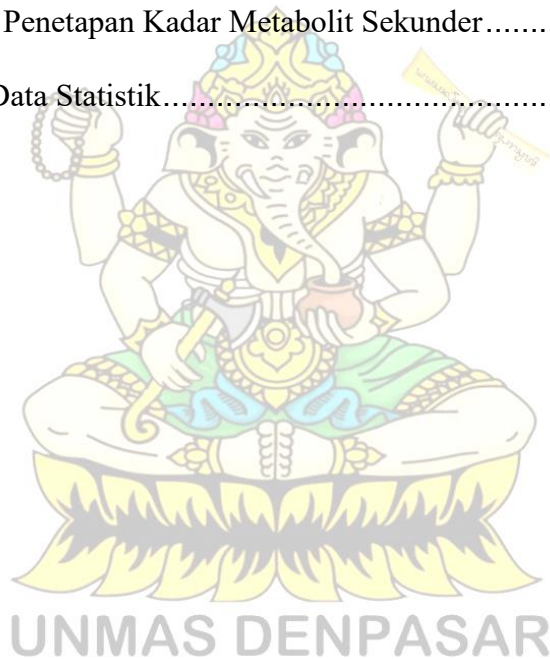


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. SK Pembimbing Skripsi.....	60
Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian Konsentrasi Metabolit Sekunder.....	62
Lampiran 3. Surat Kelaikan Etik	63
Lampiran 4 Surat Keterangan Uji Fitokimia	64
Lampiran 5. Proses Pembuatan Simplisia.....	65
Lampiran 6. Prosedur Ekstraksi Sisik ikan barakuda.....	67
Lampiran 7. Proses Pembuatan Nanopartikel.....	69
Lampiran 8. Proses Penetapan Kadar Metabolit Sekunder.....	70
Lampiran 9. Hasil Data Statistik.....	71



DAFTAR SINGKATAN

m	: Meter
Cm	: Sentimeter
Gr	: Gram
mg	: Miligram
HPLS	: <i>High Pressure Liquid Chromatography.</i>
IR	: Infrared
NMR	: <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
FeCl ₃	: <i>Ferric Chloride</i>
Mg	: Magnesium
HCl	: Hidrogen klorida
CH ₃ OOH	: Astetic Acid
H ₂ SO ₄	: Sulfur dioksida
μL	: Mikroliter
NaOH	: Natrium Hidroksida
rpm	: Revolusi per menit



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki lautan yang luas, sering kali masyarakat yang tinggal di seluruh pesisir menjadikan nelayan sebagai profesi utama. Banyak macam jenis ikan dari hasil tangkapan nelayan salah satunya adalah Ikan Barakuda. Ikan barakuda merupakan salah satu hasil tangkapan yang bergizi dan bernilai ekonomis namun belum dimanfaatkan dengan baik sebagai produk olahan. Ikan Barakuda terkenal dengan giginya yang sangat tajam. Ikan ini dapat ditemukan di lautan seluruh dunia. Makanan utamanya adalah ikan-ikan yang ukurannya lebih kecil darinya (Pradana *et al* 2013).

Ikan barakuda (*Sphyrna barracuda*) menjadi salah satu hasil tangkapan yang tinggi di Indonesia. Data produksi ikan barakuda mencapai 36.694,82 ton pada tahun 2020 (KKP, 2022). Produk pengawetan ikan barakuda yang dihasilkan berpotensi diminati oleh pasar internasional. Gizi dalam ikan barakuda dapat dipertahankan dengan memperhatikan kondisi perairan, cara penangkapan, penanganan, penyimpanan, pengolahan dan pengawetan hingga sampai pada konsumen. Ikan barakuda segar diperoleh dari 3 lokasi TPI berbeda yaitu; Semarang, Batang dan Jepara. Perbedaan lokasi didasari oleh perbedaan cara penangkapan, penanganan dan jumlah produksi yang tersedia. Praktik dilapangan menunjukkan terjadinya ketidaksesuaian dalam cara penanganan dan penyimpanan yang menimbulkan penurunan kualitas pada ikan segar (Wodi *et al.* 2018).

Selama ini, perhatian terhadap pemanfaatan ikan barakuda cenderung terfokus pada dagingnya sebagai sumber protein. Namun, bagian lain seperti sisik ikan barakuda seringkali dianggap sebagai limbah. Sisik ikan merupakan limbah yang belum dimanfaatkan dengan optimal. Sisik ikan dalam skala industri (diperoleh dari industri fillet ikan) dapat dimanfaatkan sebagai sumber kolagen, sedangkan dalam skala rumah tangga biasanya hanya dibuang. Sisik ikan mengandung proksimat, kalsium, kitin, alkaloid, steroid, saponin, fenol hidrokuinon, molisch, benedict, biuret, dan ninhidrin (Budirahardjo *et al* 2010)

Limbah perikanan termasuk sisik ikan, telah banyak diteliti dan ditemukan mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi memiliki nilai ekonomi dan medis (Awuchi *et al* 2022). Studi pendahuluan menunjukkan bahwa metabolit sekunder seperti steroid, terpenoid, dan alkaloid banyak ditemukan pada organisme laut termasuk ikan (Zainuddin *et al* 2021). Senyawa-senyawa ini dikenal memiliki beragam aktivitas biologis yang sangat menjanjikan, seperti antioksidan, antiinflamasi, antikanker, hingga antimikroba. Mengingat sisik merupakan bagian terluar ikan yang berinteraksi langsung dengan lingkungan, ada kemungkinan besar sisik ikan barakuda menyimpan metabolit sekunder ini sebagai mekanisme pertahanan diri atau adaptasi. Ini menjadikan sisik ikan sebagai sumber daya alam yang menarik untuk dieksplorasi lebih lanjut (Eryanti *et al* 2021).

Oleh karena itu, penelitian mengenai uji konsentrasi metabolit sekunder pada sisik ikan barakuda menjadi sangat relevan. Penelitian ini tidak hanya berpotensi mengungkap nilai tambah dari limbah perikanan yang selama ini terabaikan, tetapi juga dapat membuka jalan bagi pengembangan produk baru

berbasis biomaterial dari laut. Pemanfaatan sisik ikan barakuda sebagai sumber metabolit sekunder dapat menjadi solusi inovatif dalam meningkatkan nilai ekonomis hasil perikanan, sekaligus mendukung konsep keberlanjutan dan ekonomi sirkular dalam industri perikanan nasional (Apriasih, Nofreana, & Armando 2023).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut :

1. Berapa besar kadar metabolit sekunder berupa alkaloid, terpenoid dan steroid pada sisik ikan barakuda (*Sphyaena barracuda*) dalam bentuk ekstrak dan nano?
2. Adakah perbedaan kadar metabolit sekunder antara sisik ikan barakuda dalam bentuk ekstrak dan nano?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui berapa besar perbandingan kandungan senyawa metabolit sekunder (steroid, terpenoid, alkaloid) pada sisik ikan barakuda dan senyawa metabolit sekunder (steroid, terpenoid, alkaloid) pada sisik ikan barakuda dalam bentuk nano.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk menentukan perbandingan konsentrasi masing-masing senyawa metabolit sekunder (steroid, terpenoid, dan alkaloid) pada sisik ikan barakuda dan senyawa metabolit sekunder (steroid, terpenoid, dan alkaloid) pada sisik ikan barakuda dalam bentuk nano.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Menambah wawasan ilmiah dalam dunia kedokteran, khususnya kedokteran gigi mengenai keberadaan dan konsentrasi metabolit sekunder dalam bagian tubuh ikan, khususnya sisik ikan barakuda.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi mengenai besar kandungan metabolit sekunder pada sisik ikan barakuda serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan dalam pemanfaatan sisik ikan sebagai sumber bahan alam dalam bidang farmasi atau bioteknologi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Barakuda (*Sphyraena barracuda*)

2.1.1 Morfologi dan Kalsifikasi Ikan Barakuda (*Sphyraena barracuda*)

Ikan Barakuda (*Sphyraena barracuda*) termasuk dalam kelas *Actinopterygii* dan berukuran besar. Panjang tubuhnya bisa mencapai enam kaki dengan lebar satu kaki. Permukaan tubuhnya ditutupi oleh sisik halus. Beberapa spesies bisa mencapai panjang hingga 1,8m dengan lebar 30 cm. Ikan barakuda besar memiliki rahang yang kuat dengan didukung sederetan gigi-gigi yang panjang meruncing dan tajam, sanggup memutuskan jari-jari manusia. Ikan barakuda besar juga termasuk dalam kategori ikan perenang cepat (Simangunsong *et al.*, 2023; Tapilatu & Kusuma, 2022).



Gambar 2.3. 1 Ikan Barakuda (*Sphyraena barracuda*)

(Simangunsong *et al.*, 2023; Tapilatu & Kusuma, 2022)

Barakuda memiliki bentuk badan yang memanjang seperti cerutu, mulut lebar dengan gigi taring (*canine*) yang kuat, rahang bawah lebih menonjol ke depan (*superior*). Sirip ekor berbentuk emarginate dan, kedua ujung sirip ekor berwarna pucat. Pada tubuh bagian bawah terdapat noda-noda (*blotch*) berwarna hitam. Kepala diantara kedua mata datar atau sedikit cekung, Sirip punggung pertama memiliki 5 duri, yang kedua 10 duri. Sirip

pertama dari sirip dorsal dan anal kedua mencapai atau melampaui ujung sirip terakhir, ketika sirip mengalami depresi. Ada sekitar 75-90 sisik sepanjang garis lateral (Tapilatu & Kusuma, 2022). Ikan Barakuda mempunyai klasifikasi ilmiah sebagai berikut (Suwasono, 2019) :

Kingdom : Animalia

Filum : *Chordata*

Sub-filum : *Vertebrata*

Kelas : *Actinopterygii*

Ordo : *Perciformes*

Subordo : *Sphyraenoidei*

Famili : *Sphyraenidae*

Genus : *Sphyraena*

Species : *Sphyraena jello*, *Sphyraena barracuda*, *Sphyraena flavicaoda*, *Sphyraena afra*, *Sphyraena argentea*, *Sphyraena ensis*, *Sphyraena helleri*, *Sphyraena lucasana*

Nama Inggris : *Banded Barracuda*

Nama Lokal : Ikan Barakuda

2.1.2 Manfaat Ikan Barakuda (*Sphyraena barracuda*)

Kandungan yang ada ikan barakuda mempunyai banyak manfaat. Komposisi kimia ikan Barakuda segar terdiri atas 0%–0,5% karbohidrat, 16%–21% protein, 1,2%–1,5% mineral, 0,2%–25% lemak, serta 66%–81% air, dan juga mengandung asam amino esensial (EAA) serta asam lemak. Komponen nutrisi tersebut berperan penting dalam menjaga kesehatan manusia, mendukung pertumbuhan anak secara optimal, mencegah penyakit

kardiovaskular, serta melindungi tubuh dari berbagai gangguan fisiologis lainnya. Selain itu, ikan juga merupakan sumber zat gizi esensial seperti asam lemak omega-3, metionin, zat besi, seng, vitamin A, vitamin D, lisin, dan kalsium (Noreen *et al.*, 2025).

Asam lemak omega-3 merupakan kelompok asam lemak tak jenuh rantai panjang yang bersifat esensial bagi kesehatan dan perkembangan tubuh. Penelitian menunjukkan bahwa dua jenis omega-3 yang paling bermanfaat adalah EPA (Eikosapentaenoat) dan DHA (Dokosaheksaenoat), keduanya memberikan berbagai efek positif terhadap kesehatan manusia. Manfaat tersebut antara lain menurunkan risiko infark miokard, menurunkan tekanan darah serta kadar trigliserida dalam darah, meningkatkan fungsi sistem imun, dan mempertahankan fungsi otak yang optimal. Selain itu, omega-3 juga berperan dalam melindungi tubuh terhadap berbagai gangguan psikologis, terutama depresi dan gangguan pemusatan perhatian dengan hiperaktivitas (ADHD), serta memiliki efek protektif terhadap kanker (Pal *et al.*, 2018).

Zat besi berperan dalam sintesis hemoglobin pada eritrosit yang bertugas mengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Kalsium diperlukan untuk pembentukan dan mineralisasi tulang yang kuat, serta untuk fungsi normal otot dan sistem saraf. Asupan kalsium, fosfor, dan fluor lebih tinggi ketika ikan kecil dikonsumsi beserta tulangnya dibandingkan jika tulangnya dibuang (Pal *et al.*, 2018).

2.1.3 Kandungan Sisik Ikan Barakuda (*Sphyrna barracuda*)

Sisik ikan mengandung proksimat, kalsium, kitin, alkaloid, steroid, saponin, fenol hidrokuinon, molisch, benedict, biuret, dan ninhydrin (Budirahardjo, 2010). Komponen kimia yang terdapat dalam sisik ikan meliputi kitin, kalsium, zat proksimat, alkaloid, steroid, saponin, fenol, hidrokuinon, molisch, benedict, biuret, dan ninhidrin. Kandungan kitosan pada ikan Barakuda dapat mencapai 37,4% setelah proses dehidrasi. Selain itu, senyawa antimikroba yang terdapat pada sisik ikan dengan komposisi menyerupai jaringan tulang berpotensi digunakan sebagai bahan dalam bidang kedokteran gigi (Hisham *et al.*, 2024).

Sisik ikan merupakan limbah yang belum dimanfaatkan secara optimal. Sisik ikan mengandung kitin, kalsium, zat proksimat, alkaloid, steroid, saponin, fenol, molisch, benedict, biuret, dan ninhidrin. Sisik ikan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk ekstraksi kitin yang kemudian dapat dimodifikasi lebih lanjut menjadi kitosan. Proses ekstraksi dan modifikasi kitin menjadi kitosan meliputi beberapa tahap, yaitu persiapan bahan, demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi (Djais *et al.*, 2023).

2.1.4 Efek Sisik Ikan Barakuda

Senyawa yang dimiliki oleh sisik ikan Barakuda merupakan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya masing-masing. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dapat merusak dinding sel atau merusak permeabilitas dinding sel dan mengganggu proses metabolismenya. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga

sel tidak terbentuk secara utuh. Senyawa steroid dengan mekanisme kerja dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid yang dapat menyebabkan sel rapuh. Senyawa saponin dengan mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri sehingga dinding sel akan pecah yang membuat zat antibakteri dapat masuk untuk merusak metabolismenya (Mewengkang *et al.*, 2022).

Sisik ikan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk ekstraksi kitin yang kemudian dapat dimodifikasi lebih lanjut menjadi kitosan. Proses ekstraksi dan modifikasi kitin menjadi kitosan meliputi beberapa tahap, yaitu persiapan bahan, demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Sisik ikan yang memiliki komposisi mirip dengan jaringan tulang juga mengandung senyawa antimikroba yang berpotensi digunakan sebagai bahan dalam bidang kedokteran gigi. Kitosan yang diekstraksi dari sisik ikan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Selain itu, gel kitosan dari sisik ikan juga mampu menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis*, yaitu bakteri penyebab periodontitis. Peningkatan konsentrasi gel kitosan sisik ikan berbanding lurus dengan peningkatan luas zona hambat yang dihasilkan (Djais *et al.*, 2023).

Kitosan dapat digunakan sebagai bahan obat, penghantar faktor pertumbuhan, serta material scaffold untuk regenerasi tulang. Saat ini, kitosan telah dikombinasikan dengan berbagai bahan polimer, bahan alami lainnya, biomaterial, maupun molekul bioaktif dengan tujuan meningkatkan

kekuatan mekanik, kemampuan penyerapan protein, serta proses biomineralisasi protein. Kombinasi antara nanopowder biokeramik dan kitosan terbukti mampu meningkatkan kekuatan mekanik, proliferasi sel, serta penyebaran sel pada struktur scaffold berbasis kitosan. Selain itu, pembentukan jaringan tulang juga dapat ditingkatkan melalui peningkatan sifat osteokonduktif dari kombinasi bahan hidroksiapatit dan kitosan. Penelitian terbaru yang menggunakan sumber kitosan alami dari cangkang kepiting yang dikombinasikan dengan hidroksiapatit menunjukkan peningkatan ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2* (BMP-2), yang berperan penting dalam diferensiasi osteoblas untuk regenerasi jaringan tulang (Djais *et al.*, 2023).

Kitosan telah terbukti mampu mempercepat penyembuhan jaringan, menstimulasi produksi faktor pertumbuhan trombosit, serta memiliki aktivitas antibakteri yang dapat mengurangi ketidaknyamanan pascaoperasi. Efek antimikroba kitosan terjadi karena kemampuannya mengganggu stabilitas membran luar bakteri gram-negatif dan meningkatkan permeabilitas membran plasma mikroba. Selain itu, kitosan dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi dan angiogenesis, serta mempercepat proses penyembuhan luka dengan cara mengoptimalkan fungsi sel-sel inflamasi seperti makrofag, leukosit polimorfonuklear (PMN), fibroblas, dan osteoklas. Kitosan dimetabolisme oleh enzim lisozim sehingga dapat terurai secara alami dan berperan sebagai scaffold rekayasa jaringan karena memiliki struktur yang mirip dengan glikosaminoglikan serta bersifat hidrofilik (Djais *et al.*, 2023).

2.2 Metabolit Sekunder

2.2.1 Definisi

Metabolit sekunder adalah sebagian kecil dari hasil metabolisme organisme yang tidak langsung berguna dan diperlukan untuk kelangsungan hidup, berbeda dengan protein, polisakarida, dan materi genetik, yang merupakan komponen utama proses kehidupan. Metabolit sekunder diproduksi oleh organisme melalui sintesis di dalam sel dan kelompok taksonomi pada tingkat pertumbuhan akibat respons terhadap rangsangan tertentu (Hurria *et al.*, 2023). Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain (Fitriani *et al.*, 2022).

2.2.2 Klasifikasi

Metabolit sekunder yang diketahui jumlahnya melebihi 2.140.000 dan umumnya diklasifikasikan berdasarkan keragaman struktur, fungsi, dan biosintesisnya yang luas. Ada lima kelas utama metabolit sekunder, yaitu terpenoid dan steroid, senyawa yang berasal dari asam lemak dan poliketida, alkaloid, polipeptida nonribosomal, dan koenzim enzim (Thirumurugan *et al.*, 2018).

Metabolit sekunder dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia, komposisi (ada atau tidaknya nitrogen atau kelompok hidroksil), atau kelarutannya dalam berbagai pelarut, atau metode konvensional berdasarkan jalur biosintesisnya. Metabolit sekunder tumbuhan diklasifikasikan menjadi empat kelompok utama berdasarkan struktur kimianya: terpen, fenilpropanoid (misalnya fenolik), poliketida, dan alkaloid. Senyawa ini

juga diklasifikasikan menjadi terpen (dengan rumus $(C_5H_8)_n$), terpenoid (terpen yang mengandung oksigen), senyawa fenolik (dikenali dari adanya kelompok hidroksil), alkaloid (mengandung nitrogen), dan senyawa yang mengandung sulfur. Secara konvensional, metabolit sekunder diklasifikasikan menjadi terpen, fenolik, fitosterol (steroid), alkaloid, dan flavonoid (polifenolik) (Rami *et al.*, 2021)

A. Terpenoids

Terpenoid merupakan keluarga besar senyawa fitokimia yang memiliki sedikit kesamaan fungsional dan struktural. Steroid, karotenoid, dan asam gibberelik hanyalah beberapa anggotanya. Senyawa ini merupakan turunan isoprena polimerik dan disintesis dari asetat melalui jalur asam mevalonat. Selama pembentukannya, unit isoprena dihubungkan secara berurutan. Jumlah unit yang dimasukkan ke dalam suatu terpen menjadi dasar untuk klasifikasinya (Kabera *et al.*, 2014).

B. Phenolic

Senyawa fenolik disintesis melalui jalur shikimat, pentosa fosfat, dan fenilpropanoid. Senyawa fenolik ini biasanya diproduksi sebagai respons terhadap tekanan ekologi seperti serangan patogen, serangan serangga, radiasi ultraviolet (UV), atau luka. Senyawa ini mengandung cincin benzena dengan satu atau lebih substituen hidroksil, dan berkisar dari molekul fenolik sederhana hingga senyawa yang terpolimerisasi secara padat (Rami *et al.*, 2021). Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C_6) yang berikatan dengan gugus hidroksil ($-OH$) (Nasrul & Chattri, 2024).

C. Alkaloid

Alkaloid digolongkan berdasarkan keragaman struktural yang besar, dengan adanya atom nitrogen dasar sebagai satu-satunya ciri yang menyatukan. Alkaloid umumnya hanya memiliki satu atom nitrogen, namun beberapa di antaranya dapat memiliki hingga lima atom nitrogen. Atom nitrogen ini dapat terdapat dalam bentuk amina primer (RNH_2), amina sekunder (R_2NH), atau amina tersier (R_3N). Selain karbon, hidrogen, dan nitrogen, sebagian besar alkaloid mengandung oksigen. Alkaloid dapat terdapat sebagai monomer atau membentuk dimer (juga dikenal sebagai bisalkaloid), trimer, atau tetramer. Oligomer semacam ini umumnya merupakan homooligomer, tetapi heterooligomer juga dapat ditemukan (Cushnie *et al.*, 2014).

D. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang berasal dari alam dan telah banyak digunakan oleh masyarakat. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh dua atom karbon, umumnya dengan ikatan atom oksigen dalam bentuk ikatan oksigen heterosiklik (Jannah *et al.*, 2024). Flavonoid mencakup *anthocyanin*, *proanthocyanin*, *flavonol*, *flavon*, *glycoflavon*, *biflavonil*, *chalcon*, *auron*, *flavonon*, dan *isoflavon*. Flavonoid mengandung sistem aromatik terkonjugasi, yang menghasilkan pita penyerapan yang kuat di daerah spektrum UV dan cahaya tampak (Jannah *et al.*, 2024).

E. Phytosterol dan steroid

Fitosterol adalah steroid yang ditandai dengan adanya kelompok hidroksil pada posisi C-3 dan rantai karbon C-17 yang bercabang kompleks. Fitosterol ditemukan dalam bentuk *free sterol* dan dalam bentuk konjugasi seperti *esters*, *steryl fatty acid*, *steryl phenolates*, *steryl glycosides*, dan *acylated steryl glycosides* (Rami *et al.*, 2021).

F. Saponin

Saponin dalam bahasa Latin berasal dari kata *sapo*, yang berarti sabun. Saponin merupakan salah satu kelompok senyawa alami kompleks dengan massa molekul besar yang terdiri dari aglikon, dapat berupa steroid atau triterpenoid, yang terikat dengan satu atau lebih rantai gula/glikosida. Menurut sifat kimianya, saponin dapat dibagi menjadi dua kelompok: steroid dengan 27 atom karbon dan triterpenoid dengan 30 atom karbon (Nasrul & Chattri, 2024).

2.2.3 Fungsi Biologis

Potensi terapeutik metabolit sekunder telah mendorong penggunaannya secara luas dalam pengobatan berbagai penyakit seperti :

A. Aktivitas Antikanker

Senyawa seperti taksol, vinblastin, dan resveratrol (tergolong fenolik) telah banyak diteliti karena sifat antikankernya. Metabolit-metabolit ini bekerja melalui berbagai mekanisme, seperti menginduksi apoptosis, menghambat angiogenesis, serta memblokir progresi siklus sel, sehingga menjadikannya sangat berharga dalam terapi kanker (Soltanbeigi & Soltani, 2024).

B. Aktivitas Antimikroba dan Antivirus

Metabolit sekunder juga memiliki aktivitas antimikroba dan antivirus yang signifikan. Alkaloid seperti kina dan terpenoid seperti artemisinin berperan penting dalam pengobatan penyakit infeksi. Selain itu, senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin menunjukkan aktivitas antimikroba spektrum luas, sehingga berpotensi dikembangkan menjadi antibiotik dan agen antivirus baru (Soltanbeigi & Soltani, 2024). Saponin memiliki berbagai struktur yang beragam, dan beberapa senyawa saponin memiliki sifat surfaktan yang dapat menyebabkan lisis pada dinding sel organisme hidup. Saponin memiliki efek antibakteri dan antifungal. Efek ini mengganggu jamur karena adanya kelompok monosakarida, dan turunan saponin dapat berfungsi sebagai deterjen dan mengganggu stabilitas membran sel (Nasrul & Chatri, 2024).

C. Efek Neuroprotektif

Beberapa metabolit sekunder, khususnya alkaloid dan fenolik, menunjukkan potensi dalam terapi penyakit neurodegeneratif. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asam fenolat menjanjikan sebagai kandidat potensial untuk terapi kombinasi di masa depan yang menargetkan gangguan neurologis, termasuk gangguan kognitif dan penyakit Alzheimer (Soltanbeigi & Soltani, 2024).

D. Aktivitas Antioksidan

Flavonoid diketahui memiliki kemampuan yang baik sebagai penangkap radikal bebas dalam lingkungan *in vitro* karena kemampuannya untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah produksi *reactive oxygen species* (ROS). Aktivitas antioksidan flavonoid ditentukan oleh strukturnya. Data dari

berbagai penelitian telah menunjukkan dengan jelas bahwa keberadaan cincin heterosiklik menentukan kapasitas penangkapan radikal bebasnya, karena aktivitas penangkapan radikal bebas bergantung pada gugus 3-hidroksil (Rami *et al.*, 2021).

2.2.4 Metabolit Sekunder Pada Organisme Laut

Organisme laut telah menjadi sumber yang sangat produktif dalam menghasilkan senyawa baru. Setiap tahun, lebih dari 1200 senyawa baru dari berbagai kelompok seperti alkaloid, terpenoid, peptida, dan poliketida dilaporkan berasal dari beragam filum. Selain itu, sebagian besar senyawa yang berhasil diisolasi menunjukkan aktivitas biologis seperti antikanker, antibakteri, antijamur, dan antiretroviral, sehingga menjadikan produk alam laut sebagai sumber potensial kandidat obat (Bayona *et al.*, 2022).

Penelitian-penelitian telah dilakukan dalam lima tahun terakhir dengan tujuan mengevaluasi kandungan bioaktif organisme laut. Beberapa penelitian telah menguji ekstrak dan senyawa terisolasi dari ekstrak organisme laut untuk aktivitas bioaktifnya yaitu (Verissimo *et al.*, 2021) :

A. Steroid

Senyawa pertama yang menjadi perhatian utama adalah turunan steroid yang diisolasi dari berbagai organisme laut, termasuk bulu babi *Diadema setosum* dan *Diadema savignyi*, serta dari karang seperti *Heteroxenia fuscescens*, *Heteroxenia ghadaqensis*, dan *Lobophytum lobophytum*, termasuk juga spesies dari genus *Sinularia* dan *Sarcophyton*. Selain itu, senyawa terpenoid juga berhasil diisolasi dari spons laut *Haliclona*

crassiloba dan *Cliona copiosa*, serta dari invertebrata laut *Microcosmus vulgaris* (Veríssimo *et al.*, 2021).

Terpena merupakan salah satu kelas utama metabolit yang dihasilkan oleh alga laut. Beberapa jenis terpena telah berhasil diisolasi dari rumput laut, antara lain *diterpena neofitadiena*; *seskuiterpena* seperti *kartilaginol*, *obtusol*, dan *elatol*; serta *aldehida diterpena halitunal* yang memiliki aktivitas antivirus. Selain itu, terdapat *diterpena dolastana* seperti 4-hidroksi-9,14-dihidroksidolasta-1(15),7-diena dan 4,7,14-trihidroksidolasta-1(15),8-diena; *diterpenoid* *halimediatrial* dan *halimedalakton*; *seskuiterpena* *sikloeudesmol* yang mengandung cincin siklopropana dengan aktivitas antibiotik; serta *seskuiterpenoid* *puupehenon* beserta turunannya (Pérez *et al.*, 2016).

B. Phenolic

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder karena tidak terlibat langsung dalam proses primer seperti fotosintesis, pembelahan sel, atau reproduksi pada alga. Senyawa ini memiliki ciri khas berupa cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Aktivitas antimikroba dari senyawa fenolik disebabkan oleh kemampuannya mengubah permeabilitas sel mikroba yang mengakibatkan keluarnya makromolekul intraseluler, atau melalui gangguan terhadap fungsi membran sel yang berujung pada hilangnya integritas seluler dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Pérez *et al.*, 2016).

Polifenol dapat dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu *floroglucinol* dan *florotanin*. *Floroglucinol* memiliki cincin aromatik fenil dengan tiga gugus hidroksil. *Florotanin* merupakan oligomer atau polimer dari

floroglucinol yang memiliki tambahan gugus halogen atau hidroksil. Fenol sederhana seperti asam hidroksisinamat, asam benzoat beserta turunannya, serta flavonoid, telah dilaporkan terdapat pada alga hijau. Namun, alga cokelat memiliki kandungan senyawa fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan alga hijau maupun alga merah. Profil khas florotanin dari alga cokelat yang memiliki aktivitas antimikroba terutama terdiri atas *floroglucinol*, *ekol*, dan *diekol* (Pérez *et al.*, 2016).

C. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen di dalam struktur cincin siklik. Berbagai amina biologis dan senyawa siklik yang mengandung nitrogen serta unsur halogen termasuk dalam kelompok alkaloid. Jenis alkaloid terhalogenasi ini merupakan ciri khas organisme laut dan alga laut, serta tidak ditemukan pada tumbuhan darat. Sebagian besar alkaloid yang berhasil diisolasi dari alga laut termasuk dalam kelompok 2-feniletilamina dan indol. Alkaloid terhalogenasi bersifat khas pada alga laut, terutama alkaloid yang mengandung bromin dan klorin, yang paling banyak ditemukan pada kelompok *Chlorophyta* (alga hijau). Sementara itu, sebagian besar alkaloid dari kelompok indol terkonsentrasi pada *Rhodophyta* (alga merah) (Pérez *et al.*, 2016).

Alkaloid merupakan kelompok senyawa dengan jumlah terbanyak di antara senyawa antimikroba yang telah dilaporkan berasal dari spesies laut. Turunan poliksoigenasi *dihidropirano*[2,3-*c*]pirrol-4,5-dion, yaitu *piranonigrin* A dan *piranonigrin* F, telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari *Penicillium brocae* MA-231, yaitu jamur endofitik yang diperoleh dari

jaringan segar tanaman bakau laut *Avicennia marina*. Kedua senyawa ini menunjukkan spektrum luas aktivitas antimikroba terhadap patogen manusia, akuatik, maupun tanaman. Selain itu, senyawa indol diketopiperazin yang diidentifikasi dari ekstrak kultur *Eurotium cristatum* EN-220 (spesies jamur endofitik yang diisolasi dari alga laut *Sargassum thunbergii*) juga memiliki aktivitas antimikroba. Di antara senyawa tersebut, *rubrumazin* B menunjukkan aktivitas sedang terhadap jamur patogen tanaman *Magnaporthe grisea* (MIC 64 $\mu\text{g/mL}$), sedangkan ekinulin, dehidroekinulin, dan variekolorin H menunjukkan aktivitas ringan terhadap patogen manusia *Staphylococcus aureus* (MIC 256 $\mu\text{g/mL}$) (Choudhary *et al.*, 2017).

D. Lipid

Lima belas lipid dengan aktivitas antibakteri telah berhasil diisolasi dari berbagai spesies laut. Dua senyawa *serebrosida*, yaitu *penicilloside* A dan *penicilloside* B, diisolasi dari jamur laut asal Laut Merah serta dari jamur *Penicillium* yang diisolasi dari tunikat *Didemnum*. *Penicilloside* A menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan zona hambat sebesar 23 mm, sedangkan *penicilloside* B menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat masing-masing sebesar 19 mm dan 20 mm pada konsentrasi 100 μg per cakram. Selain itu, senyawa glikolipopeptida yaitu *iedoglucomides* A–C dan monoasil-diglikosil gliserolipid yaitu *iedoglycolipid* yang diisolasi dari hasil fermentasi bakteri laut *Bacillus licheniformis* yang berasal dari sedimen laut juga menunjukkan aktivitas antimikroba yang menjanjikan terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kedua *penicilloside* tersebut juga

memperlihatkan aktivitas terhadap jamur patogen tanaman seperti *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum acutatum*, *Botrytis cinerea*, dan *Candida albicans* (Choudhary *et al.*, 2017).

E. Peptida

Senyawa antimikroba yang berasal dari laut dengan struktur peptida telah ditemukan dalam berbagai organisme laut. Diketopiperazin termodifikasi, yaitu *rodriguesine* A dan *rodriguesine* B, diisolasi sebagai campuran yang tidak dapat dipisahkan dari askidian *Didemnum sp.*. Kedua senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikroba luas dengan menghambat pertumbuhan *Streptococcus* oral serta berbagai bakteri patogen. Diketopiperazin ini diketahui dapat memodulasi sistem quorum-sensing yang dimediasi oleh LuxR pada bakteri Gram negatif maupun Gram positif, sehingga memengaruhi komunikasi antar sel bakteri. Mekanisme ini berpotensi digunakan untuk mengendalikan biofilm dengan cara mengganggu komunikasi mikroba (Choudhary *et al.*, 2017).

Diketopiperazin lainnya, yaitu cyclo-(L-valyl-D-proline) dan cyclo-(L-phenylalanyl-D-proline), diisolasi dari strain *Rheinheimera japonica* KMM 9513 yang dikoleksi dari pesisir Laut Jepang. Kedua senyawa tersebut menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, dan *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak aktif terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Xanthomonas sp. pv. badrii*, serta *Candida albicans*.

Senyawa cyclo-(S-proline-R-leucine) dan cyclo-(L-valyl-D-proline) juga berhasil diisolasi dari *Bacillus megaterium* LC yang berasal dari spons

laut *Haliclona oculata*. Kedua senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikroba dengan nilai konsentrasi hambat minimum (MIC) berkisar antara 0,005 hingga 5 µg/mL terhadap bakteri Gram negatif seperti *Vibrio vulnificus* dan *Vibrio parahaemolyticus*, serta bakteri Gram positif seperti *Bacillus cereus* dan *Micrococcus luteus*. Selain itu, senyawa sikloheksadepsipeptida dari kelas isaridin meliputi isaridin G, desmethylisaridin G, desmethylisaridin C1, dan isaridin E berhasil diidentifikasi dari jamur laut *Beauveria felina* EN-135 yang berasal dari *bryozoa* laut. Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* dengan nilai MIC antara 8 hingga 64 µg/mL. Sementara itu, *desotamide* dan *desotamide* B, dua sikloheksapeptida yang diisolasi dari mikroba laut *Streptomyces scopuliridis* SCSIO ZJ46, menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, serta *Staphylococcus epidermidis* yang resisten terhadap metisilin (MRSE) (Choudhary *et al.*, 2017).

F. Komponen Halogenasi

Struktur kimia senyawa halogenasi dengan aktivitas antimikroba yang diisolasi antara tahun 2012 hingga 2017 menunjukkan keragaman yang tinggi. Beberapa senyawa yang memiliki spektrum antibakteri luas adalah polibrominasi difenil eter, yaitu 2-(2',4'-dibromofenoksi)-3,5-dibromofenol, 2-(2',4'-dibromofenoksi)-3,4,5-tribromofenol, dan 2-(2',4'-dibromofenoksi)-4,6-dibromofenol, yang diisolasi dari spons laut *Dysidea granulosa* dan *Dysidea spp.* Senyawa-senyawa brominasi ini menunjukkan aktivitas antibakteri *in vitro* terhadap *Staphylococcus aureus* resisten metisilin

(MRSA), *Staphylococcus aureus* sensitif metisilin (MSSA), *Escherichia coli* O157:H7, dan *Salmonella* (Choudhary *et al.*, 2017).

2.3 Uji Konsentrasi Metabolit Sekunder

2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pengambilan komponen aktif/zat dari campuran padatan dan/atau cairan menggunakan pelarut tertentu. Berdasarkan fase yang terlibat, terdapat dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Proses ekstraksi padat-cair sangat dipengaruhi oleh banyak faktor, termasuk waktu ekstraksi, suhu, pengadukan, dan jumlah pelarut yang digunakan. Ekstraksi padat-cair umumnya terdiri dari macerasi, soxhletasi, dan perkolasi. Metode yang digunakan tergantung pada jenis senyawa yang dicari. Jika senyawa yang dicari sensitif terhadap panas, maka dipilih metode macerasi dan perkolasi; jika tahan panas, maka digunakan metode refluksasi dan soxhletasi (Febrina *et al.*, 2015). Berbagai metode ekstraksi yaitu:

A. Maserasi

Metode maserasi melibatkan penyimpanan sampel yang telah dihaluskan menjadi bubuk kasar dalam wadah tertutup bersama pelarut selama periode waktu tertentu, disertai pengadukan hingga komponen sampel larut. Metode ini paling cocok digunakan untuk senyawa kimia tanaman yang tidak tahan panas (termolabil) (Julianto, 2019).

B. Perkolasi

Perkolasi merupakan prosedur yang paling umum digunakan untuk mengekstrak bahan aktif. Perkolator adalah wadah berbentuk kerucut

yang sempit dan terbuka di kedua ujungnya. Sampel yang padat dibasahi dengan jumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama sekitar 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya, bagian atas perkolator ditutup. Pelarut ditambahkan hingga menenggelamkan sampel. Campuran sampel dan pelarut dapat dimacerasi lebih lanjut dalam wadah perkolator tertutup selama 24 jam. Lubang keluar perkolator kemudian dibuka, dan cairan di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan, hingga volume perkolasi mencapai sekitar tiga perempat dari volume produk akhir yang diperlukan (Julianto, 2019).

C. Ekstraksi Soxhlet

Ekstraksi Soxhlet hanya perlu jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut, dan kontaminan tidak larut dalam pelarut tersebut. Jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut, maka penyaringan sederhana dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari zat-zat yang tidak larut. Keuntungan sistem ini adalah proses ekstraksi dapat dilakukan dalam satu wadah di mana pelarut yang mengembun terus menetes dan meresap ke dalam sampel, membawa senyawa yang terlarut ke dalam tabung pengumpulan. Metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa yang sensitif terhadap panas karena pemanasan yang berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi senyawa (Julianto, 2019).

2.3.2 Identifikasi

Metode identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan menganalisis data yang diperoleh dari berbagai teknik spektroskopi, seperti spektroskopi ultraviolet-tampak (UV-Vis), inframerah (IR), resonansi magnet inti (NMR), serta spektrometri massa. Prinsip dasar spektroskopi terletak pada interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul organik, di mana sebagian radiasi diserap oleh molekul tersebut. Jumlah radiasi yang diserap kemudian diukur untuk menghasilkan spektrum yang khas bagi setiap jenis ikatan dalam molekul. Berdasarkan karakteristik spektrum ini, struktur molekul organik dapat ditentukan (Julianto, 2019).

A. Spektroskopi UV-Tampak

Spektroskopi UV- tampak dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan identifikasi beberapa kelas senyawa dalam campuran murni dan biologis. Umumnya, spektroskopi UV- tampak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif karena molekul aromatik merupakan kromofor yang kuat dalam rentang UV. Senyawa alami dapat ditentukan menggunakan spektroskopi UV- tampak. Senyawa fenolik, termasuk antosianin, tanin, pewarna polimerik, dan fenol, membentuk kompleks dengan besi yang telah terdeteksi oleh spektroskopi ultraviolet-tampak (UV-Vis). Selain itu, teknik spektroskopi UV-Vis diketahui kurang selektif dalam memberikan informasi tentang kandungan polifenol total. Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan ekstrak fenolik total (280 nm), flavon (320 nm), asam fenolik (360 nm), dan antosianin total (520 nm). Teknik ini lebih efisien dan lebih murah dibandingkan teknik lain (Julianto, 2019).

B. Spektroskopi inframerah

Sejumlah frekuensi akan diserap saat cahaya inframerah melewati sampel senyawa organik namun, beberapa frekuensi akan diteruskan melalui sampel tanpa diserap. Absorpsi inframerah berkaitan dengan perubahan vibrasi yang terjadi dalam molekul saat terpapar radiasi inframerah. Oleh karena itu, spektroskopi inframerah pada dasarnya dapat digambarkan sebagai spektroskopi vibrasi. Ikatan yang berbeda (C-C, C=C, C-C, C-O, C=O, O-H, dan N-H) memiliki frekuensi vibrasi yang berbeda. Jika jenis ikatan ini terdapat dalam molekul organik, ikatan tersebut dapat diidentifikasi dengan mendeteksi band penyerapan frekuensi karakteristik dalam spektrum inframerah. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) adalah alat analisis beresolusi tinggi untuk mengidentifikasi kandungan kimia dan menguraikan struktur senyawa. FTIR menawarkan analisis cepat dan non-destruktif terhadap ekstrak herbal atau bubuk (Julianto, 2019).

C. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti – *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spektroskopi berkaitan dengan sifat magnetik inti atom tertentu, terutama hidrogen, proton, karbon, dan inti isotop karbon. Spektroskopi NMR membantu banyak peneliti mempelajari molekul dengan merekam perbedaan antara berbagai inti magnetik, sehingga memberikan gambaran jelas tentang posisi inti-inti tersebut dalam molekul. Selain itu, metode ini menunjukkan atom-atom mana yang berada dalam kelompok sekitar. Pada akhirnya, metode ini dapat menentukan jumlah atom yang terdapat dalam setiap lingkungan.

Beberapa upaya telah dilakukan di masa lalu menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif atau semi-preparatif, kromatografi cair, dan kromatografi kolom untuk mengisolasi setiap fenol, strukturnya kemudian ditentukan oleh NMR secara langsung (Julianto, 2019).

D. Spektrometri Massa

Molekul organik ditembaki dengan elektron atau laser dalam spektrometri massa hingga diubah menjadi ion bermuatan berenergi tinggi. Spektrum massa adalah grafik yang menunjukkan banyaknya ion yang terfragmentasi terhadap rasio massa-terhadap-muatan (m/z) ion-ion tersebut. Metode spektrometri massa memungkinkan penentuan massa molekul relatif (berat molekul) dengan akurasi tinggi, serta penentuan rumus molekul yang tepat dengan mengetahui lokasi di mana molekul tersebut terfragmentasi. Penelitian sebelumnya, molekul bioaktif dari sumsum kayu diisolasi dan dimurnikan melalui ekstraksi pelarut yang dipandu oleh aktivitas bioaktif, kromatografi kolom, dan HPLC. Teknik spektroskopi UV-visible, IR, NMR, dan spektrometri massa digunakan untuk mengkarakterisasi struktur molekul bioaktif. Selain itu, molekul dapat dihidrolisis dan derivatnya dikarakterisasi. Spektrometri massa memberikan informasi yang lebih banyak untuk penentuan struktur senyawa ketika spektrometri massa tandem diterapkan. Oleh karena itu, kombinasi HPLC dan MS memudahkan identifikasi cepat dan akurat senyawa kimia dalam formulasi obat, terutama ketika standar murni tidak tersedia. Baru-baru ini, LC/MS telah banyak digunakan untuk analisis senyawa fenolik. Ionisasi semprotan listrik (ESI) merupakan sumber

yang disukai karena efisiensi ionisasinya yang tinggi untuk senyawa fenolik (Julianto, 2019).

2.3.3 Kualifikasi

Kualifikasi metabolit sekunder meliputi klasifikasi berdasarkan struktur kimianya yaitu:

A. Alkaloid

Prinsip metode analisis ini yaitu reaksi presipitasi yang terjadi akibat penggantian ligan. Atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dalam alkaloid dapat menggantikan ion yodium dalam reagen. Reagen Dragendorff mengandung nitrat bismut dan iodida kalium dalam larutan asam asetat glacial (kalium tetraiodobismutate(III)). Sementara itu, reagen Mayer mengandung kalium iodida dan klorida merkuri (kalium tetraiodomerkurat(II)). Metode ini memiliki kelemahan karena reagen-reagen ini dapat mengendapkan tidak hanya alkaloid tetapi juga beberapa jenis senyawa lain, termasuk protein, kumarin, α -piron, hidroksi flavon, dan tanin. Reaksi ini dikenal sebagai “hasil positif palsu.” (Ergina *et al.*, 2014)

Hasil positif adanya alkaloid dalam uji Mayer ditandai dengan pembentukan endapan putih. Endapan ini diyakini merupakan kompleks kalium-alkaloid. Larutan klorida merkuri(II) yang ditambahkan ke iodida kalium dalam persiapan reagen Mayer akan membentuk endapan merah iodida merkuri(II). Jika kalium iodida ditambahkan berlebihan, akan terbentuk kalium

tetraiodomerkurat(II). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas, yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen terkoordinasi dengan ion logam. Dalam uji reagen Mayer untuk alkaloid, diperkirakan nitrogen dalam alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) untuk membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap(Ergina *et al.*, 2014).

Hasil positif adanya alkaloid dalam uji Dragendorff ditunjukkan oleh pembentukan endapan berwarna coklat muda hingga kuning (jingga). Endapan ini merupakan alkaloid kalium. Selama persiapan reagen Dragendorff, nitrat bismut dilarutkan dalam HCl untuk mencegah hidrolisis, karena garam bismut mudah terhidrolisis menjadi ion bismut(II) (BiO^+). Untuk menjaga ion Bi^{3+} tetap larut, asam ditambahkan untuk memindahkan persamaan ke kiri. Selanjutnya, ion Bi^{3+} dari nitrat bismut bereaksi dengan iodida kalium untuk membentuk endapan hitam iodida bismut(III), yang kemudian larut dalam kelebihan iodida kalium untuk membentuk tetraiodobismutata kalium(Ergina *et al.*, 2014).

B. Flavonoid

Flavonoid bisa diuji dengan menggunakan Mg dan HCl pekat. Senyawa flavonoid dapat menghasilkan warna merah, kuning, atau jingga saat direduksi dengan Mg dan HCl(Febrina *et al.*, 2015). Tujuan penambahan Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid menjadi garam

flavilium berwarna merah atau jingga. Flavonoid adalah senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan lebih dari satu kelompok hidroksil. Senyawa fenolik dengan lebih banyak kelompok hidroksil memiliki kelarutan yang lebih tinggi dalam air atau lebih polar, sehingga dapat diekstraksi menggunakan pelarut polar (Ergina *et al.*, 2014).

C. Tanin

Senyawa tanin dapat diidentifikasi dengan menambahkan FeCl_3 . Senyawa tanin bersifat polar karena adanya kelompok OH. Ketika ditambahkan 10% FeCl_3 , terjadi perubahan warna, seperti biru tua atau hijau kehitaman, yang menandakan adanya senyawa tanin (Febrina *et al.*, 2015). Uji fitokimia menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan ada tidaknya kelompok fenol dalam sampel. Adanya kelompok fenol ditandai dengan warna hijau kehitaman atau biru gelap setelah penambahan FeCl_3 , sehingga jika uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif, kemungkinan sampel mengandung senyawa fenol, salah satunya mungkin tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol. Metode klasik untuk mendeteksi senyawa fenolik sederhana, yaitu dengan menambahkan ekstrak ke larutan FeCl_3 1% dalam air, yang menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Pembentukan warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah penambahan FeCl_3 adalah karena tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Ergina *et al.*, 2014).

D. Terpenoid dan steroid

Analisis steroid dalam CH_3COOH glacial dengan H_2SO_4 pekat didasarkan pada kemampuan senyawa steroid untuk membentuk cincin berwarna coklat kemerahan. Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa terpenoid dan steroid untuk membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam klorida. Hasil positif diberikan pada sampel yang membentuk warna oranye-merah untuk analisis triterpenoid dan biru untuk analisis steroid (Ergina *et al.*, 2014; Febrina *et al.*, 2015).

E. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang mudah dideteksi melalui kemampuannya membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat dalam saponin menyebabkan senyawa ini bersifat polar. Adanya saponin dapat dipastikan jika ekstrak yang diuji membentuk busa setinggi 1-10 cm dalam waktu ± 10 menit (Febrina *et al.*, 2015).

2.4 Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel yang berukuran antara 1 dan 100 nanometer. Dalam nanoteknologi, suatu partikel didefinisikan sebagai objek kecil yang berperilaku sebagai satu kesatuan terhadap sifat dan transportasinya. Partikel lebih jauh diklasifikasikan menurut diameternya. Partikel ultrahalus serupa dengan nanopartikel dan berukuran antara 1 dan 100 nanometer, partikel halus berukuran antara 100 dan 2,500 nanometer, dan partikel kasar berukuran antara 2,500 dan 10,000 nanometer. Istilah

“nanopartikel” tidak biasanya diterapkan untuk molekul individu biasanya mengacu pada material anorganik. Nanopartikel menjadi jembatan antara material ruah dan struktur atom atau molekul. Suatu material ruah harus memiliki sifat fisik yang konstan terlepas dari ukurannya, tetapi pada skala nano sifat yang tergantung pada ukuran sering diamati (Priyo, 2017).

Nanoteknologi yang diterapkan pada bidang kedokteran dikenal dengan istilah *nanomedicine*, sedangkan penerapannya pada bidang kedokteran gigi disebut *nano dentistry*. Melalui pendekatan ini, nanopartikel digunakan untuk mengoptimalkan formulasi bahan aktif maupun material kedokteran gigi agar lebih efektif, biokompatibel, dan tahan terhadap kondisi lingkungan rongga mulut yang kompleks (Setiawan *et al.*, 2020).

Tujuan utama dalam mendisain nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat adalah untuk mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan dan pelepasan zat aktif untuk memperoleh aksi spesifik obat secara farmakologis pada dosis regimennya. Keuntungan dalam menggunakan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat meliputi ukuran partikel dan karakteristik permukaan nanopartikel dapat dimanipulasi dengan mudah untuk memperoleh targeting obat baik aktif maupun pasif setelah pemberian parenteral. Nanopartikel mengontrol dan melepaskan obat secara perlahan-lahan selama distribusi dan memodifikasi distribusi obat pada organ loka aksi, dan memperlambat klirens obat sehingga terapi obat dan meminimalkan efek samping. Pelepasan terkendali dan karakteristik degradasi partikel dapat dimodulasi dengan pemilihan matrix konstituen. Loading obat relatif tinggi dan obat dapat dijerapkan ke

dalam sistem tanpa reaksi kimia; hal ini merupakan faktor penting untuk menjaga aktivitas obat. Targeting pada lokasi spesifik dapat diperoleh dengan melekatkan ligand pada permukaan partikel atau dengan menggunakan magnetic guidance (Priyo, 2017).

