan judul " Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis " yang didanai oleh Dana DIKTI T.A. 2019 Tahap 1 70 % Dari Nilai Kontrak sebesar Rp. 193600000,- Berdasarkan Surat Penugasan Nomor: 860/UN26.21/PN/2019 Tanggal 8 April 2019

Bandar Lampung, 8 April 2019

Yang Menerima,

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D

NIDN. 0019117301

Rp. **135520000**

Dipindai dengan CamScanner

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
GEDUNG REKTORAT LANTAI 5
Jalan. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
Telp. (0721) 705173, 701609 Ext. 136 Fax. 773798 email:lppm@kpa.Unila.ac.id

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB MUTLAK

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D**
NIDN : 0019117301
Fakultas : Mipa
Alamat : Jl.Prof.Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa :

1. Dana penelitian yang saya terima sudah dihitung dengan benar dan akan digunakan sepenuhnya untuk mendanai penelitian yang saya laksanakan yaitu penelitian yang didanai oleh Dana DIKTI TA 2019. Jenis Hibah Penelitian Terapan Judul **" Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis"** dengan jumlah dana sebesar 70% dari nilai kontrak penelitian 70% x Rp. 193600000,- (Seratus Sembilan Puluh Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah) = Rp. 135520000 Seratus Tiga Puluh Lima Juta Lima Ratus Dua Puluh Ribu Rupiah)

2. Semua penggunaan, pengeluaran keuangan dan pertanggungjawabannya yang terkait dengan *output* kegiatan pelaksanaan penelitian menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya-benarnya.

Bandar Lampung, 8 April 2019

Peneliti,

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN.0019117301

Dipindai dengan CamScanner

BERITA ACARA PEMBAYARAN

Pada hari ini **Jumat** tanggal **Dua Puluh Sembilan** bulan **November** tahun **Dua Ribu Sembilan Belas**, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

I. Nama : Prof . Dr. Ir. Hamim Sudarsono, M.Sc.
Jabatan : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung
Alamat : Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung
Disebut Sebagai **PIHAK PERTAMA.**

II. Nama : Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
Jabatan : Peneliti Utama (penanggung jawab penelitian)
Fakultas : Mipa
Alamat : Jl. Prof.Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung.
Disebut Sebagai **PIHAK KEDUA.**

Sehubungan dengan pelaksanaan kegiatan Penelitian Terapan di Lingkungan Universitas Lampung, sesuai dengan Surat Penugasan Penelitian Nomor: 860 /UN26.21/PN/2019, tanggal 8 April 2019 dengan judul **" Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis**maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** sebesar 30% dari nilai kontrak 30 % x Rp. 193600000,- (Seratus Sembilan Puluh Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah) = Rp. 58080000- (Lima Puluh Delapan Juta Delapan Puluh Ribu rupiah) dan disalurkan ke Rekening PIHAK KEDUA sebagai Penanggung Jawab Kegiatan Penelitian.

Demikian Berita Acara Pembayaran ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 29 November 2019

I. PIHAK PERTAMA.

Ketua LPPM
Universitas Lampung,

Prof . Dr. Ir. Hamim Sudarsono, M.Sc.
NIDN. 0029016001

II. PIHAK KEDUA.

Ketua Penelitian/
Penanggung Jawab Penelitian/Kegiatan

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN.0019117301

Dipindai dengan CamScanner

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
GEDUNG REKTORAT LANTAI 5
Jalan. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
Telp. (0721) 705173, 701609 Ext. 136 Fax. 773798 email:lppm@kpa.Unila.ac.id

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB MUTLAK

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN : 0019117301
Fakultas : Mipa
Alamat : Jl.Prof.Sumantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa :

1. Dana penelitian yang saya terima sudah dihitung dengan benar dan akan digunakan sepenuhnya untuk mendanai penelitian yang saya laksanakan yaitu penelitian yang didanai oleh Dana Kemenristekdikti TA 2019. Jenis Hibah Penelitian Terapan Judul "Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis"dengan jumlah dana Tahap Kedua sebesar 30% dari nilai kontrak penelitian 30% x Rp 193600000,- = Rp.58080000,- (Lima Puluh Delapan Juta Delapan Puluh Ribu rupiah
2. Semua penggunaan, pengeluaran keuangan dan pertanggungjawabannya yang terkait dengan *output* kegiatan pelaksanaan penelitian menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya-benarnya.

Bandar Lampung, 29 November 2019

Peneliti,

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN.0019117301

Dipindai dengan CamScanner

No.

KWITANSI

Sudah terima dari : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung

Banyaknya uang : Lima Puluh Delapan Juta Delapan Puluh Ribu rupiah

Untuk pembayaran : Dana Penelitian Terapan dengan judul Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis" yang didanai oleh Dana DIKTI T.A. 2019 Tahap II 30 % Dari Nilai Kontrak sebesar Rp.193600000 Berdasarkan Kontrak Penelitian Nomor: 860 /UN26.21/PN/2019 Tanggal 18 April 2019

Rp. 58080000

Lampung, 29 November 2019
Yang Menerima,

Noviany, S.Si, M.Si, Ph.D
NIDN.0019117301

No.

KWITANSI

Sudah terima dari : **Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Lampung**

Banyaknya uang : Lima Puluh Delapan Juta Delapan Puluh Ribu rupiah

Untuk pembayaran : Dana Penelitian Terapan dengan judul Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis " yang didanai oleh Dana DIKTI T.A. 2019 Tahap II 30 % Dari Nilai Kontrak sebesar Rp193600000 Berdasarkan Kontrak Penelitian Nomor: 860 /UN26.21/PN/2019 Tanggal 18 April 2019

Rp. 58080000

Bandar Lampung 29 November 2019
Yang Menerima,

Noviany, S.Si, M.Si., Ph.D
NIDN. 0019117301

Dipindai dengan CamScanner

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

LAPORAN AKHIR PENELITIAN TAHUN TUNGGAL

ID Proposal: 95851bc1-0011-4f79-87fc-fcecc695f29b
Laporan Akhir Penelitian: tahun ke-3 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Pemanfaatan Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Tumbuhan Turi (Sesbania grandiflora) yang Berpotensi Sebagai Agen Antituberkulosis

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

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Kesehatan	Teknologi kemandirian bahan baku obat	Pengembangan obat tradisional berbasis IPTEK untuk penyakit-penyakit tropis (neglected diseases)	Kimia

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

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Kompetitif Nasional	Penelitian Terapan	SBK Riset Terapan	SBK Riset Terapan	4	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
NOVIANY Ketua Pengusul	Universitas Lampung	Kimia		259839	3
NENY PURWITASARI S.Farm, Apt, M.Sc. Anggota Pengusul 2	Universitas Airlangga	Farmasi		6047243	1
Dr SUTOPO HADI S.Si, M.Sc.	Universitas Lampung	Kimia		37012	7

Anggota Pengusul 1					

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

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

Mitra	Nama Mitra
Mitra Calon Pengguna	Suhendar,SP

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (*accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya*)	Keterangan (*url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya*)
3	Dokumentasi hasil uji coba produk	Ada	-

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (*accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya*)	Keterangan (*url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya*)
3	Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional	accepted/published	Journal of Natural Medicines

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 193,600,000

Tahun 1 Total Rp. 0

Tahun 2 Total Rp. 0

Tahun 3 Total Rp. 193,600,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	1	24,500,000	24,500,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	2,000,000	4,000,000
Bahan	ATK	Paket	1	2,000,000	2,000,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	1	95,247,626	95,247,626
Bahan	Barang Persediaan	Unit	1	26,352,374	26,352,374
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	1	4,000,000	4,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	1	20,000,000	20,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	6,000,000	6,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	10,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	1	1,500,000	1,500,000

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang paling banyak menyebabkan kematian manusia. Untuk mengatasi masalah ancaman kematian yang disebabkan TB sudah banyak digunakan obat diantaranya pirazinamid, rifampisin, isoniazid, streptomisin, dan etambutol. Ada kekurangan pada penggunaan obat-obat tersebut yaitu penggunaannya secara berlebih dapat menyebabkan patogen TB resisten (multi-drug resistant) terhadap jenis obat ini. Untuk mengurangi kekurangan obat TB diperlukan agen antituberkulosis yang lebih baik. Salah satu tumbuhan yang diduga potensial untuk dijadikan sebagai sumber bahan agen anti-TB adalah tumbuhan turi (Sesbania grandiflora). Pemanfaatan senyawa-senyawa bioaktif anti-TB dari tumbuhan turi dilakukan melalui serangkaian tahapan pemisahan dan pengujian bioaktivitasnya sebagai anti-TB. Senyawa-senyawa bioaktif dari turi diperoleh melalui tahapan isolasi/pemisahan, fraksinasi dan pemurnian yang dilakukan dengan metode kromatografi meliputi kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom gravitasi (KKG), kromatografi lapis tipis preparatif (KLT preparatif), kromatotron, dan HPLC. Analisis kemurnian senyawa dilakukan secara fisika dengan penentuan titik leleh dan uji KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Penentuan struktur isolat dan senyawa hasil modifikasi dilakukan menggunakan spektroskopi UV, IR, NMR (1D dan 2D) dan MS. Pada penelitian tahun pertama dan kedua telah dilaporkan enam senyawa hasil isolasi, tiga diantaranya senyawa 2-arilbenzofuran baru dari kulit batang S. grandiflora, sesbagrandiflorain A-C, dua senyawa 2-arilbenzofuran yang telah dikenal dan satu senyawa alkaloid piperina. Dari enam senyawa, hanya sesbagrandiflorain A dan B yang menunjukkan aktivitas terhadap Mycobacterium tuberculosis H37Rv dengan nilai MIC 200 dan 12.5 µg/mL. Dua senyawa baru, sesbagrandiflorain A dan B telah dipublikasikan pada jurnal Natural Products Research (Impact Factor 2017: 1,928; SJR = 0.671; Q2). Senyawa baru lainnya, sesbagrandiflorain C yang diperoleh juga telah ditulis sebagai manuskrip kedua dengan status terkini under revision pada jurnal Phytochemistry Letters (Impact Factor 2018: 1.338; SJR = 0.49; Q2). Hasil pengujian anti_TB dua senyawa isolat pertama yang diperoleh menunjukkan kategori keaktifan lemah hingga sedang. Keaktifan anti-TB yang kurang signifikan pada senyawa sesbagrandiforain A dan B hasil isolasi pertama, mendorong peneliti untuk melakukan modifikasi struktur sesbagrandiforain A sebagai senyawa hasil isolasi utama pada tahun ketiga penelitian. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada tahun terakhir, diperoleh tujuh senyawa hasil modifikasi sesbagrandiforain A dilengkapi dengan berbagai hasil pengujian aktivitas biologisnya, diantaranya pengujian bioaktivitas anti-TB secara in vitro serta sitotoksisitasnya terhadap beberapa sel kanker. Walaupun hasil uji bioaktivitas senyawa hasil modifikasi (derivat) sesbagrandiforain A tidak menunjukkan keaktifan sebagai anti-

TB secara in vitro baik terhadap M. tuberculosis maupun M. smegmatis sebagaimana ekspektasi awal, namun salah satu derivat sesbagrandiflorain A memberikan daya hambat signifikan terhadap bakteri patogen tanaman Rhodococcus fascians. Senyawa-senyawa hasil modifikasi sesbagrandiforain A yang diperoleh pada tahun terakhir riset sudah ditulis sebagai draft manuskrip ketiga dan akan dipublikasikan pada Journal of Natural Medicines, impact factor 1.92, Q1 Scimago), selanjutnya akan didaftarkan dalam HKI, serta ditulis sebagai draft bahan ajar. Tingkat Kesiapterapan Teknologi (TKT) yang telah dicapai dari penelitian pada tahun ketiga yaitu TKT 4, berupa pembuktian konsep awal bahwa tumbuhan S.grandiflora memiliki karakteristik kandungan metabolit sekunder yang bersifat aktif dan non toksik

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

Aktivitas biologis; antituberkulosis; sesbagrandiflorain; Sesbania grandiflora; sitotoksik

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

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

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

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

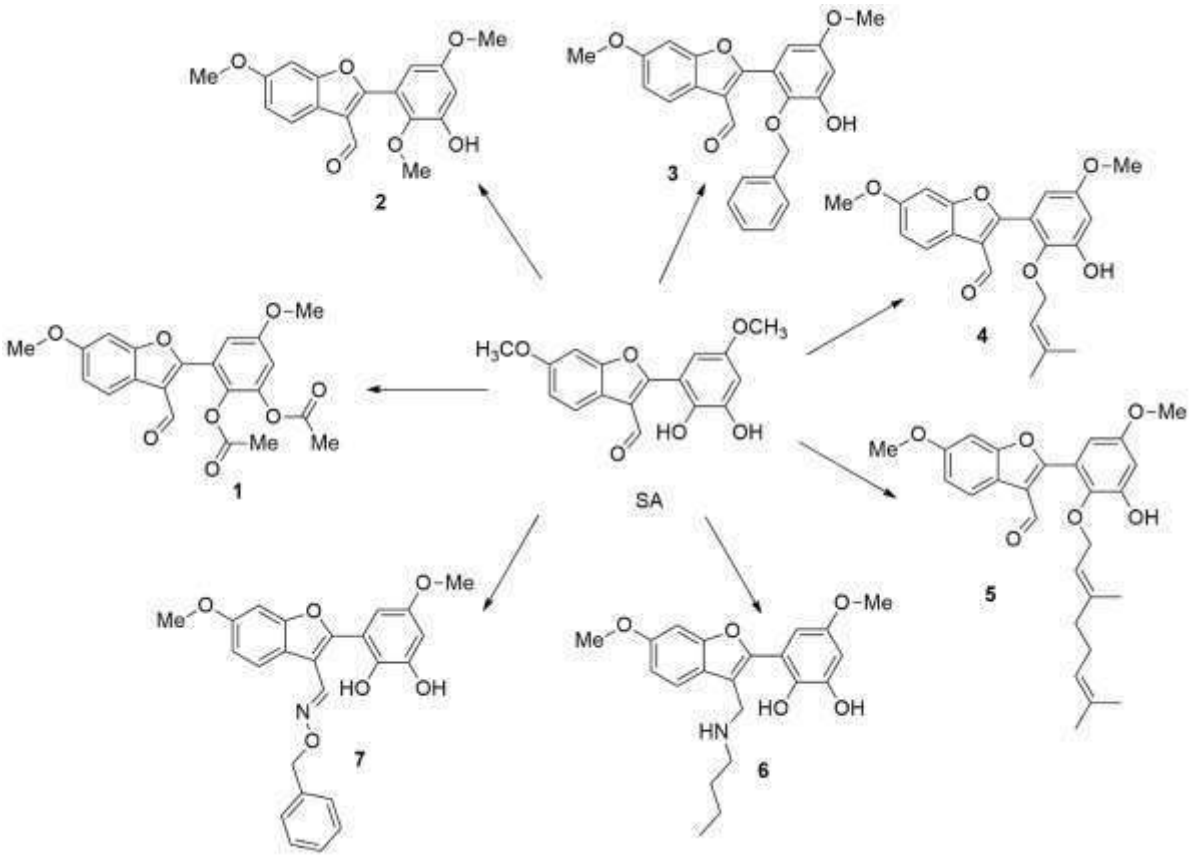
Hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai pada tahun ketiga (terakhir) meliputi modifikasi struktur sesbagrandiforain A sebagai senyawa hasil isolasi utama dan pengujian aktivitas biologisnya, diantaranya uji antituberculosis (anti-TB) terhadap *M. Tuberculosis* dengan metode *MTT Assay*, uji antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* serta bakteri patogen tanaman *Rhodococcus fascians* dengan metode *agar disc diffusion*. Selain pengujian secara *in vitro*, senyawa-senyawa hasil modifikasi juga diuji sifat toksisitasnya terhadap beberapa sel kanker seperti sel-sel HepG2, MCF-7, dan HeLa.

1. Isolasi dan Pemurnian Sesbagrandiflorain A

Isolasi sesbagrandiflorain A (SA), sebagai material awal dalam penelitian ini diperoleh dari hasil riset pada tahun pertama dan kedua yang telah dipublikasikan oleh peneliti[1].

2. Derivatisasi Sesbagrandiflorain A (SA)

Pada tahap ini, beberapa variasi struktur senyawa modifikasi sesbagrandiflorain A (SA), senyawa **1-7**, disintesis dengan pereaksi dan kondisi reaksi yang sesuai, dengan pengadukan konstan menggunakan stirrer pada suhu ruang (Gambar 1).



Gambar 1. Skema Reaksi Derivatisasi Sesbagrandiflorain A (1-7)

A. Reaksi Pembuatan Derivat O-Asetilasi SA (Senyawa derivat-1)

3-(3-formil-6-metoksibenzofuran-2-il)-5-metoksi-1,2-fenilenadiasetat (**1**): SA (5mg, 0,0159 mmol) dilarutkan dalam anhidrida asetat (0,44 mL) dan piridin (0,44 mL) mL). Larutan diaduk pada suhu kamar selama 24 jam. Uji KLT (EtOAc − MeOH = 9: 1) digunakan untuk memonitoring penyelesaian reaksi. Campuran reaksi kemudian dituangkan ke dalam air es dan endapan dikumpulkan dengan penyaringan. Pemurnian endapan yang diperoleh dilakukan dengan kromatografi *flash* pada kolom silika gel yang dielusi dengan CH_2Cl_2 − MeOH (40: 1) untuk menghasilkan senyawa **1** berupa minyak tidak berwarna (5,9 mg, 93%)[2].

Data-data spektroskopi NMR senyawa (**1**) diuraikan sebagai berikut:

^{1}H NMR (500 MHz, Aseton-d6): δ = 9,81 (s, 1H), 7,71 (d, J = 10 Hz, 1 H), 7,16 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,09 (d, J = 2 Hz, 1 H), 7.01 (dd, J = 2, 10.0 Hz, 1 H), 6.74 (d, J = 2.0 Hz, 1 H), 3.92 (s, 3 H), 3.90 (s, 3 H), 2,40 (s, 3 H), 2.33 (s, 3 H) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, Aseton-d6): δ = 184.7, 168.9, 168.4, 162.7, 159.7, 158.7, 156.7, 154.0, 132.0, 132.5, 118.2, 114.5, 114.2, 111.9, 107.2, 106.4, 93.7, 55.7, 55.7, 55.6, 20.4, 20.1 ppm.

B. Reaksi Pembuatan Derivat O-Metilasi SA (Senyawa derivat-2)

2-(3-hidroksi-2,5-dimetoksifenil)-6-metoksibenzofuran-3-karbaldehid (**2**): SA (5 mg, 0,0159 mmol) dilarutkan DMF (0,03 mL) dan diaduk dengan K_2CO_3 (10 *eq*, 0,159 mmol, 22 mg) dan MeI (10 eq, 0,159 mmol, 0,01 mL) pada 40 ° C selama 24 jam. Uji KLT (DCM − MeOH = 9: 1) digunakan untuk memonitoring penyelesaian reaksi. Campuran diencerkan dengan EtOAc, dan dicuci dengan air, air garam, dikeringkan dengan Na_2SO_4, disaring dan diuapkan dengan penguap putar vakum. Minyak kuning pucat yang dihasilkan dimurnikan dengan *flash chromatography* (DCM − MeOH = 95: 5) untuk menghasilkan senyawa **2** berupa kristal berwarna putih (4,1 mg, 78%)[3].

Data-data spektroskopi NMR senyawa (**2**) diuraikan sebagai berikut:

^{1}H NMR (700 MHz, CDCl3): δ = 10.18 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 6.67 (d, J = 8.4 Hz, 1 H) , 6.61 (s, 1 H), 6.60 (s, 1 H), 6.47 (s, 1 H), 3.92 (s, 3 H), 3.87 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H) ppm.

C. Reaksi Pembuatan Derivat O-Benzilasi SA (Senyawa derivat-3)

2-(2-(benziloksi)-3-hidroksi-5-metoksifenil)-6-metoksibenzofuran-3-karbaldehid (3): SA (1,0 eq, 5,00 mg, 0,0159 mmol), benzil bromida (2,0 eq, 0,01 mL, 0,0318 mmol), dan K_2CO_3 (7 mg, 0,047 mmol) diencerkan dalam DMF (0,03 mL). Campuran larutan berwarna kuning kemudian diaduk pada suhu kamar selama 2 jam, dituangkan ke dalam larutan Et_2O − H_2O (1: 1), dan diaduk selama 10 menit. Lapisan eter dipisahkan. Lapisan berair diekstraksi dengan Et_2O. Ekstrak gabungan dicuci dengan H_2O dan air garam. Lapisan organik dikeringkan di atas Na_2SO_4 anhidrat, disaring, dan dipekatkan hingga kering. Minyak kuning pucat yang dihasilkan dimurnikan dengan *flash chromatography* (heksana − aseton = 9: 1) untuk menghasilkan produk **3** (5,2 mg, 80%)[4].

Data-data spektroskopi NMR senyawa (**3**) diuraikan sebagai berikut:

^{1}H NMR (700 MHz, Aseton-d6): δ =10.21 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 7.68 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 7.55 (s, 1 H),7.46-7.44 (m, 2 H), 7.39 (t, *J* = 7 Hz, 1 H), 6.93 (s, 1H), 6.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 6.71 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 3.95 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H) ppm.

^{13}C NMR (176 MHz, Aseton-d6) δ = 190.1, 163.0, 163.0, 161.2, 159.0, 156.6, 152.0, 151.7, 136.8, 132.7, 128.5, 128.0, 127.7, 118.6, 109.9, 106.9, 99.8, 98.1, 87.6, 70.1, 55.5, 55.2 ppm.

D. Reaksi Pembuatan Derivat N-Butil-aminasi reduktif SA (Senyawa derivat-4)

3-(3-((butilamino)metil)-6-metoksibenzofuran-2-il)-5-metoksibenzene-1,2-diol (4): Suspensi *n*-butil amina (0,02 mL, 1,1 eq, 0,0175 mmol) dalam piridin (0,2 mL) ditambahkan ke SA (5 mg, 0,0159 mmol), kemudian diaduk pada suhu kamar selama 24 jam. Uji KLT (DCM − MeOH = 10: 1) menunjukkan reaksi lengkap. Pelarut diuapkan dalam vakum. Reaksi diencerkan dengan etilasetat, dicuci dengan 0,1 M HCl, air, $NaHCO_3$ jenuh, air, air garam dan dikeringkan menggunakan Na_2SO_4 anhidrat, disaring dan diuapkan dengan penguap vakum. Produk yang dihasilkan (5,6 mg, 0,0151 mmol)

ditambahkan ke metanol (0,03 ml) dan campuran yang dihasilkan diaduk pada suhu kamar, kemudian ditambahkan Natrium borohidrida (2,0 eq, 0,04 mmol, 1 mg) pada suhu 0 ° C, dan reaksi dibiarkan semalam pada suhu kamar. Campuran yang dihasilkan diasamkan dengan 2N HCl dan kemudian dinetralkan dengan larutan $NaHCO_3$ jenuh dan air untuk menghasilkan larutan putih. Larutan campuran diekstraksi dengan EtOAc. Lapisan organik dicuci dengan air garam, dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat, dan dipekatkan dalam vakum untuk menghasilkan produk **4** (4,5 mg, 80%, 2 tahap)[5].

Data-data spektroskopi NMR senyawa (**4**) diuraikan sebagai berikut:

^{1}H NMR (700 MHz, $CDCl_3$): δ =7.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 6.56 (s, 1 H), 6.53 (s, 1 H), 6.53 (s, 1 H), 6.38 (s, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.83 (s, 2 H), 3.82 (s, 3 H), 2.76 (t, *J* = 7 Hz, 2 H), 1.60-1.56 (m, 2 H), 1.41-1.34 (m, 2 H), 0.93 (t, *J* = 7.7 Hz, 3 H) ppm

^{13}C NMR (176 MHz, $CDCl_3$) δ =, 159.6, 158.4, 157.7, 156.7, 152.3, 145.7, 137.1, 132.0, 114.1, 111.8, 107.4, 99.5, 97.3, 87.5, 55.7, 55.6, 48.5, 44.5, 31.4, 29.6, 20.3, 13.8 ppm.

E. Reaksi Pembuatan Derivat O-benzyl oxime of SA (Senyawa derivat-5)

(E)-2-(2,3-dihidroksi-5-metoksifenil)-6-metoksibenzofuran-3-karbaldehid-O-benzil oksime (5): Suspensi $BnONH_3Cl$ (3 mg, 1,1 eq, 0,0159 mmol) dalam piridin (0,2 mL) ditambahkan ke SA (5 mg, 0,0159 mmol), kemudian diaduk pada suhu kamar selama 24 jam. Uji KLT (DCM − MeOH = 10: 1) menunjukkan reaksi lengkap. Pelarut diuapkan dalam keadaan hampa dan reaksi diencerkan dengan etilasetat, dicuci dengan 0,1 M HCl, $NaHCO_3$ jenuh, air, air garam dan dikeringkan di atas Na_2SO_4 anhidrat, disaring dan diuapkan dengan penguap putar vakum untuk menghasilkan senyawa **5** (4,6 mg, 70%)[5].

Data-data spektroskopi NMR senyawa (**5**) diuraikan sebagai berikut:

^{1}H NMR (700 MHz, Aseton-d6): δ =10.37 (s, 1H).8.16 (s, 1H), 7.47 (s, 1 H), 7.46 (s, 1 H), 7.42-7.40 (m, 2 H), 7.36 (d, *J* = 2.8, 1 H), 7.35 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H), 6.67 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 6.62 (dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1 H), 6.60 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 6.27 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 5.23 (s, 2 H), 3.83 (s, 3 H), 3.82 (s, 3 H) ppm.

^{13}C NMR (176 MHz, Aseton-d6) δ =, 160.5, 158.7, 156.9, 154.6, 151.7 145.5, 137.1, 132.2, 128.4, 128.3, 128.1 109.8, 109.3, 107.8, 107.4, 99.6, 97.6, 87.4, 76.1, 55.1, 55.0 ppm.

F. Reaksi Pembuatan Derivat O-prenylation of SA (Senyawa derivat-6)

2-(3-dihidroksi-5-metoksi-2-((3-metilbut-2-en-1-il)oksi)fenil)-6-metoksibenzofuran-3-karbaldehid (6): Ke dalam larutan SA (5 mg, 1,0 eq, 0,0159 mmol) dalam DMF (0,2 mL) ditambahkan K_2CO_3 (9 mg, 0,063 mmol), dan campuran reaksi diaduk selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, prenil bromida (4 μL, 0,0318 mmol) ditambahkan ke campuran reaksi dan diaduk selama 3 jam sampai reaksi selesai yang dimonitoring dengan uji KLT. Hasil reaksi kemudian dicuci dengan larutan buffer kalium fosfat pH 7,0 dan diekstraksi dengan EtOAc dua kali. Lapisan EtOAc dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat, kemudian pelarut organik dikeringkan dengan penguap putar vakum. Ekstrak hasil reaksi kemudian dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan eluen heksana − aseton (9: 1) sebagai fase gerak. Fraksi yang mengandung produk dikumpulkan dan dikeringkan menggunakan penguap putar vakum untuk mendapatkan senyawa **6** (4,0 mg, 65%)[6].

G. Reaksi Pembuatan O-geranilasi SA (Senyawa derivat-7)

(E)-2-(2-((3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)oxy)-3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (7): Ke dalam larutan SA (5 mg, 1,0 eq, 0,0159 mmol) dalam DMF (0,2 mL) ditambahkan K_2CO_3 (9 mg, 0,066 mmol), dan campuran reaksi diaduk selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, geranil bromida (6 μL, 0,0318 mmol) ditambahkan ke campuran reaksi dan diaduk selama 3 jam sampai reaksi lengkap yang dimonitoring dengan uji KLT. Reaksi kemudian dicuci dengan buffer kalium fosfat pH 7,0 dan diekstraksi dengan EtOAc dua kali. Lapisan EtOAc dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat; kemudian pelarut organik dikeringkan dengan penguap putar vakum. Hasil reaksi kemudian dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan eluen heksana − aseton (9: 1) sebagai fase gerak. Fraksi yang mengandung produk dikumpulkan dan dikeringkan menggunakan penguap putar vakum untuk mendapatkan senyawa **7** (4,8 mg, 66%)[6].

Data-data spektroskopi NMR senyawa (**7**) diuraikan sebagai berikut:

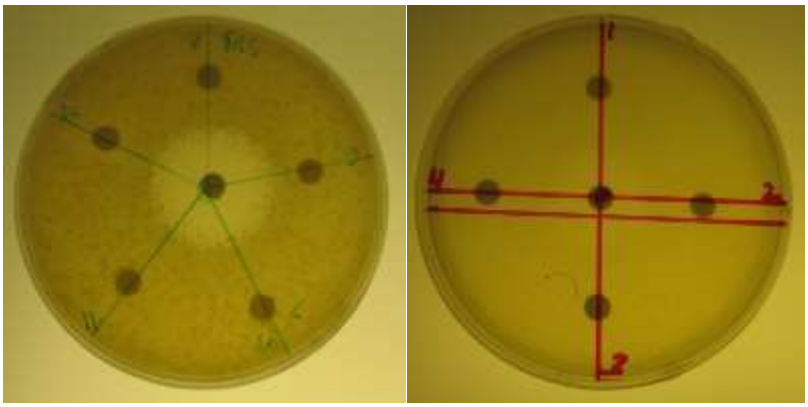
^{1}H NMR (700 MHz, Aseton-d6): δ =10.21 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 6.82 (d, *J* = 2.8 Hz, 1 H), 6.78 (dd, *J*= 8.4,2.1 Hz, 1 H), 6.36 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 3.95 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H) ppm.

^{13}C NMR (176 MHz, Aseton-d6) δ = 190.1, 163.0, 163.0, 161.2, 159.0, 156.6, 152.0, 151.7, 136.8, 132.7, 128.5, 128.0, 127.7, 118.6, 109.9, 106.9, 99.8, 98.1, 87.6, 70.1, 55.5, 55.2 ppm.

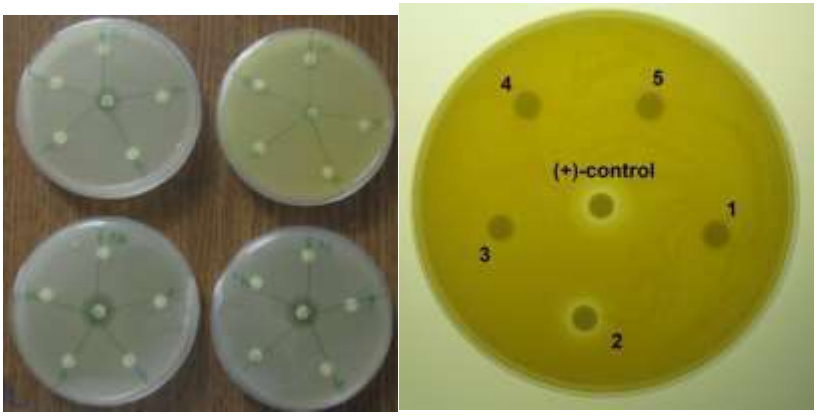
3. Uji aktivitas biologis

A. Uji Aktivitas Antibakteri

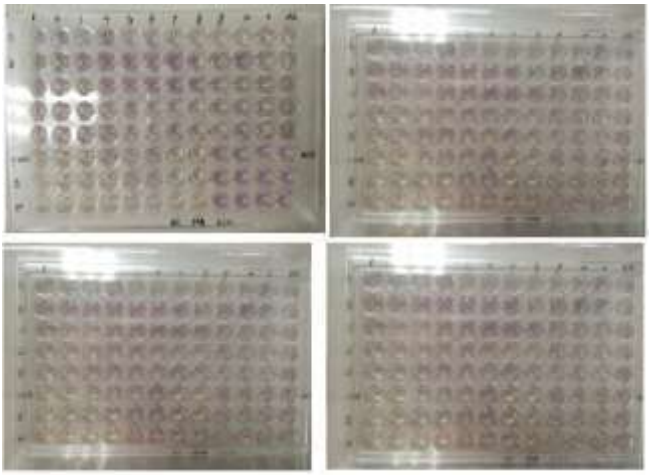
Uji difusi agar disk digunakan untuk menguji aktivitas semua senyawa derivat hasil modifikasi struktur SA (**1-7**). Pengujian aktivitas dilakukan terhadap lima jenis bakteri diantaranya, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis*, dan *Escherichia coli*. Ekstrak EtOAc dilarutkan dalam MeOH hingga konsentrasi 10 mg / ml. Kontrol positif untuk percobaan ini adalah ampisilin (untuk *S. aureus, B. subtilis, P. aeruginosa*, dan *E. coli*) atau apramycin (untuk *M. smegmatis*). Semua senyawa uji dan kontrol positif (masing-masing 10 µl) dimasukkan ke dalam cakram difusi steril dan dibiarkan kering selama 20 menit. Untuk *S. aureus, B. subtilis, P. aeruginosa*, dan *M. smegmatis*, pelat agar dibuat dengan menambahkan lapisan agar bakteri YMG yang dimasukkan ke dalam pelat YMG dan dibiarkan membeku. Bakteri kemudian dibiakkan pada media agar YMG dan dikultur kembali secara terpisah dalam tabung uji 15 ml berisi media YMG cair selama dua hari dan mencampurkannya dengan agar YMG hangat. Cakram kertas, diresapi dengan ekstrak dan kontrol positif, ditempatkan pada setiap lempeng menggunakan teknik antiseptik. Semua pelat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Untuk *E. coli*, semua prosedur yang disebutkan di atas dilakukan dengan menggunakan media Luria-Bertani (LB) selain YMG. Selain itu, pelat *E. coli* dan kultur cair diinkubasi pada suhu 37 ° C. Setelah 24 jam inkubasi, plat-plat tersebut diwarnai dengan MTT (1 mg / ml dalam air terionisasi) untuk meningkatkan kontras zona penghambat terhadap pertumbuhan bakteri. Hasil pengujian antibakteri secara difusi agar dapat dilihat pada Gambar **2 (a-c)**.



(a)



(b) **(c)**



(d)

Gambar 2. Hasil Uji Antibakteri Senyawa Hasil Derivatisasi Sesbagrandiflorain A (**1-7**): **(a) *M.smegmatis*; (b) *S. aureus, B. subtilis, P. Aeruginosa*; (c) *R. fascians*; (d) *M. tuberculosis***

B. Uji Aktivitas Antituberkulosis

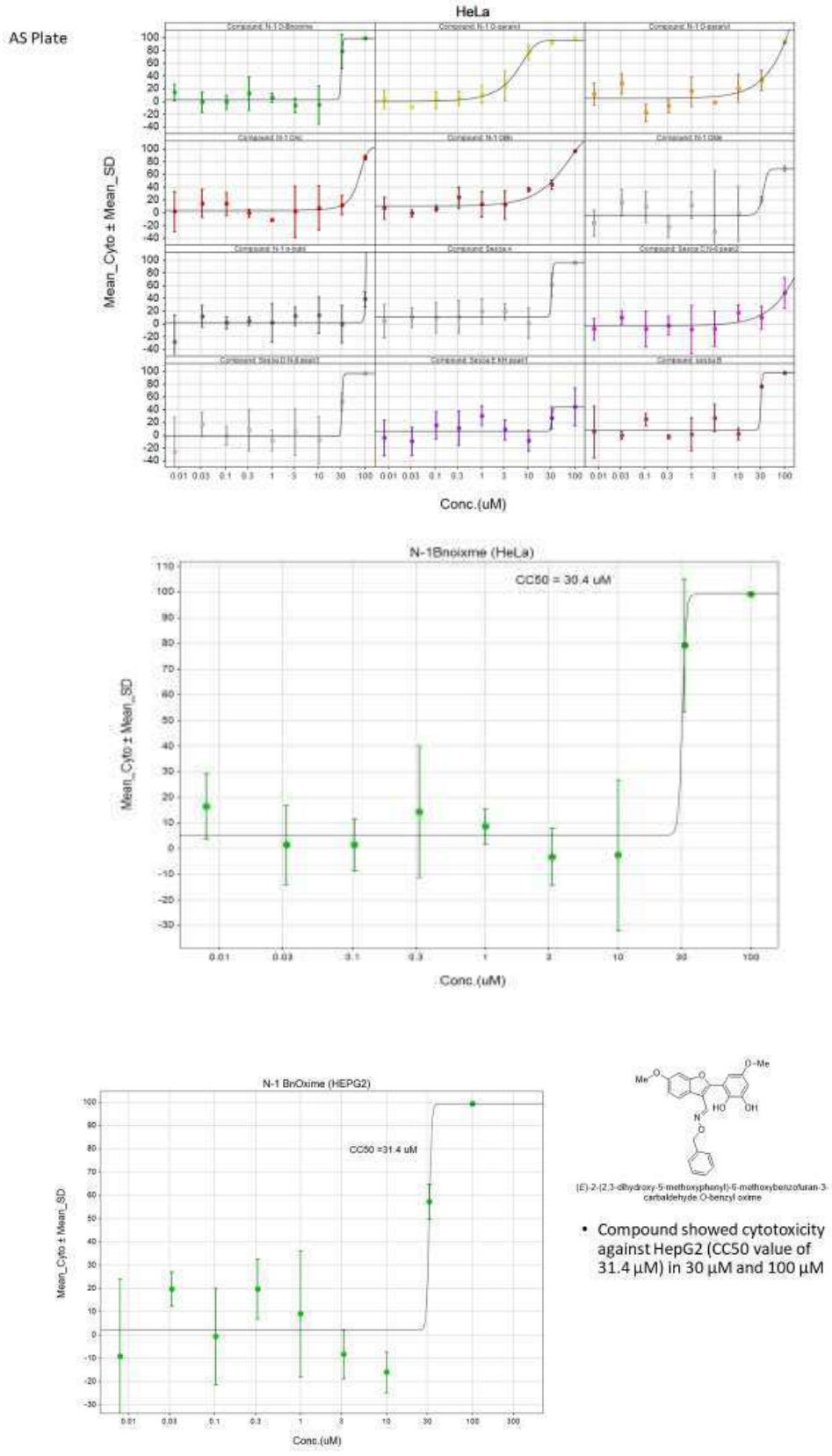
Pengujian bioaktivitas dilakukan dengan menggunakan metode Tetrazolium Microplate *Assay* (*MTT Assay*) dengan sedikit modifikasi[7]. *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 strain digunakan dalam kajian ini. Konsentrasi senyawa-senyawa uji (sesbagrandiflorain A dan B) dibuat dari rentang 200 hingga 0.391 μg/mL. Tiap senyawa diujikan dengan dua kali pengulangan. Senyawa uji kemudian diinkubasi pada suhu 37^0C selama 5 hari. Pada hari kelima, campuran larutan Tetrazolium-Tween 80 ditambahkan ke larutan uji, demikian juga dengan kontrol positif, kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Campuran larutan Tetrazolium-Tween 80 lalu ditambahkan pada semua sumur (96 *wells*) dan perubahan warna dicatat setelah 24 jam. Perubahan warna dari kuning menjadi ungu mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dicatat pada konsentrasi terendah senyawa uji yang tidak menyebabkan perubahan warna dari kuning menjadi ungu. Pengujian antituberkulosis sampai laporan kemajuan ini dibuat, masih dalam proses pengerjaan.

Hasil pengujian antibakteri senyawa hasil derivatisasi Sesbagrandiflorain A (**1-7**) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* dengan metode agar difusi menunjukkan tidak adanya aktivitas daya hambat senyawa uji. Demikian pula pada pengujian anti-TB dengan metode MTT assay, tidak satupun senyawa uji memberikan hasil positif pada konsentrasi tertinggi 200 ppm sebagaimana ekspektasi awal. Namun menariknya, diantara 7 senyawa uji, pada pengujian terhadap bakteri patogen tanaman *R. fascians*, senyawa derivat sesbagrandiflorain A terasetilasi (**1**) menunjukkan aktivitas daya hambar yang kuat dengan diameter zona hambat sebesar 7 mm sebagaimana zona hambat dari kontrol positif yang digunakan.

C. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksisitas dilakukan berdasarkan metode yang dijelaskan oleh O'Brien[8]. Sel-sel HepG2, MCF-7, dan HeLa dipelihara dalam kultur di Medium Esensial Minimum Elang (EMEM, ATCC, kucing # 30-2003) yang dilengkapi dengan 10% serum janin sapi (FBS, Heat Inactivated, Gibco, cat # 10082-147) pada 37°C dan 5% CO2. Sel-sel dikeluarkan menjadi pelat hitam, jelas bagian bawah, 384-well 24 jam sebelum perawatan senyawa. Satu kolom di setiap lempeng tidak menerima sel untuk berfungsi sebagai kontrol sinyal rendah. Senyawa yang dilarutkan dalam DMSO ditambahkan dengan D300 digital dispenser (HP) sebagai seri titrasi setengah-titik 12-log dalam rangkap tiga. Enam belas sumur di setiap lempeng berfungsi sebagai kontrol sinyal tinggi. DMSO dinormalisasi menjadi 0,5% di setiap sumur. Setelah 48 jam pada 37°C dan 5% CO_2, larutan resazurin (Acros, cat # 189900050) dalam PBS ditambahkan ke setiap sumur ke konsentrasi akhir 44 μM. Setelah 4-6 jam pada 37°C dan 5% CO_2,

fluoresensi diukur dengan pembaca lempeng mikro (Sinergi 4, Biotek). Hasil pengujian toksisitas dapat dilihat pada Gambar **3**.



Gambar 3. Hasil Uji Sitotoksik Senyawa Hasil Derivatisasi Sesbagrandiflorain A (**7**)

Hasil pengujian toksisitas senyawa hasil derivatisasi sesbagrandiflorain A (**1**-**7**) terhadap 3 jenis sel kanker berbeda mengindikasikan bahwa senyawa uji menunjukkan sedikit toksisitas dengan kategori rendah hingga sedang. Dari hasil diskusi dengan para anggota tim riset dan salah satu kolaborator kami yang melakukan pengujian toksisitas senyawa uji, disepakati untuk dilakukan pengulangan dalam uji toksisitas semua senyawa derivat sesbagrandiflorain A untuk mendapatkan data yang lebih valid dan *reliable*. Sehingga sampai laporan akhir ini dibuat, pengulangan pengujian toksisitas masih dalam pengerjaan.

D. **STATUS LUARAN**: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

Pada tahun 2019, **LUARAN WAJIB** yang dijanjikan berupa **dokumentasi hasil uji coba produk**. Hasil uji coba produk yang diperoleh adalah berupa hasil uji aktivitas atau bioassay antituberkulosis dengan metode difusi dan MTT Assay yang dimodifikasi. Hasil pengujian dengan metode difusi dapat dilihat pada gambar 2 (a-c), sedangkan hasil uji dengan metode MTT dapat dilihat pada gambar 2 (d).

Adapun **LUARAN TAMBAHAN** pada tahun ke-3 riset (2019) adalah berupa Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional ke *Journal of Natural Medicines* (JONM; *Impact factor* 1.92, Q1 Scimago). Manuskrip tersebut sampai saat laporan ini ditulis, masih dalam tahap penyelesaian bagian *Results and Discussion*. Adapun manuskrip yang dijanjikan sebagai luaran tambahan pada tahun ke-2 yang semula dipublikasikan ke JONM, pada awal submission berstatus *REJECTED* (pada 20 Desember 2018). Berdasarkan komentar dari reviewer, manuskrip tersebut kemudian diperbaiki dengan penambahan data-data yang diperlukan, kemudian di *re-submission* ke jurnal lainnya yaitu *Planta Medica* (*Impact factor* 2,746, Q1 Scimago) dan Fitoterapia (*Impact factor* 2,746, Q2 Scimago) dengan status sama yaitu *REJECTED* (pada 27 September 2019). Setelah melalui proses evaluasi kembali bersama tim penulis lainnya, manuskrip tersebut kemudian di revisi dan dilakukan *re-submission* ke jurnal *Phytochemistry Letters* (*Impact Factor* 2018: 1.338; SJR = 0.49; Q2) dengan status terkini *under revision* oleh tim penulis. Revisi manuskrip sudah dilakukan oleh tim penulis dan saat ini sedang dalam tahap finalisasi. *Re-submission* setelah revisi diperkirakan akan dilakukan oleh penulis pada akhir November 2019.

STATUS DARI MANUSCRIPT (LUARAN TAMBAHAN HIBAH PSN):

1. Manuskrip I: **PUBLISHED** (versi online: 16 Januari 2018) (Lampiran **1**)
2. Manuskrip II: ***SUBMITTED*** ke *Phytochemistry Letters*; status ***UNDER REVISION/REVIEW*** (Pada 31 Oktober 2019) (Lampiran **2**)
3. Manuskrip III: **DRAFT**, akan di *submit* ke *Journal of Natural Medicines* (JONM; impact factor 1.92, Q1 Scimago) (Lampiran **3**).

Luaran yang dicapai pada penelitian tahun ketiga ini telah terlaksana dengan cukup baik sesuai dengan rencana capaian yang diusulkan (Tabel 1).

Tabel 1. Rencana Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			TS[1)]	TS+1	TS+2
1	Publikasi ilmiah[2)]	Internasional	Submitted	Published-1	Submitted-2
		Nasional Terakreditasi			
2	Pemakalah dalam temu ilmiah[3)]	Internasional		Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan
		Nasional Terakreditasi	Terdaftar	Sudah dilaksanakan	

3	Invited Speaker dalam temu ilmiah[4)]	Internasional	Tidak ada		
		Nasional Terakreditasi	Tidak ada		
4	Visiting Lecturer[5)]	Internasional	Tidak ada		
5	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)[6)]	Paten			
		Paten sederhana			terdaftar
		Hak Cipta			
		Merek dagang			
		Rahasia dagang			
		Desain Produk Industri			
		Indikasi Geografis			
		Perlindungan Varietas Tanaman			
		Perlindungan Topografi Sirkuit Terpadu			
6	Teknologi Tepat Guna[7)]				
7	Model/**Purwarupa**/Desain/Karya Sosial[8)]	seni/Rekayasa	Ekstrak/ fraksi	Senyawa murni	Senyawa anti-TB

Secara terperinci, berdasarkan rencana target capaian yang ditabulasikan pada Tabel 1, jenis luaran yang ditargetkan pada penelitian tahun ke-3 yang dijanjikan hanya meliputi 2 jenis luaran, yaitu **dokumentasi hasil uji coba produk (luaran wajib)** yang dapat dilihat pada **Gambar 2** dan **3** dan **Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional (luaran tambahan)** (Lampiran **1**). Kedua target luaran yang dijanjikan sudah barhasil dipenuhi disertai dengan bukti-bukti pencapaian target sebagaimana terlampir (Lampiran **1**-**3**), Bahkan target artikel pertama yang semula direncanakan akan terpublikasi pada tahun ketiga penelitian, pada tahun kedua penelitian sudah berhasil terbit di jurnal bereputasi Internasional. Capaian tersebut melebihi dari capaian yang ditargetkan sebelumnya. Capaian lainnya yang diperoleh dari hasil penelitian dari tahun 1-3 adalah diperoleh 2 tambahan manuskrip, dengan status masing-masing *under revision*/*review* dan draft (Lampiran **2** dan **3**), serta terpublikasinya hasil penelitian dalam beberapa temu ilmiah nasional dan internasional. Selain itu luaran tambahan lainnya adalah diperolehnya draft paten sederhana dengan status telah memenuhi persyaratan formalitas dan sedang dalam proses review (Lampiran **4**).

Berikut ini adalah rincian luaran yang telah berhasil dicapai selama 3 tahun penelitian berjalan.

1. Publikasi Ilmiah

Hasil penelitian telah berhasil dipublikasikan pada jurnal *Natural Products Research* Vol.32, No. 21 tahun 2018 (*Impact Factor* pada tahun 2017: 1,928) (Lampiran **1**). Sementara hasil penelitian pada tahun kedua sudah dipublikasikan pada jurnal *Phytochemistry Letters* (*Impact Factor* 2018: 1.338; SJR = 0.49; Q2) dengan status terkini *under revision/review* (Lampiran **2**).

2. Pemakalah dalam temu ilmiah

Hasil penelitian tahun ketiga telah berhasil dipresentasikan secara oral pada pertemuan ilmiah internasional sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu danTempat
1	The 8th International Conference of The Indonesian Chemical Society(ICICS) (Lampiran 3)	Structure Elucidation of A New 2-Arylbenzofuran Isolated from *Sesbania grandiflora*	Bogor, Indonesia 6-7 Agustus 2019

Bukti pelaksanaan kegiatan seminar yang telah dilaksanakan dapat dilihat pada Lampiran **5**.

3. Luaran Tambahan

Sebagai luaran tambahan pada penelitian tahun kedua, draft paten sederhana telah memenuhi persyaratan formalitas dan sedang dalam proses review (Lampiran **4**).

E. **PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

CV As-Shohwah Herbal Pandeglang sebagai mitra dalam riset, selama riset berlangsung khususnya tahun ketiga (2019) telah memberikan bantuan dan dukungan penelitian dalam *scale up* proses ekstraksi dan isolasi kulit batang turi. Selain itu Mitra juga telah membuat rencana design pengemasan produk dan strategi pemasaran hasil riset. Namun karena kendala hasil bioassay dari riset yang tidak sesuai dengan harapan dan prediksi/hipotesa awal, sehingga rencana design pengemasan produk dan teknik pemasaran ditunda sementara sampai diperoleh luaran riset yang prospek untuk disebarkan ke pengguna.

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

Selama penelitian tahun ketiga, beberapa kendala yang dihadapi oleh peneliti diantaranya:

1. Pemesanan bahan kimia untuk keperluan modifikasi struktur yang sangat lama (estimasi 1-4 bulan) dan harga yang relatif mahal karena beberapa harus dibeli dari luar Indonesia (tambahan biaya bea cukai)

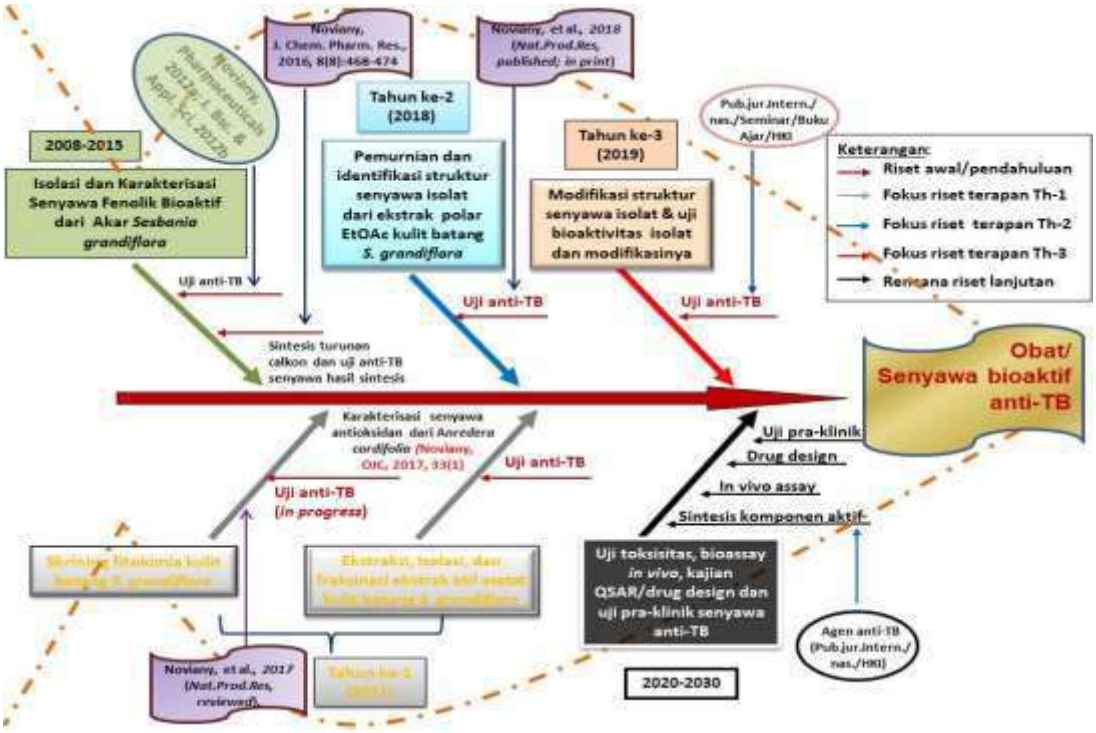
2. Literatur rujukan *full* teks untuk reaksi sintesis/modifikasi struktur sulit diakses karena berbayar, sehingga peneliti harus berjuang mencari relasi dan membuka jaringan koneksi dengan peneliti/ilmuwan di luar negeri baik ilmuwan diaspora maupun dari negara lain

3. Tidak semua reaksi sintesis/modifikasi dapat berjalan dengan lancar, beberapa reaksi gagal sekalipun sudah dilakukan pengulangan dan variasi metode. Akibatnya bahan kimia tidak semua yang dibeli dapat dipakai secara maksimal disebabkan reaksi tidak berjalan

4. Hasil pengujian aktivitas biologis dan sitotoksik tidak dapat diperoleh dalam waktu cepat (estimasi 1-4 bulan), karena pengujian yang memerlukan skala laboratorium pengujian level tertentu, sampel uji harus dikirim ke pihak luar baik dalam maupun luar negeri.

G. **RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN:** Tuliskan dan uraikan rencana tindaklanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

Rencana tahapan penelitian selanjutnya akan dibuat berdasarkan capaian yang telah diperoleh selama tiga tahun penelitian dan mengacu pada diagram *fishbone* sebagaimana dapat dilihat pada Gambar **4**.



Gambar 4. *Fishborn diagram* penelitian

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan selama tiga tahun terakhir, mengindikasikan bahwa baik senyawa-senyawa hasil isolasi dari kulit batang *S. grandiflora* maupun hasil modifikasi struktur dari salah satu senyawa utama hasil isolasi (sesbagrandiflorain A) memberikan aktivitas anti-TB, antibakteri dan sitotoksik dengan kategori lemah hingga sedang dalam rentang kekuatan bervariasi. Keaktifan anti-TB yang tidak sesuai dengan ekspektasi dan prediksi di awal riset, mendorong peneliti untuk merencanakan penelitian yang bersifat dasar dan juga lanjutan sebagaimana dijabarkan di bawah ini:

1. Kajian QSAR (*Quantitative Structure and Activity Relationships*) atau Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas khususnya struktur senyawa hasil isolasi dari kulit batang *S. grandiflora* dan aktivitas yang relevan. Pendekatan yang akan dilakukan meliputi 2 cara, diantaranya melalui kajian literatur dan eksperimen atau kombinasi keduanya. Peneliti telah membuka jalinan kerjasama dan kolaborasi riset dengan beberapa ilmuwan diaspora, diantaranya di Oregon State University (OSU, USA), The University of Tokyo (Jepang), Helmholtz Zentrum Dresden Rossendorf (Jerman), Braunschweig (Jerman). Kajian QSAR rencana akan dilakukan bekerja sama dengan ilmuwan diaspora di Jerman, yang akan diawali dengan membuat proposal bersama yang temanya sedang dalam pembahasan saat ini. Harapan di masa mendatang, melalui kajian secara enzimatis dan modelling dari berbagai variasi struktur sesbagrandiflorain hasil isolasi dari kulit batang *S. grandiflora* terkait keaktifan biologisnya yang masih menjadi misteri dapat terungkap dan dapat menjadi '***lead compounds***' untuk pengembangan bahan obat-obatan baru yang 'terupdate". Kajian yang akan dilakukan dapat berupa riset dasar atau lanjutan
2. Melakukan pengujian antimalaria terhadap senyawa-senyawa hasil isolasi dari kulit batang *S. grandiflora*. Landasan dilakukan pengujian diantaranya didasarkan pada tipe/jenis senyawa sesbagrandiflorain adalah 2-arilbenzofuran yang pernah dilaporkan menunjukkan aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum*[8]. Kajian tersebut akan membuka peluang ditemukannya potensi lain dari tanaman turi dan menambah *value*-nya sebagai sumber bahan alami obat.
3. Melakukan eksplorasi dan penelitian kimia terkait endofit dari jenis fungi/jamur atau bakteri dari berbagai jaringan tumbuhan *S. grandiflora*. Perkembangan terkini yang dilaporkan mengenai kajian senyawa-senyawa bioaktif baru dengan struktur 'unik" yang dihasilkan oleh endofit yang menumpang pada tumbuhan inang tertentu, sangat menarik peneliti untuk memulai salah satu fokus

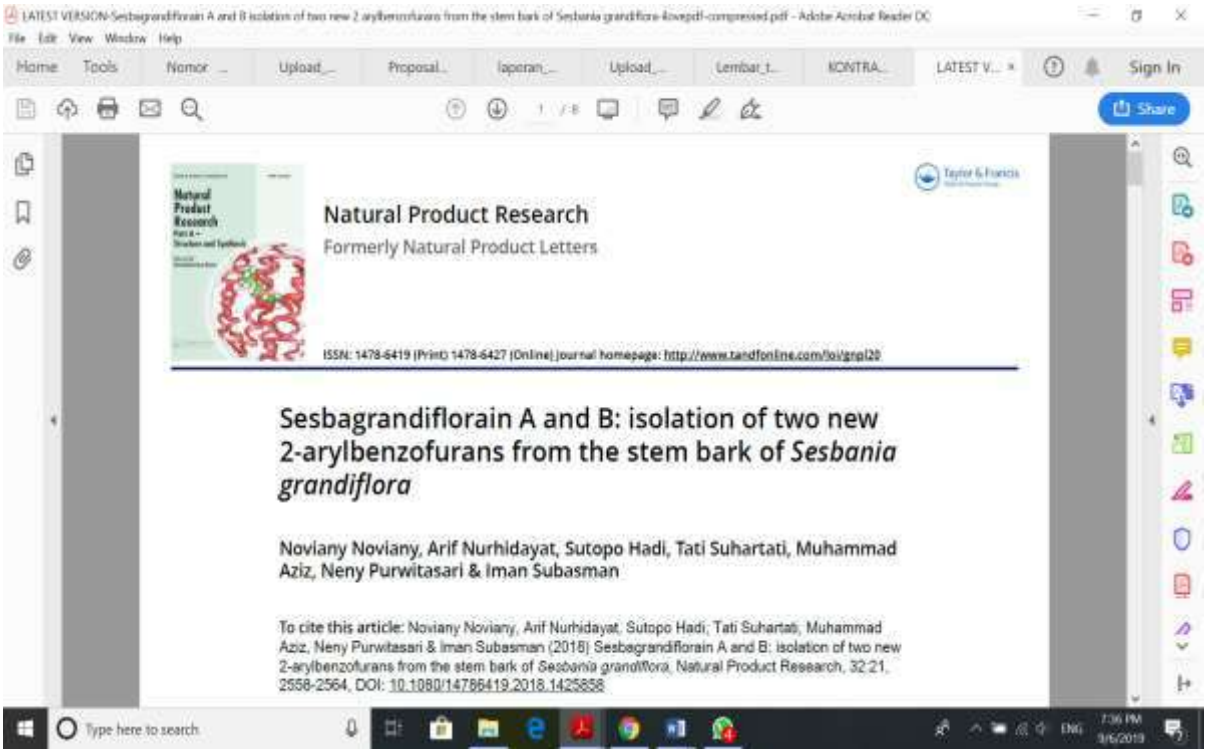
riset dalam ilmu kimia ‘endofit’. Ketertarikan ini mendorong peneliti untuk memberikan topik riset kepada mahasiswa S2 dengan tema ‘isolasi metabolit sekunder dari endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan *S. grandiflora*.

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

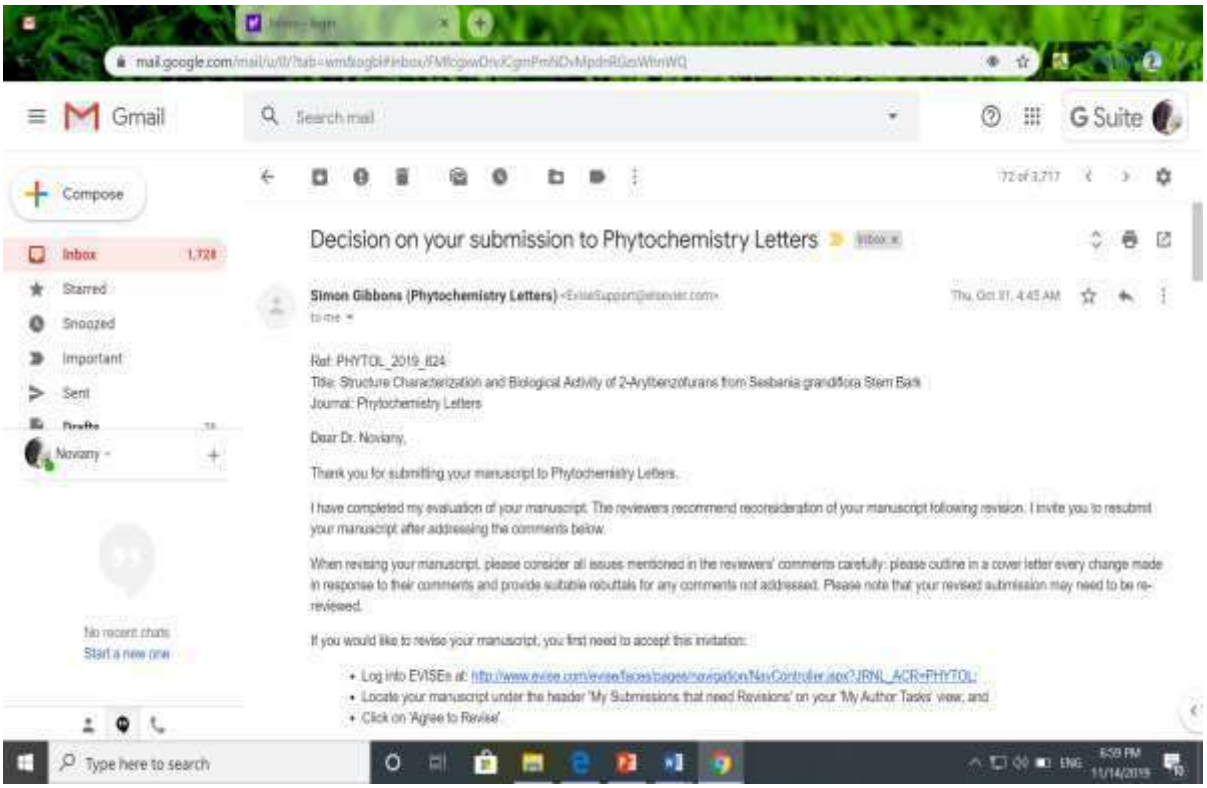
1. Noviany Noviany, Arif Nurhidayat, Sutopo Hadi, Tati Suhartati, Muhammad Aziz, Neny Purwitasari & Iman Subasman. 2018. Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*. *Natural Product Research*. 32, 21, 2558–2564.
2. Yashang Lee, Hosup Yeo, Shwu-Huey Liu, Zaoli Jiang, Ruben M. Savizky David J. Austin and Yung-chi Cheng. 2004. Increased anti-P-glycoprotein activity of baicalein by alkylation on the A ring. *J. Med. Chem.***,** *47*, 5555-5566
3. Tibor timar J. Csaba Jászberényi. 1988. A novel synthesis of precocenes, Efficient synthesis and regioselective O-alkylation of dihydroxy-2,2-dimethyl-4-chromanones. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 25, 871.
4. Trung Xuan Nguyen, Monica Abdelmalak, Christophe Marchand, Keli Agama, Yves Pommier, and Mark Cushman. 2015. Synthesis and Biological Evaluation of Nitrated 7-, 8-, 9-, and 10-Hydroxyindenoisoquinolines as Potential Dual Topoisomerase I (Top1)–Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase I (TDP1) Inhibitors. *J. Med. Chem.* 58, 3188−3208 Title:;
5. Corey J. Brumsted, van L. Carpenter, Arup K. Indra, and Taifo Mahmud. 2018. Asymmetric Synthesis and Biological Activities of Pactamycin-Inspired Aminocyclopentitols. *Organic Letters*, 20, 2, 397-400.
6. Khaled H. Almabruk, Jeff, H. Chang, and Taifo Mahmud. 2016. Total Synthesis of (±)-Isoperbergins and Correction of the Chemical Structure of Perbergin, *Journal of Natural Products*, 79, 9, 2391-2396
7. Hasan, N., Osman, H., Mohamad, S., Chong, W.K., Awang, K., Zahariluddin, A.S.M., 2012. The chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity. Pharmaceuticals 5, 882-889.
8. O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. Eur J Biochem. 267: 5421-5426.

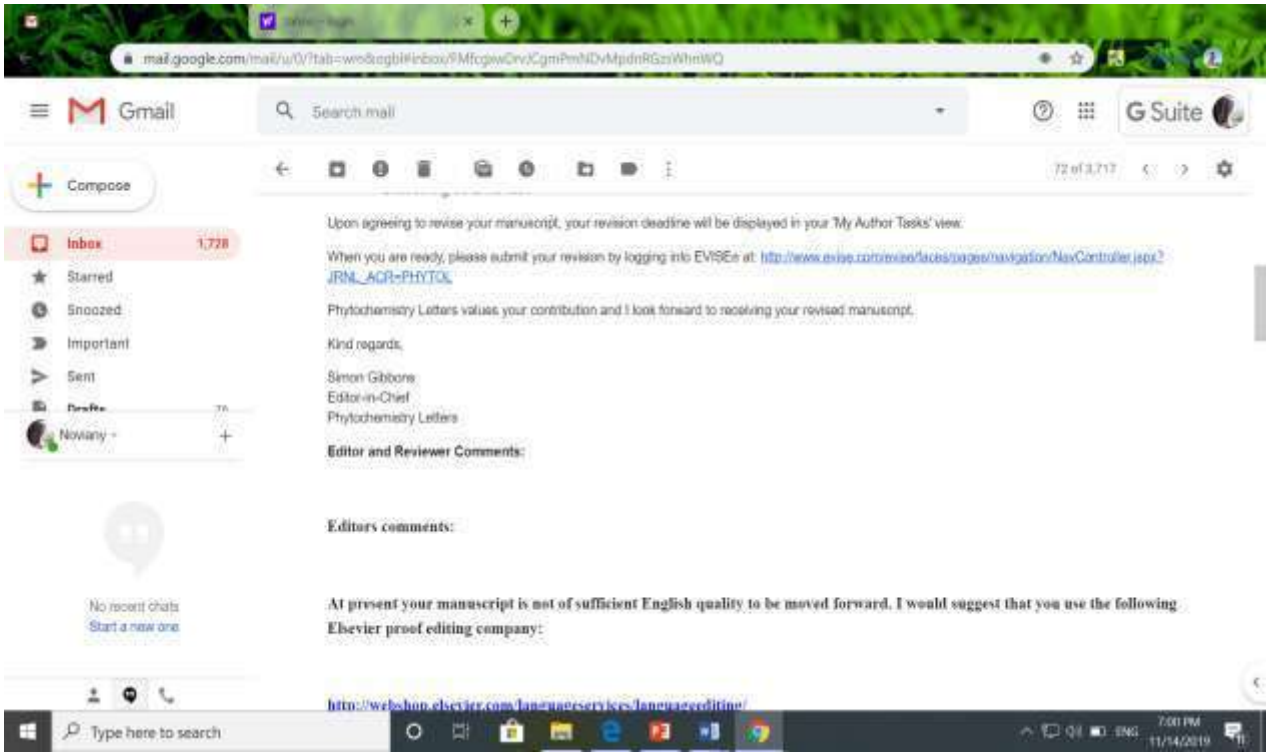
LAMPIRAN-LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. STATUS DARI MANUSCRIPT (LUARAN TAMBAHAN HIBAH PSN): MANUSKRIP I: *PUBLISHED* (VERSI ONLINE: 16 JANUARI 2018)



LAMPIRAN 2. STATUS UNDER REVISION/REVIEW MANUSKRIP KEDUA DI *PHYTOCHEMISTRY LETTERS*





Upon agreeing to revise your manuscript, your revision deadline will be displayed in your 'My Author Tasks' view.

When you are ready, please submit your revision by logging into EVISEe at: http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=PHYTOL

Phytochemistry Letters values your contribution and I look forward to receiving your revised manuscript.

Kind regards,

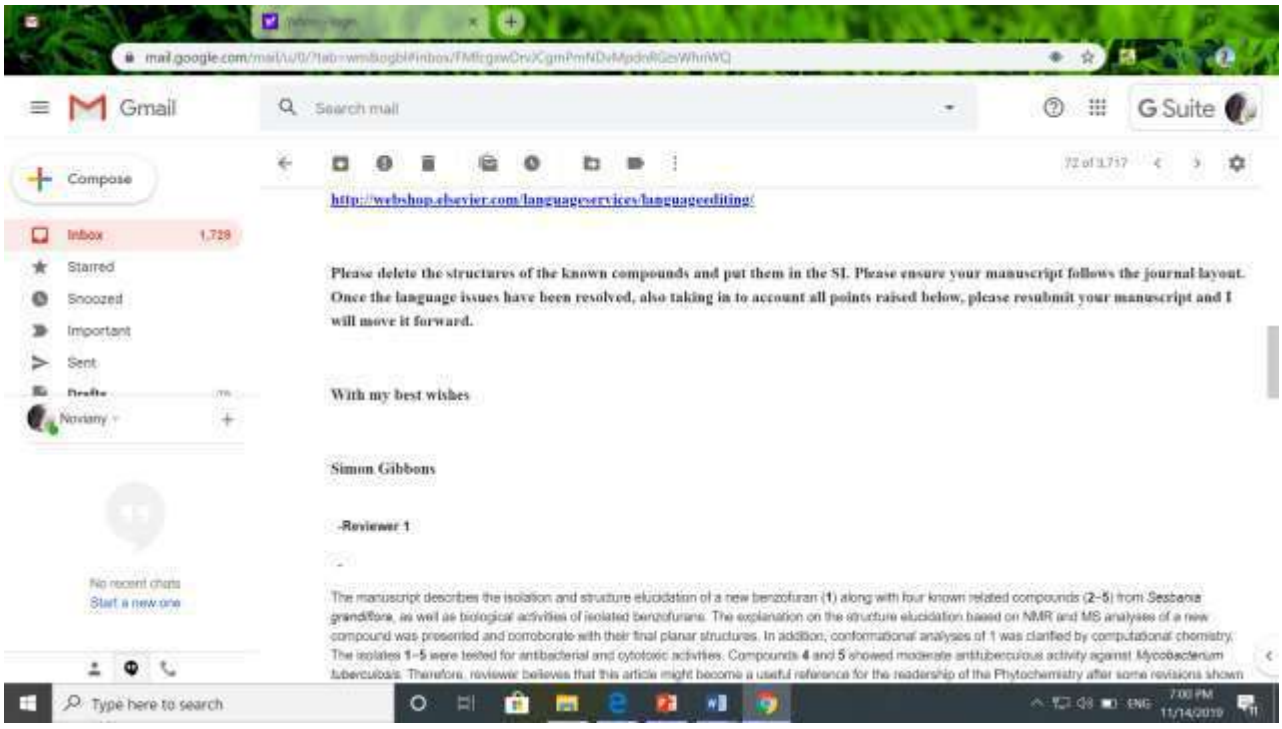
Simon Gibbons
Editor-in-Chief
Phytochemistry Letters

Editor and Reviewer Comments:

Editors comments:

At present your manuscript is not of sufficient English quality to be moved forward. I would suggest that you use the following Elsevier proof editing company:

http://webshop.elsevier.com/languageservices/languageediting/



http://webshop.elsevier.com/languageservices/languageediting/

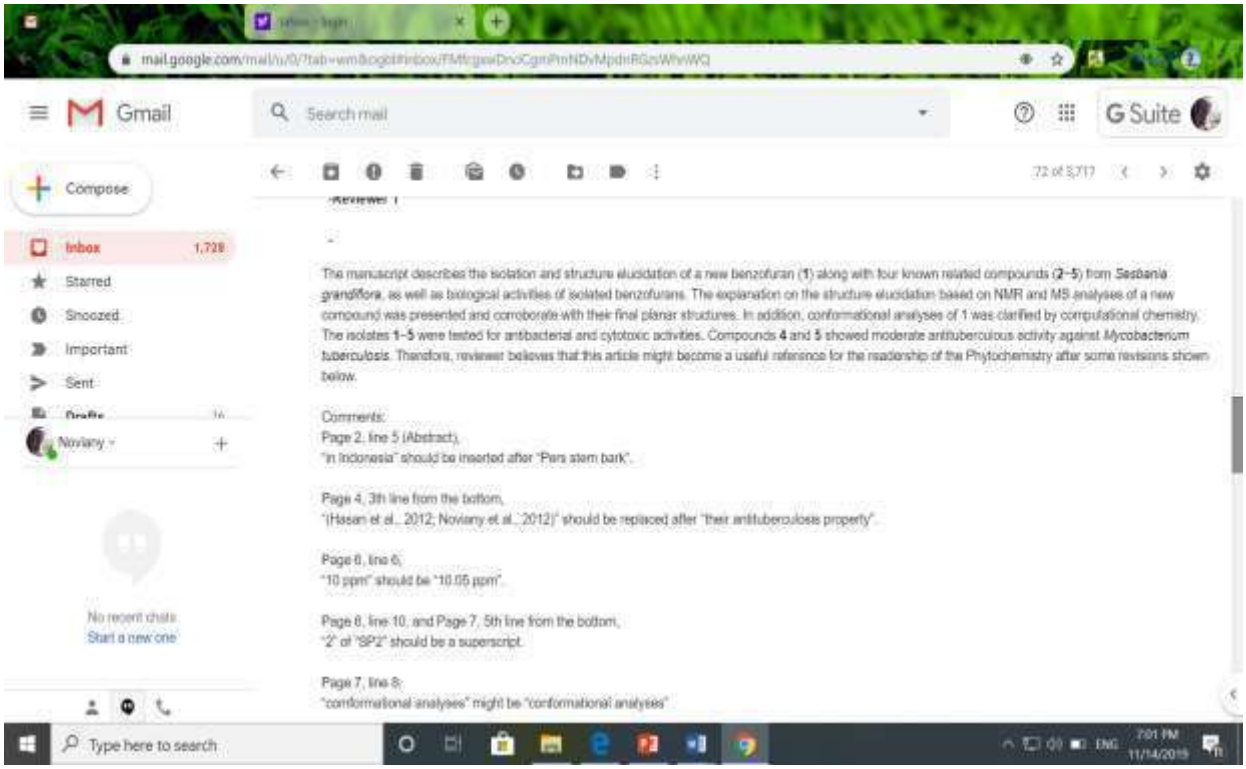
Please delete the structures of the known compounds and put them in the SI. Please ensure your manuscript follows the journal layout. Once the language issues have been resolved, also taking in to account all points raised below, please resubmit your manuscript and I will move it forward.

With my best wishes

Simon Gibbons

-Reviewer 1

The manuscript describes the isolation and structure elucidation of a new benzofuran (**1**) along with four known related compounds (**2**–**5**) from *Sesbania grandiflora*, as well as biological activities of isolated benzofurans. The explanation on the structure elucidation based on NMR and MS analyses of a new compound was presented and corroborate with their final planar structures. In addition, conformational analyses of 1 was clarified by computational chemistry. The isolates **1**–**5** were tested for antibacterial and cytotoxic activities. Compounds **4** and **5** showed moderate antituberculous activity against *Mycobacterium tuberculosis*. Therefore, reviewer believes that this article might become a useful reference for the readership of the Phytochemistry after some revisions shown



-Reviewer 1

The manuscript describes the isolation and structure elucidation of a new benzofuran (**1**) along with four known related compounds (**2**–**5**) from *Sesbania grandiflora*, as well as biological activities of isolated benzofurans. The explanation on the structure elucidation based on NMR and MS analyses of a new compound was presented and corroborate with their final planar structures. In addition, conformational analyses of 1 was clarified by computational chemistry. The isolates **1**–**5** were tested for antibacterial and cytotoxic activities. Compounds **4** and **5** showed moderate antituberculous activity against *Mycobacterium tuberculosis*. Therefore, reviewer believes that this article might become a useful reference for the readership of the Phytochemistry after some revisions shown below.

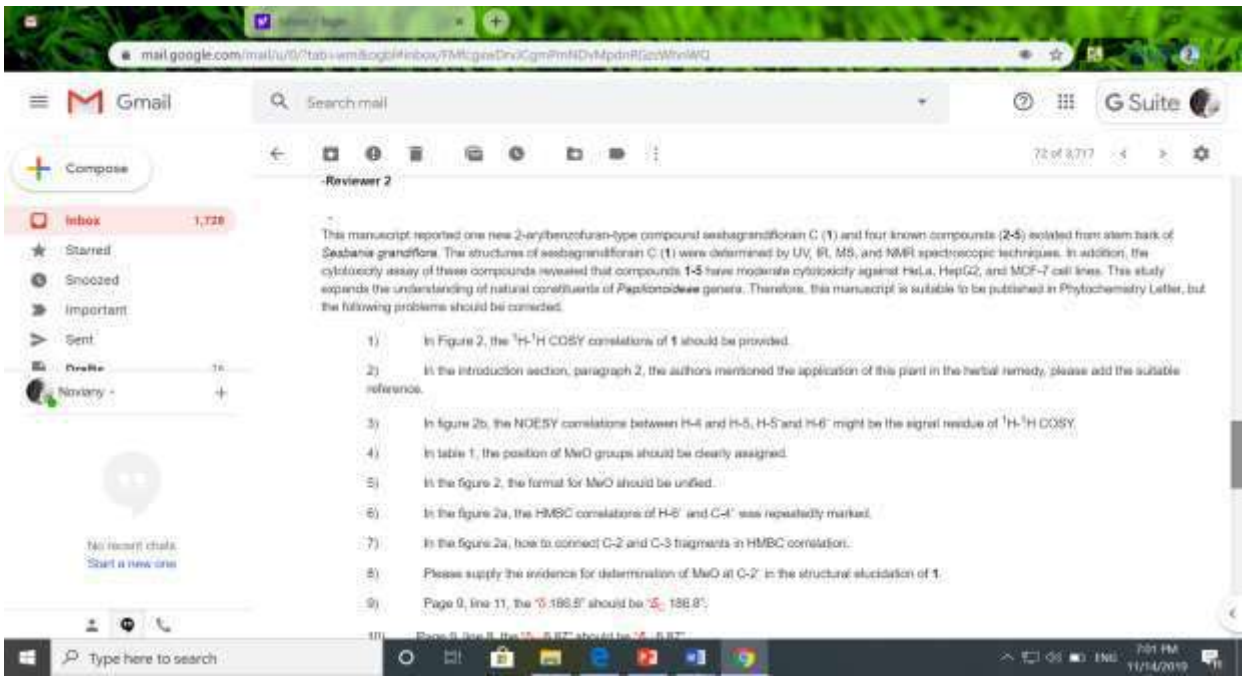
Comments:
Page 2, line 5 (Abstract),
"in Indonesia" should be inserted after "Pars stem bark".

Page 4, 3th line from the bottom,
"(Hasan et al., 2012; Noviany et al., 2012)" should be replaced after "their antituberculosis property".

Page 6, line 6,
"10 ppm" should be "10.05 ppm".

Page 6, line 10, and Page 7, 5th line from the bottom,
"2" of "SP2" should be a superscript.

Page 7, line 8:
"conformational analyses" might be "conformational analyses"



-Reviewer 2

This manuscript reported one new 2-arylbenzofuran-type compound sesbagrandiflorain C (**1**) and four known compounds (**2-5**) isolated from stem bark of *Sesbania grandiflora*. The structures of sesbagrandiflorain C (**1**) were determined by UV, IR, MS, and NMR spectroscopic techniques. In addition, the cytotoxicity assay of these compounds revealed that compounds **1-5** have moderate cytotoxicity against HeLa, HepG2, and MCF-7 cell lines. This study expands the understanding of natural constituents of *Papilionoideae* genera. Therefore, this manuscript is suitable to be published in Phytochemistry Letter, but the following problems should be corrected.

1) In Figure 2, the ^{1}H-^{1}H COSY correlations of **1** should be provided.
2) In the introduction section, paragraph 2, the authors mentioned the application of this plant in the herbal remedy, please add the suitable reference.
3) In figure 2b, the NOESY correlations between H-4 and H-5, H-5'and H-6' might be the signal residue of ^{1}H-^{1}H COSY.
4) In table 1, the position of MeO groups should be clearly assigned.
5) In the figure 2, the format for MeO should be unified.
6) In the figure 2a, the HMBC correlations of H-6' and C-4' was repeatedly marked.
7) In the figure 2a, how to connect C-2 and C-3 fragments in HMBC correlation.
8) Please supply the evidence for determination of MeO at C-2' in the structural elucidation of **1**.
9) Page 9, line 11, the "δ 186.8" should be "δ$_C$ 186.8".
10) Page 9, line 8, the "δ$_H$ 9.87" should be "δ$_H$ 9.87".

LAMPIRAN 3. STATUS MANUSKRIP III: DRAFT, RENCANA AKAN SUBMIT KE *JOURNAL OF NATURAL MEDICINES* (JONM; impact factor 1.92, Q1 Scimago)

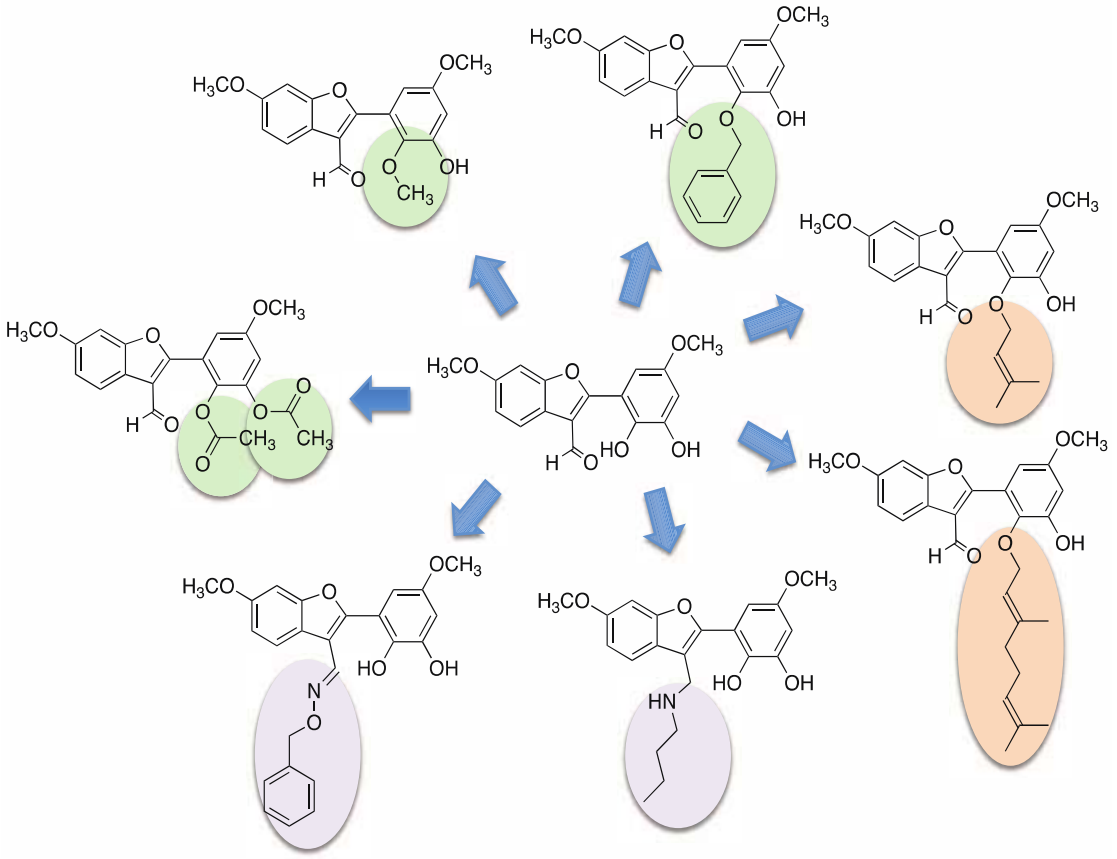
Derivatization of Sesbagrandiflorain A Isolated from *Sesbania grandiflora* and Their Biological Activities

Noviany Noviany[a,*], Arash Samadi[b], Mustofa Abugreen[b], Sutopo Hadi[a], Neny Purwitasari[c], and Taifo Mahmud[b,*]

[a]*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia*
[b]*Department of Pharmaceutical Sciences and Department of Chemistry, Oregon State University, Corvallis, Oregon 97331-3507, United States of America*
[c]*Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Airlangga, Surabaya, 60286, Indonesia*

*Corresponding author:
E-mail address: noviany@fmipa.unila.ac.id, taifo.mahmud@oregonstate.edu
Tel.: +62-81377792816, +1-541-737-9679

Graphical Abstract



Abstract

Seven new derivatives of sesbagrandiflorain A, one diester (**1**), four ethers (**2-5**), one secondary amine (**6**), and one oxime (**7**), have been successfully synthesized in good yields (70-95%). The chemical structures of the synthesized compounds were confirmed by IR, MS, and NMR analysis. None of the compounds displayed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* in an agar diffusion method. However, compound **1** exhibited strong activity against the plant pathogen *Rhodococcus fascians*, with an inhibition zone of 7 mm.

Keywords: biological activity, antibacterial activity, sesbagrandiflorain A, *Sesbania grandiflora, Rhodococcus fascians*

1. Introduction

Fabaceae plants, particularly species in the Papilionoideae subfamily, have long been extensively investigated for their phytochemical and pharmacological potentials. Previous phytopharmacological studies of this plant reported the presence of terpenoids, alkaloids, antraquinones, coumarins, cyanogenic glycosides, phenylpropanoids, flavonoids, isoflavonoids, and non-proteinogenic amino acids [1]. Among them, isoflavonoids are found predominantly in the Papilionoideae subfamily plants [2]. In nature, isoflavonoids provide a wide range of functions such as antimicrobial, anti-insect and allelopathic agents [3],

In the past more than one decade, a new benzofuran scaffold has been successfully isolated from *Andira inermis* [4] and *Erythrina variegata* [5], another two species belonging to the Papilionoideae subfamily. Recently, we have published two new 2-arylbenzofurans, sesbagrandiflorains A and B from *S. grandiflora* stem bark [6]. Benzofuran has an important heterocyclic ring system which exhibited the vast variety of biological properties, for instance,

analgesic [7], antifungal, antimicrobial [8], anti-inflammatory, antiparasitic [9], antihyperglycemic [10] and antitumor activities [11]. Due to the broad spectrum of the biological and pharmacological activities of this scaffold, there has been a rapidly increasing interest on investigation of structural modification of benzofuran derivatives. However, to the best our knowledge, no previous reports on the antimicrobial activity of the chemical components particularly those derived from plants. from the root part of *S. grandiflora* could be found in the literature. Even though naturally occurring substituted benzofuran derivatives as well as their potential applications have been extensively studied by other researchers, no phytochemical and pharmacological studies have been performed on the benzofuran derivatives isolated from the Fabaceae plants. Accordingly, the present study was mainly focused on the structural modification of sesbagrandflorain A, as a major constituent isolated from *S. grandiflora* stem bark, and evaluation their antibacterial activity against some bacterial strains along with one the plant pathogen.

2. Results and Discussion

Chemistry

The structure modification of sesbagrandiflorain A was successfully conducted to afford its seven new derivatives, **1-7** (structures are shown in Figure 1 and NMR data are tabulated in Table 1). The chemistry and their biological activities will be discussed in this paper.

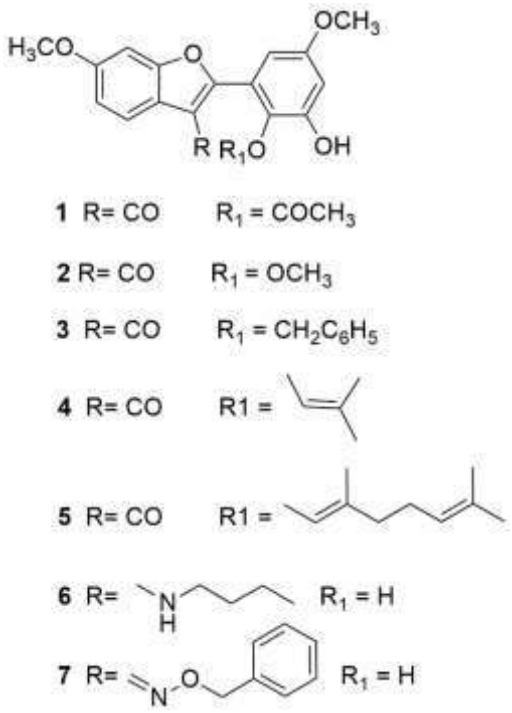


Figure 1. Chemical structures of derivatives of sesbagrandiflorain A (**1** – **7**).

Table 1. ^{1}H nuclear magnetic resonance data for compounds **1-7**

Ring	No atom C	1[a]	2[a]	3[a]
		δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]	δ_H (ppm); *J* (Hz) [b]	δ_H (ppm); *J* (Hz)[b]
	4	8.02 (*d*, *J* = 8.6)	-	7.50 (*d*, *J* = 8.5)
	5	7.01 (*dd*, *J* = 8.6 & 2.3)	6.71 (*d*, *J* = 2.3)	6.68 (*dd*, *J* = 8.5 & 2.0)
	6	-	-	-
	7	7.21 (*d*, *J* = 2.3)	6.36 (*d*, *J* = 2.3)	6.78 (*d*, *J* = 2.0)
	8	-	-	-
	9	-	-	-
	MeO-C	3.89 (*s*)	3.84 (*s*)	3.87 (*s*)
B	1’	-	-	-

	2’	-	-	-
	3’	-	-	7.65 (*s*)
	4’	-	-	-
	5’	6.86 (*d, J* = 8.5)	6.85 (*d, J* = 8.5)	-
	6’	7.12 (*d, J* = 8.5)	7.09 (*d, J* = 8.5)	7.25 (*s*)
C	2	-	-	-
	3	-	-	-
	MeO-C	3.73 (*s*)	3.69 (*s*)	3.90 (*s*)
	MeO-C	-	-	3.91 (*s*)
	HO	-	-	-
	CHO	10.03 (*s*)	9.81 (*s*)	10.03 (*s*)

[a] ^{1}H NMR (500 MHz); measured in acetone-d_6

[b] Multiplicity of signals is given in parentheses: *s*, singlet; *d*, doublet; *dd*, doublet of doublet; coupling

Table 2. ^{13}C nuclear magnetic resonance data for compounds **1-7**

Ring	No atom C	1[a] δ_c (ppm)	2[a] δ_c (ppm)	3[b] δ_c (ppm)
A	4	122.9	157.5	132.5
	5	114.2	88.6	108.0
	6	159.9	162.1	159.0
	7	96.6	99.0	99.7
	8	156.3	152.9	161.8
	9	119.1	107.7	108.9
	O<u>C</u>H$_3$	56.2	56.1	55.2
B	1’	114.1	114.6	117.3
	2’	150.6	150.1	149.1
	3’	139.6	139.5	103.3
	4’	147.6	147.7	148.0
	5’	112.4	112.3	149.0
	6’	123.1	122.9	95.4
C	2	164.5	163.6	162.5
	3	117.9	119.2	117.1
	O<u>C</u>H$_3$	61.5	61.4	61.4
	<u>C</u>HO	187.6	191.1	186.9

[a] ^{13}C NMR (125 MHz); [b] ^{13}C NMR (700 MHz) measured in acetone-d_6.

Biological Activity

Compounds **1** – **5** were tested for their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* using an agar diffusion assay. However, none of them showed any activity. The antituberculosis activity of compounds **4** and **5,** which were isolated in higher amounts, was evaluated against *M. tuberculosis* H37Rv by tetrazolium micro-plate assay (TEMA)[12]. Compounds **4** and **5** exhibited moderate activity against *M. tuberculosis* with minimum inhibition concentration (MIC) values of 200 and 12.5 µg/mL, respectively. The greater activity of compound **5** than compound **4** suggests that a free hydroxyl group at C-6 is important for their activity. However, a more detailed structure-activity relationship study is required to provide better understanding of their anti-TB activity. Additionally, compounds **1** – **5** were tested for their cytotoxicity against cancer cell lines HepG2 (liver carcinoma), Hela (cervical adenocarcinoma), MCF-7 (mammary adenocarcinoma). Compounds **2, 4** and **5** showed moderate cytotoxicity with EC_{50} x µM, y µM, and z µM, respectively.

3. Experimental

3.1. *General methods*

All of the solvents, reagents, and chemicals used in these research were purchased from Aldrich Chemical (Saint Louis, MO, USA) and Merck AG (Saint Louis, MO, USA). Thin-layer chromatography (TLC) was conducted on pre-coated silica gel 60 GF_{254} plates (Merck, Darmstadt, Germany) with an absorbent thickness of 0.25 mm sprayed with $Ce(SO_4)_2$ solution for spot visualization. Preparative TLC was performed on square glass plates with a side length of 0.2 m coated with 0.5 mm Kieselgel F_{254} (Merck), which were air-dried and used without prior activation. Column chromatography (CC) was performed on silica gel (Kieselgel 60, 70-230 mesh ASTM; Merck). HPLC was performed using a Shimadzu dual LC-20AD solvent delivery system with a Shimadzu SPD-M20A UV/vis photodiode array detector. Nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR and ^{13}C NMR) spectra were recorded in acetone-d_6, with tetramethylsilane as an internal standard, on an Agilent 500 MHz spectrophotometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)

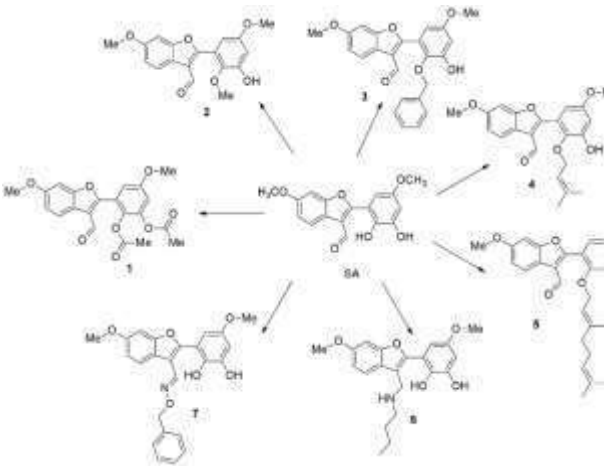
or Bruker Avance III 700 MHz spectrometer equipped with a 5 mm ^{13}C cryogenic probe or a Bruker 500 MHz spectrometer. High-resolution ESI mass spectrometry was performed in positive ion mode on a 6230 TOF mass spectrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

3.2. Isolation of Sesbagrandiflorain A from the stem bark of *S. grandiflora*

The isolation of sesbagrandiflorain A, as starting material in this experiment, was conducted using the method described in our previous study [6]. The structure elucidation of sesbagrandiflorain A was assigned by spectroscopic analyses including UV, IR, NMR and HREIMS.

3.3. Derivatization of Sesbagrandiflorain A (SA)

A various of Sesbagrandiflorain A **(SA)** derivatives were synthesized with appropriate reagens and conditions with constant stirring (Scheme 1).



Scheme 1. Derivatization of Sesbagrandiflorain A (SA) (1-7)

A. O-Acetylation of SA[13]

3-(3-formyl-6-methoxybenzofuran-2-yl)-5-methoxy-1,2-phenylene diacetate (1): SA (5mg, 0.0159 mmol) was dissolved in acetic anhydride (0.44 mL) and pyridine (0.44 mL). The solution was stirred at room temperature for 24 h. TLC (EtOAc−MeOH = 9:1) indicated reaction completion. The reaction mixture was then poured into ice-water and the precipitate was collected by filtration. The purification of the precipitate obtained was carried out by flash chromatography on a column of silica gel eluted with CH_2Cl_2−MeOH (40:1) to give compound **1** as a colorless oil (5.9 mg, 93%), respectively.

^{1}H NMR (500 MHz, Acetone-d6): δ =9.81 (s, 1H), 7.71 (d, *J* = 10 Hz, 1 H), 7.16 (d, *J* = 2.0 Hz, 1 H), 7.09 (d, *J* = 2 Hz, 1 H), 7.01 (dd, *J* = 2, 10.0 Hz, 1 H), 6.74(d, *J* = 2.0 Hz, 1 H), 3.92 (s, 3 H), 3.90 (s, 3 H), 2.40 (s, 3 H), 2.33 (s, 3 H). 2

^{13}C NMR (125 MHz, Acetone-d6) δ = 184.7, 168.9, 168.4, 162.7, 159.4, 158.7, 156.7, 154.6, 145.0, 132.5, 118.2, 114.5, 114.2, 111.9, 107.2, 106.4, 93.7, 55.7, 55.6, 20.4, 20.1.

B. O-Methylation of SA [14]

2-(3-hydroxy-2,5-dimethoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (2): SA (5mg, 0.0159 mmol) was dissolved DMF (0.03 mL) and stirred with K_2CO_3 (10 eq, 0.159 mmole, 22 mg) and MeI (10 eq, 0.159 mmole, 0.01 mL) at 40 °C for 24 h. TLC (DCM−MeOH = 9:1) indicated reaction completion. The mixture was diluted with EtOAc, and washed with water, brine , dried with Na_2SO_4, filtered and volatiles removed *in vacuo*. The resulting pale yellow oil was purified by flash chromatography (DCM−MeOH = 95:5) to yield **2** as white crystals (4.1 mg, 78%).

^{1}H NMR (700 MHz, $CDCl_3$): δ =10.18 (s,1H), 9.81 (s, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 6.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 6.61 (s, 1 H), 6.60(s, 1 H), 6.47(s,1 H), 3.92 (s, 3 H), 3.87 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H).

C. O-Benzylation of SA [15]

2-(2-(benzyloxy)-3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (3): SA (1.0 eq, 5.00 mg, 0.0159 mmol), benzyl bromide (2.0 eq, 0.01 mL, 0.0318 mmol), and K_2CO_3 (7 mg, 0.047 mmol) were diluted in DMF (0.03 mL). The yellow mixture was stirred at room temperature for 2 h, poured into a solution of Et_2O−H_2O (1:1), and stirred for 10 min. The ethereal layer was separated. The aqueous layer was extracted with Et_2O. The combined extract was washed with H_2O and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4, filtered, and concentrated to dryness. The resulting pale yellow oil was purified by flash chromatography (Hexane−Acetone = 9:1) to yield product **3** as …… (5.2 mg, 80%).

^{1}H NMR (700 MHz, Acetone-d6): δ =10.21 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 7.68 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 7.55 (s, 1 H),7.46-7.44 (m, 2 H), 7.39 (t, *J* = 7 Hz, 1 H), 6.93 (s, 1H), 6.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 6.71 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 3.95 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H).

^{13}C NMR (176 MHz, Acetone-d6) δ = 190.1, 163.0, 163.0, 161.2, 159.0, 156.6, 152.0, 151.7, 136.8, 132.7, 128.5, 128.0, 127.7, 118.6, 109.9, 106.9, 99.8, 98.1, 87.6, 70.1, 55.5, 55.2.

D. N-Butyl-reductive amination of SA [16]
3-(3-((butylamino)methyl)-6-methoxybenzofuran-2-yl)-5-methoxybenzene-1,2-diol (4):
A suspension of n-butyl amine (0.02 mL, 1.1 eq, 0.0175 mmole) in pyridine (0.2 mL) was added to **SA** (5 mg, 0.0159 mmole), then stirred at room temperature for 24 h. TLC (DCM−MeOH = 10:1) indicated reaction complete. The solvent was evaporated *in vacuo*. The reaction was diluted with ethylacetate, washed with 0.1 M HCl, water, saturated $NaHCO_3$, water, brine and dried over Na_2SO_4, filtered and volatiles removed *in vacuo*. The resulting product (5.6 mg, 0.0151 mmol) was added to methanol (0.03 ml) and the resulting mixture was stirred at room temperature, then Sodium borohydride (2.0 eq, 0.04 mmole, 1mg) was then added at 0 °C, and stirring was continued overnight at room temperature. The resulting mixture was acidified with 2N HCl and then neutralized with saturated aqueous $NaHCO_3$ solution to yield a white solution. The solution was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate, and concentrated *in vacuo* to yield product **4** as …….. (4.5 mg, 80%, 2 step).

^{1}H NMR (700 MHz, $CDCl_3$): δ =7.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 6.56 (s, 1 H), 6.53 (s, 1 H), 6.53 (s, 1 H), 6.38 (s, 1 H), 3.84 (s, 3 H), 3.83 (s, 2 H), 3.82 (s, 3 H), 2.76 (t, *J* = 7 Hz, 2 H), 1.60-1.56 (m, 2 H), 1.41-1.34 (m, 2 H), 0.93 (t, *J* = 7.7 Hz, 3 H)

^{13}C NMR (176 MHz, $CDCl_3$) δ =, 159.6, 158.4, 157.7, 156.7, 152.3, 145.7, 137.1, 132.0, 114.1, 111.8, 107.4, 99.5, 97.3, 87.5, 55.7, 55.6, 48.5, 44.5, 31.4, 29.6, 20.3, 13.8.

E. O-benzyl oxime of SA [16]
(E)-2-(2,3-dihydroxy-5-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde-O-benzyl oxime (5): A suspension of $BnONH_3Cl$ (3 mg, 1.1 eq, 0.0159 mmole) in pyridine (0.2 mL) was added to **SA** (5 mg, 0.0159 mmole), then stirred at room temperature for 24 h. TLC (DCM−MeOH = 10: 1) indicated reaction complete. The solvent was evaporated in vacue and The reaction was diluted with Ethylacetate ,washed with 0.1 M HCl , saturated $NaHCO_3$, water, brine and dried over Na_2SO_4, filtered and volatiles removed *in vacuo* to afford product **5** as ……...(4.6 mg, 70%).

^{1}H NMR (700 MHz, Acetone-d6): δ =10.37 (s, 1H).8.16 (s, 1H), 7.47 (s, 1 H), 7.46 (s, 1 H), 7.42-7.40 (m, 2 H), 7.36 (d, *J* = 2.8, 1 H), 7.35 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H), 6.67 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 6.62 (dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1 H), 6.60 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 6.27 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 5.23 (s, 2 H), 3.83 (s, 3 H), 3.82 (s, 3 H).

^{13}C NMR (176 MHz, Acetone-d6) δ =, 160.5, 158.7, 156.9, 154.6, 151.7 145.5, 137.1, 132.2, 128.4, 128.3, 128.1 109.8, 109.3, 107.8, 107.4, 99.6, 97.6, 87.4, 76.1, 55.1, 55.0.

F. O-prenylation of SA [17]
2-(3-hydroxy-5-methoxy-2-((3-methylbut-2-en-1-yl)oxy)phenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (6): To a solution of **SA** (5 mg, 1.0 eq, 0.0159 mmol) in DMF (0.2 mL) was added K_2CO_3 (9 mg, 0.063 mmol), and the reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature. Subsequently, prenyl bromide (4 µL, 0.0318 mmol) was added to the reaction mixture and stirred for another 3 h until complete consumption of the starting material as judged by TLC. The reaction was then quenched with potassium phosphate buffer pH 7.0 and extracted with EtOAc twice. The EtOAc layer was dried over anhydrous Na_2SO_4, then the organic solvent was dried *in vacuo*. The extract was subjected to silica gel column chromatography using hexanes−acetone (9:1) as mobile phase. Fractions containing the product were pooled and dried under vacuum to give the title compound **6** as ……..(4.0 mg, 65%).

G. O-geranylation of SA [17]
(E)-2-(2-((3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)oxy)-3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (7): To a solution of **SA** (5 mg, 1.0 eq, 0.0159 mmol) in DMF (0.2 mL) was added K_2CO_3 (9 mg, 0.066 mmol), and the reaction mixture was stirred for

30 min at room temperature. Subsequently, geranyl bromide (6 µL, 0.0318 mmol) was added to the reaction mixture and stirred for another 3 h until complete consumption of the starting material as judged by TLC. The reaction was then quenched with potassium phosphate buffer pH 7.0 and extracted with EtOAc twice. The EtOAc layer was dried over anhydrous Na_2SO_4; then the organic solvent was dried *in vacuo*. The extract was subjected to silica gel column chromatography using hexanes−acetone (9:1) as mobile phase. Fractions containing the product were pooled and dried under vacuum to give the title compound **7** as ……..(4.8 mg, 66%).

^{1}H NMR (700 MHz, Acetone-d6): δ =10.21 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 6.82 (d, *J* = 2.8 Hz, 1 H), 6.78 (dd, *J*= 8.4,2.1 Hz, 1 H), 6.36 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 3.95 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H).

^{13}C NMR (176 MHz, Acetone-d6) δ = 190.1, 163.0, 163.0, 161.2, 159.0, 156.6, 152.0, 151.7, 136.8, 132.7, 128.5, 128.0, 127.7, 118.6, 109.9, 106.9, 99.8, 98.1, 87.6, 70.1, 55.5, 55.2.

3.4. Antibacterial activity assay.

Agar disc diffusion assay was used to test the activity of all the tested derivative compounds. Five different bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis*, and *Escherichia coli* were used. The EtOAc extract was dissolved in MeOH to a concentration of 10 mg/ml. The positive control for this experiment was either ampicillin (for *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, and *E. coli*) or apramycin (for *M. smegmatis*). All the tested compounds and the positive control (10 µl each) were loaded onto sterile diffusion discs and left to dry for 20 min. For *S. aureus, B. subtilis, P. aeruginosa, and M. smegmatis*, the agar plates were prepared by adding a layer of bacterial infused YMG soft agar to an YMG plate and left to solidify. The bacterial infused YMG soft agar was prepared by growing each of the bacteria in separate 15 ml falcon tubes with liquid YMG medium for two days and mixed it with warm YMG agar. The paper discs, impregnated with the extract and the positive control, were placed onto each plates using antiseptic techniques. All plates were incubated for 24 h at 30 °C. For *E. coli*, all procedures mentioned above were done using Luria-Bertani (LB) medium instead of YMG. In addition, the *E. coli* plates and liquid cultures were incubated at 37 °C. After 24 hours of incubation, the plates were stained with MTT (1 mg/ml in de-ionized water) to enhance the contrast of the inhibition zones to the bacterial growth.

3.5. *Antituberculosis assay*

The *M. tuberculosis* inoculum was prepared from a log phase culture in Middle brook 7H9 broth (Difco, USA) supplemented with albumin, dextrose, and catalase (ADC) and its turbidity was adjusted to McFarland standard no. 1 [approximately 3×10^7 colony forming unit (CFU)/mL]. The bacterial suspension was then further diluted 1:20 in Middle brook 7H9 broth supplemented with OADC (oleic acid, albumin, dextrose and catalase). The antituberculosis activity was performed using the method described in our previous study with minor modification [12].

3.5 Cytotoxicity assay

Cytotoxicity assay was performed based on a method described by O'Brien [18]. HepG2, MCF-7, and HeLa cells were maintained in culture in Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, ATCC, cat # 30-2003) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS, Heat Inactivated, Gibco, cat # 10082-147) at 37 °C and 5% CO_2. Cells were dispensed into black, clear bottom, 384-well plates 24 h prior to compound treatment. One column in each plate did not receive cells to serve as a low-signal controls. Compounds dissolved in DMSO were added with the D300 digital dispenser (HP) as a 12-point, half-log titration series in triplicate. Sixteen wells in each plate were left untreated to serve as high-signal controls. DMSO was normalized to 0.5% in every well. After 48 h at 37 °C and 5% CO_2, a solution of resazurin (Acros, cat # 189900050) in PBS was added to every well to a final concentration of 44 µM. After 4-6 h at 37 °C and 5% CO_2, fluorescence was measured with the microplate reader (Synergy 4, Biotek).

Conclusions

In this study, seven new derivatives of sesbagrandiflorain A were successfully synthesis. The bioactivity of both compounds is under investigation. Our findings expand our understanding of the natural constituents of *S.*

grandiflora, and possibly in other fabaceous plants.

Acknowledgments

The authors thank the Directorate of Research and Community Services, Directorate General of Higher Education, The Ministry of Research, Technology and Higher Education, Republic of Indonesia for providing funds for this project through World Class Professor Program-Scheme B 2018 (No.123.44/D2.3/KP/2018). We acknowledge the support of the Oregon State University NMR Facility funded in part by the National Institutes of Health, HEI Grant 1S10OD018518, and by the M. J. Murdock Charitable Trust grant #2014162.

References

[1] Wink, M., & Mohamed, G.I.A. (2003) Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbc*L gene, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 897–917.

[2] Kırmızıbekmez, H., Uysal, G.B., Masullo, M., Demirci, F., Bagci, Y., Kan, Y., & Piacente, S. (2015). Prenylated polyphenolic compounds from *Glycyrrhiza iconica* and their antimicrobial and antioxidant activities. *Fitoterapia*, 103, 289–293.

[3] Dixon, R. A., and Sumner, L. W. (2003). Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiology*, 131, 878-885.

[4] Kraft, C., Jenett-Siemsa, K., Siems, K., Solis, P. N., Gupta, M. P., Bienzled, U., & Eicha, E. (2001) Andinermals A-C, antiplasmodial constituents from *Andira inermis*, *Phytochemistry*. 58, 769–774

[5] Tanaka, H., Hirataa, M., Etoh, H., Sako, M., Sato, M., Murata, J., Murata, H., Darnaedi, D. & Fukai, T. (2004) Six new constituents from the roots of *Erythrina variegate*. *Chemistry & Biodiversity*, 1, 1101–1108.

[6] Noviany Noviany, Arif Nurhidayat, Sutopo Hadi, Tati Suhartati, Muhammad Aziz, Neny Purwitasari & Iman Subasman. (2018). Sesbagrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*. *Natural Product Research*. 32, 21, 2558–2564.

[7] Y.-S. Xie, D. Kumar, V.D.V. Bodduri, P.S. Tarani, B.-X. Zhao, J.-Y. Miao, K. Jang, D.-S. Shin, Microwave-assisted parallel synthesis of benzofuran-2-carboxamide derivatives bearing anti-inflammatory, analgesic and antipyretic agents, Tetrahedron Lett. 55 (2014) 2796-2800.

[8] M. Koca, S. Servi, C. Kirilmis, M. Ahmedzade, C. Kazaz, B. €Ozbek, G. €Otük, Synthesis and antimicrobial activity of some novel derivatives of benzofuran: part 1. synthesis and antimicrobial activity of (benzofuran-2-yl)(3-phenyl-3-methylcyclobutyl) ketoxime derivatives, Eur. J. Med. Chem. 40 (2005) 1351-1358.

[9] M. Th_evenin, S. Thoret, P. Grellier, J. Dubois, Synthesis of polysubstituted benzofuran derivatives as novel inhibitors of parasitic growth, Bioorg. Med. Chem. 21 (2013) 4885-4892.

[10] B. Cottineau, P. Toto, C. Marot, A. Pipaud, J. Chenault, Synthesis and hypoglycemic evaluation of substituted pyrazole-4-carboxylic acids, Bioorg. Med. Chem. Lett. 12 (2002) 2105-2108.

[11] F. Xie, H. Zhu, H. Zhang, Q. Lang, L. Tang, Q. Huang, L. Yu, In vitro and in vivo characterization of a benzofuran derivative, a potential anticancer agent, as a novel aurora B kinase inhibitor, Eur. J. Med. Chem. 89 (2015) 310-319.

[12] Hasan, N., Osman, H., Mohamad, S., Chong, W.K., Awang, K., Zahariluddin, A.S.M., 2012. The chemical components of *Sesbania grandiflora* roots and their antituberculosis activity. Pharmaceuticals 5, 882-889.

[13] Yashang Lee, Hosup Yeo, Shwu-Huey Liu, Zaoli Jiang, Ruben M. Savizky David J. Austin and Yung-chi Cheng. 2004. Increased anti-P-glycoprotein activity of baicalein by alkylation on the A ring. *J. Med. Chem.*, *47*, 5555-5566

[14] Tibor timar J. Csaba Jászberényi. 1988. A novel synthesis of precocenes, Efficient synthesis and regioselective O-alkylation of dihydroxy-2,2-dimethyl-4-chromanones. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 25, 871.

[15]Trung Xuan Nguyen, Monica Abdelmalak, Christophe Marchand, Keli Agama, Yves Pommier, and Mark Cushman. 2015. Synthesis and Biological Evaluation of

Nitrated 7-, 8-, 9-, and 10-Hydroxyindenoisoquinolines as Potential Dual Topoisomerase I (Top1)–Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase I (TDP1) Inhibitors. *J. Med. Chem*. 58, 3188−3208 Title:;

[16] Corey J. Brumsted, van L. Carpenter, Arup K. Indra, and Taifo Mahmud. 2018. Asymmetric Synthesis and Biological Activities of Pactamycin-Inspired Aminocyclopentitols. *Organic Letters*, 20, 2, 397-400.

[17] Khaled H. Almabruk, Jeff, H. Chang, and Taifo Mahmud. 2016. Total Synthesis of (±)-Isoperbergins and Correction of the Chemical Structure of Perbergin, *Journal of Natural Products*, 79, 9, 2391-2396

[18] O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. Eur J Biochem. 267: 5421-5426.

LAMPIRAN 4. STATUS TERAKHIR DRAFT PATEN SEDERHANA

REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: http://www.dgip.go.id Surel: dopatent@dgip.go.id

Nomor : HKI.3-HI.05.01.02.P00201708879 Jakarta, 14 Desember 2017
Lampiran : 1 (satu) berkas
Hal : Pemberitahuan Persyaratan Formalitas Telah Dipenuhi

Yth. LPPM Unila
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1
Gedong Meneng Rajabasa
Bandar Lampung 35145

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

	Tanggal Pengajuan	:	11 Desember 2017
(21)	Nomor Permohonan	:	P00201708879
(71)	Pemohon	:	LPPM Unila
(54)	Judul Invensi	:	METODE CEPAT PEMISAHAN DAN PEMURNIAN KOMPONEN UTAMA DARI EKSTRAK ETILASETAT KULIT BATANG TUMBUHAN TURI (Sesbania grandiflora (L) Pers)
(30)	Data Prioritas	:	
(74)	Konsultan HKI	:	
(22)	Tanggal Penerimaan	:	11 Desember 2017

telah melewati tahap pemeriksaan formalitas dan semua persyaratan formalitas telah dipenuhi. Untuk itu akan dilakukan:

1. Pengumuman, segera 7 (tujuh) hari setelah 18 (delapan belas) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas dalam hal Paten Biasa (Pasal 46 UU No 13 Tahun 2016); atau segera 7 (tujuh) hari setelah 3 (tiga) bulan sejak tanggal penerimaan atau tanggal prioritas, dalam hal Paten Sederhana (Pasal 123 UU No 13 Tahun 2016).
2. Pemeriksaan Substantif segera setelah masa publikasi selesai dan pemohon telah mengajukan permohonan pemeriksaan substantif (Pasal 51 UU No 13 Tahun 2016).

Selain itu hal-hal yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut:

1. Permohonan pemeriksaan substantif diajukan selambat-lambatnya 36 (tiga puluh enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten biasa dan selambat-lambatnya 6 (enam) bulan sejak tanggal penerimaan untuk permohonan paten sederhana, dengan disertai biaya sesuai yang tercantum pada PP No. 45 Tahun 2016.
2. Tidak diajukan permohonan pemeriksaan substantif dalam jangka waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali.
3. Harap melakukan pembayaran kelebihan 0 buah klaim (@50.000) sebesar Rp. 0.
4. Pembayaran tambahan biaya akibat kelebihanjumlah klaim, dilakukan selambat-lambatnya pada saat pengajuan pemeriksaan substantif. Apabila tambahan biaya tidak dibayarkan dalam jangka waktu sebagaimana dimaksud maka kelebihan jumlah klaim dianggap ditarik kembali (Pasal 28 ayat 2 dan 3 PP 34 Tahun 1991).
5. Jumlah halaman deskripsi yang terbayar halaman (Bila halaman deskripsi lebih dari 30).

a.n. Direktur Paten, Desain Tata Letak Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang
Kasubdit Permohonan dan Publikasi,

Ir. Arif Syamsudin, S.H., M.Si.
NIP. 196303021987111001

00-2017-312700

Tembusan:
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

Form HKI/3/003/2016
14 Desember 2017

LAMPIRAN 5. BUKTI MENGIKUTI SEMINAR INTERNASIONAL DALAM NEGERI

ICICS 2019
The 8th International Conference of the Indonesian Chemical Society
August 6-7, 2019 | IPB International Convention Center, Bogor, West Java –Indonesia

Secretariat: Department of Chemistry-Bogor Agricultural University, Kampus IPB Dramaga Jl. Tanjung, Bogor 16680| http://icics2019.ipb.ac.id| icics@apps.ipb.ac.id | Telp/Fax +62 251 862 4567

No : 004/IT3.F7.4/ICICS/2019 17 June 2019

LETTER OF ACCEPTANCE

Dear Mr./Ms. Noviany

Thank you for your interest to participate in The 8th International Conference of The Indonesian Chemical Society (ICICS) 2019, which will be held on August 6-7, 2019 at IPB International Convention Center in Bogor, Indonesia

On behalf of the ICICS 2019 scientific committee, we are pleased to inform you that your abstract with the title "Structure Elucidation of A New 2-Arylbenzofuran Isolated from Sesbania grandiflora" has been accepted for **oral presenter** in the ICICS 2019. Please kindly the reviewer's comments that can be found in the reviewer results section. Please re-submit the revised abstract before June 30, 2019.

The committee will not bear any airfare, accommodation, registration fee and not provide any financial reward for your work during your visit in the symposium. We would like to remind you for the early-bird registration fee is available for the participants who pay there registration fee before June 30, 2019.

We are looking forward to seeing you in the ICICS 2019 and share your experiences and expertise with other participants.

Sincerely yours,

Organizing Committee of ICICS 2019
Chairman,

Dr. Mohamad Rafi, SSi., MSi.

IPB University
Bogor - Indonesia

Certificate

This is to certify

Arif Nurhidayat

has participated as

Presenter

in

THE 8th INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE INDONESIAN CHEMICAL SOCIETY (ICICS)

"Chemistry For Human Welfare"

August 6th – 7th 2019, IPB International Convention Center, Bogor - Indonesia

Prof. Dr. Harno Dwi Pranowo
President of Indonesian Chemical Society

Dr. Mohamad Rafi
Chairman

Co-hosted: