

## Profil fitokimia selada laut (*Ulva lactuca*) dan mikro alga filamen (*Spirogyra sp*) sebagai bahan alam bahari potensial dari perairan Indonesia

**Ari Sri Windyaswari<sup>1</sup>, Elfahmi<sup>2</sup>, Fahrauk Faramayuda<sup>1</sup>, Soraya Riyanti<sup>1</sup>,  
Oktiyas Muzaky Luthfi<sup>3</sup>, Inna Puspa Ayu<sup>4</sup>, Niken Tunjung Murti Pratiwi<sup>4</sup>,  
Khaerunnisa Harisqi Nurul Husna<sup>1</sup>, Ridzka Maghfira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kelompok Keahlian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, UNJANI

<sup>2</sup>Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

<sup>3</sup>Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UNBRAW

<sup>4</sup>Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB  
Corresponding author email: ari.sri.w@lecture.unjani.ac.id

### Abstrak

Perairan Indonesia merupakan habitat bagi berbagai spesies makro dan mikro alga. Selada laut (*Ulva lactuca*) adalah salah satu makroalga hijau yang secara empiris digunakan sebagai makanan oleh masyarakat Indonesia yang hidup dipesisir pantai. Pada perairan tawar, mikroalga hijau (*Spirogyra sp*) merupakan mikroalga filamen yang berperan penting sebagai bioindikator dalam sistem akuatik. Beberapa penelitian membuktikan bahwa polisakarida sulfat dari beberapa alga hijau yang hidup di laut dan air tawar berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan in-vitro dan ini merupakan prospek bahan baku di bidang farmasi. Disisi lain, terbatasnya informasi mengenai profil fitokimia selada laut dan mikroalga filamen air tawar di perairan Indonesia, mendorong penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia yang meliputi pemeriksaan organoleptik, mikroskopik, penapisan fitokimia metabolit primer dan sekunder serta potensi antioksidan yang dimiliki oleh selada laut dan ganggang hijau yang tumbuh di perairan Indonesia, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alam. Hasil pengujian kualitatif pada selada laut (*Ulva lactuca*) menunjukkan kandungan metabolit primer dan sekunder berturut-turut adalah karbohidrat, protein, alkaloid, flavonoid, mono dan seskuiterpenoid. Sementara itu mikroalga (*Spirogyra sp*) mengandung karbohidrat, protein, alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, kuinon, mono dan seskuiterpenoid. Pola kromatogram selada laut (*Ulva lactuca*) dan mikroalga (*Spirogyra sp*) mendeteksi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh metabolit sekunder yaitu fenol, tannin, flavonoid, mono dan seskuiterpenoid. Profil senyawa antioksidan memiliki tingkat semipolar hingga polar. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan menggunakan metode dinamolisis menunjukkan selada laut (*Ulva lactuca*) dan mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) memiliki aktivitas antioksidan dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alam.

**Kata kunci:** selada laut (*Ulva lactuca*), ganggang hijau (*Spirogyra sp*), antioksidan, Indonesia.

***The phytochemical profile of Ulva lactuca and Spirogyra sp is a bioprospective marine natural product from the waters of Indonesia***

### Abstract

*Indonesian islands and coastals are natural environment for various macro and micro algae species. Sea lettuce Ulva lactuca is one of the green macroalgae that is empirically used as food by Indonesian. In freshwater, Spirogyra sp is one of filament microalgae that play an*

*important role as bioindicator in the aquatic system. Previous research proved that marine antioxidants were caused by sulphate polysaccharide and its promising as bioprospective marine source in pharmacy fields. In contrast, there is limited information of phytochemical profile from sea lettuce and filament micro algae. The aim of this research is profiling phytochemical substances from sea lettuce and freshwater filament micro algae including several parameters such as organoleptic, microscopic, phytochemical screening and preliminary antioxidant activity, that its completed basic data as marine product for antioxidant source, as well. The results of Ulva lactuca qualitative analysis identified several primary and secondary metabolites, such as carbohydrates, protein, alkaloids, flavonoids, mono, and sesquiterpenoids, respectively. On the other hand, Spirogyra sp had been reported for carbohydrates, proteins, alkaloids, flavonoids, phenolics, tannins, quinones, mono, and sesquiterpenoids as the result for phytochemical screening. The chromatogram pattern of sea lettuce Ulva lactuca and Spirogyra sp had identified the antioxidant activity. However, there are correlation between thin layer chromatograms pattern and antioxidant activity that caused by secondary metabolites such as phenol, flavonoids, mono and sesquiterpenoids due to the polarity. To conclude, the sea lettuce Ulva lactuca and and freshwater filament microalge Spirogyra sp are potentially marine antioxidant product.*

**Keywords:** Ulva lactuca, Spirogyra sp, green algae, antioxidant, Indonesia.

## Pendahuluan

Dalam beberapa tahun terakhir ini, penggunaan bahan alam bahari sebagai persediaan zat bioaktif baru di didunia farmasi telah berkembang sangat pesat. Salah satu kekayaan bahari tersebut adalah makro alga laut dan mikro alga filamen air tawar. Kemampuan alga untuk menghasilkan metabolit sekunder yang memberikan aktivitas biologis beragam seperti antioksidan, antibakteri, antivirus, antijamur, antineoplastika, anti-inflamasi, antiproliferatif antihiperlipidemia dan antioksidan memberikan peluang bagi perkembangan ilmu farmasi di Indonesia, mengingat Indonesia adalah negara kepulauan dengan wilayah perairan yang luas. Alga memiliki beberapa keuntungan dari segi produktivitas, tidak adanya variasi musiman, lebih mudah diekstraksi, dan bahan mentah yang berlimpah, sehingga alga bernilai potensial untuk dijadikan bahan baku pada industri farmasi. (Madalena dkk., 2013).

Selada laut adalah salah satu ganggang laut yang memiliki genus Clorophyta yang pertama kali di indentifikasi oleh Linnaeus pada tahun 1753. Selada laut (Ulva lactuca) adalah jenis makroalga yang tersebar luas baik di laut maupun di perairan air tawar

Indonesia (Ktari, 2017). Selada laut merupakan polimer terbarukan karena memiliki karakteristik dinding sel selada laut yang mengandung polisakarida sulfat yaitu karagenan (alga merah), ulvan (alga hijau) dan *fucoidan* (alga coklat). Ulvan adalah polisakarida sulfat yang memiliki metabolit sekunder dan aktivitas biologi yang dapat dimanfaatkan pada bidang agrikultur, farmaseutikal dan biomedikal. Hasil penelitian menunjukkan ulvan mengandung 12,80-23% sulfat, 12,73-45% ramnosa, 2-12% xilosa dan 6,5-25,96% asam uronat (Kidgell *et al.*, 2019). Polisakarida tersulfasi ini menunjukkan banyak aktivitas biologis yang bermanfaat seperti antikoagulan, antivirus, antioksidan, antitumor, imunomodulasi, antikolesterol, dan aktivitas antihepatotoksik. Oleh karena itu, polisakarida turunan ganggang laut memiliki potensi besar untuk pengembangan lebih lanjut sebagai *nutraceutical food* dan sebagai senyawa bioaktif baru pada dunia farmasi (Wang *et al.*, 2014)

Didalam ekosistem perairan, mikro alga adalah komponen penting yang berperan dalam siklus biogeokimia lingkungan sehingga memiliki dampak besar pada peningkatan konsentrasi senyawa dalam kolom air dan kemampuan untuk membentuk

ikatan kimia dengan polutan lingkungan sehingga menjadi bioindikator yang tepat untuk mengevaluasi dan memantau polusi ekosistem perairan (Banaee et al., 2018).

Mikroalga air tawar menghasilkan beberapa senyawa aktif yaitu asam lemak, steroid, karotenoid, polisakarida, lektin, vitamin dan protein, asam amino, mineral makanan, senyawa terhalogenasi, polipeptida, racun, dan beragam antioksidan (Kumar et al., 2015; Champa et al., 2016), sulfat dan serat makanan (Surayot et al., 2015). Salah satu mikroalga air tawar yang dikenal adalah (*Spirogyra sp*) merupakan alga berfilamen, berlendir, sel-selnya membentuk setiap filamen terdiri dari rantai luas sel identik, merupakan genus Zygnemataceae yang paling umum dan merupakan alga hijau (Ahmed. S. Dwaish, 2016; J, Prarthana, 2017). Mikroalga filamen sering ditemukan dalam habitat air tawar yang beroksigenasi dengan baik, terutama dalam media asam, di perairan yang tergenang dan air yang mengalir. Alga tumbuh di air yang bersih. Untuk kualitas air jernih, tingkat kekeruhan tidak akan melebihi 10 *Nephelometric Turbidity Unit* (NTU), suhu 15-27° C dan pH 6-7,8. (Deethae et al., 2018). Genus *Spirogyra sp.* berlimpah di habitat air tawar di seluruh dunia, dan terdiri dari sekitar 380 jenis (Takano et al., 2019). Mikroalga filamen air tawar (*Spirogyra sp*) menghasilkan metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, flavonoid, tanin dan terpenoid (Mesbahzadeh dkk., 2018), fenolat, glikosida, dan saponin (Taya et al., 2016). Sejumlah besar produk ganggang juga dapat menjadi bahan baku dalam industri makanan, kosmetik, biokimia dan farmasi. (Liu et al., 2020).

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya permintaan untuk memproduksi sumber antioksidan alam bagi industri makanan, farmasi dan kosmetika (Yaich et al., 2017).

Potensi mikro dan makro alga hijau ini belum dimanfaatkan secara optimal walaupun keanekaragaman flora bahari memiliki senyawa kimia yang bermanfaat

bagi manusia. Pemanfaatan selada laut dan mikroalga filamen dalam industri dalam negeri terbatas kepada produksi bahan baku biodiesel serta pengolahan bahan baku makanan untuk memenuhi ekspor dunia. Sementara itu, *trend* produk kosmetik dengan bahan baku bahari menguasai pasar dunia. Metabolit primer polisakarida serta metabolit sekunder karotenoid dan polifenol dari biota laut dan air tawar memiliki aktivitas antioksidan, anti penuaan dini dan anti inflamasi yang dapat diproduksi menjadi kosmetik berdaya jual tinggi. (Brunt dan Burgess, 2016).

Penelitian mengenai profil fitokimia kedua alga hijau tersebut diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai kandungan metabolit primer dan sekunder serta aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh selada laut (*Ulva lactuca*) dan mikro alga filamen (*Spirogyra sp*) yang tumbuh di perairan Indonesia sehingga dapat meningkatkan pemanfaatan selada laut dan mikroalga filamen secara optimal.

## Metode Penelitian

**Pengumpulan dan Pengambilan sampel uji.** Pemanenan selada laut (*Ulva lactuca*) dari perairan Nusa Dua, Bali-Indonesia dilakukan pada siang hari di bulan Juni 2019. Selada laut segar dicuci dibawah air mengalir, dikeringkan pada suhu 40°C. Simplisia selada laut kemudian dihaluskan menjadi serbuk kasar dan disimpan dalam wadah tertutup terlindung dari cahaya. Pemanenan mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) dari mata air perairan Karst Ciampea, Bogor-Indonesia dilakukan pada bulan Mei 2019. Mikroalga filamen segar dicuci dibawah air mengalir, dikeringkan pada suhu 40°C. Simplisia mikroalga filamen kemudian diserbukkan menjadi serbuk kasar dan disimpan dalam wadah tertutup terlindung dari cahaya.

**Standarisasi Simplisia.** Standarisasi simplisia dan ekstrak secara kualitatif yang dilakukan meliputi parameter spesifik ekstrak dan simplisia yaitu pemeriksaan organoleptis, mikroskopik, penapisan fitokimia dan penentuan pola

kromatogram. (Departemen Kesehatan RI, 2000).

**a. Pemeriksaan Organoleptik.**

Pemeriksaan organoleptik dilakukan terhadap sampel segar dan simplisia, meliputi pemeriksaan bentuk, warna, aroma dan rasa (Departemen Kesehatan RI, 2000).

**b. Pemeriksaan Mikroskopik.**

Pemeriksaan mikroskopik meliputi pemeriksaan fragmen pengenalan yang terdapat pada simplisia dibawah mikroskop dengan menggunakan pelarut kloral hidrat dan air.

**c. Penapisan Fitokimia Simplisia.**

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mendeteksi golongan metabolit primer yaitu karbohidrat dan protein keberadaan metabolit tersebut dan golongan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, polifenol, kuinon, saponin, steroid, triterpenoid, terpenoid, monoterpen dan seskuiterpen yang terdapat pada sampel uji.

**Metabolit Primer**

Uji Barfoed (Analisis Karbohidrat)

- (Barfoed, 1873; Surayot *et al.*, 2015; Nurjannah *et al.*, 2017)
- Serbuk simplisia sebanyak 5,0 g dipanaskan dengan 100 mL air, kemudian disaring. Pada 1 mL filtrat, ditambahkan 1 mL pereaksi Barfoed. Campuran tersebut dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit. Terbentuknya endapan merah menunjukkan reaksi positif.

Uji Ninhidrin (Analisis Protein) (MEYER, 1957; Mesbahzadeh *et al.*, 2018)

- Serbuk simplisia sebanyak 5,0 g dipanaskan dengan 100 mL air, kemudian disaring. Pada 2 ml filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi Ninhidrin. Campuran tersebut dipanaskan di atas penangas air, diperhatikan warna yang terjadi. Terbentuknya warna biru menunjukkan reaksi positif.

**Metabolit Sekunder.** Identifikasi alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin,

saponin, kuinon, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, serta steroid dan triterpenoid merujuk kepada metode (Farnsworth, 1966; Adusei *et al.*, 2019)

**d. Pola Pemantauan Kromatogram.**

Teknik Kromatografi Lapis Tipis dengan variasi fasa gerak dan penampak bercak spesifik dilakukan sebagai uji konfirmasi untuk golongan metabolit sekunder pada kedua sampel uji. Masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 3 pelarut yang berbeda kepolarannya (n-heksana, etil asetat dan etanol) lalu ditotolkan pada plat KLT GF<sub>254</sub> menggunakan variasi fasa gerak yang sesuai. Pola kromatogram terbaik akan dipilih dari masing-masing simplisia untuk diuji aktivitas pendahuluan antioksidan.

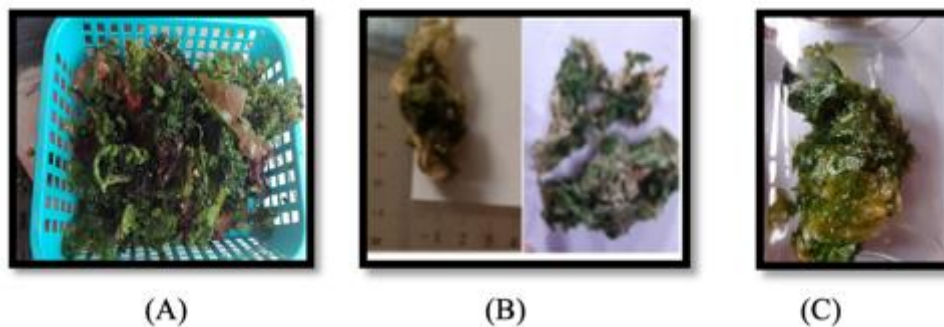
**e. Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan.**

Pola kromatogram terpilih dari masing-masing simplisia akan diuji aktivitas antioksidan menggunakan penampak bercak radikal bebas DPPH 0,2% dalam metanol. Dilakukan teknik dinamolisis terhadap masing-masing menggunakan pelarut etanol dan fase diam keras Whatmann. Kedalam kertas Whatman tersebut lalu disemprotkan penampak bercak DPPH. Perubahan warna kuning dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya aktivitas antioksidan.

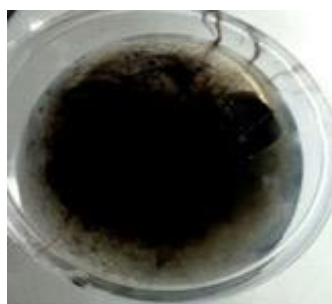
## Hasil dan Pembahasan

**Standarisasi Simplisia.** Standarisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas bahan yang digunakan. Standarisasi simplisia yang dilakukan meliputi pemeriksaan organoleptis, mikroskopik, penapisan fitokimia dan penentuan pola kromatogram.

**Pemeriksaan Organoleptik.** Pemeriksaan organoleptik terhadap serbuk simplisia meliputi pemeriksaan warna, aroma, dan rasa. Hasil pemeriksaan makroskopik terhadap simplisia dapat dilihat pada gambar 2, tabel 1 untuk simplisia (*Ulva lactuca*) dan gambar 2, tabel 2 untuk mikroalga filamen (*Spirogyra sp.*).

Gambar 1. (A) (*Ulva lactuca*) segar, (B) Simplisia (*Ulva lactuca*), (C) Awetan (*Ulva lactuca*) dalam etanol 95%Tabel 1. Pemeriksaan Organoleptik Serbuk Simplisia (*Ulva lactuca*)

| Parameter Pemeriksaan | Simplisia ( <i>Ulva lactuca</i> ) |
|-----------------------|-----------------------------------|
| Bentuk                | Serbuk                            |
| Warna                 | Hijau kemerahan                   |
| Aroma                 | Aroma ganggang                    |
| Rasa                  | Asin                              |



(A)



(B)

Gambar 2. Ganggang hijau (*Spirogyra sp.*), (A) Segar, (B) Simplisia (*Spirogyra sp.*)Tabel 2. Pemeriksaan Makroskopik Simplisia (*Spirogyra sp.*)

| Parameter Pemeriksaan | Simplisia ( <i>Spirogyra sp.</i> ) |
|-----------------------|------------------------------------|
| Bentuk                | Serbuk                             |
| Warna                 | Hijau kehitaman                    |
| Aroma                 | Aroma ganggang                     |
| Rasa                  | Asin                               |

Selada laut (*Ulva lactuca*) segar dan simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) berwarna hijau kemerahan, dengan aroma khas ganggang dan rasa yang asin. Warna hijau disebabkan oleh klorofil-a yang terkandung dalam selada laut (*Ulva lactuca*). Kandungan klorofil-a dalam selada laut sangat tergantung terhadap suhu, ketinggian serta mikroorganisme yang terkandung dalam habitat perairannya. (Tabarsa *et al.*, 2012)

Mikroalga filamen (*Spirogyra sp.*) segar dan simplisia (*Spirogyra sp.*) berwarna hijau pekat, dengan aroma khas ganggang dan rasa yang asin. Warna hijau disebabkan oleh klorofil-a dan klorofil-b yang terkandung

dalam mikroalga filamen hijau (*Spirogyra sp.*). Kandungan klorofil-a dan b dalam alga berperan dalam proses fotosintesis, biosintesis karbohidrat dan proses metabolisme energi. (Van de Poel *et al.*, 2016)

#### Pemeriksaan Mikroskopik.

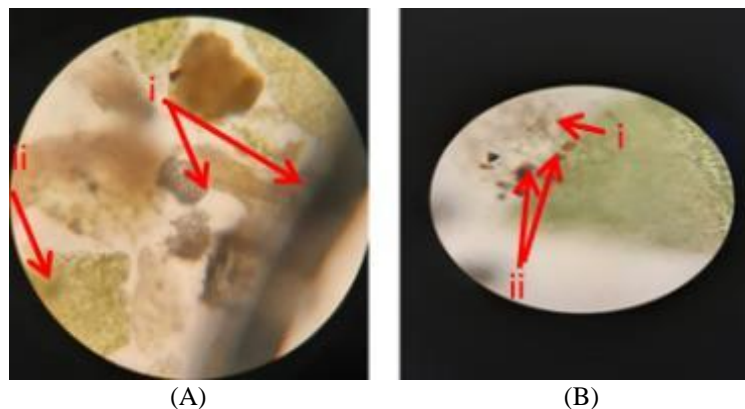
Pemeriksaan mikroskopik terhadap serbuk simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dan ganggang hijau (*Spirogyra sp.*) dilakukan dengan menggunakan pelarut air dan kloralhidrat (Yoon *et al.*, 2013; Taya *et al.*, 2016; Takano *et al.*, 2019). Pelarut air berguna untuk pengamatan amilum. Sementara itu, pelarut kloralhidrat dapat

melarutkan pati, protein, klorofil, resin, dan minyak mudah menguap. Sel yang mengerut akan mengembang ketika direaksikan dengan kloralhidrat sehingga fragmen pengenalan dapat terlihat jelas (Takano *et al.*, 2019). Hasil pemeriksaan mikroskopik terhadap simplisia dapat dilihat pada gambar 3 untuk simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dan gambar 4 untuk (*Spirogyra sp*).

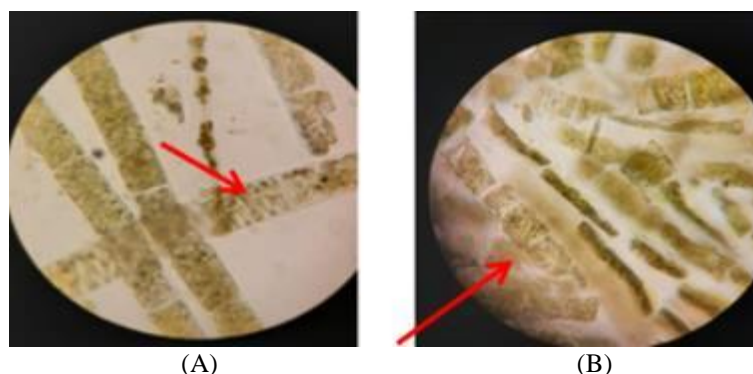
Dalam genus *Ulva*, ciri khas bentuk kloroplast, tipe thallus, ukuran dan warna akan mejadi fragmen pengenalan antar spesies. Selada laut (*Ulva lactuca*) memiliki ciri khas ukuran sel yang kecil, permukaan thallus yang lembut dengan pinggiran berlipit serta letak kloroplas yang bersebrangan dengan sel tetangga (Guidone *et al.*, 2013). Ciri mikroskopik menggunakan pelarut air yang ditemukan pada simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dari perairan Indonesia adalah tipe *thallus* bercabang dengan pinggiran berlipit besar, sel poligonal berwarna hijau dan

berukuran sedang. Sementara itu ciri mikroskopik menggunakan pelarut kloral hidrat yang ditemukan pada simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dari perairan Indonesia adalah sel produktif berbentuk poligonal dan mengandung minyak serta kumpulan pati poligonal (Lee, Kang dan Kim, 2019).

Simplisia mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) dalam pelarut air dan kloral hidrat, perbesaran 100x menunjukkan keberadaan sel spiral khas. Menurut (Takano *et al.*, 2019) sel spiral yang terdapat pada mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) berfungsi sebagai sel vegetatif. Bentuk sel vegetatif antar genus *Spirogyra* bervariasi berdasarkan jumlah kloroplast dan bentuk dinding sel. Ciri mikroskopis sel vegetatif pada pelarut air dan kloralhidrat mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) dari perairan Indonesia yaitu sel vegetatif dengan dua lapisan mesospora berselang-seling yang berisi kloroplast.



Gambar 3. Simplisia (*Ulva lactuca*) perbesaran 100x (A) Pelarut kloral hidrat, (i) *Thallus* (ii) sel poligonal berwarna hijau (B) Pelarut air, (i) kumpulan pati poligonal, (ii) sel fertil yang mengandung minyak.



Gambar 4. Simplisia (*Spirogyra sp*) dengan fragmen pengenalan sel spiral ditunjukkan dgn tanda panah, perbesaran 100x. (A) Pelarut air (B) Pelarut kloral hidrat.

## Penapisan Fitokimia Simplisia

Tabel 3. Penapisan Fitokimia Metabolit Primer Simplisia

| Golongan    | Jenis Pengujian | Hasil                   |                         |
|-------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|
|             |                 | ( <i>Ulva lactuca</i> ) | ( <i>Spirogyra sp</i> ) |
| Karbohidrat | Barfoed         | +                       | +                       |
| Protein     | Ninhidrin       | +                       | +                       |

Keterangan: (+) = mengandung senyawa yang dianalisis  
(-) = tidak mengandung senyawa yang dianalisis

Tabel 4. Penapisan Fitokimia Metabolit Sekunder Simplisia

| Golongan Metabolit Sekunder   | Hasil                   |                         |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                               | ( <i>Ulva lactuca</i> ) | ( <i>Spirogyra sp</i> ) |
| 1. Alkaloid                   |                         |                         |
| - Mayer                       | (+)                     | (+)                     |
| - Dragendorff                 | (+)                     | (+)                     |
| 2. Flavonoid                  |                         |                         |
| - Amil alkohol                | (+)                     | (+)                     |
| 3. Polifenol                  |                         |                         |
| - FeCl <sub>3</sub>           | (-)                     | (+)                     |
| 4. Tanin                      |                         |                         |
| - Gelatin                     | (-)                     | (+)                     |
| - Steasny                     | (-)                     | (-)                     |
| 5. Saponin                    |                         |                         |
| - HCl encer                   | (-)                     | (-)                     |
| 6. Mono-seskuiterpenoid       |                         |                         |
| - Anisaldehyd SO <sub>4</sub> | (+)                     | (+)                     |
| 7. Steroid Triterpenoid       |                         |                         |
| - Liebermann Burchard         | (-)                     | (-)                     |
| 8. Kuinon                     |                         |                         |
| - KOH 5%                      | (-)                     | (+)                     |

Keterangan: (+) = mengandung senyawa yang dianalisis  
(-) = tidak mengandung senyawa yang dianalisis

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi metabolit primer dan sekunder yang terkandung di dalam simplisia, sehingga digunakan sebagai prediksi awal metabolit yang terdapat dalam tanaman. Pada umumnya metabolit tersebut memiliki aktivitas farmakologi yang khas. Metabolit primer berperan dalam proses pertumbuhan dan pembentukan energi, sementara metabolit sekunder merupakan produk samping dari biosintesis tanaman yang berperan sebagai protektor tanaman.

**Golongan Metabolit Primer.** Data golongan metabolit primer disajikan dalam tabel 3. Simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dan (*Spirogyra sp*) mengandung karbohidrat yang ditandai dengan endapan merah merah bata kupri oksida (Cu<sub>2</sub>O) pada pemanasan selama 2-3 menit pada pengujian Barfoed. Endapan tersebut mengindikasikan monosakarida, karena monosakarida adalah agen pereduksi yang kuat dan mampu

membentuk ion kupri dalam *reagent* Barfoed (Barfoed, 1873; Bajpai, 2016). Dapat disimpulkan bahwa kedua simplisia mengandung gula-gula sederhana. Uji Ninhidrin digunakan untuk uji protein, karena semua asam amino bereaksi dengan ninhidrin membentuk senyawa aldehid yang lebih rendah disertai pembebasan CO<sub>2</sub> dan NH<sub>3</sub> menghasilkan warna biru (MEYER, 1957; J, Prarthana, 2017). Dapat disimpulkan bahwa kedua simplisia mengandung protein.

### Golongan Metabolit Sekunder

**Golongan Alkaloid.** Deteksi awal simplisia (*Ulva lactuca*) dan simplisia (*Spirogyra sp*) dinyatakan positif mengandung alkaloid karena mampu bereaksi dengan Mayer (endapan putih) dan Dragendorff (endapan jingga). Terbentuknya reaksi positif ketika sampel direaksikan dengan pereaksi Mayer karena pereaksi Mayer dapat berikatan dengan alkaloid dari sampel melalui ikatan koordinasi antara atom

N alkaloid dan Hg dari pereaksi Mayer sehingga menghasilkan endapan senyawa kompleks merkuri non polar. Pereaksi Dragendorff dapat mengendapkan alkaloid karena di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus nitrogen yang memiliki satu pasang elektron bebas menyebabkan alkaloid nukleofilik sehingga alkaloid mampu mengikat ion logam berat (J, Prarthana, 2017). Penelitian (Anjali *et al.*, 2019) menunjukkan kandungan selada laut adalah alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Hasil penapisan selada laut dan mikroalga filamen dari perairan Indonesia yang telah diuji mengidentifikasi keberadaan alkaloid. Namun, terdeteksinya kandungan protein pada selada laut dan mikroalga filamen, maka perlu dilakukan uji konfirmasi agar tidak terjadi reaksi positif palsu alkaloid karena pereaksi-pereaksi alkaloid dapat mengendapkan protein (Farnsworth, 1966).

*Golongan Flavonoid.* Prinsip identifikasi golongan flavonoid adalah reaksi Cyanidin Willstater yang dapat mendeteksi  $\gamma$ -benzopiron, dengan syarat terdapat gugus  $\gamma$ -benzopiron dan ikatan rangkap di C2 dan C3 yang beresonansi dan membentuk rangka sianidin dengan  $H^+$ . Akan tetapi metode ini sulit untuk mengidentifikasi secara jelas beberapa heterosida dan aglikon. Kalkon dan auron tidak memberikan reaksi pada reaksi ini. Tujuan penambahan serbuk Mg dan HCl untuk memutuskan ikatan antara glikosida dengan flavonoid. Kemudian, ditambahkan dengan amil alkohol untuk menarik flavonoid yang bersifat polar (Haneefa *et al.*, 2010; Santos, *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil pengujian pada kedua sampel, cincin yang terbentuk pada permukaan lapisan amil alkohol berwarna jingga. Berdasarkan (Farnsworth, 1966) terbentuknya warna kuning kemerahan hingga hingga merah muda teridentifikasi kedalam golongan flavonoid pigmen antosianin. Penelitian (Anjali *et al.*, 2019) menunjukkan kandungan selada laut adalah alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Namun perlu dilakukan uji konfirmasi agar tidak terjadi reaksi positif palsu dengan

kuinon. Disisi lain, flavonoid merupakan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker.

*Golongan Polifenol.* Golongan polifenol akan membentuk kompleks  $Fe(OH)_3$  yang berwarna biru hitam apabila direaksikan dengan pereaksi  $FeCl_3$  (J, Prarthana, 2017). Pada pengujian ini, hanya simplisia (*Spirogyra sp*) yang memberikan reaksi positif. Hal ini sesuai dengan penelitian (Kumar *et al.*, 2015) yang menyatakan kandungan polifenol total dari ekstrak mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) sangat tinggi. Sementara itu, tidak terdeteksinya golongan polifenol pada simplisia (*Ulva lactuca*) dapat diakibatkan oleh jumlah polifenol yang sedikit, karena itu perlu dilakukan penyemprotan penampak bercak  $FeCl_3$  pada plat kromatogram lapis tipis dilakukan untuk memastikan keberadaan polifenol pada simplisia (*Ulva lactuca*).

*Golongan Tanin.* Reaksi positif golongan tannin terhidrolisis ditunjukkan simplisia (*Spirogyra sp*) karena terbentuk endapan putih setelah penambahan pereaksi gelatin. Tidak terbentuknya endapan merah muda setelah kedua simplisia ditambahkan pereaksi Steasny membuktikan kedua simplisia tidak mengandung tanin katekat (tanin terkondensasi). Penelitian (Anjali *et al.*, 2019) menunjukkan kandungan selada laut adalah alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Seringkali protein juga memberikan reaksi yang positif dalam identifikasi tanin karena protein juga dapat memberikan ikatan yang kompleks dengan polifenol yang merupakan sekelompok tanin alami. Oleh karena itu perlu, untuk reaksi positif palsu tannin dengan menggunakan 3 bagian, bagian pertama diisi larutan NaCl, bagian kedua diisi gelatin dan bagian ketiga campuran NaCl-gelatin. Apabila terjadi pengendapan pada bagian dua dan tiga membuktikan keberadaan tannin. Pada penelitian yang telah dilakukan, uji konfirmasi tannin menggunakan penampak bercak  $FeCl_3$  pada plat kromatografi lapis tipis (Farnsworth, 1966).

*Golongan Monoterpen dan Sesquiterpen.* Golongan monoterpen dan sesquiterpen yang



terdeteksi pada kedua simplisia disebabkan oleh reaksi oksidasi dan eliminasi antara anisaldehyd asam sulfat dengan sampel sehingga mengakibatkan terbukanya komponen siklik mono- atau seskui-terpen dan berubah menjadi gugus kromofor yang terdeteksi melalui perubahan warna. (Liu *et al.*, 2020). Penelitian (Sahayaraj *et al.*, 2019) menunjukkan bahwa terpenoid teridentifikasi pada selada laut.

**Golongan Kuinon.** Pereaksi KOH digunakan dalam analisis karena dapat menambah gugus hidroksil pada struktur senyawa sehingga golongan kuinon dapat teridentifikasi (J, Prarthana, 2017). Pada deteksi awal, simplisia mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) dinyatakan mengandung kuinon. Namun, penelitian sebelumnya menyatakan bahwa mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) mengandung proantosianidin, flavonoid dan polifenol (Kumar *et al.*, 2015). Perlu dilakukan uji konfirmasi kuinon pada simplisia mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) perairan Indonesia agar tidak tertukar dengan golongan flavonoid.

Sementara itu, berdasarkan hasil penelitian, simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dinyatakan negatif mengandung kuinon. Ini menunjukkan bahwa simplisia tidak mengandung kuinon atau kuinon yang tersedia terikat dengan gula sebagai glikosida seperti dimer kuinol yang tampak tidak berwarna (Awad *et al.*, 2001). Hal ini

sesuai dengan penelitian (Anjali *et al.*, 2019) yang menyatakan tidak terdeteksi kuinon pada sampel selada laut.

#### **Pola Pemantauan Kromatogram.**

Kromatografi lapis tipis adalah teknik yang digunakan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder berdasarkan pergerakan spot, nilai Rf serta fluoresensi (Windyaswari *et al.*, 2019). Pola kromatogram kedua simplisia disajikan dalam tabel 5 dan 6 berikut:

Data pola kromatogram lapis tipis pada tabel 5, selada laut (*Ulva lactuca*) dari perairan Indonesia menggunakan 3 sistem fase gerak berturut-turut yaitu n-heksana:CHCl<sub>3</sub> (3,3:7,7), etil asetat:kloroform (5:5) dan n-heksana:etil asetat (9:1), Rf=0,67 dengan spot yang berwarna warni.

Menurut (Markham, 1982) warna spot yang berfluoresensi menjadi ungu dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> mengidentifikasikan flavonoid golongan flavon, flavonol, flavanon, isoflavon dan khalkon. Sementara itu, warna spot yang berfluoresensi menjadi hijau terang dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> mengidentifikasikan flavonoid golongan auron dan warna spot yang berfluoresensi menjadi biru dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> mengidentifikasikan flavonoid golongan flavanon, flavon, khalkon, flavonol dan isoflavon.

Tabel 5. Data KLT Selada Laut (*Ulva lactuca*)

| Fase diam/<br>pelarut                   | Sistem<br>fase gerak        | Perbandingan<br>Fase Gerak | Rf   | Pengamatan      |                      |                      |            |
|---|-----------------------------|----------------------------|------|-----------------|----------------------|----------------------|------------|
|   |                             |                            |      | Visual          | UV <sub>254</sub> nm | UV <sub>365</sub> nm | DPPH 0,2%  |
| Silika GF <sub>254</sub> /EtOH          | n-heksana:CHCl <sub>3</sub> | (3,3:7,7)                  | -    | Hijau           | Hitam                | Ungu                 | (+) Kuning |
| Silika GF <sub>254</sub> /EtOAc         | EtOAc:CHCl <sub>3</sub>     | (5:5)                      | -    | Hijau           | Hitam                | Hijau terang         | (+) Kuning |
| Silika GF <sub>254</sub> /EtOAc         | EtOAc:CHCl <sub>3</sub>     | (5:5)                      | -    | Hijau           | Hitam                | Biru                 | (+) Kuning |
| Silika GF <sub>254</sub> /<br>n-heksana | n-heksana:EtOAc             | (9:1)                      | 0,67 | Hijau<br>kuning | Hitam                | Merah muda           | (+) Kuning |

Tabel 6. Data KLT Mikroalga Filamen (*Spirogyra sp*)

| Fase diam/<br>pelarut                   | Sistem<br>fase gerak     | Perbandingan<br>Fase Gerak | Rf   | Pengamatan      |                      |                       |            |
|---|--------------------------|----------------------------|------|-----------------|----------------------|-----------------------|------------|
|   |                          |                            |      | Visual          | UV <sub>254</sub> nm | UV <sub>365</sub> nm  | DPPH 0,2%  |
| Silika GF <sub>254</sub> /EtOH          | EtOAc:asam<br>format:air | (17:2:1)                   | 0,53 | Hijau           | Hitam                | Ungu<br>kehijauan     | (+) Kuning |
| Silika GF <sub>254</sub> /EtOH          | EtOAc:asam<br>format:air | (17:2:1)                   | 0,43 | Hijau           | Hitam                | Kuning<br>terang      | (+) Kuning |
| Silika GF <sub>254</sub> /EtOAc         | EtOAc:CHCl <sub>3</sub>  | (9:1)                      | 0,67 | Hijau           | Hitam                | Hijau terang          | (+) Kuning |
| Silika GF <sub>254</sub> /n-<br>heksana | n-heksana:EtOAc          | (4:6)                      | 0,37 | Hijau<br>kuning | Hitam                | Merah muda,<br>jingga | (+) Kuning |

Hal ini sejalan dengan penelitian (Anjali *et al.*, 2019) yang menyatakan salah satu kandungan selada laut adalah flavonoid. Untuk memastikan golongan flavonoid diperlukan uji konfirmasi dengan menggunakan uap ammonia serta penampak bercak spesifik citroborat dan aluminium klorida. Disisi lain, salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam selada laut (*Ulva lactuca*) dari selat Bosphorus bersifat sebagai antioksidan adalah golongan flavonoid yaitu katekin hidrat, rutin hidrat, kuersetin yang bersifat polar (lipofilik), yang teridentifikasi dalam system polar yaitu methanol:air (Aslan *et al.*, 2019). Pada pola kromatogram lapis tipis selada laut (*Ulva lactuca*) dari perairan Indonesia, seluruh spot dengan variasi sistem fase gerak semi polar memberikan reaksi positif peredaman radikal bebas DPPH yaitu perubahan warna kuning pada latar ungu. Dalam hal ini, terlihat perbedaan kepolaran flavonoid, hal ini membuktikan bahwa habitat tumbuh mempengaruhi biosintesis metabolit sekunder pada suatu spesies. Hal lain yang menarik adalah keberadaan spot dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> berwarna merah muda pada sistem fase gerak nonpolar n-heksana:etil asetat (9:1) dengan nilai Rf = 0,67 yang memberikan reaksi positif peredaman radikal bebas DPPH. Berdasarkan penelitian (Sahayaraj *et al.*, 2019) selada laut (*Ulva lactuca*) dari pesisir pulau Thoothukudi Har, Tamil Nadu, India memiliki kandungan terpenoid dan asam palmitat yang berperan sebagai agen pereduksi. Terpenoid merupakan metabolit sekunder yang bersifat non polar dan banyak ditemukan pada ekstrak dengan pelarut non polar (n-heksan, benzen). Keberadaan golongan terpenoid pada selada laut (*Ulva lactuca*) dari perairan Indonesia perlu dipastikan dengan pereaksi spesifik anisaldehyda-asam sulfat.

Data pola kromatogram lapis tipis pada tabel 6, mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) dari perairan Indonesia menggunakan 3 sistem fase gerak berturut-turut yaitu etil asetat: asam format: air (17:2:1), Rf = 0,53 dan 0,43; etil asetat:kloroform (9:1), Rf = 0,67 dan n-heksana:etil asetat (4:6), Rf=0,37

dengan spot yang berwarna warni. Menurut (Markham, 1982) warna spot yang berfluoresensi menjadi ungu dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> mengidentifikasi flavonoid golongan flavon, flavonol, flavanon, isoflavon dan khalkon. Sementara itu, warna spot yang berfluoresensi menjadi merah muda dan kuning terang dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> merupakan flavonoid golongan flavonol, auron, antosianidin, dan warna spot yang berfluoresensi hijau terang dibawah sinar UV<sub>365nm</sub> mengidentifikasi flavonoid golongan auron. Hal ini sejalan dengan penelitian (Kumar *et al.*, 2015) yang menyatakan bahwa ekstrak mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) pada habitat kolam gurun pasir dingin trans-Himalaya mengandung proantosianidin, flavonoid dan polifenol yang tinggi. Hal ini juga menjelaskan terdeteksinya golongan polifenol pada penapisan fitokimia dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Golongan polifenol dan flavonoid merupakan antioksidan alam dengan kemampuan memutus reaksi berantai radikal bebas.

**Uji Aktivitas Antioksidan.** Penelitian (Sahayaraj *et al.*, 2019) selada laut (*Ulva lactuca*) memiliki kandungan terpenoid dan asam palmitat yang berperan sebagai agen pereduksi. Penelitian (Anjali *et al.*, 2019) menunjukkan kandungan selada laut adalah alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker.

Disisi lain, penelitian (Kumar *et al.*, 2015) yang menyatakan bahwa ekstrak mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) pada habitat kolam gurun pasir dingin trans-Himalaya mengandung proantosianidin, flavonoid dan polifenol yang tinggi, diduga bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan, antikanker dan antibakteri pada mikroalga filamen (*Spirogyra sp*).

Hal ini melatarbelakangi penelitian untuk melakukan uji pendahuluan sederhana deteksi aktivitas antioksidan dari sampel uji dengan penampak bercak radikal bebas DPPH 0,02% dalam methanol menggunakan teknik dinamolisis.

Tabel 7. Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan

| Simplisia           | Pelarut     | Uji Pendahuluan Antioksidan | Luas zona (cm) |
|---------------------|-------------|-----------------------------|----------------|
| <i>Ulva lactuca</i> | Etanol      | (+) kuning jingga           | 1,56           |
|                     | Etil asetat | (+) kuning jingga           | 1,78           |
|                     | n-heksana   | (+) kuning lemah            | 0,89           |
| <i>Spirogyra sp</i> | Etanol      | (+) kuning terang           | 3,23           |
|                     | Etil asetat | (+) kuning terang           | 3,50           |
|                     | n-heksana   | (+) kuning                  | 2,67           |

Hasil uji pendahuluan dapat dijadikan landasan untuk menentukan kekuatan aktivitas antioksidan suatu sampel secara in-vitro dan in-vivo. Data uji pendahuluan aktivitas antioksidan pada kedua sampel dengan metode dinamolisis tersaji pada tabel 7.

Dari hasil pengujian aktivitas pendahuluan yang dilakukan pada tabel 7, kedua simplisia memiliki aktivitas antioksidan. Keberadaan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan perubahan zona kuning pada latar belakang ungu diakibatkan oleh reaksi oksidasi reduksi antara senyawa antioksidan dengan radikal bebas DPPH yang berwarna ungu. Terbentuknya zona kuning setelah disebabkan oleh senyawa antioksidan dalam sampel yang dapat mendonorkan atom hidrogen ketika bereaksi dengan molekul DPPH sehingga mengakibatkan molekul DPPH tereduksi dan menyebabkan perubahan warna radikal bebas DPPH dari ungu menjadi kuning (Kannan, Arumugam dan Anantharaman, 2010). Namun, besaran luas zona kuning tidak memastikan kekuatan antioksidan tersebut. Kemampuan penangkapan radikal DPPH oleh suatu antioksidan dinyatakan dengan nilai persen peredaman radikal bebas. Nilai yang semakin tinggi menunjukkan bahwa sampel senyawa yang diduga memang berpotensi sebagai antioksidan. Menurut (Taya *et al.*, 2016) intensitas antioksidan dinyatakan berdasarkan konsentrasi  $IC_{50}$ . Suatu antioksidan dinyatakan sangat kuat apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 50$  ppm. Untuk memastikan kekuatan aktivitas antioksidan dari simplisia selada hijau (*Ulva lactuca*) dan mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) perlu dilakukan penentuan nilai  $IC_{50}$  dari masing-

masing sampel uji (Windyaswari *et al.*, 2019).

### Kesimpulan

Selada hijau (*Ulva lactuca*) dan mikroalga filamen mengandung karbohidrat dan protein. Metabolit sekunder yang terdeteksi pada simplisia selada hijau (*Ulva lactuca*) adalah alkaloid, flavonoid, mono dan seskuiterpenoid. Disisi lain, simplisia mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, kuinon serta mono dan seskuiterpenoid. Berdasarkan kepolaran, senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada simplisia selada laut (*Ulva lactuca*) dan simplisia mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) termasuk kedalam golongan semi polar hingga polar yang terpola dalam kromatogram dengan system pengelusi bervariasi. Umumnya, metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan alam golongan semi polar hingga polar adalah golongan fenolik dan turunannya yaitu tannin, flavonoid serta senyawa terpenoid sederhana (mono dan seskuiterpen). Penelitian ini berhasil mengidentifikasi aktivitas antioksidan pada simplisia selada hijau (*Ulva lactuca*) dan mikroalga filamen (*Spirogyra sp*) secara kualitatif. Oleh karena itu, perlu dilakukan penetapan kadar aktivitas secara kuantitatif dengan parameter uji adalah nilai peredaman radikal bebas adalah  $IC_{50}$ . Jika nilai  $IC_{50} < 50$  ppm maka kedua simplisia bahari yaitu selada laut (*Ulva lactuca*) dan mikrolaga filamen (*Spirogyra sp*) memiliki intensitas sangat kuat sebagai antioksidan dan merupakan bahan alam bahari potensial untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alam. (Taya *et al.*, 2016).

## Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada LPPM UNJANI yang telah mendanai penelitian ini serta penyediaan sampel uji yang difasilitasi oleh Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya dan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

## Daftar Pustaka

- Adusei, S. *et al.* (2019) "Phytochemical analysis, antioxidant and metal chelating capacity of *Tetrapleura tetraptera*," *Heliyon*.
- Ahmed, S. Dwaish, D. Y. M. Y. and S. N. L. (2016) "Use of *Spirogyra* sp. Extract Against Multidrug Resistant Bacterial pathogens," *International Journal of Advanced Research*, 4(4), hal. 144–149.
- Anjali, K. P. *et al.* (2019) "Bioprospecting of seaweeds (*Ulva lactuca* and *Stoechospermum marginatum*): The compound characterization and functional applications in medicine-a comparative study," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. Elsevier, 200(April), hal. 111622.
- Aslan, E. *et al.* (2019) "Monitoring the antioxidant activities by extracting the polyphenolic contents of algae collected from the Bosphorus," *Marine Pollution Bulletin*. Elsevier, 141(February), hal. 313–317.
- Awad, H. M. *et al.* (2001) "Structure - Activity study on the quinone/quinone methide chemistry of flavonoids," *Chemical Research in Toxicology*, 14(4), hal. 398–408.
- Bajpai, V. K. (2016) "Antimicrobial bioactive compounds from marine algae: A mini review," *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, hal. 1076–1085.
- Banaee, M., Taheri, S. dan Hedayatzadeh (2018) "Effects of Cadmium and Dimethoate on Some Biological and Biochemical Indices in Freshwater Green Algae, *Spirogyra* sp.," 4(4), hal. 593–603.
- Barfoed, C. (1873) "Ueber die Nachweisung des Traubenzuckers neben Dextrin und verwandten Körpern," *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 12(1), hal. 27–32.
- Brunt, E. . dan Burgess, J. . (2016) "The promise of marine molecules as cosmetic active ingredients," *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(1), hal. 42–49.
- Champa, P. dan et al (2016) "Determination of phytochemical compound from *Spirogyra* sp. using ultrasonic assisted extraction," *International Journal of GEOMATE*, 11(2), hal. 2391–2396.
- Deethae, A. *et al.* (2018) "Inhibitory effect of *Spirogyra* spp. algal extracts against herpes simplex virus type 1 and 2 infection.," *journal of applied microbiology*, 124(6), hal. 1441–1446.
- Departemen Kesehatan RI (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Pertama. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Farnsworth, N. . (1966) "Biological and Phytochemical Screening of Plants," *Pharmaceutical Science*, 151(3712), hal. 874–875.
- Guidone, M. *et al.* (2013) "Molecular and morphological diversity of Narragansett Bay (RI, USA) *Ulva* (*Ulva*, *Chlorophyta*) populations," *Journal of Phycology*, 49(5), hal. 979–995.
- J, Prarthana, et al (2017) "Screening of Phytochemicals & Bioactive Antibacterial Activity in *Spirogyra* Sp.," *International Journal of Advanced Research*, 5(7), hal. 1145–1154.
- Kannan, R. R. R., Arumugam, R. dan Anantharaman, P. (2010) "In vitro antioxidant activities of ethanol extract from *Enhalus acoroides* (L.F.) Royle," *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(11), hal. 898–901.
- Kidgell, J. T. *et al.* (2019) "Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function," *Algal*

- Research*. Elsevier, 39(March), hal. 101422.
- Ktari, L. (2017) "Pharmacological Potential of Ulva Species: A Valuable Resource," *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 6(1), hal. 1–4.
- Kumar, J. *et al.* (2015) "Chemical composition and biological activities of trans-Himalayan alga *Spirogyra porticalis* (Muell.) Cleve," *PLoS ONE*, 10(2), hal. 1–24.
- Lee, H. W., Kang, J. C. dan Kim, M. S. (2019) "Taxonomy of ulva causing blooms from jeju island, korea with new species, u. Pseudo-ohnoi sp. nov. (ulvales, chlorophyta)," *Algae*, 34(4), hal. 253–266.
- Liu, H. *et al.* (2020) "Chemical composition, algicidal, antimicrobial, and antioxidant activities of the essential oils of *Taiwania flousiana* Gaussen," *Molecules*, 25(4).
- Madalena silva, Luis Veira, A. P. A. and A. K. (2013) "The Marine Macroalgae of the Genus *Ulva*: Chemistry, Biological Activities and Potential Applications," *Oceanography: Open Access*, 01(01), hal. 1–6.
- Markham, K. . (1982) *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press Inc.(London) ltd.
- Mesbahzadeh, B. *et al.* (2018) "Beneficial effects of *Spirogyra Neglecta* Extract on antioxidant and anti-inflammatory factors in streptozotocin-induced diabetic rats," *Biomolecular Concepts*, 9(1), hal. 184–189.
- MEYER, H. (1957) "The ninhydrin reaction and its analytical applications.," *The Biochemical journal*, 67(2), hal. 333–340.
- Mohammed Haneefa, K. P. *et al.* (2010) "Formulation and evaluation of herbal gel of *Pothos scandens* Linn," *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(12), hal. 988–992.
- Nurjannah, L. *et al.* (2017) "Produksi Asam Laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan Sumber Karbon Tetes Tebu," *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 9(1), hal. 1–9.
- Van de Poel, B. *et al.* (2016) "Transcriptome profiling of the green alga *Spirogyra pratensis* (Charophyta) suggests an ancestral...," *Plant Physiology*, hal. 705–720.
- Sahayaraj, K. *et al.* (2019) "Green preparation of seaweed-based silver nano-liquid for cotton pathogenic fungi management," *IET Nanobiotechnology*, 13(2), hal. 219–225.
- Santos, M., Fortunato, R. H. dan Spotorno, V. G. (2019) "Analysis of flavonoid glycosides with potential medicinal properties on *Bauhinia uruguayensis* and *Bauhinia forficata* subspecies *pruinosa*," *Natural Product Research*. Taylor & Francis, 33(17), hal. 2574–2578.
- Surayot, U. *et al.* (2015) "Characterization and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing," *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 79(10), hal. 1644–1653.
- Tabarsa, M. *et al.* (2012) "Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(12), hal. 2500–2506.
- Takano, T. *et al.* (2019) "Identification of 13 *Spirogyra* species (Zygnemataceae) by traits of sexual reproduction induced under laboratory culture conditions," *Scientific Reports*, 9(1), hal. 1–11.
- Taya, S. *et al.* (2016) "Preventive effects of *Spirogyra neglecta* and a polysaccharide extract against dextran sodium sulfate induced colitis in mice," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(4), hal. 2235–2245.
- Wang, L. *et al.* (2014) *Overview on Biological Activities and Molecular Characteristics of Sulfated*

- Polysaccharides from Marine Green Algae in Recent Years.*
- Windyaswari, A. S. *et al.* (2019) "Phytochemical profile of sea grass extract (*Enhalus acoroides*): A new marine source from Ekas Bay, East Lombok," *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 278(1).
- Yaich, H. *et al.* (2017) "Effect of extraction procedures on structural, thermal and antioxidant properties of ulvan from *Ulva lactuca* collected in Monastir coast," *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V., 105, hal. 1430–1439.
- Yoon, M. *et al.* (2013) "Proteomic analysis of *Spirogyra varians* mutant with high starch content and growth rate induced by gamma irradiation," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36(6), hal. 765–774.