

Article

Analisis Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) pada Pemupukan Biokonversi *Maggot Black Soldier Fly*

Ukhradiya Maghraniq Safira Purwanto^{1,*}, Sulistiyani¹, Anisa Nur Wahidah Azizah¹, dan Rara Annisaur Rosyidah¹

¹ Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, Indonesia, 16680

* Correspondence: irabikg8@apps.ipb.ac.id

Abstract: Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) is a functional vegetable known to contain diverse bioactive compounds with important nutritional and pharmacological potential. This study aimed to profile the bioactive compounds of broccoli extract cultivated with different fertilization treatments, including control, cattle manure, and maggot black soldier fly (BSF) bioconversion fertilizer. Broccoli samples were extracted using 80% ethanol, and the resulting extracts were analyzed with LC-MS/MS to identify and quantify metabolite composition. The findings showed that plants treated with maggot bioconversion fertilizer exhibited superior growth performance in terms of plant height, leaf number, fresh and dry biomass, and flowering percentage compared to other treatments. Furthermore, this treatment produced more diverse metabolites with higher abundance, particularly phenolics, terpenoids, pyridazines, and indoles. Among the identified compounds, Indole-3-Propionic Acid and N(1),N(8)-Bis(Coumaroyl)Spermidine(1+) were highlighted as major secondary metabolites, while chlorophyll derivatives such as pyropheophorbide-a were also detected with significant abundance. These results suggest that maggot BSF bioconversion fertilizer enhances both the growth and secondary metabolite profile of broccoli, supporting its potential as an eco-friendly fertilization strategy to improve the nutritional and functional quality of this crop.

Keywords: bioactive compounds; broccoli; fertilization; LC-MS/MS; maggot BSF

Citation: Purwanto UMS, Sulistiyani, Azizah ANW, Rosyidah RA. 2025. Analisis profil metabolit sekunder ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) pada pemupukan biokonversi maggot black soldier fly. *Current Biochemistry*. 12(2): 21-33.

Received: September 18, 2025

Revised: October 27, 2025

Accepted: December 30, 2025

Published: December 30, 2025



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

pISSN: 2355-7877

eISSN: 2355-7931

Abstrak: Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) merupakan sayuran fungsional yang diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif dengan potensi nutrisi dan farmakologis yang penting. Penelitian ini bertujuan untuk memprofilkan senyawa bioaktif ekstrak brokoli yang dibudidayakan dengan perlakuan pemupukan berbeda, yaitu kontrol, pupuk kandang, dan pupuk biokonversi maggot *black soldier fly* (BSF). Sampel brokoli diekstraksi menggunakan etanol 80%, kemudian dianalisis dengan LC-MS/MS untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi komposisi metabolit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pupuk biokonversi maggot menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik, meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, biomassa segar dan kering, serta persentase berbunga dibanding perlakuan lain. Selain itu, perlakuan ini juga menghasilkan metabolit yang lebih beragam dengan kelimpahan lebih tinggi, terutama golongan fenolik, terpenoid, piridazin, dan indol. Beberapa senyawa utama yang teridentifikasi antara lain Indole-3-Propionic Acid dan N(1),N(8)-Bis(Coumaroyl)Spermidine(1+), serta turunan klorofil seperti pyropheophorbide-a yang ditemukan dengan kelimpahan signifikan. Temuan ini menunjukkan bahwa pupuk biokonversi maggot BSF mampu meningkatkan pertumbuhan sekaligus profil metabolit sekunder brokoli, sehingga berpotensi sebagai strategi pemupukan ramah lingkungan untuk meningkatkan kualitas nutrisi dan fungsional tanaman ini.

Kata kunci: brokoli; fertilisasi; LC-MS/MS; maggot BSF; senyawa bioaktif

1. Pendahuluan

Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) merupakan sayuran yang populer dan banyak dikonsumsi masyarakat. Tanaman ini tumbuh optimal pada iklim sejuk dengan suhu 15–22 °C (Sharmilan dan Jaganathan 2016). Brokoli tidak hanya menjadi sumber serat harian, tetapi

juga memiliki manfaat kesehatan, di antaranya sebagai antioksidan pencegah kanker (Mahardika dan Saifudin 2021), penurunan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus, pengurangan kadar LDL, pencegah stres oksidatif pada jaringan, serta penekanan ekspresi TNF alfa pada pasien diabetes (Setyoady *et al.* 2014). Ekstrak aseton brokoli terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *E. coli*, *Proteus*, *S. aureus*, *Klebsiella*, dan *Pseudomonas* (Survay *et al.* 2012).

Bahan pangan alami seperti brokoli memiliki keunggulan karena rendah kontaminan kimia (Sunarsih *et al.* 2011). Kandungan bioaktifnya meliputi metabolit sekunder golongan glukosinolat (alifatik, aromatik, dan indol), senyawa fenolik, vitamin, mineral, asam lemak, dan asam amino (Kumar dan Sandy 2012; Le *et al.* 2020). Vitamin yang terdapat pada brokoli meliputi A, C, E, K, B1, dan B6 (Fatharanni dan Anggraini 2017), sedangkan mineral penting yang dikandungnya adalah Fe, Mg, Zn, dan Ca (Gad dan El-Moez 2011).

Produktivitas brokoli dapat ditingkatkan melalui pemilihan media tanam dan pemupukan yang tepat. Media tanam berfungsi menyediakan unsur hara yang berperan dalam pertumbuhan tanaman, sedangkan pupuk menjaga ketersediaan nutrisi sehingga produktivitas optimal dapat tercapai (Syam *et al.* 2017). Pupuk kompos merupakan salah satu alternatif pemupukan yang berasal dari penguraian sisa tanaman, hewan, maupun sampah rumah tangga. Pupuk ini bermanfaat memperbaiki struktur tanah dan meningkatkan kandungan bahan organik (Fitrah dan Amir 2015). Proses pengomposan dapat dilakukan melalui biokonversi yang melibatkan organisme seperti bakteri, jamur, atau larva serangga (Putra dan Ariesmayana, 2020).

Maggot adalah larva dari *black soldier fly* (BSF) berperan penting sebagai agen biokonversi yang mampu mendegradasi limbah organik. Larva BSF dapat memanfaatkan berbagai jenis sampah organik, termasuk sisa sayuran, makanan, bangkai, dan kotoran, dengan mengekstrak energi serta nutrisi dari bahan tersebut (Popa 2012). Maggot juga memiliki daya adaptasi tinggi terhadap perubahan musim, sehingga mudah dibudidayakan di wilayah tropis seperti Indonesia (Mulyani *et al.* 2021). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa larva BSF efektif dalam meningkatkan kualitas pengomposan (Guerero *et al.* 2013).

Brokoli diketahui mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat, sedangkan pupuk kompos hasil biokonversi maggot berpotensi memperbaiki media tanam serta mendukung pertumbuhan tanaman. Kajian mengenai pengaruh pupuk kompos berbasis maggot terhadap pertumbuhan brokoli telah dilakukan, namun pengaruhnya terhadap profil senyawa bioaktif ekstrak etanol brokoli masih belum pernah diteliti secara mendalam. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan mengenai sejauh mana pupuk kompos hasil biokonversi maggot dapat memengaruhi pertumbuhan tanaman brokoli, yang meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, bobot tanaman, bobot bunga, dan persentase berbunga, serta apakah perlakuan tersebut berdampak pada kandungan senyawa bioaktif ekstrak etanol brokoli. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh aplikasi pupuk kompos hasil biokonversi maggot terhadap pertumbuhan tanaman brokoli yang diukur melalui parameter tinggi tanaman, jumlah daun, bobot tanaman, bobot bunga, dan persentase berbunga serta untuk mengevaluasi kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak etanol brokoli yang dihasilkan..

2. Metode Penelitian

2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit brokoli, pupuk kandang, pupuk kompos hasil biokonversi maggot, etanol pro analitik, akuades, kertas saring, aluminium foil, dan *plastic wrap*.

2.2. Rancangan Penanaman Brokoli (Modifikasi Handayani dan Elfariisna 2021)

Perlakuan pada tanaman brokoli terdiri atas tiga jenis, yaitu kontrol (P1), penambahan pupuk kandang (P2), dan penambahan pupuk hasil biokonversi maggot (P3). Pupuk kandang yang digunakan berasal dari kotoran kambing. Penanaman dilakukan dalam polybag yang disusun menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) dengan faktor tunggal berupa jenis pupuk. Total polybag yang digunakan sebanyak 270 unit, terdiri atas tiga perlakuan (P1, P2, P3) dengan tiga kali ulangan (U1, U2, U3), di mana setiap ulangan berisi 10 tanaman dan dikelompokkan dalam tiga blok. Parameter yang diamati mencakup tinggi tanaman, jumlah daun, bobot segar, bobot kering, serta persentase tanaman yang berbunga.

2.3. Perlakuan dan Perawatan Brokoli (Modifikasi Gomies *et al.* 2012)

Penanaman brokoli dilakukan di lahan dataran tinggi Desa Sindangjiaya, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur. Tanah yang digunakan dibersihkan dari sampah serta sisa tanaman, kemudian dicampur dengan arang sekam padi dengan perbandingan 1:1. Campuran tanah tersebut dimasukkan ke dalam polybag masing-masing seberat 20 kg. Pupuk kandang dan pupuk hasil biokonversi maggot ditambahkan sebanyak 100 gram per polybag, dengan kandungan nutrisi yang sebelumnya telah dianalisis di Balai Tanah Cimanggu (Tabel 1). Bibit brokoli yang digunakan berumur 2–4 minggu setelah semai dan memiliki pertumbuhan yang seragam. Polybag disusun sesuai dengan denah rancangan penanaman.

Pengamatan pertumbuhan dilakukan setiap dua minggu hingga masa panen. Parameter yang diukur meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, bobot segar, bobot kering, serta persentase berbunga. Tinggi tanaman diukur menggunakan pita ukur dari permukaan tanah hingga daun tertinggi, sedangkan jumlah daun dihitung berdasarkan seluruh daun hijau maupun daun yang mulai menguning tetapi belum rontok. Bobot segar diperoleh dengan menimbang seluruh bagian tanaman segera setelah panen, sedangkan bobot kering diperoleh setelah pengeringan menggunakan oven. Persentase berbunga dihitung dari jumlah tanaman berbunga pada setiap ulangan perlakuan, kemudian dirata-ratakan dengan kelompok perlakuan yang sama. Bunga brokoli diperoleh pada saat panen yang dilakukan pada minggu ke-14.

Perawatan tanaman dilakukan melalui penyiangan gulma dan pemberian pestisida alami. Pengendalian gulma dilakukan dengan mencabut tumbuhan pengganggu di sekitar polybag, sedangkan penyemprotan pestisida alami diberikan bila terdapat serangan hama. Panen dilakukan saat tanaman berumur 3 bulan lebih 2 minggu setelah tanam, dengan cara mencabut seluruh bagian tanaman dari polybag tanpa merusak sistem akar.

Tabel 1. Kandungan pupuk kandang dan pupuk biokonversi maggot

Parameter	Satuan	Standar Mutu	Pupuk Kandang	Pupuk Maggot
C-organik	%	min 15	36,43	42,48
C/N	%	15-25	16,00	20,84
Kadar air	%	15-25	70,60	25,40
pH	%	4-9	7,90	6,85
Unsur makro : N	%	-	2,33	2,04
Bahan ikutan	%	Maks 2	0,00	1,71

2.4. Ekstraksi Sampel dan Perhitungan Rendemen Ekstrak (Modifikasi Puspita *et al.* 2012)

Bunga dan batang brokoli dicuci hingga bersih menggunakan air, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 55 °C selama 24 jam. Sampel kering selanjutnya digiling menggunakan blender hingga berbentuk serbuk halus. Serbuk bunga brokoli yang diperoleh ditimbang, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 80% selama tiga hari. Maserasi dilakukan dengan pergantian pelarut setiap 24 jam. Filtrat hasil maserasi diuapkan menggunakan rotary evaporator selama 10 jam hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut kemudian dihitung rendemennya dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{Berat sampel sebelum ekstrak}} \times 100$$

2.5. Perhitungan Kadar Air Simplisia (Modifikasi Nurcholis *et al.* 2019)

Analisis kadar air simplisia brokoli dilakukan sebanyak tiga ulangan untuk setiap sampel perlakuan. Cawan porselen terlebih dahulu dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang hingga mencapai bobot konstan sebagai berat awal. Sampel simplisia sebanyak 1 gram ditimbang ke dalam cawan, lalu dikeringkan kembali dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam. Setelah itu, cawan didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang hingga bobot konstan. Kadar air simplisia ditentukan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B-(A-C)}{B} \times 100$$

Keterangan:

A : Berat cawan dan simplisia (gram)

B : Berat sampel awal (gram)

C : Berat cawan kosong (gram)

2.6. Identifikasi Senyawa Metabolit dengan LC-MS/MS (Modifikasi Nuraeni dan Sembiring 2019)

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol 80% dilarutkan dalam 50 mL metanol pro analis, kemudian disaring menggunakan filter syringe berukuran 0,22 μm . Filtrat dimasukkan ke dalam vial 2 mL dan diinjeksi ke sistem LC-MS/MS. Analisis profil senyawa bioaktif dilakukan dengan instrumen AQCUIITY Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) yang dilengkapi kolom AQCUIITY UPLC® High Strength Silica (HSS) C18 (1,8 μm , 2,1 $\times$ 100 mm), serta detektor Mass Spectrometer (Xevo G2-S QToF, Waters, USA).

Sistem elusi menggunakan gradien dengan laju alir 0,2 mL/menit pada suhu 50 °C selama 23 menit, dengan volume injeksi sampel 5 μL . Fase gerak terdiri atas 5 mM amonium format dalam H₂O serta 0,05% asam format dalam asetonitril. Ionisasi dilakukan dengan electrospray ionization (ES⁺) pada rentang massa 50–1200 m/z. Identifikasi struktur senyawa diperoleh melalui pencocokan data dengan basis data PubChem dan ChemSpider.

2.7. Analisis Data (Modifikasi Mbulu *et al.* 2019)

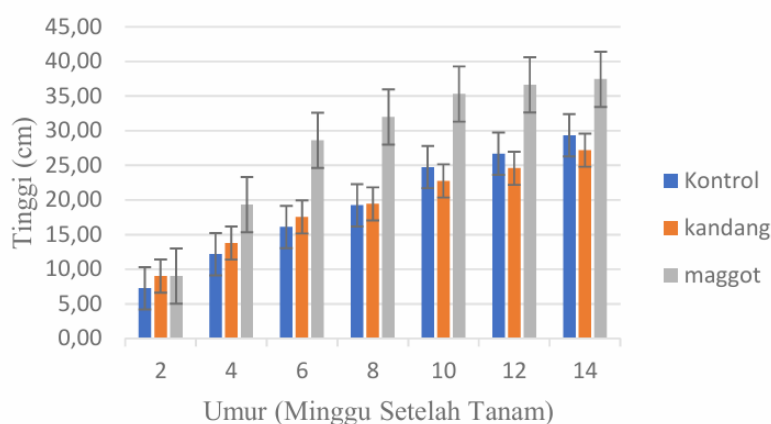
Analisis data pertanian yang terdiri dari tinggi, jumlah daun, bobot basah dan kering serta persentase berbunga dilakukan menggunakan uji Anova One-Way pada Minitab14. Uji lanjutan untuk pernyataan berbeda nyata dilakukan menggunakan uji LSD (Fisher) pada taraf 5%.

3. Hasil

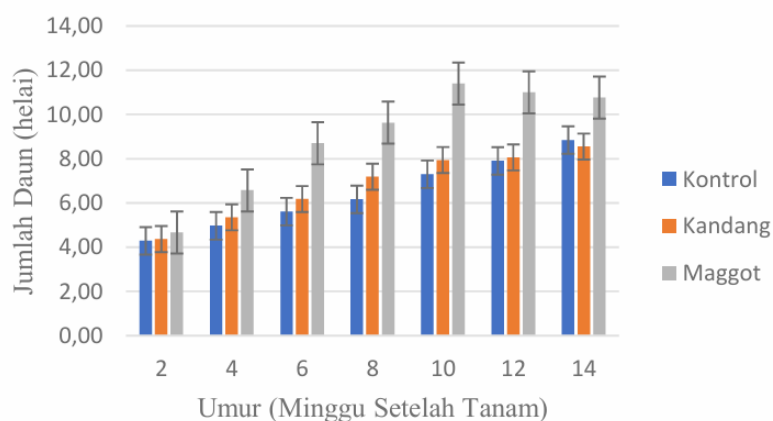
3.1. Pengaruh Pemberian Pupuk Terhadap Tinggi, Jumlah Daun, Bobot Tanaman dan Bunga serta Persentase Berbunga Tanaman Brokoli

Gambar 1 memperlihatkan pola pertumbuhan tinggi tanaman brokoli yang diamati sejak 2 minggu setelah tanam (MST) hingga 14 MST. Perlakuan penambahan pupuk biokonversi maggot (P3) menghasilkan pertumbuhan tinggi tanaman yang paling signifikan dibandingkan dengan kontrol (P1) maupun pemberian pupuk kandang (P2). Analisis statistik menunjukkan bahwa jenis pupuk memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi tanaman mulai 4 MST hingga 14 MST ($P < 0,01$), dengan perbedaan signifikan hanya ditunjukkan pada perlakuan P3.

Hasil serupa ditunjukkan pada pengamatan jumlah daun brokoli (Gambar 2). Pemberian pupuk biokonversi maggot (P3) menghasilkan jumlah daun terbanyak dibandingkan dengan kontrol (P1) dan pupuk kandang (P2). Perbedaan signifikan tercatat mulai 4 MST hingga 12 MST, menunjukkan bahwa pupuk biokonversi maggot lebih efektif dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif brokoli dibandingkan perlakuan lainnya.



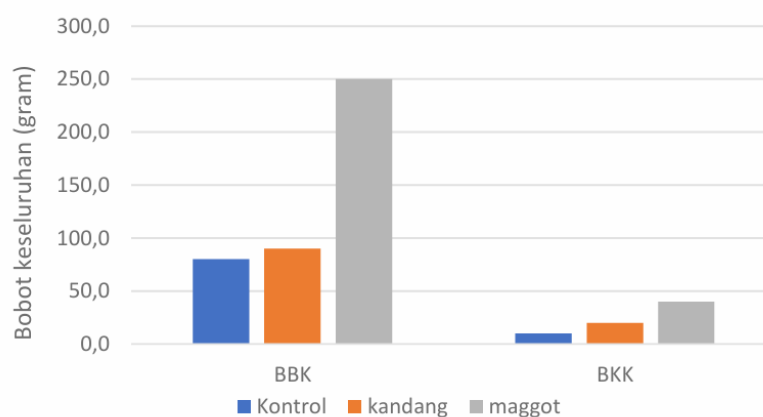
Gambar 1. Pengaruh perlakuan penambahan pupuk terhadap tinggi tanaman brokoli



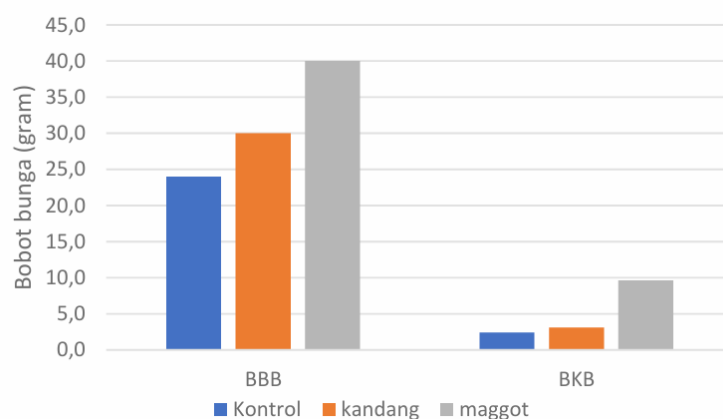
Gambar 2. Pengaruh perlakuan penambahan pupuk terhadap jumlah daun tanaman brokoli

Gambar 3 dan Gambar 4 menampilkan rata-rata bobot basah dan bobot kering tanaman brokoli. Perlakuan pupuk biokonversi maggot (P3) menghasilkan bobot basah dan kering tertinggi baik pada keseluruhan tanaman maupun bagian bunga dibandingkan kontrol (P1) dan pupuk kandang (P2). Bobot basah keseluruhan tanaman menunjukkan perbedaan nyata antarperlakuan ($P < 0,01$), dengan P1 dan P2 tidak berbeda signifikan, sedangkan P3 memberikan hasil berbeda nyata. Pola serupa ditunjukkan oleh bobot kering keseluruhan tanaman.

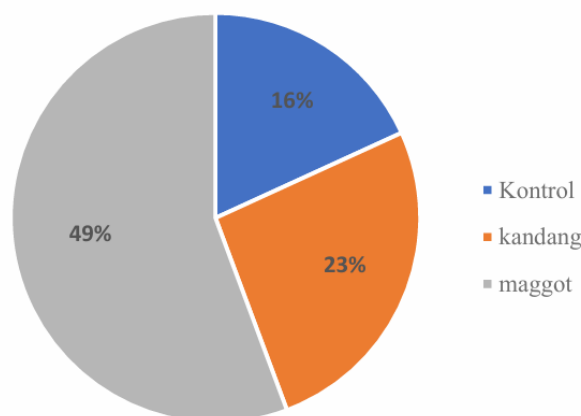
Berbeda dengan hasil keseluruhan, bobot bunga brokoli tidak menunjukkan perbedaan nyata antarperlakuan pupuk. Namun, persentase berbunga (Gambar 5) menunjukkan bahwa penambahan pupuk biokonversi maggot (P3) memberikan hasil tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Secara keseluruhan, P3 menunjukkan pengaruh paling konsisten dalam meningkatkan parameter produksi tanaman brokoli.



Gambar 3. Pengaruh perlakuan penambahan pupuk terhadap bobot tanaman; BBK= bobot basah keseluruhan; BKK= bobot kering keseluruhan



Gambar 4. Pengaruh perlakuan penambahan pupuk terhadap bobot tanaman; BBB=bobot basah bunga; BKB=bobot kering bunga



Gambar 5. Pengaruh perlakuan penambahan pupuk terhadap persentase berbunga brokoli

3.2. Jumlah Kadar Air Simplisia dan Rendemen Ekstrak Brokoli

Rata-rata kadar air simplisia brokoli (Tabel 2) menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan pupuk biokonversi maggot (P3) sebesar 9,9%, sedangkan perlakuan kontrol (P1) dan pupuk kandang (P2) masing-masing menghasilkan kadar air 7,6% dan 8,5%. Sebaliknya, hasil rendemen ekstrak etanol 80% memperlihatkan pola yang berbeda, di mana P3 menghasilkan rendemen terendah yaitu 16,3%, sedangkan rendemen tertinggi diperoleh pada P1 dengan nilai 24,4%.

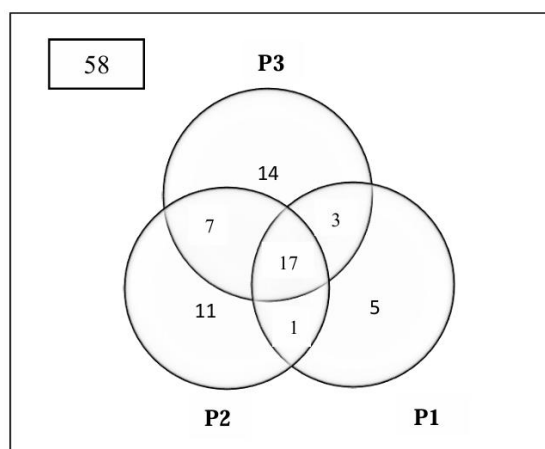
Tabel 2. Kadar air dan rendemen ekstrak etanol 80% brokoli

Pengujian	Hasil (%)		
	P1	P2	P3
Kadar Air Simplisia	7,6	8,5	9,9
Rendemen Ekstrak Etanol 80%	24,4	18,1	16,3

3.3. Senyawa Metabolit Sekunder Hasil Identifikasi LC-MS/MS

Gambar 6 menunjukkan diagram Venn distribusi metabolit hasil identifikasi pada ekstrak etanol 80%. Analisis ini mengungkap adanya 26 senyawa bioaktif pada perlakuan kontrol (P1), 36 senyawa pada perlakuan pupuk kandang (P2), dan 41 senyawa pada perlakuan pupuk biokonversi maggot (P3). Beberapa senyawa ditemukan sama di ketiga perlakuan, sementara sebagian lainnya bersifat spesifik. Sebanyak 17 senyawa teridentifikasi pada semua perlakuan, 1 senyawa sama antara P1 dan P2, 3 senyawa antara P1 dan P3, serta 11 senyawa

antara P2 dan P3. Secara keseluruhan, diperoleh 58 senyawa bioaktif yang terdiri atas metabolit sekunder, asam amino, lipid, amina, asam karboksilat, purin, pirimidin, serta turunan klorofil.



Gambar 6. Distribusi metabolit teridentifikasi pada ekstrak etanol 80% brokoli dengan pengaruh penambahan pupuk

Tabel 3 memperlihatkan 17 senyawa yang teridentifikasi pada seluruh perlakuan (P1, P2, dan P3). Senyawa dengan kelimpahan tertinggi adalah pyropheophorbide-a dengan waktu retensi 16,20, namun persentase kelimpahan berbeda di setiap perlakuan, yaitu 23,69% pada P1, 27,23% pada P2, dan 23,87% pada P3. Dari 17 senyawa tersebut, delapan senyawa pada perlakuan P3 menunjukkan kelimpahan lebih tinggi dibandingkan P1 maupun P2. Senyawa-senyawa tersebut meliputi valinol, 1-methyl-4-vinylpyridinium, *indole-3-propionic acid*, *vasicinone*, *6-methoxyquinoline*, *etheroleic acid*, *sterebin D*, dan *epoxylinolenic acid*.

Tabel 3. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada P1, P2 dan P3

No	Nama senyawa	Rumus molekul	Waktu retensi (menit)	Golongan senyawa	Kelimpahan		
					P1	P2	P3
1	Valinol	C ₅ H ₁₁ NO	1,23	Amina	1,57	2,87	3,01
2	<i>N-Fructosyl isoleusin</i>	C ₁₂ H ₂₄ NO ₇	1,94	Asam amino	0,74	0,56	0,59
3	<i>1-Methyl-4-Vinylpyridinium</i>	C ₈ H ₁₀ N	2,77	Piridina	4,2	6,83	7,64
4	<i>Indole-3-Propionic Acid</i>	C ₁₁ H ₁₀ NO ₂	3,78	Indol	0,75	1,66	2,33
5	<i>Vasicinone</i>	C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O ₂	5,7	Alkaloid	0,14	0,18	2,29
6	<i>6-Methoxyquinoline</i>	C ₁₀ H ₉ NO	6,48	Alkaloid	0,87	0,39	0,92
7	<i>Ethereoleic Acid</i>	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	8,22	Lipid	0,92	1,24	2,43
8	<i>Stereubin D</i>	C ₁₈ H ₃₁ O ₃	8,71	Terpenoid	0,41	0,24	0,32
9	<i>Epoxylinolenic Acid</i>	C ₁₈ H ₂₇ O ₃	9,52	Lipid	0,63	0,75	1,03
10	<i>7-Hydroxy-1-Methylquinolinium</i>	C ₁₀ H ₁₀ NO	10,11	Alkaloid	0	0,01	0,01
11	<i>D-ribo-Phytosphingosine</i>	C ₁₈ H ₄₀ NO ₃	11,28	Amina	0,69	8,87	1,31
12	<i>N-Acetyl-L-phenylalanyl-N-</i>	C ₂₄ H ₄₀ N ₄ O ₄	11,6	Asam amino	0,14	1,49	0,05

	((E,2S)-1-(carbamoylhydrazono)-5-[(diaminomethyl)amino]-2-pentanyl)-L-leucinamide						
13	1-Oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	C ₂₆ H ₅₃ NO ₇ P	13,52	Lipid	2,23	2,19	1,43
14	Pheophorbide A	C ₃₅ H ₃₇ N ₄ O ₅	15,73	Produk klorofil	10,49	8,96	6,81
15	Pyropheophorbide-a	C ₃₃ H ₃₅ N ₄ O ₃	16,2	Produk klorofil	23,69	27,23	23,87
16	Nimbolinin D	C ₃₅ H ₄₄ O ₉	17,05	Terpenoid	13,57	7,58	11,05
17	Scortechinone J	C ₃₄ H ₄₃ O ₇	17,67	Flavonoid	8,38	5,34	1,56

Tabel 4. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada P2 dan P3

No	Nama senyawa	Rumus molekul	Waktu retensi (menit)	Golongan senyawa	Kelimpahan	
					P2	P3
1	Adenin	C ₅ H ₆ N ₅	1,26	Purin	2,87	3,01
2	N(1),N(8)-Bis(Coumaroyl)Spermidine(1+)	C ₂₅ H ₃₂ N ₃ O ₄	4,81	Fenolik	0,83	0,92
3	5-Amino-1-[5-(benzylamino)-5-deoxy-β-D-ribofuranosyl]-1H-imidazole-4-carboxamide	C ₁₆ H ₂₂ N ₅ O ₄	5,14	Asam amino	2,01	2,04
4	2-methyl-3-(4-propen-2-ylphenyl)propanal	C ₁₃ H ₁₈ O	6,33	Terpenoid	0,15	0,92
5	3-Methyl-3H-[1,2,4]triazolo[4,3-b][1,2,3]triazolo[4,5-d]pyridazin-4(5H)	C ₆ H ₆ N ₇ O	7,85	Piridazin	0,4	0,75
6	Asam Norecasantalic	C ₁₁ H ₁₇ O ₂	9,12	Terpenoid	0,22	0,33
7	2-[6-(Methylsulfonyl)-4-(4-morpholinyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]ethanamine	C ₁₂ H ₁₉ N ₅ OS	6,5	Pirimidin	0,39	0,92

Tabel 4 menampilkan tujuh senyawa yang teridentifikasi pada perlakuan pupuk kandang (P2) dan pupuk biokonversi maggot (P3). Dari jumlah tersebut, enam senyawa pada P3 menunjukkan kelimpahan yang lebih tinggi dibandingkan P2, mengindikasikan adanya pengaruh positif dari penggunaan pupuk biokonversi maggot. Sementara itu, Tabel 5 men-

catat empat belas senyawa khas yang hanya terdeteksi pada perlakuan P3. Senyawa dengan kelimpahan tertinggi mencapai 5% dan berasal dari golongan heksanamida serta amina.

Tabel 5. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada P3

No	Nama senyawa	Rumus molekul	Waktu retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Golongan senyawa
1	<i>N</i> -(<i>tert</i> -Butoxycarbonyl) glutamicacid <i>α</i> -methyl ester	C ₁₁ H ₂₀ NO ₆	1,3	3,01	Asam karboksilat
2	Propyl 2-amino-4-(4-biphenyl)-3-thiopheneacboxylate	C ₂₀ H ₂₀ NO ₂ S	4,05	0,45	Asam karboksilat
3	6-hydroxy- <i>N</i> -[2-(2,3,4-trihydroxyphenyl)ethyl]-2,3,4,5-tetrahydropyridin-1-ium-3-carboxamide	C ₁₄ H ₁₉ N ₂ O ₅	4,09	0,45	Fenolik
4	<i>L</i> -Histidin	C ₆ H ₁₀ N ₃ O ₂	4,35	0,16	Asam amino
5	4-(3,5-Dinitrobenzoyl)-1-piperazinecarbaldehyde	C ₁₂ H ₁₃ N ₄ O ₆	7,18	0,31	Benzena
6	Ozenoxacin	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	7,51	0,28	Alkaloid
7	Asam Stearat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	8,68	0,32	Asam lemak
8	<i>N</i> -(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)-4-methylpiperazine-1-carboximidamide	C ₁₂ H ₂₁ N ₆	9,14	0,33	Benzena
9	Shogaol	C ₁₇ H ₂₅ O ₃	9,87	0,1	Fenolik
10	3,6-Diamino- <i>N</i> -[2-((2-amino-5-[glycyl(methyl)amino]-3,6-dihydroxy-4-methoxycyclohexyl)oxy)-6-(aminomethyl)-3,4-dihydro-2H-pyran-3-yl]hexanamide	C ₂₂ H ₄₄ N ₇ O ₇	11,84	5	Heksanamida
11	<i>N</i> -{[5-(Dimethylamino)-3-isopropyl-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl]methyl}-1-(5-methyl-3-pyrazolidinyl)-4-piperidinamine	C ₁₉ H ₃₈ N ₇	12,02	5	Amina
12	2-Methyl-2-propanyl 4-(20-azido-3,6,9,12,15,18-hexaoxaicos-1-yl)-1-piperazinecarboxylate	C ₂₃ H ₄₆ N ₅ O ₈	12,33	0,3	Asam karboksilat
13	Arginyl-prolyl-lysyl-prolinamide	C ₂₂ H ₃₂ N ₆ O ₄	13,23	3,93	Asam amino
14	1,3-dilinolenoylglycerol	C ₃₉ H ₆₈ O ₅	17,92	0,04	Lipid

Hasil analisis kromatogram menunjukkan waktu retensi dan luas area sebagai gambaran kelimpahan relatif senyawa pada ekstrak etanol 80% brokoli. Perbedaan waktu retensi mengindikasikan adanya variasi senyawa yang teridentifikasi. Kelompok asam amino merupakan senyawa terbanyak, terdiri dari delapan senyawa yang ditemukan pada seluruh perlakuan, dengan kelimpahan tertinggi sebesar 3,93% pada senyawa *Arginyl-prolyl-lysyl-prolinamide* di P3 (waktu retensi 13,23).

Senyawa fenolik dengan kelimpahan tertinggi adalah *N(1),N(8)-Bis(Coumaroyl)Spermidine(1+)*, sebesar 0,92%, yang hanya ditemukan pada P2 dan P3. Tiga senyawa flavonoid teridentifikasi, yaitu *3',5'-Di-O-Methyltricetin(1-)* dan *Scortechinone C* (khusus P2), serta *Scortechinone J* yang ditemukan pada semua perlakuan. *Scortechinone J* pada P2 memiliki kelimpahan tertinggi (3,54%) pada waktu retensi 17,67.

Empat senyawa terpenoid terdeteksi, yaitu Sterebin D dan Nimbolinin D yang ada pada semua perlakuan, serta Asam Norecasantalik dan *2-methyl-3-(4-propan-2-ylphenyl)propanal* yang hanya terdapat pada P2 dan P3. Nimbolinin D memiliki kelimpahan tertinggi di P1 (13,57%) pada waktu retensi 17,05.

Selain itu, enam turunan alkaloid dari golongan quinoline teridentifikasi, dengan *6-Methoxyquinoline* di P3 sebagai senyawa paling melimpah pada waktu retensi 6,46. Senyawa turunan amina yang paling dominan adalah *4-hydroxy-8-sphingosine* di P3 dengan kelimpahan 10,97% pada retensi 10,73. Dari kelompok lipid, lima senyawa teridentifikasi, dengan *Etheroleic Acid* sebagai senyawa utama (2,29%) yang ditemukan pada semua perlakuan di waktu retensi 8,22. Sementara itu, asam karboksilat dengan kelimpahan tertinggi adalah *N-(tert-Butoxycarbonyl) glutamic acid α-methyl ester* sebesar 3,01% pada P3 dengan waktu retensi 1,30.

4. Pembahasan

4.1. Perlakuan Terhadap Parameter Tinggi, Jumlah Daun, Bobot Tanaman dan Bunga serta Persentase Berbunga Brokoli

Lingkungan tumbuh merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan budidaya tanaman. Brokoli diketahui membutuhkan kondisi tanah dengan pH 5,5–6,5 serta suhu optimal 16–18 °C (Baypoli et al. 2016). Lokasi penelitian di Desa Sindangjaya, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur berada pada ketinggian ±1100 mdpl dengan suhu harian rata-rata 25–30 °C dan curah hujan sekitar 3000 mm/tahun (SID Sindangjaya 2020). Jenis tanah pada kawasan tersebut didominasi Andisol dan Entisol yang umumnya sesuai untuk tanaman sayuran. Analisis tanah menunjukkan tekstur pasir 21%, debu 53%, dan liat 26% dengan pH 6,0. Tingginya fraksi debu mengindikasikan tanah Andisol yang rentan erosi (Kurnia et al. 2004). Nilai pH yang sesuai dengan kebutuhan brokoli berperan penting dalam memfasilitasi penyerapan unsur hara (Karamina et al. 2017).

Tanah di dataran tinggi umumnya memiliki tingkat kesuburan lebih baik dibandingkan tanah mineral lainnya. Kandungan bahan organik berperan dalam meningkatkan sifat fisik, kimia, dan biologi tanah, baik melalui pembentukan agregat maupun penyediaan unsur hara (Haryati 2014). Hasil analisis menunjukkan kandungan bahan organik <1–12% (kategori rendah–sedang), dengan C-organik 2,11% (sedang), N total 0,18% (rendah), serta rasio C/N sebesar 12 (sedang). Perbedaan kadar bahan organik dapat disebabkan oleh faktor biologis, iklim, sistem tanam, serta erosi yang dapat mengurangi kandungan unsur hara melalui aliran permukaan (Haryati et al. 2013).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan pupuk biokonversi maggot (P3) memberikan pengaruh nyata terhadap parameter pertumbuhan brokoli, meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, bobot segar, bobot kering, dan persentase berbunga jika dibandingkan dengan kontrol (P1) maupun pupuk kandang (P2). Hasil ini konsisten dengan temuan Rahma (2022) pada selada merah yang menunjukkan peningkatan signifikan pada pertumbuhan akibat aplikasi pupuk kasgot. Analisis pupuk memperlihatkan kandungan C-organik sebesar 36,43% pada pupuk kandang dan 48,42% pada pupuk biokonversi maggot, keduanya melebihi standar mutu minimum 15% (Permentan No. 261/KPTS/SR.310/M/4/2019). Rasio C/N juga tergolong baik, yakni 16 untuk pupuk kandang dan 20,84 untuk pupuk biokonversi maggot, sedangkan kandungan nitrogen makro relatif sebanding, masing-masing 2,33% dan 2,04%.

Parameter pertumbuhan, terutama jumlah daun, memiliki keterkaitan erat dengan tinggi tanaman. Semakin tinggi tanaman, jumlah daun yang terbentuk meningkat (Haryadi et al. 2015). Daun berperan sebagai organ fotosintetik utama yang menentukan intensitas penyerapan cahaya dan CO₂, sehingga jumlah daun yang lebih banyak akan meningkatkan akumulasi biomassa tanaman (Tarigan et al. 2013). Biomassa hasil fotosintesis berkontribusi langsung terhadap peningkatan bobot kering tanaman. Proses ini dipengaruhi oleh ketersediaan hara, cahaya matahari, dan air (Pradana et al. 2015). Variasi hasil antar kelompok perlakuan meskipun pada jenis pupuk yang sama disebabkan oleh distribusi hara tanah yang tidak merata

akibat riwayat penanaman sebelumnya. Tanah dengan ketersediaan hara rendah cenderung menghasilkan pertumbuhan dan produksi yang lebih rendah (Purba *et al.* 2021).

4.2. Kadar Air Simplisia dan Rendemen Ekstrak

Penyerbukan bahan bertujuan untuk memperluas luas permukaan sampel sehingga memudahkan penetrasi pelarut. Ukuran partikel menjadi faktor penting dalam proses ekstraksi, di mana serbuk yang lebih halus memiliki luas permukaan lebih besar dan memungkinkan pelarut lebih mudah masuk serta melarutkan senyawa target (Noviantari *et al.* 2017). Analisis kadar air dilakukan dengan metode gravimetri secara triplo untuk setiap perlakuan, dengan tujuan menentukan kandungan air sekaligus menetapkan batas minimal kadar air dalam bahan (Irsyad 2013). Nilai kadar air ideal untuk simplisia adalah <10%, karena kadar yang lebih tinggi berisiko memicu pertumbuhan mikroba dan menurunkan stabilitas ekstrak (Utami *et al.* 2017).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel dengan perlakuan pupuk biokonversi maggot (P3) memiliki kadar air tertinggi, sedangkan kontrol (P1) menunjukkan kadar terendah. Variasi kadar air ini dapat dipengaruhi oleh kondisi oven, seperti suhu, kelembapan, tekanan, ukuran partikel, serta jenis wadah timbang (Daud *et al.* 2019). Ketidakstabilan suhu oven selama proses pengeringan diduga menyebabkan perbedaan tingkat kekeringan brokoli, sehingga berdampak pada variasi kadar air antar perlakuan.

Proses ekstraksi dilakukan dengan etanol karena pelarut ini tergolong aman, toksisitasnya rendah, dan memiliki kemampuan melarutkan berbagai senyawa aktif dari tumbuhan (Hasanah dan Novian 2020). Ekstrak kemudian disaring menggunakan corong Buchner dengan bantuan vakum, dilanjutkan pemekatan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50 °C. Prinsip rotary evaporator adalah menguapkan pelarut sehingga hanya tersisa ekstrak murni (Reo *et al.* 2017).

Rendemen hasil ekstraksi menunjukkan nilai tertinggi pada P1 (24,4%) dan terendah pada P3 (16,35%). Hasil ini berbanding terbalik dengan kadar air, di mana kadar air rendah berkorelasi dengan rendemen lebih tinggi. Suhu pengeringan terbukti memengaruhi nilai rendemen (Sahrial *et al.* 2018). Proses pengeringan yang optimal meningkatkan porositas dan dapat merusak dinding sel, sehingga senyawa di dalam sel lebih mudah terikat dan berdifusi ke pelarut (Senduk *et al.* 2020). Penentuan rendemen menjadi parameter penting untuk mengetahui jumlah simplisia yang dibutuhkan dalam menghasilkan ekstrak pekat dalam jumlah tertentu. Selain itu, rendemen juga mencerminkan potensi jumlah senyawa kimia dalam ekstrak serta efisiensi penggunaan pelarut (Rasyid *et al.* 2018).

4.3. Senyawa dalam Ekstrak Etanol 80% Brokoli Hasil LC-MS/MS

Pemberian pupuk biokonversi maggot (P3) menghasilkan kandungan senyawa yang lebih beragam dan melimpah dibandingkan perlakuan kontrol maupun pupuk kandang. Selain meningkatkan pertumbuhan vegetatif, pemupukan P3 juga mendorong akumulasi metabolit sekunder dengan kelimpahan lebih tinggi. Kandungan bahan organik dalam pupuk berperan penting dalam pembentukan metabolit sekunder (Salim *et al.* 2016). Analisis pupuk biokonversi maggot menunjukkan bahwa kandungan C-organik, unsur hara makro (N, P₂O₅, K₂O), dan mikro (Fe, Mn, Zn, Cu) sesuai dengan standar mutu. Nitrogen, khususnya, berperan dalam biosintesis asam amino yang selanjutnya menjadi prekursor metabolit sekunder. Hasil LC-MS/MS menunjukkan P3 menghasilkan senyawa fenolik, terpenoid, piridazin, dan indol dengan kelimpahan lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya.

Data kualitatif kromatogram ditentukan melalui waktu retensi senyawa, sedangkan data kuantitatif diperoleh dari luas area yang merepresentasikan kelimpahan (Hermita *et al.* 2019). Senyawa dengan kelimpahan tertinggi pada semua perlakuan adalah pyropheophorbide-a, turunan klorofil dengan luas area tertinggi sebesar 27,23% pada P2. Senyawa ini selain berfungsi sebagai pigmen juga dilaporkan memiliki potensi antivirus (Bouslama *et al.* 2011). Kandungan pyropheophorbide-a yang tinggi pada brokoli berkaitan dengan fase panen yang masih dalam tahap pertumbuhan, sehingga akumulasi klorofil masih tinggi (Aimla *et al.* 2010). Faktor umur tanaman, morfologi daun, dan genetik turut memengaruhi kadar klorofil (Dharmadewi 2020).

Asam amino menjadi kelompok senyawa yang paling banyak teridentifikasi dengan kelimpahan tertinggi berupa arginyl-prolyl-lysyl-prolinamide sebesar 3,93% pada P3. Asam amino berperan penting dalam pertumbuhan fisiologis tanaman (Julianto 2019) dan menjadi

prekursor metabolit sekunder, misalnya triptofan yang menghasilkan turunan indol (Le *et al.* 2020). Metabolit sekunder yang terdeteksi pada brokoli meliputi indol, fenolik, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hal ini sejalan dengan laporan Gonzales *et al.* (2021) yang menyebutkan brokoli kaya akan glukosinolat, fenolik, karotenoid, klorofil, dan alkaloid.

Indol, khususnya indole-3-propionic acid dengan kelimpahan 2,33% pada P3, memiliki peran penting dalam mekanisme pertahanan tanaman dan dilaporkan berkontribusi dalam peningkatan respon imun terhadap kanker usus besar (Mandhur dan Leight, 2021). Glukosinolat dan fenolik telah banyak diteliti sebagai komponen bioaktif utama brokoli (Le *et al.* 2020). Senyawa fenolik yang teridentifikasi meliputi *N(1),N(8)-Bis(Coumaroyl)Spermidine(1+)* dengan kelimpahan 0,92% pada P2 dan P3. Senyawa fenolik dikenal sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Le *et al.* 2020), sedangkan flavonoid sebagai sub-kelompok fenolik memiliki peran tambahan dalam pewarnaan, antiinflamasi, antikarsinogenik, dan antioksidan (Panche *et al.* 2016).

Terpenoid muncul sebagai kelompok metabolit sekunder yang beragam dengan sifat antimikroba, antijamur, dan antiparasit (Anggaraito *et al.* 2018). Nimbolinin D, dengan kelimpahan tertinggi 13,57% pada P1, merupakan salah satu senyawa terpenoid yang terdeteksi. Selain itu, enam turunan alkaloid dari golongan quinoline juga teridentifikasi. Alkaloid berfungsi sebagai antioksidan dengan menghentikan rantai reaksi radikal bebas (Yuhernita dan Juniarti, 2011) serta memiliki bioaktivitas luas, termasuk sebagai antimalaria, analgesik, antineoplastik, antifungal, dan antiviral (Marella *et al.* 2013).

Secara keseluruhan, pemberian pupuk biokonversi maggot tidak hanya meningkatkan parameter pertumbuhan brokoli tetapi juga memperkaya profil metabolit sekunder yang bernilai fungsional bagi kesehatan.

5. Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) karena penelitian ini telah didanai melalui program Riset Keilmuan dengan skema Riset Desa MBKM dengan judul “Pengembangan Pupuk Organik LANDAK SINJAY dengan Larva *Black Soldier Fly* (BSF) untuk Budidaya Pertanian dan Kesehatan Desa Sindangjaya Kecamatan Cipanas Kabupaten Cianjur dalam Rangka Mendukung Potensinya sebagai Desa Wisata di Masa Pandemi”.

References

1. Baypoli, A., Nuraini, A., & Siregar, A. (2016). Pengaruh pH dan suhu terhadap pertumbuhan brokoli (*Brassica oleracea* L.). *Jurnal Hortikultura*, 26(3), 233–240.
2. SID Sindangjaya. (2020). *Profil Desa Sindangjaya Kecamatan Cipanas Kabupaten Cianjur*. Cianjur: Pemerintah Desa Sindangjaya.
3. Kurnia, U., Hidayat, A., & Darmawan, D. (2004). Karakteristik tanah Andisol di dataran tinggi dan implikasinya terhadap erosi. *Jurnal Tanah dan Lingkungan*, 6(1), 45–53.
4. Karamina, R., Nuraini, A., & Lestari, R. (2017). Pengaruh pH tanah terhadap serapan hara dan pertumbuhan tanaman hortikultura. *Jurnal Ilmu Tanah Indonesia*, 19(2), 87–94.
5. Haryati, T. (2014). Peranan bahan organik dalam meningkatkan produktivitas tanah. *Jurnal Sumberdaya Laban*, 8(2), 67–74.
6. Haryati, T., Sari, R. D., & Rahayu, S. (2013). Hubungan erosi dengan kehilangan bahan organik tanah pada lahan pertanian. *Jurnal Tanah dan Iklim*, 37(2), 101–110.
7. Rahma, N. (2022). Pengaruh pupuk kasgot terhadap pertumbuhan selada merah (*Lactuca sativa* L.). *Jurnal Agroteknologi*, 14(1), 55–63.
8. Haryadi, S., Sutopo, L., & Yulianti, N. (2015). Korelasi antara tinggi tanaman dan jumlah daun pada beberapa varietas hortikultura. *Jurnal Produksi Tanaman*, 3(8), 612–619.
9. Tarigan, A., Simanjuntak, D., & Naibaho, R. (2013). Pengaruh jumlah daun terhadap biomassa tanaman hortikultura. *Jurnal Agronomi*, 17(1), 34–40.
10. Pradana, D., Wulandari, R., & Susanti, H. (2015). Faktor-faktor yang memengaruhi proses fotosintesis pada tanaman hortikultura. *Jurnal Biologi*, 19(2), 45–53.
11. Purba, R., Situmorang, A., & Sipayung, E. (2021). Distribusi hara tanah dan pengaruhnya terhadap produktivitas tanaman hortikultura. *Jurnal Agrotek*, 9(1), 22–30.
12. Salim, H., Fajriani, N., & Ramadhani, A. (2016). Hubungan kandungan bahan organik dengan produksi metabolit sekunder tanaman. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 5(2), 67–73.
13. Hermita, L., Wulandari, A., & Putri, M. (2019). Analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa metabolit dengan LC-MS/MS. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(1), 14–21.
14. Bouslama, L., Hayashi, K., & Hara, Y. (2011). Antiviral potential of pyropheophorbide derivatives. *Phytochemistry Reviews*, 10(3), 311–320.
15. Aimla, N., Sulastri, E., & Rahayu, T. (2010). Pengaruh fase pertumbuhan terhadap kandungan klorofil brokoli. *Jurnal Hortikultura*, 20(2), 123–130.

16. Dharmadewi, N. (2020). Faktor-faktor yang memengaruhi kadar klorofil tanaman. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 8(3), 99–107.
17. Julianto, B. (2019). Peranan asam amino dalam pertumbuhan dan metabolisme tanaman. *Jurnal Biokimia Pertanian*, 7(1), 25–32.
18. Le, T. T., Nguyen, H. T., & Tran, Q. V. (2020). Secondary metabolites of broccoli: indole, phenolic, and flavonoid compounds. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3), e13128.
19. Anggaraito, D., Setiawan, B., & Hidayah, N. (2018). Metabolit sekunder tanaman: fungsi dan potensinya. *Jurnal Biologi Indonesia*, 14(1), 55–66.
20. Gonzales, R., Martinez, P., & Herrera, J. (2021). Functional metabolites in broccoli: glucosinolates, phenolics, carotenoids, and alkaloids. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(4), 512–520.
21. Sunarsih, S., Handayani, D., & Prabowo, H. (2011). Peran senyawa indol sebagai antikanker pada tanaman brokoli. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(2), 88–95.
22. Cna'ani, A., Seifan, M., & Tzin, V. (2018). Indole metabolites in plant–pollinator and plant–herbivore interactions. *Molecules*, 23(5), 1207.
23. Mandhur, A. A., & Leight, C. (2021). Indole-3-propionic acid and its immunomodulatory effects in colorectal cancer. *Frontiers in Nutrition*, 8, 654987.
24. Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
25. Yuhernita, & Juniarti. (2011). Aktivitas antioksidan senyawa alkaloid dari tumbuhan lokal. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 9(1), 11–15.
26. Marella, A., Tanwar, O. P., Saha, R., Ali, R., Srivastava, S., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M., & Alam, M. M. (2013). Quinoline: A versatile heterocyclic scaffold in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, 839–865.
27. Noviantari, E., Sari, R. P., & Pramudono, B. (2017). Pengaruh ukuran partikel terhadap ekstraksi senyawa bioaktif tumbuhan. *Jurnal Teknologi Pangan*, 8(2), 45–52.
28. Irsyad, M. (2013). *Metode analisis kadar air bahan pangan secara gravimetri*. Bogor: IPB Press.
29. Utami, D. S., Lestari, W., & Handayani, T. (2017). Pengaruh kadar air terhadap stabilitas ekstrak simplisia herbal. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 9(1), 33–40.
30. Daud, M., Putri, A. N., & Fadli, Z. (2019). Faktor-faktor yang memengaruhi kadar air pada proses pengeringan bahan alam. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 10(1), 12–20.
31. Hasanah, U., & Novian, R. (2020). Pemilihan pelarut etanol dalam ekstraksi metabolit sekunder tanaman obat. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 7(2), 89–95.
32. Reo, R. P., Wulandari, E., & Santoso, H. (2017). Aplikasi rotary evaporator dalam pemekatan ekstrak tanaman obat. *Jurnal Kimia Terapan*, 5(1), 55–61.
33. Sahrial, M., Zulfahmi, & Ramadhan, F. (2018). Pengaruh suhu pengeringan terhadap rendemen ekstrak simplisia. *Jurnal Penelitian Pertanian*, 12(3), 78–85.
34. Senduk, J. J., Manoppo, J., & Rumengan, A. P. (2020). Hubungan porositas sampel dengan difusi pelarut pada ekstraksi senyawa bioaktif. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(2), 99–106.
35. Rasyid, A., Fitria, R., & Kurniawan, D. (2018). Rendemen ekstrak sebagai indikator kuantitas metabolit sekunder dalam simplisia herbal. *Jurnal Farmasi dan Sains*, 3(4), 115–122.