

**ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER HASIL
FRAKSINASI TUMBUHAN ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*)**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh:

**RACHMAD KRESMON ASMORO
H71216042**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2021**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Rachmad Kresmon Asmoro

NIM : H71216042

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiasi dalam penulisan skripsi saya yang berjudul “ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER HASIL FRAKSINASI TUMBUHAN ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*)”. Apabila dikemudian hari skripsi saya terbukti hasil plagiasi, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 10 Agustus 2021

Yang menyatakan,

A 10,000 Indonesian Rupiah postage stamp is shown with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '10000', 'METERAI TEMPEL', and '5-627AJX152344492'.

Rachmad Kresmon Asmoro

NIM. H71216042

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER HASIL FRAKSINASI
TUMBUHAN ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*).

Diajukan oleh :

Rachmad Kresmon Asmoro

NIM: H7126042

Telah diperiksa dan disetujui di

Surabaya, 29 Juli 2021

Dosen Pembimbing I



Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Dosen Pembimbing II



Hanik Faizah, S.Si, M.Si
NUP. 20140919

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Rachmad Kresmon Asmoro ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 6 Agustus 2021

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Penguji II



Hanik Faizah, S.Si, M.Si
NUP. 201409019

Penguji III



Irul Hidayati, M.Kes
NIP. 198908302014032008

Penguji IV



Ika Mustika, M.Kes
NIP. 198702212014032004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya




Dr. Hj. Eva Fatimah Rusydiyah, M.Ag.
NIP. 197312272005012003



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300

E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Rachmad Kresmon Asmoro
NIM : H71216042
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
E-mail address : kresmon13@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Sekripsi Tesis Desertasi Lain-lain

(.....)

yang berjudul :

Analisis Kandungan Metabolit Sekunder Hasil Fraksinasi Tumbuhan Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*)

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 11 Agustus 2021
Penulis,

(Rachmad Kresmon Asmoro)

organik yang disintesis oleh tumbuhan dan dapat digunakan sebagai sumber senyawa obat seperti flavonoid, fenol, tanin, saponin, steroid, alkaloid, dan terpenoid. Senyawa tersebut dihasilkan oleh tumbuhan sebagai bentuk mekanisme pertahanan dari serangan biotik maupun abiotik (Setyorini dan Eriyanto, 2016).

Penciptaan berbagai tumbuhan di muka bumi ini dengan kandungan metabolit sekunder yang ada didalamnya salah satunya diperuntukkan agar manusia dapat memanfaatkannya dalam memenuhi kehidupan sehari-hari, sebagaimana firman Allah SWT dalam Al-Qur'an surat Abasa ayat 24-32 yang berbunyi:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ (٢٤) أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (٢٥) ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا (٢٦)
فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (٢٧) وَعِنَبًا وَقَضْبًا (٢٨) وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (٢٩) وَحَدَائِقَ غُلْبًا (٣٠) وَفَاكِهَةً
وَأَبًّا (٣١) مَتَاعًا لَكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ (٣٢)

Artinya: “Maka hendaknya manusia itu memperhatikan makanannya. Sesungguhnya kami benar-benar mencurahkan air (dari langit), kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya, lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu anggur dan sayur-sayuran, zaitun dan kurma, kebun-kebun yang lebat, dan buah-buahan serta rumput-rumputan, untuk kesenanganmu dan untuk hewan-hewan ternakmu.”

Berdasarkan ayat di atas secara tidak langsung menjelaskan bahwa tumbuhan merupakan kebutuhan yang sangat penting bagi kehidupan makhluk hidup dan memiliki banyak manfaat bagi manusia. Didalam tafsir Ilmi Kemenag ayat tersebut ditafsirkan “ ayat-ayat ini memberitahukan bahwa Allah menciptakan tumbuhan sebagai sumber makanan bagi manusia dan hewan. Melalui tumbuhan, manusia dan hewan dapat memenuhi kebutuhan biologisnya

di dalam tubuh”. Berdasarkan tafsiran tersebut dapat diketahui bahwa Allah menciptakan tumbuhan bukan semata-mata hanya menciptakan, melainkan memiliki tujuan dan manfaat tertentu terutama bagi manusia. Salah satu manfaat dari tumbuhan adalah kandungan metabolit sekunder yang dapat digunakan dalam bidang kesehatan diantaranya antioksidan, antikanker, dan antibakteri.

Analisis fitokimia yang dilakukan oleh Nursandi (2014), menunjukkan bahwa *Caulerpa* sp. mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder meliputi alkaloid, fenol, flavonoid, dan triterpenoid. Pada penelitian oleh Ridowati dan Asnani (2016), juga diketahui bahwa jenis alga *Caulerpa racemosa* mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, steroid, alkaloid, dan fenol yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian Anggraeni (2018), menyebutkan bahwa anggur laut memiliki kandungan metabolit sekunder seperti senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherechia coli* dan jamur *Candida albicans*. Sedangkan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai zat antioksidan.

Pada beberapa penelitian juga telah menunjukkan bahwa *C. racemosa* memiliki aktivitas antimikroba (antifungi, antibakteri, dan antivirus), antikarsiogenik, antioksidan, dan antikanker (Kandhasamy and Arunachalan, 2008; Fithriani, 2009; Raj *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Budji (2010), didapatkan hasil bahwa *C. racemosa* dapat menghambat bakteri patogen seperti *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang dilakukan oleh Utami (2014), dengan menggunakan *C. racemosa* yang di dapatkan di

daerah Pantai Tirta Samudra Bandengan, Jepara, Jawa Tengah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, dan *S. Typhimurium*.

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam tumbuhan dapat diisolasi dengan menggunakan metode ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses isolasi zat terlarut dengan menarik senyawa metabolit sekunder dalam suatu tumbuhan. Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan yaitu maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sangat sederhana dan efektif untuk memisahkan senyawa aktif dari suatu tumbuhan. Maserasi dilakukan dengan merendam sampel tanaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan senyawa yang dibutuhkan dan dilakukan secara berulang kali hingga kandungan senyawa tersebut habis (Rachmawati, 2016).

Pada dasarnya, senyawa metabolit sekunder memiliki sifat kepolaran yang berbeda-beda sehingga perlu dilanjutkan dengan fraksinasi. Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang bersifat non polar akan terlarut dalam pelarut non polar, senyawa semi polar terlarut dalam pelarut semi polar, dan senyawa polar terlarut dalam pelarut polar (Harborne, 1987). Jenis pelarut polar yang biasa digunakan yaitu metanol, pelarut semi polar yaitu etil asetat dan pelarut non polar yaitu n-heksan (Setiawan dan Febriyanti, 2017)

Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman yang dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi dan fraksinasi dengan menggunakan jenis pelarut yang berbeda menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang berbeda (Romadanu dkk., 2014; Pratiwi *et al.*, 2016; Suryani *et*

al., 2017; Herli dan Handayani, 2019; Perawati *et al.*, 2019; Pamungkas dan Indrayudha, 2019; Rahayuningsih *et al.*, 2020). Penelitian oleh Romadanu dkk. (2014), dilakukan ekstraksi bunga lotus (*Nelumbo nucifera*) dengan menggunakan 3 jenis pelarut yaitu metanol, etil asetat, dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga lotus mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Sedangkan pada ekstrak etil asetat dan n-heksana bunga lotus mengandung golongan senyawa alkaloid dan tanin. Penelitian oleh Herli dan Handayani (2019) dengan menggunakan tanaman daun ketapang dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol dan fraksinasi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid, fraksi n-heksana mengandung senyawa steroid, sedangkan fraksi etil asetat mengandung flavonoid.

Penelitian yang serupa juga dilakukan oleh Perawati *et al.* (2019) dengan menggunakan tanaman sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) dan dilakukan maserasi dengan pelarut etanol dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan n-butanol. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid, fraksi n-heksan mengandung steroid, fraksi etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, dan tanin, sedangkan fraksi n-butanol mengandung senyawa saponin. Berdasarkan penelitian tersebut membuktikan bahwa fraksinasi dengan menggunakan jenis pelarut yang berbeda akan menghasilkan kandungan metabolit sekunder yang berbeda-beda. Selain itu juga terlihat bahwa kandungan metabolit sekunder antara jenis tumbuhan satu dengan yang lain dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda meskipun menggunakan fraksinasi pelarut yang sama.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari fraksi metanol, etil asetat, dan n-heksana tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*) melalui uji fitokimia.

1.2 Rumusan Masalah

Apa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi metanol, etil asetat, dan n-heksana tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi metanol tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
- b. Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi etil asetat tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
- c. Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder n-heksana tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti/Mahasiswa

- a. Menambah informasi dan wawasan mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi metanol, etil asetat, dan n-heksana

tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*) menggunakan uji fitokimia.

- b. Dapat dijadikan sebagai referensi bagi mahasiswa atau peneliti untuk perkembangan penelitian terkait kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi metanol, etil asetat, dan n-heksana tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*).

1.4.2 Bagi Masyarakat Umum

- a. Memberikan informasi dan wawasan kepada masyarakat dan para pembaca tentang kandungan senyawa metabolit sekunder tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan menggunakan fraksi metanol, etil asetat, dan n-heksana.
- b. Dapat dijadikan alternatif pengobatan ataupun pengembangan bidang farmasi dengan memanfaatkan kandungan yang terdapat didalam tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*).

1.5 Batasan Penelitian

1. Sampel anggur laut (*Caulerpa racemosa*) didapatkan di daerah pesisir Paciran, Lamongan.
2. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol dan fraksinasi menggunakan 3 pelarut yaitu metanol, etil asetat, dan n-heksana.
3. Uji kandungan senyawa metabolit sekunder menggunakan uji fitokimia.

Family : Caulerpaceae
Genus : *Caulerpa*
Species : *Caulerpa racemosa*

Caulerpa racemosa adalah salah satu kelompok rumput laut yang merupakan makroalgae yang masuk kedalam family Caulerpaceae. *Caulerpa* merupakan spesies dari kelas Chlorophyceae dan termasuk kedalam divisi Chlorophyta. Tumbuhan *C. racemosa* tersebar di beberapa Negara-negara tropis dan subtropis (Malaysia, Singapura, Thailand, Vietnam, China, Indonesia, dan kawasan barat perairan pasifik). Alga hijau jenis ini bisa tumbuh di bagian tepi karang yang terbuka, perairan yang tenang, dan bersubstrak pasir yang keras. Jenis tanaman ini sering digunakan sebagai makanan oleh masyarakat Kepulauan Seribu dan Tapanuli baik mentah maupun matang meskipun anggur laut memiliki rasa seperti lada. Disebut anggur laut karena tumbuhan ini hidup bergerombol seperti buah anggur. Pertumbuhan anggur laut bersifat saprofitik maupun epifitik dan kadang-kadang berhubungan dengan tumbuhan laut lainnya (Atmadja *et al.*, 1996 dalam Putri, 2016).

Anggur laut memiliki perakaran relatif besar dan bentuknya meruncing disebut ramuli yang bentuknya seperti paku. Ramuli sendiri merupakan organ utama dari pecabangan stolon yang berfungsi sebagai organ cabang, tekstur dari ramuli agak gembos dan lunak. Selain itu anggur laut memiliki talus dengan ukuran stolon sekitar 5 cm. Sistem reproduksi dari anggur laut yaitu dengan cara mengeluarkan suatu cairan berwarna putih, setelah itu anggur laut akan mati dalam beberapa hari kemudian. Anggur laut mati dengan kehilangan warnanya

yang kemudian dapat mengotori perairan. Spesies ini memiliki persebaran yang luas dalam berbagai substrat (Admatja *et al.*, 1996 dalam Putri, 2016).

C. racemosa umumnya banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai olahan makanan. Namun, selain sebagai makanan *C. racemosa* juga berpotensi sebagai produk farmasi seperti antibakteri, antijamur, bahkan oleh masyarakat pesisir tanaman ini digunakan sebagai obat luka bakar. Penggunaan tanaman anggur laut yang berlebihan dapat menyebabkan kepunahan dalam jangka waktu panjang, padahal untuk mengisolasi senyawa bioaktif pada anggur laut membutuhkan jumlah yang banyak, sehingga perlu dilakukan budidaya tumbuhan tersebut (Putri, 2016).

Anggur laut memiliki kandungan kimia yang sangat bermanfaat bagi manusia seperti vitamin A, vitamin C, kalsium, zat besi, dan yodium. Oleh karena itu tumbuhan anggur laut dapat digunakan sebagai bahan kecantikan dan pengobatan. Selain digunakan pada bidang kesehatan, anggur laut dapat digunakan sebagai suplemen serta pakan hewan ternak, agen pengkondisian tanah, dan pupuk (Blunden *et al.*, 1992). Anggur laut memiliki kandungan hemiselulosa dan selulosa yang merupakan produk metabolit primer dalam bentuk serat yang tidak larut dalam air sehingga dapat mencegah kanker pada usus besar, ambeien, dan sembelit (Astawan, 2004). Selain kandungan metabolit primer, anggur laut juga memiliki kandungan metabolit sekunder dalam bentuk senyawa bioaktif seperti alkaloid, triterpenoid, diterpenoid, fenol, dan flavonoid (Suhartini, 2003).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Siagian dkk. (2018), anggur laut (*Caulerpa* sp.) dilakukan maserasi bertingkat dengan pelarut polar (etanol),

semi polar (eti asetat), dan non polar (dietil eter), hasil menunjukkan bahwa ekstraksi dengan pelarut dietil eter mengandung senyawa saponin, sedangkan ekstraksi dengan pelarut etil asetat dan etanol mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Penelitian oleh Santoso *et al.* (2002), ekstraksi anggur laut (*C. racemosa*) dengan menggunakan pelarut polar, semi polar, dan non polar menunjukkan hasil bahwa *C. racemosa* yang diekstraksi dengan pelarut etil asetat menunjukkan kandungan total fenol tertinggi dengan nilai 46,53 mg TAE/g berat basah dan 41,08 mg TAE/g berat kering. Selain itu, penelitian serupa juga dilakukan oleh Rachmawati *et al.* (2016) dan Marfuah dkk. (2018), menunjukkan bahwa anggur laut (*C. racemosa*) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, etanol, etil asetat, dan n-heksana menunjukkan adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder yaitu fenol, flavonoid, tanin, dan alkaloid.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan satu komponen atau lebih yang berasal dari suatu bahan dengan cara mengambil zat aktif yang diinginkan menggunakan suatu pelarut. Hasil dari proses ekstraksi biasanya berupa cairan, bubuk, maupun semi padat yang merupakan zat aktif dari suatu bahan. Ekstraksi sendiri memiliki tujuan yaitu untuk memisahkan zat aktif yang diinginkan dan membuang bagian yang inert (Rachmawati, 2016).

Salah satu bentuk dari ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi yang sangat sederhana. Metode ini dilakukan dengan merendam suatu bahan yang akan di ekstrak pada suatu pelarut. Maserasi

biasanya dilakukan dengan perendaman selama 4-10 tergantung jenis sampel. Pada saat perendaman, pelarut akan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif melalui dinding sel sehingga membuat zat bioaktif yang terdapat di dalam substrat menjadi larut bersama dengan pelarut. Kemudian larutan yang pekat akan keluar dikarenakan terjadi perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam sel. Metode maserasi memiliki keuntungan yaitu proses pengerjaannya lebih sederhana serta alat yang digunakan lebih mudah didapat. Sedangkan kerugiannya yaitu ekstraksi menjadi kurang sempurna dan proses pengerjaannya membutuhkan waktu yang lama (Rachmawati, 2016).

2.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa melalui peristiwa penarikan pada suatu ekstrak dengan berbagai macam pelarut yang tidak saling bereaksi dengan prinsip perbedaan sifat kepolaran. Macam-macam pelarut yang biasanya digunakan dalam fraksinasi adalah metanol, n-heksana, dan etil asetat. Pelarut metanol bersifat polar sehingga pada proses fraksinasi dapat menarik berbagai senyawa yang bersifat polar seperti fenol dan flavonoid, etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik berbagai senyawa semi polar seperti flavon, isoflavon, dan flavanon, dan pelarut n-heksan dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti metana, benzena, dan jenis-jenis lemak. Oleh karena itu dapat diketahui bahwa pelarut yang memiliki sifat polar dapat melarutkan senyawa-senyawa polar dan sebaliknya pelarut yang memiliki sifat non polar dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar (Mutiasari, 2012).

Metode fraksinasi terdiri dari beberapa macam seperti kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis (KLT), dan fraksinasi cair-cair. Fraksinasi cair-cair merupakan pemisahan senyawa menggunakan dua cairan yang tidak saling bercampur yang akan memisahkan suatu senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Metode fraksinasi cair-cair digunakan untuk memisahkan beberapa senyawa dalam jumlah yang besar (Mutiasari, 2012). Pada penelitian Pamungkas dan Indrayudha (2019), metode fraksinasi cair-cair menggunakan 3 pelarut yang berbeda berdasarkan nilai kepolarannya yaitu etanol-air, etil asetat, dan n-heksana. Hasil diketahui bahwa senyawa-senyawa pada fraksi etanol-air menghasilkan paling tinggi jumlahnya yaitu 98%, sedangkan hasil pada fraksi etil asetat 0,8 % dan fraksi n-heksana 1,2 %. Dari penelitian tersebut dapat diketahui bahwa metode fraksinasi cair-cair memiliki keefektifitasan yang baik untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder dengan 3 pelarut yang berbeda.

2.4 Metabolit sekunder dan Uji Fitokimia

Metabolit sekunder merupakan senyawa-senyawa yang secara alami bersumber dari tumbuhan yang dapat memberikan faktor fisiologis terhadap makhluk hidup seperti senyawa bioaktif. Senyawa ini berfungsi sebagai pertahanan kehidupan suatu organisme. Metabolit sekunder juga merupakan hasil sintesis dari metabolit primer yang dapat menentukan aktivitas biologis suatu tumbuhan (Rizal, 2011). Senyawa metabolit sekunder biasanya berasal dari bagian tumbuhan baik akar, batang, bunga, maupun daun. Kandungan jenis dan jumlah suatu senyawa metabolit sekunder tergantung pada keadaan abiotik dan biotiknya.

Sumber: (Ilyas, 2013).

Senyawa steroid biasanya berupa glikosida. Glikosida sendiri merupakan yang terdiri dari aglikon dan gula. Apabila aglikon tersebut bersifat polar sehingga mampu larut dalam pelarut polar dan sebaliknya apabila aglikon bersifat non polar maka steroid dapat larut dalam pelarut non polar (Purwatresna, 2012). Mekanisme senyawa steroid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak sel membran sel bakteri (Monalisa dkk., 2011).

Senyawa steroid diketahui dapat larut pada fraksi kloroform dan ekstrak metanol daun kerebau (*Callicarpa longifolia* Lam.) (Novadiana dkk., 2014). Dalam penelitian yang dilakukan Gazali dkk. (2019), steroid diketahui dapat larut pada ekstrak daun nipah baik dengan pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksana. Pengujian senyawa steroid pada ekstrak teripang gama (*Stichopus variegatus*) juga menunjukkan bahwa steroid dapat larut dalam pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksana (Meydia dkk., 2016).

2.4.2 Kelompok terpenoid (senyawa yang bersifat volatile)

Kelompok senyawa ini merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki spektrum paling luas, artinya senyawa-senyawa dalam golongan ini memiliki strukturnya ada yang berupa polisiklik (struktur cincin) sampai berupa rantai lurus. Terpenoid merupakan derivat dehidrogenasi dan oksigenasi dari senyawa terpen. Kerangka karbon terpenoid memiliki kesamaan dengan senyawa isopren (C_5H_8) sehingga disebut juga isoprenoid. Secara umum, terpenoid memiliki rumus molekul $(C_5H_8)_n$ dimana n adalah penentu kelompok terpenoid (Gambar 2.3). Secara

heksana), serta dapat pula larut pada pelarut semi polar (etil asetat) dan pelarut polar (metanol). Soni (1981), menambahkan bahwa alkaloid juga dapat larut dalam alkohol, aseton, dan kloroform, namun sulit larut dalam air. Selain itu, umumnya senyawa alkaloid yang terkandung didalam tumbuhan terikat dengan asam organik dalam bentuk garam sehingga hanya dapat larut pada pelarut organik seperti etil asetat, benzena, aseton, kloroform, metanol, dan etanol (Kapondo dkk., 2020). Pada penelitian Ningrum dkk. (2016) juga menyatakan bahwa batang karamunting (*Rhodomirtus tomentosa*) yang diekstraksi dengan pelarut etanol 90% menunjukkan adanya beberapa jenis alkaloid meliputi Maritidin, Ismine, Berberin, Lycorine, Tazettine, Homolycorine dan Deoxytazettine.

2.4.4 Kelompok fenolik

Kelompok fenolik merupakan senyawa aromatik dan memiliki gugus hidroksil (OH) fenol seperti tanin, flavonoid, lignin, dan lainnya. Senyawa-senyawa yang tergolong dalam fenolik memiliki ciri sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang diikat dengannya. Senyawa fenolik dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara merusak lipid pada membran plasma sehingga isi sel pada mikroorganisme menjadi keluar (Pratiwi, 2008).

Harborne (1987), mengatakan bahwa senyawa fenolik cenderung larut dalam pelarut polar. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenolik pada ekstraksi biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dan ekstraksi buah pandan (*Pandanus tectorius*) dapat larut dengan baik pada pelarut aseton dan menghasilkan rendemen tertinggi (Sari dkk., 2012; Rifai

dkk., 2018). Pada beberapa penelitian membuktikan bahwa senyawa fenol dapat terdeteksi atau larut dalam pelarut aquades, etil asetat, aseton, etanol, dan metanol (Lestari dkk., 2018; Prayoga dkk., 2019; Noviyanty dkk., 2019).

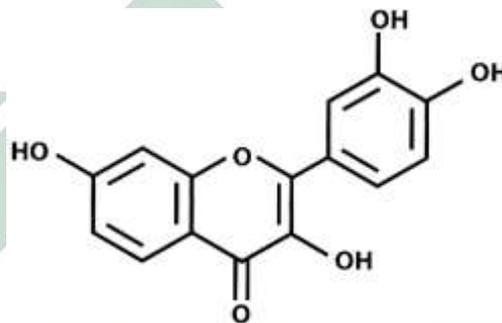
Pengelompokan senyawa fenol dibedakan berdasarkan jumlah gugus hidroksil pada cincin aromatiknya. Senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil lebih dari satu disebut polifenol dimana dalam golongan tersebut terdapat senyawa flavonoid dan tanin.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang dapat ditemukan di hampir seluruh bagian tumbuhan, terutama pada bagian lapisan epidermis daun dan kulit buah. Kelompok utama dari flavonoid adalah anthocyanin, flavonon, isoflavon, dan flavon. Secara kimia, struktur senyawa flavonoid mengandung 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin aromatik dan dihubungkan dengan dengan tiga satuan karbon (Gambar 2.2). Beberapa senyawa flavonoid memiliki rasa pahit sehingga dapat menjauhkan serangga-serangga tertentu pada tumbuhan (Sastrohanidjojo, 1996).

Pada penelitian Sabir (2005), menyatakan bahwa flavonoid dalam propolis *Trigona sp.* berpengaruh terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dalam konsentrasi 0,1 %. Flavonoid juga memiliki sifat lipofilik, karena senyawa tersebut dapat merusak lapisan lipid pada membran sel bakteri (Monalisa dkk., 2011). Senyawa flavonoid diketahui memiliki peranan dalam penyerbukan oleh serangga (Sastrohanidjojo, 1996).

Pada bidang farmasi senyawa tanin digunakan sebagai obat antiseptik dan diare. Tanin dapat membuat pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna karena senyawa tersebut menarget polipeptida dinding sel sehingga sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik dan bakteri akan mati (Harborne, 1987). Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada gambar 2.7.



Gambar 2. 7 Struktur senyawa tanin.
Sumber: (Ilyas, 2013).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Supriyanto dkk. (2017), diketahui bahwa tanin dapat larut pada ekstrak daun mimba dengan menggunakan pelarut air, etanol, dan metanol. Hanani (2014), juga menyebutkan bahwa tanin dapat larut dalam alkohol, aseton, dan air. Selain itu, Gazali dkk. (2019) membuktikan bahwa tanin dapat larut pada ekstraksi daun nipah dengan menggunakan pelarut etil asetat.

Alat penelitian yang digunakan pada penelitian ini corong pisah, tabung reaksi, erlenmeyer, batang pengaduk, kawat ose, pipet tetes, vial, neraca analitik, *rotary evaporator*, gelas ukur, labu ukur, oven, rak tabung reaksi, dan *freezer*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang di gunakan pada penelitian ini meliputi tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang berasal dari perairan Paciran-Lamongan, asam asetat, n-heksana, metanol, aquades, HCl 1%, pewarna dagendrof, etanol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, HCl 2N, FeCl₃ 5%, FeCl₃ 1%, CHCl₃, H₂SO₄ pekat.

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Ekstraksi

Tumbuhan anggur laut dicuci hingga bersih dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40⁰C. Selanjutnya tumbuhan anggur laut dipotong dengan ukuran yang lebih kecil dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Anggur laut yang telah kering ditimbang sebanyak 200 gram dan dilakukan maserasi menggunakan metanol 800 mL dengan perbandingan 1:4 selama 1x24 jam. Hasil maserasi selanjutnya disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*.

3.4.2 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair (FCC) menggunakan pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksana. Ekstrak metanol yang telah didapatkan pada tahap ekstraksi dilarutkan kedalam

air dan metanol dengan perbandingan 1:1 sebanyak 200 mL dan dimasukkan kedalam corong pisah. Kemudian ditambahkan 200 mL n-heksana dan dilakukan pengocokan secara perlahan-lahan. Setelah dilakukan pengocokan corong pisah diletakkan pada statif dan didiamkan beberapa jam hingga terjadi pemisahan antara fraksi n-heksana dan metanol-air. Fraksi n-heksana yang terbentuk selanjutnya dimasukkan ke dalam erlenmeyer, sedangkan fraksi metanol-air kembali di fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dan dikocok kembali dan didiamkan beberapa jam hingga terjadi pemisahan. Fraksi etil asetat dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Fraksi n-heksana cair, fraksi etil asetat cair, dan fraksi metanol-air diuapkan dengan *rotary evaporator*.

3.4.3 Uji Fitokimia

Masing-masing fraksi yang didapatkan meliputi fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol selanjutnya dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, uji fenol uji alkaloid, uji saponin, uji tanin, dan uji steroid.

1. Uji Flavonoid

Fraksi tumbuhan anggur laut ditimbang sebanyak 200 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,2 gr dan dilakukan pengocokan. Apabila terjadi perubahan warna

menjadi merah, kuning, atau jingga maka menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid.

2. Uji Fenolik

Masing-masing fraksi tumbuhan anggur laut yang didapatkan ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan kedalam erlenmeyer serta ditambahkan etanol 70% sebanyak 10 mL. Selanjutnya diambil 1 mL dari larutan yang terbentuk dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan larutan FeCl_3 5% sebanyak 2 tetes. Apabila terbentuk warna hijau atau hijau kehitaman menunjukkan hasil positif mengandung fenol.

3. Uji Alkaloid

Masing-masing sampel fraksi tumbuhan anggur laut ditimbang sebanyak 0,5 gram, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan HCl 1 % sebanyak 0,5 mL. Selanjutnya ditambahkan 1-2 tetes dragendorf. Apabila menghasilkan warna jingga hingga merah kecoklatan menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid.

4. Uji Saponin

Fraksi tumbuhan anggur laut yang didapatkan ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan beberapa mL air panas dan ditunggu hingga sampel dalam keadaan dingin. Apabila telah dingin sampel dikocok selama 10 menit. Jika terbentuk buih maka dilanjutkan dengan penambahan HCl 2 N. Apabila buih tersebut tetap terbentuk dan masih ada maka menunjukkan hasil positif mengandung saponin.

5. Uji Tanin

Masing-masing fraksi tumbuhan anggur laut yang didapatkan ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 2 mL dan ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 2 tetes. Apabila larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta maka menunjukkan hasil positif tanin.

6. Uji Steroid

Masing-masing fraksi tumbuhan anggur laut yang didapatkan ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan CHCl_3 sebanyak 0,5 mL dan asam asetat sebanyak 0,5 mL. Selanjutnya ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 mL melalui dinding tabung reaksi. Apabila larutan terbentuk warna hijau, hijau kebiruan, atau biru maka dikatakan positif mengandung steroid.

3.5 Analisis Data

Data hasil ekstraksi dan hasil fraksinasi masing-masing di hitung berat yang dihasilkan. Sedangkan data hasil uji fitokimia dianalisis berdasarkan perubahan warna yang terjadi setelah diberikan beberapa larutan dan reagen. Data selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel.

penggunaan pelarut dapat menarik senyawa aktif yang memiliki sifat kepolaran yang sama yaitu pelarut polar akan menarik senyawa yang bersifat polar dan pelarut non polar akan menarik senyawa non polar. (Depkes RI, 2000), juga menyatakan bahwa salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam proses maserasi yaitu pemilihan pelarut dimana pelarut yang digunakan harus sesuai dengan senyawa yang diinginkan.

Perendaman serbuk tumbuhan anggur laut dengan pelarut metanol ini dilakukan selama sehari dengan perbandingan antara serbuk kering dan pelarut yaitu 1:4. Perbandingan antara serbuk simplisia dengan pelarut yang digunakan ini dapat mempengaruhi hasil maserasi dimana semakin besar perbandingan yang digunakan maka semakin banyak pula hasil maserasi yang didapatkan (Voight, 1995). Perendaman serbuk ini merupakan suatu proses pemindahan senyawa aktif yang terkandung didalam sel suatu sampel menuju ke pelarut sampel (Taofik, 2010). Pada perendaman terjadi proses difusi dimana pelarut akan masuk kedalam sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif yang sesuai. Proses difusi ini akan mengakibatkan adanya tekanan osmosis mengalami perbedaan antara di dalam sel dan di luar sel. Selanjutnya senyawa aktif yang memiliki sifat kepolaran yang sama dengan pelarut akan terekstrak keluar sehingga larut dalam pelarut tersebut (Dean, 2009).

Ekstrak tanaman anggur laut yang telah direndam selanjutnya dilakukan penyaringan dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang bertujuan menguapkan pelarut pada suhu rendah karena apabila pada suhu tinggi ditakutkan dapat merusak kandungan senyawa aktif pada ekstrak tersebut (Putra dkk., 2014). Ekstraksi tumbuhan anggur laut dengan menggunakan

lebih besar yaitu ekstrak pada semua bagian sebesar 6,39%; ekstrak pada bagian ramuli sebesar 8,11%; dan bagian stolon sebesar 7%. Ritan dkk. (2021), ekstraksi *C. racemosa* dengan menggunakan pelarut etanol menunjukkan hasil rendemen sebesar 6,88%. Selain itu, penelitian oleh Saputri dkk. (2019), diketahui ekstrak *C. lentillifera* dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen sebesar 7,3%. Hasil penelitian tersebut menunjukkan nilai rendemen yang lebih besar dibandingkan pada penelitian ini. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan spesies dan jenis pelarut yang digunakan. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Utami dkk. (2013) dan Istiqomah (2013), bahwa perbedaan hasil rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu perbedaan spesies, umur panen, habitat spesies, kandungan air, jenis pelarut, ukuran simplisia, metode dan waktu ekstraksi.

4.2 Fraksinasi

Tumbuhan anggur laut yang telah melewati proses ekstraksi selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah. Prinsip dari fraksinasi menggunakan corong pisah yaitu didasarkan pada kandungan zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua atau lebih pelarut yang tidak saling bercampur. Pemilihan metode ini dikarenakan memiliki selektifitas yang tinggi dalam proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dan lebih sederhana. Tujuan dilakukan fraksinasi ini yaitu untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya dengan menggunakan beberapa pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari 3 jenis pelarut

berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Pemilihan pelarut ini berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya dimana n-heksana merupakan pelarut yang bersifat non polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar. Sedangkan, etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga memungkinkan untuk menarik senyawa semi polar dan metanol termasuk pelarut yang bersifat polar sehingga mampu menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar.

Pemilihan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol pada penelitian ini sebagaimana pada penelitian yang dilakukan Romadanu dkk. (2014) dimana fraksinasi bunga lotus (*Nelumbo nucifera*) dilakukan dengan 3 jenis pelarut yaitu metanol, etil asetat, dan n-heksana. Penelitian Adawiyah dkk. (2017), juga digunakan 3 jenis pelarut yang sama yaitu metanol sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan n-heksana sebagai pelarut non polar pada proses fraksinasi daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Pamungkas dan Indrayudha (2019), proses fraksinasi buah pare (*Momordica charantia*) juga digunakan pelarut n-heksana sebagai perwakilan pelarut non polar, pelarut etil asetat sebagai perwakilan pelarut semi polar, namun perwakilan pelarut polar digunakan pelarut etanol.

Fraksinasi pertama dilakukan dengan melarutkan hasil ekstraksi tumbuhan anggur laut kedalam metanol yang telah ditambahkan dengan air. Penambahan air ini bertujuan agar ekstrak kental *C. racemosa* kering dapat larut sepenuhnya. Sebagaimana pada penelitian Nuria dkk. (2015), dimana ekstrak kental dari daun gugur ketapang kering tidak dapat larut sepenuhnya sehingga ditambahkan campuran metanol:air. Selanjutnya, ditambahkan pelarut n-

heksana di dalam corong pisah dengan perbandingan 1:1. Sedangkan fraksinasi kedua dilakukan pada pelarut metanol yang di campurkan dengan pelarut etil asetat. Masing-masing fraksinasi dilakukan pengocokan sehingga terbentuk dua lapisan yang berbeda dan saling terpisah. Ritan dkk. (2021), mengatakan pengocokan bertujuan untuk memaksimalkan penarikan senyawa metabolit sekunder oleh pelarut. Prinsip terbentuknya dua lapisan yang berbeda dikarenakan adanya perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan massa jenis pada masing-masing fraksi dimana fraksi yang memiliki masa jenis yang lebih besar akan membentuk lapisan dibagian bawah dan fraksi yang memiliki massa jenis yang lebih rendah akan membentuk lapisan yang berada di atas.

Pada fraksinasi pertama diketahui pelarut n-heksana memiliki massa jenis sebesar 655 kg/m^3 sedangkan massa jenis pelarut metanol sebesar 792 kg/m^3 . Pelarut metanol ini memiliki masa jenis yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut n-heksana sehingga lapisan yang berada dibawah merupakan senyawa metabolit sekunder yang larut dalam pelarut metanol. Sedangkan pada fraksinasi kedua diketahui bahwa pelarut etil asetat memiliki massa jenis sebesar 902 kg/m^3 yang berarti lebih besar dari masa jenis metanol sehingga lapisan bawah yang terbentuk merupakan senyawa metabolit sekunder yang larut dalam pelarut etil asetat (Gambar 4.1). Masing-masing lapisan yang terbentuk selanjutnya di evaporasi sehingga menghasilkan fraksi kental meliputi fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol.

Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada masing-masing fraksi dikarenakan pelarut yang digunakan ketika fraksinasi memiliki sifat yang berbeda baik dari segi kepolaran maupun massa jenisnya sehingga hasil senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan pun juga berbeda. Hal ini sebagaimana prinsip kerja fraksinasi bahwa senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut yang memiliki sifat sama yaitu non polar, senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan senyawa yang bersifat polar juga akan terlarut dalam pelarut dengan sifat yang sama yaitu polar (Harborne, 1987).

Pada beberapa penelitian juga banyak digunakan pelarut etil asetat dan n-heksana dan didapatkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda. Penelitian yang dilakukan oleh Rahayuningsih dkk., (2020) didapatkan hasil senyawa metabolit sekunder yang berbeda antara fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana daun alpukat (*Persea americana* Mill). Fraksi air daun alpukat diketahui mengandung alkaloid, triterpenoid, steroid, tanin, flavonoid, saponin, monoterpen/seskuiterpen. Fraksi etil asetat daun alpukat mengandung alkaloid, triterpenoid, steroid, tanin, flavonoid, dan monoterpenoid. Sedangkan fraksi n-heksana mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, dan monoterpenoid. Penelitian oleh Pratiwi dkk. (2016) diketahui bahwa fraksi etil asetat kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung senyawa fenol dan flavonoid, sedangkan fraksi n-heksana mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid.

Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder juga dapat dipengaruhi oleh jenis tumbuhan dimana antara tumbuhan satu dengan yang

lain bisa memiliki kandungan senyawa metabolit yang sama maupun berbeda. Hasil penelitian oleh Suryani dkk. (2017) didapatkan hasil bahwa fraksi n-heksana daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) memiliki senyawa metabolit sekunder yang hampir sama dengan penelitian ini yaitu meliputi senyawa fenol, steroid, terpenoid, dan saponin. Sedangkan pada fraksi etil asetat daun pandan juga mengandung senyawa yang hampir sama yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan saponin. Pada penelitian lain, ekstrak tanaman rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang di fraksinasi dengan pelarut n-heksana juga mengandung senyawa metabolit sekunder yang sama dengan fraksi n-heksana tumbuhan anggur laut antara lain tanin dan steroid (Wulandari, 2017). Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Pamungkas dan Indrayudha (2019) diketahui fraksi n-heksana buah pare (*Momordica charantia*) juga mengandung beberapa senyawa yang sama dengan tumbuhan anggur laut meliputi flavonoid, steroid, alkaloid, terpenoid, fenol, dan tanin. Sedangkan fraksi etanol daun pare dan fraksi etil asetat buah pare mengandung senyawa yang sama yaitu flavonoid, steroid, dan terpenoid.

1. Uji Flavonoid

Pada penelitian ini uji flavonoid menunjukkan hasil positif pada fraksi metanol dan fraksi etil asetat anggur laut yang ditandai terbentuknya warna merah ketika sampel direaksikan dengan asam klorida (HCl) pekat dan serbuk magnesium (Gambar 4.3). Hasil yang didapatkan ini sesuai dengan sifat kepolaran flavonoid yang mana termasuk dalam senyawa yang bersifat polar sehingga dapat tertarik oleh fraksi metanol ataupun fraksi etil asetat yang bersifat semi polar.

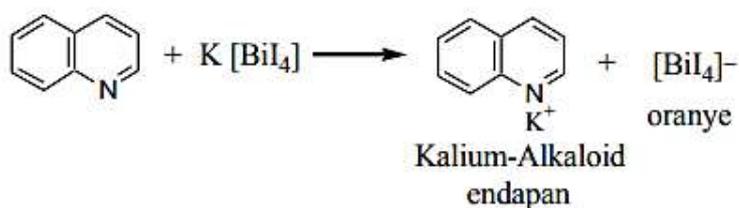
flavonoid pada tumbuhan anggur laut (*C. racemosa*) dapat terekstraksi pada pelarut metanol dan etil asetat.

Berdasarkan beberapa pernyataan, kemungkinan senyawa flavonoid yang terkandung dalam fraksi metanol anggur laut pada penelitian ini ialah flavonoid glikosida meliputi flavon (apigenin, luteolin, krisoeriol); dan flavonol (kemferol, kuersetin); flavanon (naringenin); isoflavon (daidzein, genistein) dan auron. Hal ini diperkuat oleh Markham (1988), yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung didalam ekstrak dengan pelarut etanol dan metanol ialah auron, flavon, dan flavonol. Sedangkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat kemungkinan ialah aglikon flavonoid meliputi kalkhon, isoflavon, katecin, flavon, flavonol, flavanon, antosianin, flavanonol, leukoantosianin, dll (Parwata, 2016).

Secara umum, biosintesis flavonoid berasal dari penggabungan dua jalur yaitu jalur poliketida (asetat-malonat) dan fenilpropanoid (sikimat). Menurut Herbert (1995), biosintesis flavonoid diawali dengan kombinasi suatu unit C_6-C_3 (Cincin B) dengan 3 unit C_2 (Cincin A) sehingga menghasilkan unit $C_6-C_3-(C_2+C_2+C_2)$. Cincin A diketahui berasal dari jalur poliketida yang merupakan gabungan dari tiga unit asetat atau malonat, sedangkan cincin B dan tiga atom karbon berasal dari jalur fenilpropanoid (sikamat) (Gambar 4.15).

3. Uji Alkaloid

Pengujian alkaloid pada sampel dilakukan dengan penambahan HCl 1% dan reagen *dragendorf* dan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna endapan coklat muda hingga jingga. Endapan ini merupakan kalium-alkaloid (Vogel, 1990). Penambahan HCl ini akan menjadikan alkaloid yang mulanya bersifat basa menjadi asam. Alkaloid mengandung atom nitrogen dan ketika ditambahkan pereaksi *dragendorf*, nitrogen berfungsi sebagai pembentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (Gambar 4.7) (Sangi dkk., 2008). Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil positif yaitu fraksi etil asetat dan fraksi metanol, sedangkan hasil negatif yaitu fraksi n-heksana (Gambar 4.8).



Gambar 4. 9 Reaksi uji alkaloid.

Sumber: (Miroslav, 1971).

dengan pelarut metanol dan etanol. Oleh karena itu, hasil positif pada uji saponin ini hanya diperoleh pada fraksi metanol.

Biosintesis saponin baik saponin steroid maupun saponin triterpenoid memiliki jalur yang hampir sama yaitu melalui jalur asam mevalonat yang didapatkan dari asetil CoA. Biosintesis saponin steroid diawali dengan pembentukan rantai triterpen yaitu squalen. Squalen ini merupakan gabungan dari 2 farnesil pirofosfat. Squalen ini akan mengalami oksidasi pada atom C nomor 3 sehingga terbentuk OH dan terjadi pembentukan epoksidasqualen. Senyawa ini selanjutnya akan mengalami siklisisasi dan terbagi menjadi 2 jalur. Jalur pertama yaitu terbentuk lanosterol dan jalur kedua memerlukan triterpen dengan berbagai bentuk. Perbedaan saponin steroid dan saponin triterpen terletak pada jumlah dan bentuk cincin keempat dan kelima dimana pada triterpen masing-masing cincin terdiri dari 5 atom karbon (Achmad, 1986).

terhidrolisis atau tanin terkondensasi disintesis melalui penggabungan senyawa hasil jalur asam malonat dengan senyawa hasil jalur asam sikimat (Taiz and Zeiger, 2015).

Tanin terhidrolisis terdiri dari 2 jenis yaitu jenis paling sederhana ialah depsida galoilglukosa dimana inti berupa glukosa yang dikelilingi oleh lima atau lebih gugus ester galoil. Sedangkan jenis kedua, inti berupa senyawa dimer asam gallat yaitu asam heksahidrosidifenat yang berikatan dengan glukosa. Apabila dihidrolisis elagitanin ini akan menghasilkan asam elagat. Tanin terkondensasi atau flavolan disintesis melalui kondensasi katekin tunggal (galotanin) sehingga membentuk dimer dan oligomer yang lebih tinggi. Ikatan karbon menghubungkan antara satu flavon dengan flavon lainnya melalui ikatan 4-8 atau 6-8. Flavolan kebanyakan memiliki 2-20 satuan flavon (Heliawati, 2018). Pembentukan asam gallat dan katekin dapat dilihat pada Gambar 4.22.

Berdasarkan hal tersebut maka dimungkinkan senyawa steroid yang tertari oleh fraksi n-heksana ialah steroid alkohol, sedangkan yang tertarik oleh fraksi etil aasetat yaitu sterol. Steroid juga dikelompokkan berdasarkan efek fisiologis senyawa meliputi sterol, asam empedu, hormon seks hormon adrenokortikoid, aglikon kardiak, dan sapogenin (Heliawati, 2018). Steroid juga dapat dibedakan berdasarkan sumbernya yaitu steroid alami dan steroid sintesis. Steroid alami yang berasal dari tumbuhan ialah campesterol, β -sitosterol, dan stigmasterol. Sedangkan steroid sintesis meliputi estrogen, metilprednisolon, hydrocortisone, androgen, kortikosteroid, squalamine, dan glukokortikosteroid (Choi *et al.*, 2007; Bhawani *et al.*, 2011).

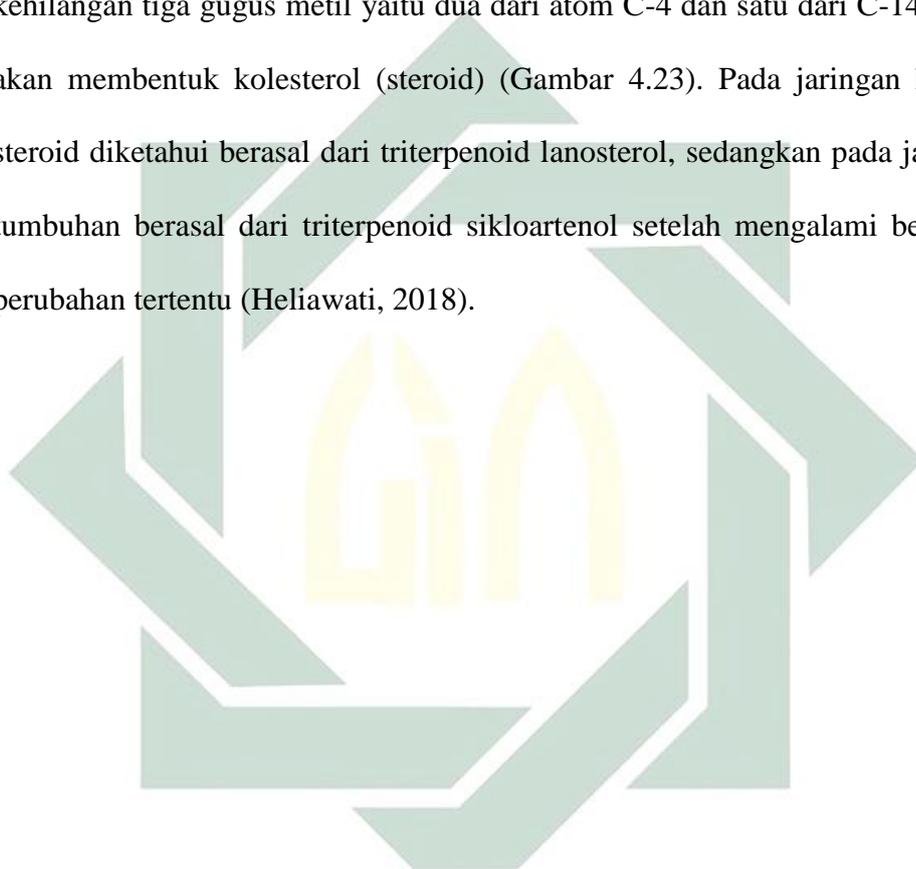
Metabolit sekunder sendiri dapat di definisikan sebagai senyawa dengan berat molekul rendah yang ditemukan dalam jumlah minor pada organisme yang memproduksinya karena tidak berfungsi sebagai komponen esensial dalam metabolisme atau penopang pokok dari kelangsungan hidup dari organisme tersebut, melainkan lebih berfungsi sebagai penunjang seperti agen pertahanan diri, perlawanan terhadap penyakit atau kondisi kritis, ataupun berperan sebagai hormon (Nugroho, 2017). Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam tumbuhan anggur laut merupakan bentuk adaptasi biokimia yang dilakukan oleh golongan tumbuhan yang berada di dasar laut terutama dari predator sebagai kompotitif dalam lingkungannya. Senyawa metabolit sekunder ini tidak berasal dari sintesis metabolit sekunder yang terlibat dalam perkembangan atau reproduksi dan pertumbuhan normal, akan tetapi senyawa ini diproduksi oleh tumbuhan dalam keadaan adaptasi dalam kondisi stress akibat cekaman biotik atau abiotik (Subhashini *et al.*, 2013). Pada

hasil penelitian terdapat perbedaan warna pada masing-masing hasil positif dimana intensitas warna ini menunjukkan kadar kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan pada setiap fraksi (Setyorini dan Eriyanto, 2016).

Beberapa penelitian telah banyak dilakukan terutama mengenai kelimpahan metabolit sekunder yang ada dalam anggur laut yang di fokuskan pada manfaat dari masing-masing senyawa. Diantaranya yaitu pada penelitian Ridowati dan Asnani (2016), menjelaskan bahwa anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki aktifitas antibakteri karena di dalamnya mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, dan fenol. Selain itu pada beberapa penelitian juga menyatakan bahwa *C. racemosa* memiliki aktivitas antimikroba (antifungi, antibakteri, dan antivirus), antikarsinogenik, antioksidan, dan antikanker (Kandhasamy and Arunachalan, 2008; Fithriani, 2009; Raj *et al.*, 2015).

Senyawa steroid umumnya diduga berasal dari terpenoid karena jalur biosintesis steroid diturunkan dari squalene yang merupakan pembentuk triterpene. Biosintesis senyawa steroid berawal dari pengubahan asam asetat melalui asam mevalonat dan squalene menjadi lanosterol dan sikloartenol. Secara rinci, jalur biosintesis senyawa steroid diawali dengan bergabungnya dua molekul senyawa Asetil CoA dengan beberapa jalur reaksi selanjutnya sehingga membentuk asam mevalonat. Setelah melalui beberapa tahapan reaksi, maka akan membentuk di-methyl alil pirophosphate (DMAPP) dan isopentenil pirophosphate (IPP). Kedua senyawa tersebut akan bergabung membentuk monoterpen (Heliawati, 2018).

Monoterpen selanjutnya akan bergabung dengan isoprene baru dan membentuk sesquiterpen (farnesyl pirofosfat), kemudian dua molekul farnesil pirofosfat bergabung membentuk squalene. Squalene selanjutnya mengalami oksidasi sehingga menjadi 2,3 – epoksisqualene dimana ketika suasana asam senyawa ini akan membentuk lanosterol (terpenoid). Ketika lanosterol kehilangan tiga gugus metil yaitu dua dari atom C-4 dan satu dari C-14, maka akan membentuk kolesterol (steroid) (Gambar 4.23). Pada jaringan hewan, steroid diketahui berasal dari triterpenoid lanosterol, sedangkan pada jaringan tumbuhan berasal dari triterpenoid sikloartenol setelah mengalami beberapa perubahan tertentu (Heliawati, 2018).



Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) yang saat ini semakin maju telah banyak penelitian-penelitian yang mengkaji kandungan pada tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat. Kandungan ini ialah senyawa metabolit sekunder. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan telah banyak diketahui dapat berpotensi sebagai bahan obat seperti antibakteri, antioksidan, antikanker, dll. Salah satu jenis tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas metabolit sekunder ialah tumbuhan anggur laut (*Caulerpa racemosa*).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *C. racemosa* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antivirus, antijamur, dll. Pada penelitian ini juga diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan anggur laut (*C. racemosa*) meliputi flavonoid, tanin, saponin, steroid, alkaloid, dan fenol. Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan anggur laut (*C. racemosa*) ini menjadikan anggur laut berpotensi dalam bidang farmasi yang dapat digunakan sebagai pengobatan suatu penyakit.

Penciptaan tumbuhan dengan berbagai fungsi dan manfaatnya merupakan salah satu bukti kekuasaanNya. Allah SWT dengan kekuasaanNya dapat menciptakan segala sesuatu tanpa ada seorang pun yang dapat menandinginya. Sebagai manusia yang beriman seharusnya kita mempercayai, meyakini, dan melakukan berbagai kajian-kajian salah satunya mengenai manfaat tumbuhan sebagai obat sehingga keyakinan kita terhadap kekuasaan Allah SWT juga semakin besar dan semakin bertambah pula keimanan dan ilmu pengetahuan yang kita miliki. Dan atas seizin Allah SWT kita juga dapat memanfaatkan ilmu pengetahuan tersebut secara luas untuk banyak orang karna

- Dean, J. 2009. *Extraction Techniques in Analytical Science*. John Wiley and Sons Ltd, London.
- Deaville, E.R., Givens, I., Harvey, M. 2010. Chesnut and Mimosa Tannin Silages: Effect in Sheep Differ for Apparent Digestibility, Nitrogen Utilization and Losses. *Anim Feed Sci Technol*. 157: 129–138.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Doughari, J.H. 2012. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents, Phytochemicals. A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, Intech.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Banyu Medi Publishing, Malang.
- Ergina, S.N., Indrarini, D.P. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave anfastifolia*) yang Direaksikan dengan Pelarut Air dan Metanol. *J Akad Kim*. 3(3): 165–172.
- Firdiyani, F., Agustini, T.W., Ma'ruf, W.F. 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami Spirulina Platensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *JPHPI*. 18(1): 28–37.
- Fithriani, D. 2009. Potensi Antioksidan *Caulerpa racemosa* di Perairan Teluk Hurun Lampung. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Furi, M., Mora, E., Zuhriyah. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Terpenoid dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Meranti Kunyit (*Shorea conica*). *J. Penelit. Farm. Indoneisa*. 3(2): 38–42.
- Gandjar, I. Gholib. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gazali, M., Nufus, H., Nurjanah, Zuriat. 2019. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) asal Pesisir Aceh Barat sebagai Antioksidan. *JPHPI*. 22(1): 155–163.
- Gibbs. 1926. *Phenol Tests*. Divisions of Chemistry, Hygienic Laboratory, United States Public Health Service, Washington.
- Hanani, E. 2017. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hanani, E. 2014. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Haralampidis, K., Trojanowska, M., Osbourn, A.E. 2002. Biosynthesis of Triterpenoid Saponin in Plants. *Adv Biochem Eng Biot*. 75: 31–49..

- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro)*. ITB Press, Bandung.
- Heliawati, L. 2018. *Kimia Organik Bahan Alam*. Pascasarjana – UNPAK, Bogor.
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Penerjemah: Srigandono. IKIP Press, Semarang.
- Herli, M.A., Handayani, I. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Ketapang yang Tumbuh di Sekitar Univ. Abdurrab, Pekanbaru. *J. Pharm. Sci.* 2(2): 38–42.
- Ilyas, A. 2013. *Kimia Organik Bahan Alam*. Allauddin Press, Makassar.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofrachi* Fructus). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Kandhasamy, M., Arunachalan, K.D. 2008. Evaluation of in Vitro Antibacterial Property of Seaweeds of Southesdt Coast of India. *Afr. J. Biotechnol.* 7(12): 1958–1961.
- Kapondo, G.L., Fatimawati, Jayanti, M. 2020. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dan Uji Efektivitas Penghambatan dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Ebiomedik.* 8(1): 180–186.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Laksmijenie, B.S., Kusnandar, F., Mirnawati, Rukmini, H. 2005. Aktivitas Antibakteri Bunga Kecombrang terhadap Bakteri Patogen an Perusak Pangan. *J. Teknol. dan Ind. Pangan.* XVI (2).
- Lestari, D.M., Mahmudi, N., Sukarsono, Nurwidodo, Husamah. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenol Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb). *Biosfera.* 35(1): 37–43.
- Mahmudah, N., Nursandi, N.J. 2014. Karakteristik Kimiawi Rumput Laut Lokal (*Caulerpa sp.*) dan Potensinya sebagai Sumber Antioksidan. *Pros. Semin. Nas. Pengemb. Teknol. Pertan.* 577–584.
- Marfuah, I., Dewi, E.N., Rianingsih, L. 2018. Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Peng Biotek Has. Pi.* 7(1): 7–14.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB Press, Bandung.

- Marliana, S., Suryanti, Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Jurusan Kimia Fmipa, Universitas Sebelas, Surakarta.
- Meydia, Suwandi, R., Suptijah, P. 2016. Isolasi Senyawa Steroid dari Teripang Gama (*Stichopus variegatus*) dengan Berbagai Jenis Pelarut. *JPHPI*. 19(3): 362–369.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. Planum Publishing Corporation and Sntc Publishers of Technical Literatur, New York.
- Monalisa, D., Handayani, T., Sukmawati. 2011. Uji Daya Hambat Bakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *J. Bioma*. 9(2): 13–20.
- Mutiasari, I.R. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok.
- Ningrum, R., Purwanti, E., Sukarsono. 2016. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) sebagai Bahan Ajar Biologi Untuk SMA Kelas X. *J. Pendidik. Biol. Indones*. 2(3): 231–236.
- Novadiana, A., Erwin, Pasaribu, S.P. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Kloroform dari Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia La.*). *J. Kim. Mulawarman*. 2(1): 8–13.
- Noviyanty, A., Salingkat, C.A., Syamsiar. 2019. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Ekstraksi dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Kovalen*. 5(3): 271–279.
- Nugroho, A. 2017. *Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press, Banjarmasin.
- Nuria, M.C., Chabibah, Z., Banu, S., Fithria, R.F. 2015. Penelusuran Potensi Fraksi N-Heksa dan Etil-Asetat dari Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa L.*) sebagai Antidiare. *J. Ilmu Farm. Farm. Klin*. 163–173.
- Nursandi, N.M.N.J. 2014. Karakteristik Kimiawi Rumput Laut Lokal (*Caulerpa sp.*) dan Potensinya sebagai Sumber Antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional*.
- Odeoga, H.O., Okwu, D.E., Mbaebie, B.O. 2005. Phytochemical Constituents of Some Nigerian Medicinal Plants, African. *J. Biotechnol*. 4(7): 685–688.

- Oesman, F., Murniana, Khairunnas, M., Saidi. 2010. Antifungal Activity of Alkaloid from Bark of *Cerbera Odollam*. *J. Nat.* 10(2).
- Pamungkas, A. R., Indrayudha, P. 2019. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol-Air, Etil Asetat serta N-Heksana Buah Pare (*Momordica charantia*) pada Sel Mcf-7 secara In-Vitro. *Pharmakon J. Farm. Indones.* 16(2): 73–82.
- Parwata, I.M.O.A. 2016. Flavonoid. *Diktat / Bahan Ajar Kimia Organik Bahan Alam*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Denpasar.
- Perawati, S., Andriani, L., Pratama, S., Humayroh. 2019. Aktivitas Koagulan Ekstrak dan Fraksi Daun Sembung Rambut (*Mikania micrantha* Kunth.). *Chempublish J.* 4(1): 30–37.
- Poedjjaji, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. UI Press, Jakarta.
- Pratiwi, D.I., Syarif, R.A., Waris, R., Faradiba. 2019. Isolasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *JFFI.* 6(1), 340–346.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., Pramono, S. 2016. Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi N-Heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *J. Pharm. Sci. Clin. Res.* 01: 71–82.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Prayoga, D.G.E., Nocianitri, K.A., Puspawati, N.N. 2019. Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) pada Berbagai Jenis Pelarut. *J. Ilmu dan Teknol. Pangan.* 8(2): 111–121.
- Purwatesna, E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak secara In Vitro melalui Inhibisi Enzim A-Glukosidase. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Putra, A.A., Bawa, N.W., Bogoriani, N.P., Diantariani, N.L.U., Sumadewi. 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Metode Maserasi, Refluks, dan Sokletasi. *J. Kim.* 8(1): 113–119.
- Putri, S.U. 2016. Efek Ekstrak Makroalga terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resisten *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alaudin Makasar, Makassar.
- Rachmawati, D.U., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays*) terhadap Bakteri

- Saputri, A.U., Purnamayanti, L., Anggo, A.D. 2019. Aktivitas Antibakteri Anggur Laut (*Caulerpa lentillifera*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Ilmu dan Teknolgi Perikanan*. 1(1): 15–20.
- Sari, D.K., Wardhani, D.H., Prasetyaningrum, A. 2012. Pengujian Kandungan Total Fenolik *Kappahycus alvarezzi* dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Suhu dan Waktu. *J. Jur. Tek. Univ. Hasyim Asyari Semarang*. 1(1): 40–44.
- Sastrohanidjojo. 1996. *Sintesis Bahan Alam Cetakan Pertama*. UGM Press, Yogyakarta.
- Setiawan, N.C.E., Febriyanti, A. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr dengan Metode DPPH. *J. Curr. Pharm. Sci*. 1(1): 2598–2095.
- Setyorini, S.D., Eriyanto, Y. 2016. *Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang sebagai Respon Cekaman Biotik (Iptek Tanaman Pangan)*. Balai Penelitian Aneka Kacang dan Ubi Malang, Malang.
- Siagian, K.D., Lantang, D., Dirgantara, S. 2018. Uji Aktivitas Antifungi Anggur Laut (*Caulerpa sp.*) Asal Pulau Ambai Serui terhadap Fungi *Candida krusei* dan *Candida albicans*. *Pharm. J. Farm. Indones*. 15 (01): 16–25.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Penerbit ITB, Bandung.
- Soni, P.L. 1981. *Text Book of Organic Chemistry*. New Delhi.
- Subhashini, P., Dilipan, E., Thangaradjou, T., Papenbrock, J. 2013. Bioactive Natural Products from Marine Angiosperm: Abundance and Functions. *Nat. Prod. Bioprospect*. 129–136.
- Suhartini, S. 2003. Penapisan Awal *Caulerpa racemosa*, *Sesuvium portulacastrum*, *Xylocarpus granatum*, dan *Ulva lactuca* sebagai Antimikroba. *Skripsi*. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB Bogor, Bogor.
- Suharto, M.A.P. 2015. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisan Ambon*. 5(2): 86–92.
- Supriyanto, Simon, B.W., Rifa'i, M., Yunianta. 2017. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss). *Prosiding Snatif*. Fakultas Teknik Universitas Muria Kudus, Jawa Tengah.
- Suryani, C.L., Tamaroh, S., Ardiyan, A., Setyowati, A. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Fraksi-Fraksinya. *Agritech*. 37(3): 271–279.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2015. *Plant Physiology, 6th Ed*. Sinaur Associates, Inc, Massachusetts.

- Tan, M.C., Tan, C.P., Ho, C.W. 2013. Effects Of Extraction Solvent System, Time and Temperature on Total Phenolic Content of Henna (*Lawsonia inermis*) Stems. *Int. Food Res. J.* 20: 3117–312.
- Taofik, M. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air dan Paitan (*Thitonia diversifolia*) sebagai Bahan Insektisida Botani untuk Pengendalian Hama *Tungau eriophyidae*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang, Malang.
- Teyler, V.E. 1988. *Pharmacognosi 11th Edition*. Bailliere Tindall, London.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction : A Review. *Int. Pharm. Sci.* 1(1): 98–106.
- Utami, F.P. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Anggur Laut *Caulerpa racemosa* terhadap Bakteri Penyebab Demam Tifoid dan Gastroenteritis. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Utami, F.P., Ukhti, S., Sonya, A.U., Rahma, Y.I.A., Abdul, N. 2013. *Inovasi Sediaan Obat Baru Antiinflamasi untuk Meminimalisir Pembengkakan Amandel dari Anggur Laut Tropika Caulerpa racemosa dengan Teknik Kapsulasi Biologically Active Compound*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Vermeris, W., Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Netherlands.
- Vogel. 1990. Buku *Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Bagian 1 Edisi Ke Lima*. PT. Kalman Media Pustaka, Jakarta.
- Voight, R. 1995. *Pelajaran Teknologi Farmasi, V. Ed.* Diterjemahkan oleh S. Noer, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta.
- Wulandari, E. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol dan Fraksi N-Heksana Tanaman Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.) sebagai Antimalaria pada Parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3d7. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Wulandari, Z. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar *Caulerpa racemosa* dengan Pelarut dan Bagian Alga yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aurens*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.
- Wungkana, I., Suryanto, E., Momuat, L. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Fraksi Fenolik dari Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Pharmacon J. Ilm. Farm. – Unsrat.* 2(4): 149–155.
- Zainuddin, E.N., Malina, A.C. 2009. Skrining Rumpun Laut Asal Sulawesi Selatan sebagai Antibiotik Melawan Bakteri Patogen pada Ikan. *Research Grant*. Imhere, Dikti.