

**UJI KADAR FENOL TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ALGA HIJAU *Boergesenia forbesii* TERHADAP RADIKAL
DPPH**

FAJAR SAID ARIF

H311 16 006



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI KADAR FENOL TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ALGA HIJAU *Boergesenia forbesii* TERHADAP RADIKAL
DPPH**

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat

untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

Oleh :

**FAJAR SAID ARIF
H311 16 006**



MAKASSAR

2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI KADAR FENOL TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ALGA HIJAU *Boergesenia forbesii* TERHADAP RADIKAL
DPPH**

Disusun dan diajukan oleh

FAJAR SAID ARIF

H311 16 006

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

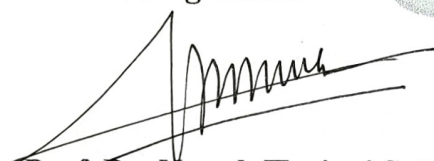
Universitas Hasanuddin

Pada 10 November 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Nunuk Hariani S, M.S.
NIP. 19601215 198702 2 001

Pembimbing Pertama



Dr. Herlina Rasyid, M.Si
NIP. 19930414 202204 4 001

Ketua Departemen Kimia



Dr. St. Fauziah, M.Si

NIP. 19720202 199903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fajar Said Arif

NIM : H311 16 006

Program Studi : Kimia

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

UJI KADAR FENOL TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ALGA HIJAU *Boergesenia forbesii* TERHADAP RADIKAL DPPH

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 3 November 2022

Yang menyatakan,



Fajar Said Arif

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil 'alamin, segala puji bagi Allah Subhana Wa Ta'ala tuhan semesta alam yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang selalu kita nantikan syafa'atnya di akhirat nanti.

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah Subhana Wa Ta'ala atas limpahan nikmat kesehatan, baik sehat fisik maupun akal pikiran, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Uji Kadar Fenol Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Hijau *Boergesenia forbesii* terhadap radikal DPPH**" disusun sebagai salah satu persyaratan akademik yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa betapa banyaknya hambatan dan beratnya menyelesaikan tugas ini. Tugas ini tidak akan selesai tanpa dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan tulus kepada:

1. ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S** selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik penulis, serta ibu **Dr. Herlina Rasyid, M.Si** selaku pembimbing pertama dan pembimbing akademik penulis yang sabar telah meluangkan waktu dan materi, serta masukannya dalam mengarahkan penulis mulai dari penyusunan proposal hingga tersusunnya skripsi ini.

2. tim penguji sarjana, bapak **Dr. Abdul Karim, M.Si** selaku ketua penguji dan ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si** selaku sekretaris penguji, terima kasih atas saran dan masukannya.
3. ketua Departemen Kimia, ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si**, dan sekretaris Departemen Kimia, ibu **Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si**, serta seluruh dosen Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membagi ilmu kepada penulis selama menempuh pendidikan.
4. para staf dan seluruh analis Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, terkhusus ibu **Kartini, S.Si**, selaku analis Laboratorium Kimia Organik.
5. teristimewa kedua orang tua tercinta penulis ayah **Arifuddin Azis** dan ibu **Suwarni** atas segala perhatian, kasih sayang, waktu, materi, pengorbanan, motivasi serta doa yang tulus yang tiada henti kepada penulis serta segenap keluarga besar penulis.
6. teman-teman seangkatan **Kimia 2016**, terkhusus saudara-saudariku **Kromofor 2016** salam “TOTALITAS HINGGA AKHIR”, kakak-kakak 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 dan 2015 serta adik-adik 2017, 2018, 2019 dan 2020 yang tak sempat kusebutkan satu persatu.
7. teman-teman ONMIPA, kak **Zakir**, kak **Ronald**, kak **Dian**, kak **Nandar**, **Reynaldi**, **Septian**, **Aryl**, **Patricia**, **Agung**, dan **Salman** atas dukungan, motivasi dan kebersamaan berlomba demi berusaha lolos nasional dan mendapatkan medali.

8. seluruh anggota Ena-ena Squad, **Septian, Mena, Novi, Alpian, Rey, Eka, Michael, Afhdhal, Dira**, dan **Nisya** atas dukungan dan kebersamaannya selama hari-hari penulis di bangku kuliah.
9. teman angkatan 2016 di **KM FMIPA Unhas** untuk segala cerita dan kenangan yang baik. USE YOUR MIND BE THE BEST. Salam “SEPERTI SEHARUSNYA”.
10. teman-teman tentor bimbingan belajar **Amsterdam Institute, kak Arif, kak Fahrul, kak Ilham, kak Faldy, kak Uwais, Hanif, Farid, Muflih** dan rekan-rekan lain selingkungan kerja, terima kasih atas pengalaman berharga selama hampir 3 tahun dalam mengajar dan membagikan ilmu kimia.
11. orang-orang baik yang memiliki peran baik secara langsung maupun tidak langsung dalam hidup penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis sadar bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih sangatlah jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang sifatnya membangun senantiasa penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Pada akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu kimia khususnya bidang Kimia Organik Bahan Alam.

Wassalamu’alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, Juli 2022

Penulis

FAJAR SAID ARIF

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Alga Laut <i>Boergesenia forbesii</i>	5
2.2 Metabolit Sekunder.....	6
2.2.1 Alkaloid.....	6
2.2.2 Flavonoid	8
2.2.3 Triterpenoid/Steroid	9
2.2.4 Saponin.....	9
	x

2.2.5	Tanin	11
2.3	Senyawa Antioksidan	11
2.4	Ekstraksi Metabolit Sekunder	13
2.5	Skrining Fitokimia	13
2.6	Kadar Fenol Total	14
BAB III METODE PENELITIAN.....		16
3.1	Bahan Penelitian	16
3.2	Alat Penelitian.....	16
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.4	Prosedur Penelitian	16
3.4.1	Ekstraksi	16
3.4.2	Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Pada Ekstrak...	17
3.4.2.1	Uji Fenolik	18
3.4.2.2	Uji Flavonoid	18
3.4.2.3	Uji Terpenoid/Steroid	18
3.4.2.4	Uji Alkaloid	18
3.4.2.5	Uji Saponin	19
3.4.3	Pengukuran Kandungan Fenol Total.....	19
3.4.3.1	Pembuatan Larutan Asam Galat	19
3.4.3.2	Pembuatan Larutan Pembanding (Asam Galat)	20
3.4.3.3	Pengukuran Kadar Fenol Total Ekstrak	20
3.4.4	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Reagen DPPH.....	21
3.4.4.1	Pembuatan Larutan <i>1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil</i> DPPH	21

3.4.4.2 Pembuatan Larutan Pembanding (Asam Askorbat).....	21
3.4.4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Maserasi dan Ekstraksi	23
4.2 Hasil Uji Fitokimia	23
4.3 Pengukuran Kadar Fenol Total	25
4.3.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat	25
4.3.2 Pengukuran Serapan Sampel	25
4.4 Analisis Uji Antioksidan Metode DPPH	27
4.5 Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Asam Askorbat.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Boergesenia forbesii</i>	5
2. Senyawa alkaloid alga hijau kelas Ulvophyceae	7
3. Senyawa flavonoid alga hijau kelas Ulvophyceae	8
4. Senyawa steroid alga hijau kelas Ulvophyceae	10
5. Reaksi reduksi dari DPPH	12
6. Persamaan reaksi antara senyawa fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu.....	15
7. Kurva kalibrasi standar asam galat	25
8. Kurva aktivitas antioksidan pada standar AA	28
9. Kurva aktivitas antioksidan pada ekstrak <i>B. forbesii</i>	30

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil partisi ekstrak aseton dengan pelarut <i>n</i> -heksana dan etil asetat..	23
2. Hasil uji fitokimia ekstrak <i>B. forbesii</i> dengan perlakuan jenis pelarut	24
3. Data absorbansi standar asam galat	25
4. Kadar fenol total ekstrak <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan aseton alga <i>B. forbesii</i>	26
5. Analisa aktivitas antioksidan AA berdasarkan konsentrasinya	28
6. Analisa aktivitas antioksidan ekstrak <i>B. forbesii</i> berbagai pelarut berdasarkan konsentrasinya	29
7. Rerata nilai IC ₅₀ ekstrak alga <i>B. forbesii</i> dengan perlakuan jenis pelarut dan standar AA	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja.....	40
2. Perhitungan.....	48
3. Dokumentasi Penelitian.....	80

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

DPPH : 1,1-difenil-2-pikrihidazil

IC₅₀ : Inbition Concentration

Ppm : part per million

GAE : Gallic Acid Equivalent

ABSTRAK

Penelitian tentang penentuan kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak alga hijau *B. forbesii* telah dilakukan. Ekstraksi sampel dengan metode maserasi, penentuan golongan senyawa yang diperoleh menggunakan uji fitokimia, uji kadar total fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode perendaman DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) diukur penyerapan pada panjang gelombang 517 nm dan dibandingkan dengan kontrol antioksidan vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar fenol total pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton berturut-turut adalah $0,2543 \pm 0,0031$; $0,2750 \pm 0,0032$; dan $0,3348 \pm 0,0021$ mg GAE/g ekstrak. Aktivitas antioksidan dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton memiliki aktivitas antioksidan kategori rendah dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah $694,45 \pm 20,78$; $554,13 \pm 8,79$; dan $527,98 \pm 13,35$ ppm. Kesimpulan dari penelitian ini terdapat korelasi yang signifikan ($p < 0,05$) antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan pada ekstrak alga *B. forbesii*.

Kata Kunci: antioksidan, uji fitokimia, IC_{50} , DPPH, *B. forbesii*.

ABSTRACT

Study of determination of total phenol content and antioxidant activity of green algae extract *B. forbesii* have been carried out. Extraction of samples by maceration method, determination of compound group based on phytochemical test, total phenol content assay using Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity assay using the immersion method of DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) measured absorption at a wavelength of 517 nm and compared with the control of antioxidant vitamin C. The results showed that total phenol content of the *n*-hexane, ethyl acetate, and acetone extract were $0,2543 \pm 0,0031$; $0,2750 \pm 0,0032$; and $0,3348 \pm 0,0021$ mg GAE/g extract, respectively. Antioxidant activity of the *n*-hexane, ethyl acetate, and acetone extract have low category antioxidant activity with value IC_{50} $694,45 \pm 20,78$; $554,13 \pm 8,79$; and $527,98 \pm 13,35$ ppm, respectively. The conclusion of this study indicates a significant correlation ($p < 0,05$) between total phenol content and antioxidant activity of the *B. forbesii* algae extract.

Keywords: antioxidant, phytochemical test, IC_{50} , DPPH, *B. forbesii*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman sumber daya alam di Indonesia baik hayati maupun non-hayati perlu dieksplorasi. Hal ini didukung wilayah Indonesia yang berada di daerah tropis dan perairan yang cukup luas. Dua per tiga wilayah Indonesia merupakan lautan yang mengandung sumber daya alam yang melimpah dan berpotensi sebagai bahan makanan atau sebagai obat-obatan, seperti rumput laut (Ruslan, dkk., 2019). Semua rumput laut dapat dipilah menjadi tiga golongan berdasarkan pigmen warnanya, yaitu alga merah (Rhodophyta), alga coklat (Phaeophyta), dan alga hijau (Chlorophyta) (Pereira, 2018).

Ekstrak tanaman alga laut telah dijadikan sebagai sumber senyawa aktif yang berpotensi untuk bahan obat antikanker, sehingga banyak penelitian telah berfokus pada alga laut. Senyawa pada ekstrak alga merah, coklat, dan hijau telah menunjukkan sifat antikanker secara *in vitro* (Sithranga dan Kathiresan, 2010; Murphy dkk., 2014). Aktivitas antikanker yang ditemukan pada ekstrak spesies alga hijau diantaranya *C. prolifera* sebagai antikanker sel HeLa (Costa dkk., 2010), *C. racemosa* sebagai antikanker sel C32 (Rocha dkk., 2007), *C. serrulata* sebagai antikanker sel L-1210 dan P-388 (Harada dkk., 1997), dan *U. lactuta* sebagai antikanker sel A549 (Guedes dkk., 2013).

Salah satu penyebab penyakit kanker adalah radikal bebas yang mengakibatkan stress oksidatif pada manusia. Senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat mengurangi stress oksidatif. Aktivitas antioksidan erat hubungannya dengan aktivitas antikanker (Arnanda dan Nuwarda, 2019). Untuk mencegah

terjadinya akumulasi radikal bebas yang dapat menyebabkan perkembangan penyakit kanker, diperlukan senyawa antioksidan untuk menetralkan, menurunkan, dan menghambat pembentukan radikal bebas baru. Senyawa yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrillhidrazil (DPPH) yang merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga senyawa ini hanya perlu dilarutkan apabila akan digunakan (Molyneux, 2004).

Senyawa antioksidan terkandung dalam ekstrak etanol alga *Boergesenia forbesii* (Harvey) Feldmann yang merupakan alga hijau yang tumbuh liar dan tersebar di Indonesia, seperti pada wilayah Sulawesi Selatan (Palallo, 2013), Nusa Tenggara Timur, Banten, dan Jawa Barat (Mushlihah dkk., 2020). Hasil penelitian Rumengan dkk. (2014), selain sebagai antioksidan ekstrak etanol *B. forbesii* juga terbukti memiliki aktivitas antipiretik. Alga ini memiliki kandungan nutrisi dan serat yang baik, selain itu kandungan senyawa metabolit sekunder ini juga berpotensi sebagai obat-obatan.

Tanaman dengan kandungan senyawa fenolik tinggi diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini karena kemampuan gugus fenol untuk mengikat radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga terdapat hubungan linier antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan (Wijayanti dkk., 2018). Farasat dkk. (2014) melaporkan bahwa alga hijau mengandung senyawa fenolik terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Berbagai senyawa metabolit sekunder seperti fenolik memiliki aktivitas biologis. (Firdausi dkk., 2015).

Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat menggunakan 3 jenis pelarut yang berbeda, yaitu *n*-heksana, etil asetat dan metanol (Yanuarti dkk., 2017). Konate dkk. (2010) menjelaskan bahwa ekstrak dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran akan menentukan total fenol dan aktivitas antioksidan. Namun sampai saat ini belum ada penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara kadar fenol total dan nilai aktivitas antioksidan alga *B. forbesii*.

Perbedaan tingkat kepolaran pelarut bertujuan untuk mengetahui senyawa fitokimia dominan dalam alga ini sehingga menentukan kadar fenol total dan aktivitas antioksidannya. Penelitian ini akan dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam alga *B. forbesii*, kadar fenol total dan uji aktivitas sebagai antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang ditemukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. berapa rendemen ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*?
2. metabolit sekunder apa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*?
3. berapa kadar fenol total pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*?
4. berapa aktivitas antioksidan dan nilai IC₅₀ terhadap DPPH ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak alga *B. forbesii*, nilai kadar fenol total, nilai aktivitas antioksidan dan nilai IC₅₀ terhadap DPPH dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton alga *B. forbesii*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. menentukan rendemen ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton alga *B. forbesii*.
2. mengidentifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*.
3. menentukan nilai kadar fenol total pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*.
4. menentukan aktivitas antioksidan dan nilai IC₅₀ terhadap DPPH ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan aseton dari alga *B. forbesii*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu memberikan informasi golongan senyawa metabolit sekunder, kadar fenol total, dan aktivitas antioksidan yang terdapat pada alga *B. forbesii*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Laut *Boergesenia forbesii*

Boergesenia forbesii (Gambar 1) merupakan alga hijau yang tumbuh liar dan tersebar di Indonesia, seperti pada wilayah Makassar Sulawesi Selatan (Palallo, 2013), Pantai Cemara Nusa Tenggara Timur, Pulau Tunda Banten, dan Cianjur Jawa Barat (Mushlihah dkk., 2020). *B. forbesii* juga telah dilaporkan secara luas dari Samudra Pasifik termasuk Laut Merah dan Samudra Hindia (Børgesen, 1936), Asia Tenggara (Silva dkk., 1996), Australia (Huisman, 2000), Kepulauan Marshall (Taylor, 1950), dan Palau (Ohba dkk., 2007).

B. forbesii adalah alga hijau kenosit uniseluler laut (*thallus*) yang membentuk kantong silindris berisi cairan, permukaan licin, warna hijau tua atau hijau muda kekuning-kuningan. Ukuran panjang *thallus* mencapai sekitar 5 cm dengan diameter mencapai sekitar 0,5 cm. *Thallus* tersebut membentuk rumpun dengan percabangan soliter berpusat ke bagian pangkal utama *holdfast*. Alga jenis ini bersifat mudah menempel (*epifit*) pada substrat-substrat lainnya di laut termasuk menempel pada tumbuhan laut lainnya (Kadi., 1988).



Gambar 1. *Boergesenia forbesii*

Adapun klasifikasi dari alga *Boergesenia forbesii* adalah sebagai berikut (World Magister of Marine Species, 2020):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Division : Chlorophyta
Subdivision : Chlorophytina
Class : Ulvophyceae
Order : Cladophorales
Family : Siphonocladaceae
Genus : *Boergesenia*
Species : *Boergesenia forbesii*

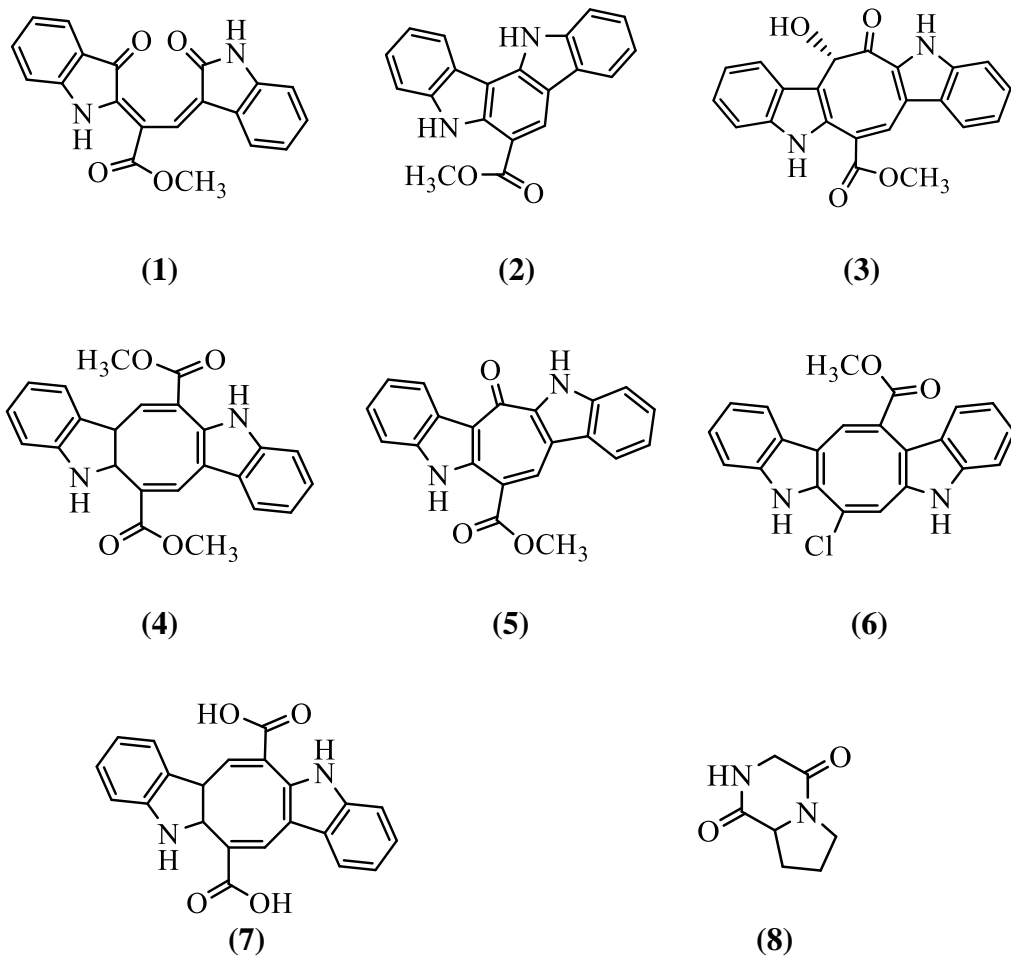
2.2 Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan bahan yang dihasilkan oleh tumbuhan yang dapat digunakan antara lain sebagai bahan untuk melindungi dirinya, hormon penarik serangga, dan lain-lain. Metabolit sekunder merupakan bahan kimia alami yang ditemukan di alam dan dijadikan sebagai rujukan untuk pengembangan obat-obatan. Beberapa golongan metabolit sekunder sering terjadi di dalam tumbuhan adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, dan lain-lain (Raharjo, 2013).

2.2.1 Alkaloid

Senyawa-senyawa yang mengandung atom N mempunyai sifat alkaloid dan sering digolongkan ke dalam golongan alkaloid, meskipun kerangka karbonnya menunjukkan bahwa senyawa ini turunan isoprenoid (Robinson, 1995). Secara wujud kebanyakan alkaloid berbentuk padatan kristal dan sedikit diantaranya

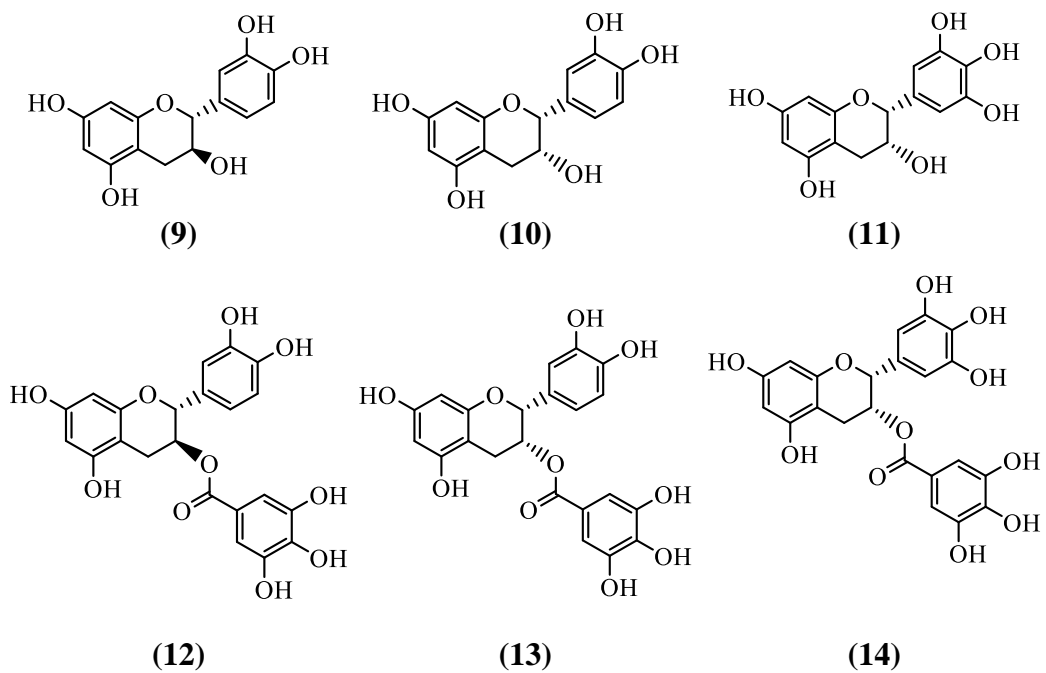
merupakan padatan amorf. Umumnya alkaloid memiliki kelarutan dan sifat lain yang berbeda-beda pada setiap jenisnya. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa (Harborne, 1987). Beberapa senyawa alkaloid (Gambar 2) yang berhasil diisolasi dari alga hijau kelas Ulvophyceae diantaranya racemosin A (1), racemosin B (2), racemosin C (3), caulerpin (4), caulerpic acid (7), dan caulerchlorin (6) dari *C. racemosa* (Liu dkk., 2013; Yang dkk., 2014; Ornano dkk., 2013); caulerpin (4) dari *C. sertularioides* dan *C. lamourouxii* (Güven dkk., 2010); caulerpin (4) dan caulersin (5) dari *C. serrulata* (Güven dkk., 2010) (Bryopsidales); dan pirolpiperazin-2,5-dion (8) dari *U. prolifera* (Ulvales) (Jiang dkk., 2013).



Gambar 2. Senyawa alkaloid alga hijau kelas Ulvophyceae

2.2.2 Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, mempunyai 2 cincin benzena (C₆) yang terikat pada rantai propana (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Sebagian besar senyawa flavonoid ditemukan di alam dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula (Kristanti dkk., 2008). Beberapa senyawa flavonoid dari laut memiliki pola substitusi yang unik dan aktivitas biologis yang menjanjikan (Martins dkk., 2018). Yoshie dkk (2000) menyatakan adanya katekin (**9**), epikatekin (**10**), epigallokatekin (**11**), katekin gallat (**12**), epikatekin gallat (**13**), dan epigallokatekin gallat (**14**) dalam alga hijau Ulvophyceae *A. ryukyuensis* (Dasycladales) dan *T. expeditionis* (Bryopsidales) (Gambar 3), namun flavonoid tidak ditemukan dalam alga hijau *M. nitidum* (Ulotrichales), *C. serrulata*, *C. racemosa* (Bryopsidales) dan *V. macrophysa* (Cladophorales).



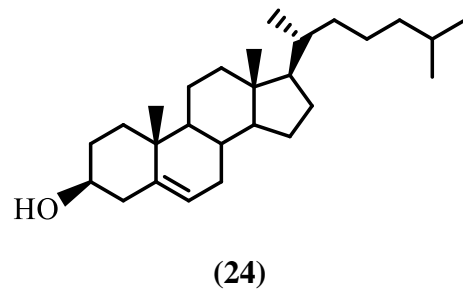
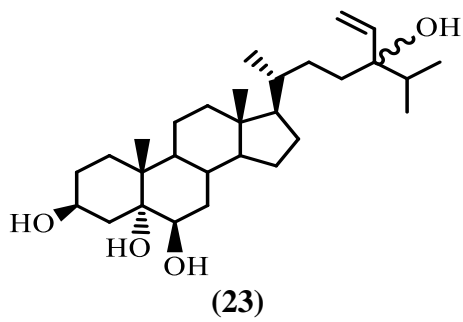
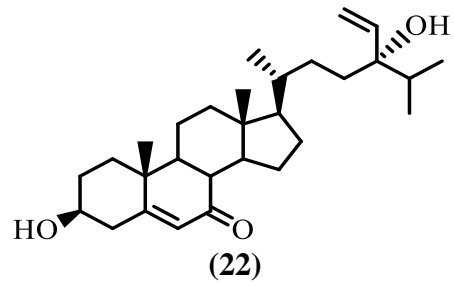
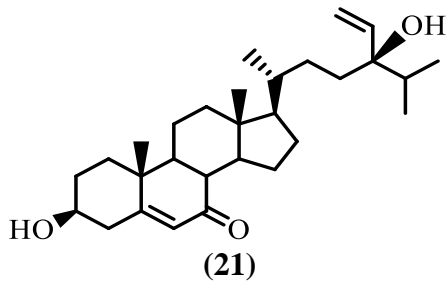
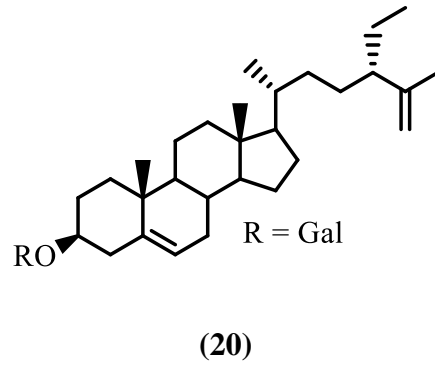
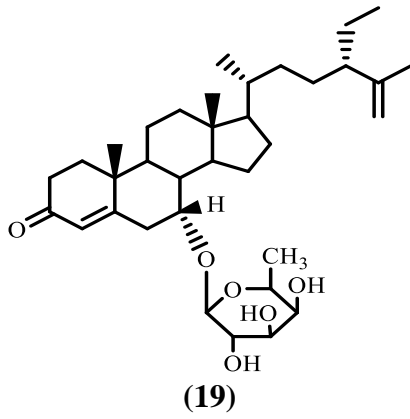
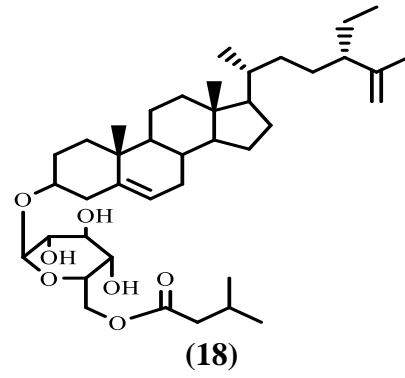
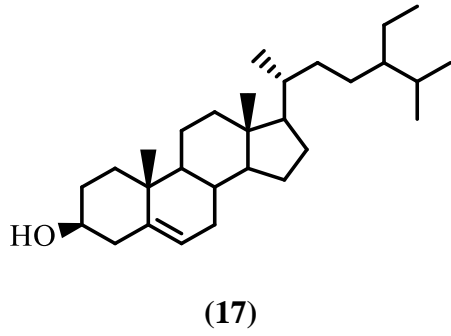
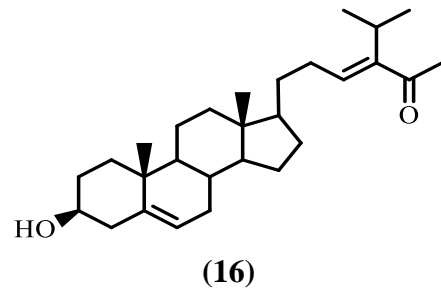
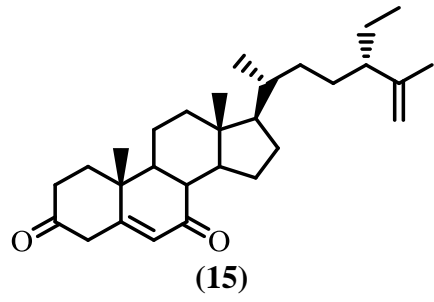
Gambar 3. Senyawa flavonoid alga hijau kelas Ulvophyceae

2.2.3 Triterpenoid/Steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis dirumuskan dari hidrokarbon yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida dan asam karboksilat. Steroid adalah golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren, terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana (Rusdi, 1988). Beberapa senyawa steroid yang berhasil diisolasi dari alga hijau kelas Ulvophyceae (Gambar 4) diantaranya β -sitosterol (**15**) dan (23*E*)-3 β -hidroksi-stigmasta-5,23-dien-28-on (**16**) dari *C. racemosa* (Yang dkk., 2015; Ragasa dkk., 2015); iyengadione (**17**), iyengaroside A (**18**), iyengaroside B (**19**) dan clerosterol galactoside (**20**) dari *C. iyengarii* (Bryopsidales) (Ali dkk., 2002); (24*R*)-5,28-stigmastadien-3 β ,24-diol-7-on (**21**), (24*S*)-5,28-stigmastadien-3 β ,24-diol-7-on (**22**) dan vinilkolesta-3 β ,5 α ,6 β ,24-tetraol (**23**) dari *U. australis* (Li dkk., 2017); dan kolest-5-en-3-ol (**24**) dari *U. prolifera* (Ulvaes) (Ali dkk., 2015).

2.2.4 Saponin

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C₃, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C₃ dan C₁₇ (Vincken dkk., 2007). Saponin terdapat di berbagai macam jenis tumbuhan yang merupakan metabolit sekunder yang menunjukkan sebagai aktivitas anti jamur. Dalam eter saponin tidak dapat larut tetapi mudah larut dalam air (Robinson, 1995). Beberapa alga hijau yang mengandung saponin diantaranya *C. crassa*, *C. scalpelliformis*, *C. veravalensis*, *U. fasciata*, dan *U. lactuca* (Sahayaraj dkk., 2013).



Gambar 4. Senyawa steroid alga hijau kelas Ulvophyceae

2.2.5 Tanin

Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat. Senyawa tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Fahey dan Berger, 1988). Beberapa alga hijau yang mengandung tanin diantaranya *C. crassa*, *C. scalpelliformis*, *C. veravalensis*, *U. fasciata*, dan *U. lactuca* (Sahayaraj dkk., 2013).

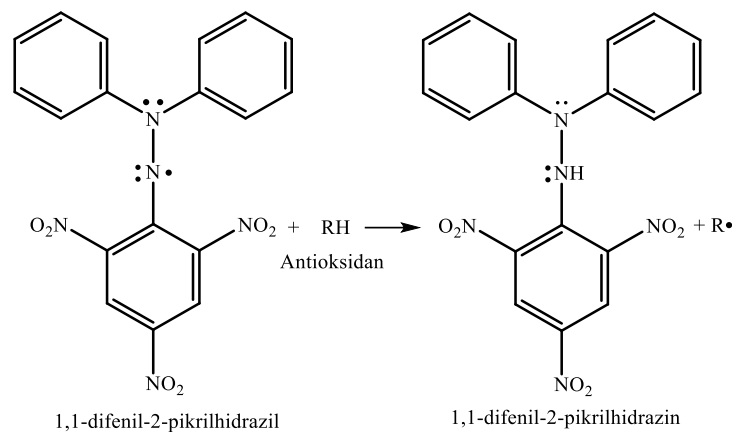
2.3 Senyawa Antioksidan

Senyawa antioksidan didefinisikan sebagai zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990). Antioksidan berfungsi sebagai senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas penyebab karsinogenis, kardiovaskuler dan penuaan dalam tubuh manusia. Antioksidan diperlukan karena tubuh manusia tidak memiliki sistem pertahanan antioksidan yang cukup, sehingga apabila terjadi paparan radikal berlebihan, maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (berasal dari luar) (Yen dan Chen, 1995).

Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai sampel dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa (Prakash dkk., 2001), selain itu metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis (Pratimasari, 2009).

Prinsip metode pengujian DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan yang terkandung dalam suatu

ekstrak tanaman tertentu. Reaksi reduksi dari DPPH ditunjukkan pada Gambar 5. Ketika larutan DPPH berinteraksi dengan suatu larutan pendonor elektron (antioksidan), elektron tunggal pada radikal bebas larutan DPPH menjadi berpasangan. Reaksi larutan yang mengandung senyawa antioksidan dengan DPPH akan membentuk DPPH tereduksi. Reaksi tersebut menyebabkan warna larutan akan berubah dari ungu tua menjadi kuning pucat, seiring dengan banyaknya DPPH yang tereduksi. Hasil dekolorisasi larutan DPPH oleh senyawa antioksidan tersebut setara dengan jumlah elektron yang tertangkap atau jumlah hidrogen yang diserap (Moon dan Shibamoto, 2009; Molyneux, 2004).



Gambar 5. Reaksi reduksi dari DPPH

Aktivitas antioksidan selanjutnya dianalisis menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis berdasarkan perubahan absorbansi DPPH pada panjang gelombang tertentu. Salah satu parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah nilai *Efficient Concentration 50%* (EC₅₀) atau yang lebih dikenal dengan *Inhibitory Concentration 50%* (IC₅₀). Nilai *Inhibitory Concentration 50%* (IC₅₀) atau konsentrasi inhibisi adalah konsentrasi ekstrak (µg/mL) yang mampu menangkap 50% radikal bebas DPPH atau yang mampu menghambat 50% oksidasi (Molyneux, 2004).

2.4 Ekstraksi Metabolit Sekunder

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan komponen zat aktif dalam bahan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dapat diartikan sebagai suatu proses penarikan atau pemisahan komponen bioaktif suatu bahan menggunakan pelarut yang sesuai, sehingga komponen yang diinginkan dapat larut (Zhang, Lin, & Ye 2018). Ekstrak total dari sampel tumbuhan yang telah diekstraksi dapat diperoleh dengan cara pemekatan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* (Harborne, 1987).

Faktor-faktor yang menentukan hasil ekstraksi adalah waktu ekstraksi, perbandingan antara jumlah sampel dan pelarut. Semakin lama waktu ekstraksi, maka proses tumbukan antara bahan dan pelarut semakin besar. Hal ini dapat mengoptimalkan komponen bioaktif yang dipisahkan dari bahan. Apabila maserasi yang dilakukan terlalu cepat atau terlalu lama, maka hasil maserasi tidak optimal (Ibrahim dan Sitorus, 2013). Perbandingan antara jumlah bahan dan pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, jumlah pelarut yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, namun dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja secara optimal (Voigt, 1994).

2.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu metode analisis yang bertujuan untuk mengetahui adanya metabolit sekunder dalam suatu sampel. Beberapa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan steroid dapat diketahui dengan menggunakan skrining fitokimia (Hanani, 2014).

Menurut Harborne (1987), flavonoid dapat diuji dengan cara ekstrak suatu sampel ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok kuat lalu

tambahkan serbuk Mg dan dikocok kuat lagi. Sampel positif berisi flavonoid apabila terdapat buih dan sampel menjadi warna jingga. Alkaloid dapat diuji dengan cara ekstrak suatu sampel dibagi menjadi dua tabung terpisah, kemudian salah satu tabung ditambahkan pereaksi Dragendorff dan tabung lainnya ditambahkan pereaksi Wagner. Sampel positif mengandung alkaloid apabila tabung yang ditambahkan pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan kemerahan dan tabung yang ditambahkan pereaksi Wagner menghasilkan endapan kecoklatan.

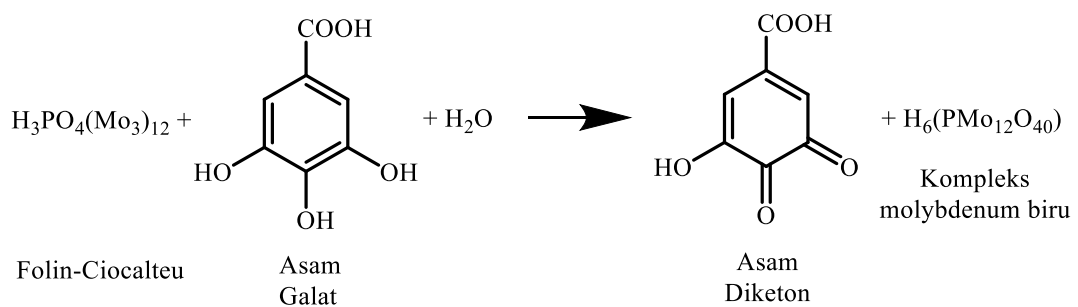
Saponin dapat diuji dengan cara sampel diekstraksi menggunakan kloroform amoniakal, kemudian saring. Setelah itu dikocok kuat-kuat. Apabila timbul busa, tambahkan HCl 2N, kemudian kocok kuat-kuat kembali. Sampel positif mengandung saponin apabila terdapat busa yang banyak dan bertahan hingga sepuluh menit. Terpenoid dan steroid dapat diuji dengan cara sampel diekstraksi menggunakan kloroform, kemudian ekstrak diteteskan ke plat tetes, dan didiamkan hingga kering. Ekstrak yang telah kering kemudian diteteskan asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat. Sampel positif mengandung terpenoid apabila mengalami perubahan warna menjadi merah atau coklat dan positif mengandung steroid apabila mengalami perubahan warna menjadi biru, ungu atau hijau.

2.6 Kadar Fenol Total

Senyawa fenolik merupakan golongan senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, yaitu gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah mengalami oksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas. Senyawa fenolik alami umumnya berupa polifenol yang membentuk senyawa eter, ester, atau glikosida, antara lain tanin, flavonoid,

kumarin, tokoferol, lignin, turunan asam sinamat, dan asam organik polifungsional. Aktivitas senyawa fenol berasal dari jumlah gugus hidroksil pada cincin benzena. (Alu'datt dkk., 2017).

Metode yang digunakan untuk menentukan kadar fenol total dalam ekstrak adalah metode kolorimetri menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode spektrofotometri UV-Vis dengan prinsip kolorimetri membutuhkan standar dalam penentuan konsentrasi total fenolik dalam ekstrak. Persamaan reaksi antara asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu ditampilkan pada Gambar 6. Pereaksi Folin-Ciocalteu (FC) merupakan salah satu pereaksi redoks yang bereaksi spesifik dengan senyawa fenol membentuk kompleks biru yang dapat diukur kadarnya (Salim dkk., 2020). Ekstrak kasar metanol dari *Padina sp* memiliki kadar fenol total adalah 4,43 mg GAE/g ekstrak (Khadijah dkk., 2021).



Gambar 6. Persamaan reaksi antara asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu (Tursiman dkk., 2012).