

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI ENDOFIT  
MANGROVE *Avicennia marina* DAN UJI AKTIVITAS SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Sekar Arum Kinasih  
201701095**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## **ABSTRAK**

### **KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI ENDOFIT MANGROVE *Avicennia marina* DAN UJI ANTIVITAS SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

Oleh

**SEKAR ARUM KINASIH**

Peningkatan jumlah kadar radikal bebas di dalam tubuh akan menyebabkan penurunan kekebalan tubuh manusia dan meningkatkan keparahan beberapa penyakit karena stres oksidatif yang dialami oleh sel. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif yang berasal dari fungi endofit mangrove yang berpotensi sebagai antioksidan. Isolat fungi endofit mangrove diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan karakterisasi senyawa menggunakan FT-IR dan LC-MS/MS. Fungi endofit mangrove diremajakan menggunakan media PDA. Kultivasi menggunakan 3 media berbeda berupa kulit udang, kentang, dan kedelai. Kultur diekstraksi menggunakan etil asetat. Ekstrak kasar diuji bioautografi kontak. Fraksinasi dilakukan dengan kromatografi kolom dan diuji aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  517nm. Fraksi aktif dikarakterisasi menggunakan FT-IR dan LC-MS/MS. Isolat fungi endofit yang telah diremajakan merujuk pada genus *Aspergillus* sp. Ekstrak fungi endofit mangrove 21DB-EKD memiliki nilai  $IC_{50}$  25,63 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat. Karakteristik senyawa 21DB-EKD menunjukkan adanya senyawa alkaloid dengan struktur dasar indol dan terdapat beberapa gugus fungsi seperti gugus C-O, C-H, C=C, C=O, C-N, dan N-H.

**Kata kunci** : Fungi endofit mangrove, antioksidan, DPPH

## **ABSTRACT**

### **CHARACTERIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF MANGROVE *Avicennia marina* ENDOPHYTE FUNGI AND TEST OF ACTIVITY AS ANTIOXIDANTS**

**By**

**SEKAR ARUM KINASIH**

Increased levels of free radicals in the body will cause a decrease in human immunity and increase the severity of several diseases due to oxidative stress experienced by cells. This study aims to obtain bioactive compounds derived from mangrove endophytic fungi that have potential as antioxidants. Mangrove endophytic fungi isolates were tested for antioxidant activity using DPPH method and compound characterization using FT-IR and LC-MS/MS. Mangrove endophytic fungi were maintained using PDA media. Cultivation used the 3 media: shrimp skin, potato, and soybean. Cultures were extracted using ethyl acetate. The crude extract was tested for contact bioautography. Fractionation was performed by column chromatography and tested for antioxidant activity by UV-Vis spectrophotometry at  $\lambda$  517nm. Active fractions were characterized using FT-IR and LC-MS/MS. The rejuvenated endophytic fungal isolate refers to the genus *Aspergillus* sp. Mangrove endophytic fungal extract 21DB-EKD has an IC<sub>50</sub> value of 25.63 ppm, indicating strong antioxidant activity. The characteristics of compound 21DB-EKD showed the presence of alkaloid compounds with indole basic structure and there are several functional groups such as C-O, C-H, C=C, C=O, C-N, and N-H groups.

**Keyword :** Mangrove endophytic fungi, Antioxidant, DPPH

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI ENDOFIT  
MANGROVE *Avicennia marina* DAN UJI AKTIVITAS SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN**

**Oleh**

**Sekar Arum Kinasih**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

Judul : **KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF FUNGI  
ENDOFIT MANGROVE *Avicennia marina* DAN UJI  
AKTIVITAS SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

Penelitian

Nama : **Sekar Arum Kinasih**

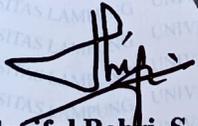
NPM : 2017011095

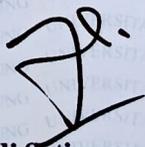
Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

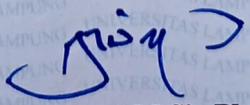


**1. Komisi Pembimbing**

  
**Syaiful Bahri, S. Si., M. Si.**  
NIP. 197308252000031001

  
**Prof. Drs. Andi Setiawan, MSc., Ph.D.**  
NIP. 195809221988111001

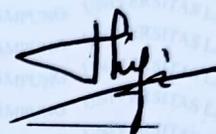
**2. Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama**

  
**Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.**  
NIP. 197406112000031002

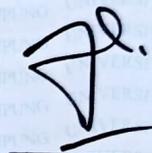
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

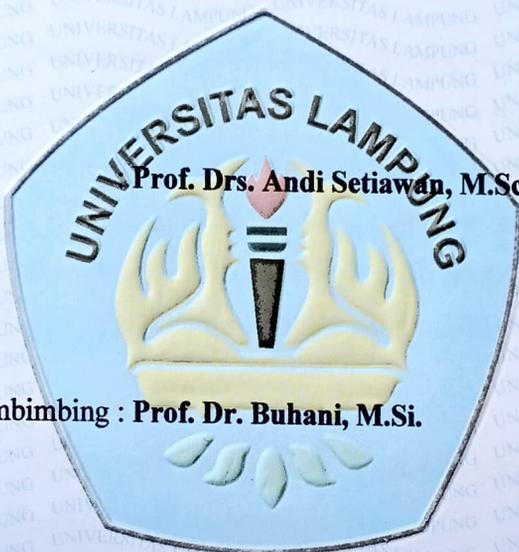
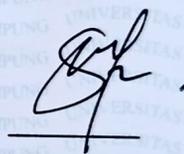
**Ketua : Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.**



**Sekretaris Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Buhani, M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.**

**NIP. 197110012005011002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 April 2025**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sekar Arum Kinasih  
NPM : 2017011095  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“Karakterisasi Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Mangrove *Avecennia marina* dan Uji Aktivitas Sebagai Antioksidan”** adalah terbukti hasil penelitian dan hasil karya tulisan saya sendiri, meliputi topic penelitian, perolehan hasil penelitian, maupun pengolahan datnya, kecuali acuan yang secara tertulis ducantumkan pada naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran untuk selanjutnya dipergunakan dengan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 30 April 2025



Sekar Arum Kinasih  
NPM. 2017011095

## RIWAYAT HIDUP

Nama : Sekar Arum Kinasih  
Tempat, Tgl Lahir : Bandar Lampung, 10 Maret 2001  
Jensi Kelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Kewarganegaraan : Indonesia  
Status : Pelajar  
Alamat : Jl Pulau Damar Gg Delima II  
Telepon : 0895327210005  
Email : arumk.3012@gmail.com

Orang Tua

Ayah : Alm. Hastaro A.S.B  
Ibu : Almh. Sudarningsih  
Saudara : 4 Bersaudara

Pendidikan

TK : TK Sriwijayya  
SD : SD N 2 Way Dadi  
SMP : SMP N 29 Bandar Lampung  
SMK : SMTI Bandar Lampung  
Universitas Lampung (S1 Kimia)

## ***MOTTO***

*“Sesungguhnya Bersama Kesulitan Ada Kemudahan”*

**(Q.S Al-Insyirah:5)**

*“Dalam hidup adakalanya merasa sedih, terluka, gagal, lelah fisik maupun mental. Tak apa, beristirahatlah dan setelah itu kembali lagi berjuang karena hidupmu masih panjang”*

**(BTS - Life Goes On)**

*“Mimpimu akan mekar setelah semua kesulitan”*

**(Agust'D - So Far Away)**

**“It’s okay to cry if you don’t know how to handle things right now whatever happens, everything will be alright. It may not today, but trust me one day you will wake up with no heavy heart”**

*“Tidak apa-apa menangis jika kamu tidak tahu bagaimana menangani sesuatu saat ini apapun yang terjadi semuanya akan baik-baik saja. Mungkin bukan hari ini, tapi percayalah suatu hari kamu akan bangun dengan hati yang tenang”*

**(Tiktok)**

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Denagn mengucap *Alhamdulillah* segenap rasa syukur  
kupersembahkan karya ini kepada:

### **Keluarga Tersayang**

**Alm Bapak dan Almh Ibuku, Kakak** serta **Adik** yang telah membuat  
penulis semangat untuk bisa menyelesaikan studi S1 Kimia.

Dengan segala hormat kepada :

**Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., Bapak Prof. Drs. Andi Setiawan,  
M.Sc., Ph.D., dan Ibu Prof. Dr. Buhani, M.Si,** serta seluruh dosen  
pengajar jurusan kimia yang telah membimbing dan mendidik penulis  
hingga mencapai gelar sarjana.

Teman-teman yang telah kebersamai, membantu, dan memberikana  
semangat.

Almamater tercinta Universitas Lampung.

Kepada diriku sendiri yang telah berjuang untuk mendapatkan gelar sarjana  
S1 Kimia.

## SANWACANA

Alhamdulillah robbil ;alamin segala puji bagi Allah subhanahu wata,ala atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Mangrove *Avecennia marina* dan Uji Aktivitas Sebagai Antioksidan”. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad shallallau ‘alaihi wassalam, semoga kita diakui sebagai umatnya dan memperoleh syafaatnya, Aamiin.

Penulis menyadari bahwa dalam proses pengerjaan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari kesulitan dan rintangan, namun itu semua bisa terlewati berkat rahmat dan ridho Allah SWT serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Almarhum/ah kedua orang tua penulis yang telah memberikan cinta dan kasih sayangnya dan membesarkan penulis walau dalam waktu yang singkat.
2. Keluarga penulis, yang telah mendo’akan, mendukung, memberikan semangat, memberikan afirmasi positif kepada penulis untuk dapat menyelesaikan pendidikan S1.
3. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dan Bapak Mulyono, Ph.D., selaku wakil Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
5. Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc., selaku dosen pembimbing akademik penulis.

6. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing, mengarahkan, menasihati, memotivasi penulis.
7. Bapak Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., P.hD., selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing, memberikan semangat, dan memotivasi penulis.
8. IbuProf. Dr. Buhani, M.Si., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan arahan, nasihat, dan memotivasi penulis.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah mendidik, membimbing, dan memberikan semangat kepada penulis.
10. Bapak Rudi Santoso, A.Md., selaku admin Jurusan Kimia yang telah memudahkan penulis dalam mengurus berkas.
11. Rekan seperbimbingan “Syaiful Bahri Research”, Ni Komang Vivi, Laura Sianipar, Febrina Togatorop, Carlos Daniel, dan Yasmin Fahira yang telah memberikan kesan baik, saran, dan memberikan semangat.
12. Kakak-kakak peneliti di UPT-LTSIT, kak Lanang, kak Ibnu, kak Cici, dan kak Fendi yang selalu memberikan semangat dan memberi arahan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitiannya dengan baik.
13. Teman seperjuangan Dinda Abdillah dan Umi Latifah yang telah menemani dan memberikan semangat kepada penulis.
14. Teman rumah, Mega Arum Aryani yang sudah memberi semangat dalam menyelesaikan skripsi.
15. Semua pihak lainnya yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terimakasih.
16. Untuk grup BTS yang secara tidak langsung telah menemani dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
17. Dan yang terakhir, kepada diri saya sendiri. Sekar Arum Kinasih. Terima kasih sudah bertahan sejauh ini. Terima kasih tetap memilih berusaha dan merayakan dirimu sendiri sampai di titik ini, walau seringkali merasa putus asa. Namun, terima kasih tetap menjadi manusia yang selalu mau berusaha dan tidak lelah mencoba. Terima kasih tidak memilih untuk menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dan telah menyelesaikan dengan semaksimal mungkin. Ini merupakan pencapaian yang patut dirayakan. Berbahagialah selalu dan tetap menjadi pribadi yang baik.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis menyampaikan permohonan maaf atas segala kekurangan tersebut. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 30 April 2025

Penulis,

Sekar Arum Kinasih

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xviii</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Tumbuhan Mangrove .....	4
2.2 Senyawa Bioaktif .....	5
2.2.1 Alkaloid.....	6
2.2.2 Terpenoid .....	9
2.2.3 Fenolik .....	9
2.2.4 Flavonoid .....	9
2.3 Endofit Mangrove.....	10
2.4 Antioksidan .....	11
2.5 Vitamin C .....	12
2.6 Radikal Bebas .....	13
2.7 Kultivasi .....	14
2.8 Ekstraksi .....	15
2.9 Kromatografi .....	16
2.9.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	17

2.9.2	Kromatografi Kolom.....	18
2.10	Metode Uji Antioksidan <i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)</i> .....	19
2.11	Spektrofotometer UV-Vis (Ultra Violet-Visible).....	19
2.12	<i>Fourier Transform Infrared (FT-IR)</i> .....	20
2.13	<i>Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)</i> ..	21
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>		<b>23</b>
3.1	Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	23
3.2	Alat dan Bahan .....	23
3.3	Prosedur Penelitian.....	24
3.3.1	Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (Ringsborg <i>et al.</i> , 2021) 24	
3.3.2	Peremajaan Isolat (Rahim <i>et al.</i> , 2019).....	24
3.3.3	Kultivasi Fungi Endofit.....	25
3.3.4	Ekstraksi Senyawa dari Fungi Endofit.....	25
3.3.5	Kromatografi Lapis Tipis (Widyaningrum <i>et al.</i> , 2019).....	26
3.3.6	Kromatografi Kolom (Bajpai <i>et al.</i> 2016).....	26
3.3.7	Analisis Antioksidan .....	27
3.3.8	Karakterisasi Senyawa .....	28
<b>IV. PEMBAHASAN .....</b>		<b>29</b>
4.1	Peremajaan Isolat Fungi Endofit Mangrove.....	29
4.2	Kultivasi .....	31
4.3	Fraksinasi Kromatografi Kolom .....	34
4.4	Analisis Antioksidan Dengan Spektrofotometer UV-Vis .....	36
4.5	Karakterisasi Senyawa .....	38
4.5.1	Karakterisasi dengan Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer (FT-IR).....	38

4.5.2	Karakterisasi <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometer</i> (LC-MS/MS).....	40
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>43</b>
5.1	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran.....	43
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
	<b>LAMPIRAN 52</b>	

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Identifikasi Makroskopis Fungi Endofit Mangrove.....	29
Tabel 2. Identifikasi Mikroskopis Fungi Endofit Mangrove .....	30
Tabel 3. Massa Ekstrak Kasar .....	31
Tabel 4. Hasil KLT Ekstrak Kasar .....	32
Tabel 5. Hasil Pengukuran IC50 Vitamin C (Asam askorbat).....	36
Tabel 6. Hasil Pengukuran IC50 Sampel 21DB-EKD .....	37
Tabel 7. Gugus fungsi hasil analisis FT-IR.....	39
Tabel 8. Alisis Puncak Kromatografi.....	40

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hutan Mangrove (Sumber : Ismaini, 2022) .....	4
Gambar 2. Struktur Vindoline (Sumber : Tiong <i>et al.</i> , 2018) .....	6
Gambar 3. Struktur Dasar Piridin .....	7
Gambar 4. Struktur Dasar Kuinolin .....	7
Gambar 5. Struktur Dasar Isokuinolin .....	8
Gambar 6. Struktur Dasar Indol .....	8
Gambar 7. <i>Solid state fermentation process</i> .....	15
Gambar 8. Kromatografi Lapis Tipis .....	17
Gambar 9. Kromatografi Kolom .....	18
Gambar 10. Spektrum IR Kristal F10BA0502T, Rachmadi (2022) .....	21
Gambar 11. <i>Total ion chromatography</i> (TIC) LC-MS/MS F10BA0502T (Sumber : Rachmadi, 2022) .....	22
Gambar 12. Perkiraan Struktur Senyawa Alkaloid F10BA0502 .....	22
Gambar 13. Kultivasi Isolat Fungi (a) Fermentasi Kulit Udang; (b) Fermentasi Kentang; (c) Fermentasi Kedelai .....	31
Gambar 14. Hasil KLT antioksidan (a) Isolat 21CD-E; (b) Isolat 21DB-E .....	33
Gambar 15. Hasil KLT ekstrak kasar isolat kode 21CD-EKD dan 21DB-EKD ...	34
Gambar 16. Hasil Fraksi Kromatografi Kolom.....	35
Gambar 17. KLT Fraksi Hasil Fraksinasi Kolom (a) Sinar UV 254 nm, (b) <i>Dragendorff</i> , (c) Ninhidrin, (d) DPPH, (e) Serium sulfat .....	35
Gambar 18. Kurva Korelasi Konsentrasi Asam askorbat Terhadap %Inhibisi.....	37
Gambar 19. Kurva Korelasi Konsentrasi 21DB-EKD Terhadap %Inhibisi .....	37
Gambar 20. Spektrum FT-IR sampel 21DB-EKD1.....	38
Gambar 21. <i>Base Peak Intensity</i> (BPI) sampel 21DB-EKD .....	40

Gambar 22. Struktur senyawa waktu retensi 12.27 sampel 21DB-EKD .....	41
Gambar 23. Struktur dasar indol .....	42

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Gaya hidup modern yang terkait dengan makanan olahan, paparan berbagai bahan kimia dan kurang olahraga serta tingginya tingkat stres menyebabkan meningkatnya penyakit degenerative saat ini. Penyakit degeneratif ditandai dengan menurunnya fungsi organ atau jaringan dengan proses penuaan dan dapat mempengaruhi berbagai sistem dalam tubuh. Penyakit kardiovaskular, neurodegeneratif, diabetes mellitus, dan osteoarthritis merupakan contoh penyakit degeneratif. Radikal bebas merupakan kontributor utama penyakit degeneratif karena perannya dalam stres oksidatif yang merusak sel jaringan. Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2020, penyebab kematian akibat penyakit degeneratif diperkirakan mencapai 73% dari seluruh penyebab kematian.

Peningkatan jumlah kadar radikal bebas di dalam tubuh akan menyebabkan penurunan kekebalan manusia dan meningkatkan keparahan beberapa penyakit karena stres oksidatif yang dialami oleh sel (Jomova *et al.*, 2023). Tubuh manusia secara alami akan menetralkan radikal bebas dalam batas normal melalui sistem kekebalan tubuh. Tubuh akan memproduksi senyawa untuk menetralkan radikal bebas yang disebut antioksidan. Kehadiran antioksidan sangat penting untuk melindungi tubuh dari beberapa penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas yang terbentuk (Martemucci *et al.*, 2022).

Penggunaan antioksidan sintetik telah banyak dilakukan dan dilaporkan memiliki beberapa kelemahan. Data menunjukkan bahwa di beberapa negara seperti Jepang, Swedia, dan Australia telah melarang penggunaan antioksidan sintetik karena kekhawatiran akan potensi risiko kesehatannya. Zat seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) telah dikaitkan dengan karsinogenik dan masalah kesehatan lainnya (Filho *et al.*, 2022). Hal ini memicu penggunaan antioksidan alami semakin meningkat. Salah satu sumber alami antioksidan berasal dari tumbuh-tumbuhan. Tanaman obat dianggap relatif lebih aman untuk dikonsumsi karena kurangnya atau bahkan tidak adanya efek samping dibandingkan dengan antioksidan sintetik (Priska *et al.*, 2019).

Komponen tanaman obat yang paling penting adalah fenolik, tanin, flavonoid dan alkaloid (Karim *et al.*, 2020). Mangrove merupakan salah satu tanaman perairan dengan berbagai senyawa metabolit yang dihasilkan memiliki berbagai nilai obat dan ekonomi, dan oleh karena itu banyak diteliti untuk aktivitas fitokimia, antioksidan, antidiare, dan antimikroba (Shamsuzzaman *et al.*, 2021).

Salah satu upaya yang dilakukan oleh peneliti untuk menemukan antioksidan alami dengan menemukan senyawa bioaktif yang berpotensi untuk menekan efek radikal bebas yang terdapat pada tanaman mangrove. Nyoja (2021) menjelaskan bahwa uji *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) banyak digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak kasar atau senyawa murni dari tumbuhan.

Sebelumnya Nurhidayah (2023) telah meneliti aktivitas senyawa bioaktif endofit mangrove *Avicennia marina* dan telah berhasil mendapatkan senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari senyawa bioaktif yang telah diuji kemampuannya sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang terdapat pada fungi endofit mangrove *Avicennia marina* yang berpotensi sebagai antioksidan yang diuji menggunakan metode DPPH dan karakterisasi senyawa menggunakan instrumen *Fourier*

*Transform Infrared (FT-IR) dan Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).*

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengidentifikasi isolat fungi endofit mangrove secara makroskopis dan mikroskopis.
2. Mengetahui bioaktivitas antioksidan yang dihasilkan dari ekstrak fungi endofit mangrove menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH).
3. Melakukan karakterisasi senyawa bioaktif dari fungi endofit yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antioksidan menggunakan instrument FT-IR dan LC-MS/MS.

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai senyawa bioaktif yang diperoleh dari ekstrak fungi endofit mangrove *Avicennia marina* yang berpotensi sebagai antioksidan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tumbuhan Mangrove

Habitat laut merupakan sumber daya yang menarik bagi pengembangan senyawa bioaktif baru. Mangrove adalah tumbuhan yang sangat unik yang menghuni daerah pesisir tropis dan subtropis sehingga tumbuhan tersebut dapat megembangkan ekosistem bakteri, jamur dan mikroorganisme yang memicu produksi senyawa baru dengan aktivitas biologis yang bervariasi (Amer *et al.* 2020).



**Gambar 1.** Hutan Mangrove (Sumber : Ismaini, 2022)

Mangrove adalah tanaman yang tumbuh di pantai dan banyak digunakan secara tradisional sebagai obat-obatan. Masyarakat adat, salah satunya provinsi Maluku utara memanfaatkan mangrove untuk mengobati demam, asma, penyakit kulit, rematik, dan luka ringan dari gigitan serangga (Tamalena *et al.*, 2021). Bagian tanaman mangrove yang digunakan meliputi buah, kulit, daun, batang, dan akar

Tanaman dapat tumbuh hingga 3-10 meter, tergantung kondisi lingkungan tempat tumbuhnya. (Nabeelah *et al.* 2019).

Mangrove *Avicennia marina* memiliki sistem akar yang kuat dan kompleks yang memungkinkannya bertahan dalam tantangan lingkungan. Salah satu bagian tanaman yang biasa dimanfaatkan adalah daun *A. marina* yang kemudian diolah lebih lanjut ke dalam ekstrak daun *A. marina*. Selama bertahun-tahun, banyak penelitian telah dilakukan pada jenis tanaman ini karena komposisi dan potensi fitokimianya yang kaya bioaktivitas. Secara khusus, daun *A. marina* telah menjadi perhatian banyak dari studi ini (Witoyo & Utoro, 2023).

Peneliti (Eswaraiah *et al.* 2020., Mitra *et al.* 2021) telah menemukan bahwa pada tumbuhan mangrove *A. marina* diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Senyawa ini terbukti menunjukkan aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur, antimalaria, dan juga antikanker. Sifat antioksidan dari senyawa ini menjadikannya kandidat potensial untuk digunakan sebagai antioksidan alami.

## **2.2 Senyawa Bioaktif**

Senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan adalah metabolit sekunder yang mempunyai sifat aktivitas biologis tertentu bagi organisme hidup. Efek tersebut bisa positif atau negatif tergantung pada sifat zat, dosisnya, dan bioavailabilitasnya. Senyawa bioaktif pada tumbuhan diproduksi sebagai metabolit sekunder yang tidak diperlukan untuk fungsi sehari-hari tanaman (seperti pertumbuhan), namun senyawa tersebut berperan penting dalam kompetisi, pertahanan, atraksi, dan sinyal (Walia *et al.* 2019).

Senyawa-senyawa ini didefinisikan sebagai metabolit sekunder yang menimbulkan efek farmakologis atau toksikologis pada manusia dan hewan. Senyawa bioaktif yang biasanya terdapat dalam tumbuhan adalah alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin dan tannin. Komponen bioaktif ini

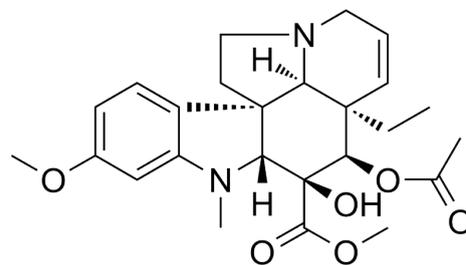
berfungsi sebagai antimikroba alami, antikanker, antioksidan, antigel, penyegar, dan emulsifier (Walia *et al.* 2019).

### 2.2.1 Alkaloid

Alkaloid adalah metabolit khusus yang terjadi secara alami dengan nitrogen sebagai elemen karakteristik yang ada dalam struktur kimianya. Kekayaan potensi biologis alkaloid dikaitkan dengan susunan atom yang berbeda dalam struktur kimianya. Alkaloid, salah satu kelas basa yang mengandung nitrogen organik alami (Ramadhan & Hakim, 2023).

Alkaloid berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung atom nitrogen di dalam strukturnya, atom tersebut mempunyai pasangan elektron bebas yang berfungsi untuk meredam aktivitas radikal bebas di dalam tubuh. Senyawa alkaloid juga berguna sebagai antioksidan dengan cara menghentikan proses oksidasi (Hasan dkk., 2022).

Senyawa golongan alkaloid yaitu vindolin (**Gambar 2**) berhasil diisolasi dari tanaman *Cantharanthus roseus* (L.) G. Don dan telah diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode ORAC dan DPPH yang menunjukkan bahwa vindoline dapat meringankan kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam sel  $\beta$ -TC6 pada 12,5 mg/mL dan 25,0 mg/mL.

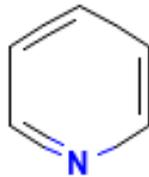


**Gambar 2.** Struktur Vindolin (Sumber : Tiong *et al.*, 2018)

Alkaloid dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan struktur kimianya yaitu sebagai berikut :

### A. Piridin

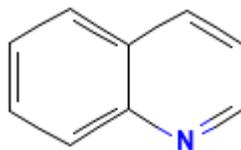
Piridin adalah senyawa heterosiklik di mana atom karbon benzena ditukar dengan nitrogen. Piridin muncul sebagai sistem terkonjugasi enam elektron  $\pi$  persis seperti yang dimiliki benzena, yang terdelokalisasi pada cincin heterosiklik. Sifatnya planar dan selanjutnya memenuhi syarat untuk aturan aromatisitas Huckel (Maisarah dkk., 2023).



**Gambar 3.** Struktur Dasar Piridin

### B. Kuinolin

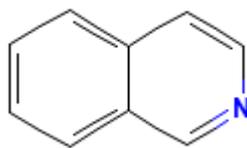
Kuinolin adalah golongan alkaloid yang memiliki struktur cincin kuinolin yang diperoleh dari asam astranilat dan mempunyai dua cincin karbon dan satu atom nitrogen. Contoh alkaloid kuinolin adalah kuinin, kuinidin, sinkonin, dan sinkonidin. Senyawa ini pada umumnya berguna sebagai antimalarial.



**Gambar 4.** Struktur Dasar Kuinolin

### C. Isokuinolin

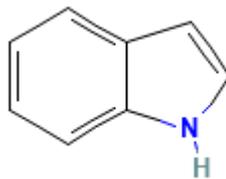
Isokuinolin adalah senyawa golongan alkaloid yang memiliki struktur dasar isokuinolin. Isokuinolin memiliki 10 elektron pi yang menempati lima orbital pi, termasuk satu orbital piC–N dan empat orbital piC–C, serta sepasang elektron bebas pada orbital atom nitrogen yang tidak berikatan. Alkaloid isokuinolin juga diketahui memiliki aktivitas sitotoksik dan antibakteri (Dalimunthe dkk., 2018).



**Gambar 5.** Struktur Dasar Isokuinolin

### D. Indol

Indol adalah kelas alkaloid yang mengandung bagian struktural indol. Banyak alkaloid indol juga termasuk gugus isoprena dan disebut alkaloid terpena indol atau alkaloid tryptamine secologanin. Alkaloid indol memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi senyawa berantai radikal bebas secara efisien. Lebih dari 4100 senyawa berbeda yang diketahui, ini adalah salah satu kelas alkaloid terbesar (Heravi *et al.*, 2021).



**Gambar 6.** Struktur Dasar Indol

### 2.2.2 Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa yang ada dimana-mana dan memainkan peran metabolisme penting dalam semua bentuk kehidupan. Terpenoid umumnya merupakan produk metabolisme sekunder pada berbagai organisme dan pada akhirnya, merupakan kelompok produk alami terbesar dan paling beragam secara struktural, dengan lebih dari 60.000 anggota yang diketahui. Terpenoid ditentukan berdasarkan biogenesisnya dari unit isoprena lima karbon dan selanjutnya dapat dikategorikan ke dalam kelas menurut jumlah unit isoprena yang membentuk perancah terpen induknya: hemiterpenoid (1 unit, C<sub>5</sub>), monoterpenoid (2 unit, C<sub>10</sub>), seskiterpenoid (3 unit, C<sub>15</sub>), diterpenoid (4 unit, C<sub>20</sub>), sesterterpenoid (5 unit, C<sub>25</sub>), dan triterpenoid (6 unit, C<sub>30</sub>) (Yuan *et al.*, 2022).

### 2.2.3 Fenolik

Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder dari tanaman dengan kombinasi antara mono dan polisakarida yang berikatan dengan satu atau lebih gugus fenolik, atau sebagai turunan ester atau metil ester. Gugus-gugus OH pada struktur senyawa fenolik menyumbangkan atom H sebagai donor radikal bebas sehingga umumnya menjadikan senyawa fenolik memiliki berbagai manfaat diantaranya: antioksidan, antiinflamasi, antidiabetik, dan sebagainya (Mahardani & Yuanita, 2021).

### 2.2.4 Flavonoid

Flavonoid berasal dari polifenol yang merupakan kelompok senyawa fenol. Flavonoid memiliki karakteristik cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (OH) yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik (Azalia dkk., 2023). Kelompok flavonoid dalam bahan alam, tersebar banyak dalam tanaman baik pada buah, kulit batang, akar dan bunga. yang bekerja sebagai

antioksidan. Flavonoid memiliki efek farmakologi sebagai antioksidan, anti penuaan, anti-inflamasi, anti-virus, dan lainnya (Ningsih dkk., 2023).

### 2.3 Endofit Mangrove

Mikroba endofit telah diketahui mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya. Senyawa bioaktif ini dapat diekstrak dari sebagian kecil tanaman mangrove, sehingga kelestarian mangrove dapat terjaga. Keuntungan menggunakan endofit mikroba sebagai penghasil metabolit sekunder adalah bahwa mikroba dapat dikultur dalam bioreaktor sesuai kebutuhan, bioaktif senyawa dapat diproduksi terus menerus, dan proses produksinya relatif mudah dilakukan dengan pengkondisian media biakan mikroba (Laksmi *et al.*, 2022).

Endofit jamur telah diteliti untuk senyawa bioaktif yang terdiri dari struktur kimia yang unik termasuk flavonoid, asam fenolik, steroid, alkaloid, kuinon, chinon atau terpenoid. Menariknya, hubungan simbiosis antara endofit dan tanaman inang atau lingkungannya memicu produksi senyawa bioaktif lebih lanjut. Lingkungan tempat tanaman bertahan mempengaruhi populasi endofit, sejak mangrove tumbuh subur yang mana sangat penting untuk diselidiki spesies tumbuhan ini untuk menemukan jenis metabolit fungsional yang mana mereka miliki.

Fungi endofit adalah fungi yang hidup dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tanpa membahayakan inang itu sendiri. Fungi endofit hidup intraseluler di dalam jaringan tanaman sehat yang menginduksi inang untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Induksi fungi endofit menciptakan hubungan simbiosis dengan tanaman inang untuk memproduksi senyawa bioaktif. Simbiosis ini pula yang membuat fungi endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa bioaktif mirip inangnya meskipun ditumbuhkan diluar jaringan tanaman inang. Keberadaan fungi endofit ditemukan dalam hampir keseluruhan jaringan tanaman seperti akar, batang, daun dan buah. Fungi endofit mangrove memiliki beberapa

aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, antivirus, dan antikanker (Pratama *et al.*, 2022).

## 2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa zat kimia yang berada di dalam tubuh manusia secara alami, yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil. Peran antioksidan dalam kesehatan yaitu sebagai antiaterosklerosis, antiinflamasi, antitumor, antitrombogenik, dan antiosteoporosis. Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibedakan menjadi 2 yaitu, antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami yaitu, senyawa yang secara alami terdapat dalam tubuh manusia dan digunakan sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal, contohnya *Superoxide Dismutase*, *Glutathione Peroxidase*, dan Katalase. Secara alami juga terdapat antioksidan yang berasal dari asupan luar tubuh, contohnya alfa tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), glutathion, dan ubiquinon. Antioksidan sintetis merupakan senyawa antioksidan yang disintesis secara kimia, contohnya *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), Tert-Butil Hidroksi Buinon (TBHQ) dan Propel galat. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species*(ROS) sehingga mencegah atau mengurangi kerusakan oksidatif (Kamoda dkk., 2021).

Antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer/antioksidan enzimatis merupakan antioksidan yang menghambat pembentukan senyawa radikal bebas dengan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang kurang reaktif sebelum radikal bebas bereaksi. Antioksidan ini meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan sekunder/antioksidan eksternal/antioksidan non-enzimatis merupakan antioksidan yang tidak dihasilkan oleh tubuh sehingga

berasal dari makanan seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid, beta karoten, isoflavon, dan lain sebagainya. Sementara itu, antioksidan tersier yaitu antioksidan yang memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas seperti enzim DNA repair dan metionin sulfoksida reduktase (Flieger *et al.*, 2021).

Mekanisme kerja senyawa antioksidan salah satunya yaitu dengan cara menodonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal sehingga dapat melengkapi kekurangan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Hal ini menjadikan senyawa radikal lebih stabil (Poli dkk., 2022).

## **2.5 Vitamin C**

Peranan penting asam askorbat atau Vitamin C dalam tubuh adalah untuk proses metabolisme dan perbaikan jaringan. Antioksidan dari Vitamin C dapat membantu melindungi sel dari radikal bebas. Vitamin C dapat melindungi kulit dan memproduksi kolagen. Kolagen merupakan protein alami dalam tubuh pembentuk struktur kulit, dimana dapat menurun produksinya yang disebabkan oleh radikal bebas dan penuaan. Vitamin C dapat mempertahankan produksi kolagen sehingga kulit tampak sehat dan kencang. Vitamin C dapat bekerja untuk menjaga kecantikan dan kesehatan. Dosis vitamin C harian tertinggi adalah 1.000 miligram/hari (Setyoningsih, 2021).

Penghambat radikal bebas dan sebagai antioksidan adalah Vitamin C. Asam askorbat adalah salah satu contoh vitamin C. Asam askorbat juga memiliki peran penting dalam berbagai proses fisiologis tanaman, termasuk pertumbuhan, diferensiasi, dan metabolismenya. Askorbat berperan sebagai reduktor untuk berbagai radikal bebas dan juga meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif (Leo & Daulay, 2022).

Vitamin C lebih sering digunakan dalam uji antioksidan metode DPPH daripada vitamin E adalah karena adanya beberapa perbedaan utama dari sifat kimianya, yaitu :

#### A. Kelarutan

Vitamin C larut dalam air, sehingga mudah larut dalam pelarut polar yang biasanya digunakan dalam pengujian DPPH (seperti metanol atau etanol). Hal ini memungkinkan reaksi yang lebih lugas dan konsisten terhadap radikal DPPH. Sedangkan Vitamin E larut dalam lemak. Ini berarti memerlukan pelarut non-polar, yang dapat mempersulit pengujian dan mempersulit pencapaian reaksi yang homogen.

#### B. Reaksi Kinetika

Vitamin C cenderung bereaksi dengan radikal DPPH lebih cepat dibandingkan vitamin E. Reaksi yang lebih cepat ini memudahkan pengukuran dan penghitungan aktivitas antioksidannya dalam jangka waktu pengujian. Reaksi vitamin E dengan DPPH bisa lebih lambat.

## **2.6 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah suatu atom energi tinggi yang memiliki satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan, hal inilah yang menyebabkan radikal bebas merupakan atom yang sangat reaktif. Akibat dari kereaktifannya yang tinggi, radikal bebas sangat mudah untuk berikatan dengan atom lain. Radikal bebas memiliki sifat yang sangat reaktif dan tidak stabil yang memiliki kecenderungan untuk mereduksi level energinya dengan mendonorkan elektron tak berpasangan berlebihnya ke substansi didekatnya. Sebagai contoh, ketika radikal bebas terbentuk di dalam tubuh, ia menyerang sel-sel dan jaringan yang ada di sekitarnya dengan mengoksidasi membran lipid, protein sel, dan DNA.

Kerusakan molekular dapat terjadi akibat radikal bebas. Kerusakan pada sel dan jaringan menyebabkan aktivitas sel terganggu yang berujung pada kematian sel. Apabila radikal bebas terus menerus berinteraksi dengan oksigen dan lipid maka akan memicu terbentuknya radikal bebas baru seperti hidroperoksida, superoksida, lipid oksida dan radikal hidroksil yang jika berinteraksi dengan sel makhluk hidup sifatnya sangat sitotoksik. Penyakit yang dapat ditimbulkan akibat radikal bebas yaitu penyakit kardiovaskular, penyakit neurodegeneratif dan keganasan (Sies *et al.*, 2022).

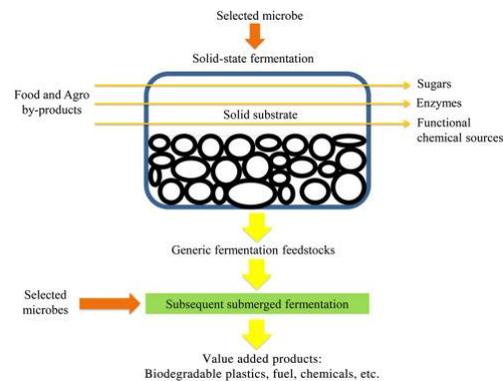
## 2.7 Kultivasi

Proses kultivasi digunakan untuk menumbuhkan isolat internal pada media buatan yang jauh dari lingkungan alamnya dengan membiarkan bakteri tumbuh dan berkembang biak di media yang digunakan untuk kultur *in vitro* di laboratorium, kultivasi juga membantu meningkatkan jumlah bakteri (Bakhtra *et al.*, 2020).

Berbagai variabel krusial, seperti suhu lingkungan, pH lingkungan, dan ketersediaan intensitas cahaya, berdampak pada proses kultivasi. Endofit mangrove dapat bertahan hidup dalam kondisi nutrisi rendah dan memakan lignin dan selulosa, dengan suhu pertumbuhan ideal antara 25°C dan 30°C. Endofit mangrove membutuhkan antara 7 - 14 hari untuk menetaskan sebelum mulai tumbuh pada media nutrisinya. Fase awal perkembangan (*log phase*) dimulai pada hari ke 1-2, diikuti fase eksponensial pada hari ke 3-5, fase stasioner pada hari ke 6-10, dan akhirnya fase kematian pada hari ke 10-14. Pada umumnya jamur memiliki waktu pertumbuhan optimal hingga 14 hari (Alboghany *et al.*, 2018).

*Solid State Fermentation* (SSF) adalah jenis fermentasi mikroba di mana mikroorganisme tertentu (bakteri, jamur, dan ragi) tumbuh pada bahan organik yang lembab, padat, tidak larut dengan tidak adanya atau hampir tidak adanya air

yang mengalir bebas. SSF berfungsi untuk membawa kapang atau mikroba yang telah dikultivasi agar berinteraksi dengan kuat pada substrat yang tidak larut serta mencapai konsentrasi nutrisi tertinggi dari substrat.



**Gambar 7.** *Solid state fermentation process*

## 2.8 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan langkah awal untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan bakunya. Metode ekstraksi meliputi ekstraksi pelarut, metode distilasi, pengepresan dan sublimasi sesuai dengan prinsip ekstraksi. Ekstraksi pelarut adalah metode yang paling banyak digunakan. Ekstraksi produk alami berlangsung melalui tahapan berikut: (1) pelarut menembus ke dalam matriks padat; (2) zat terlarut larut dalam pelarut; (3) zat terlarut terdifusi keluar dari matriks padat; (4) zat terlarut yang diekstraksi dikumpulkan. Setiap faktor yang meningkatkan difusivitas dan kelarutan dalam langkah-langkah di atas akan memfasilitasi ekstraksi. Sifat-sifat pelarut ekstraksi, ukuran partikel bahan baku, ransum pelarut-ke-padat, suhu ekstraksi dan lama ekstraksi akan mempengaruhi efisiensi ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018).

Pemilihan pelarut sangat penting untuk ekstraksi pelarut. Selektivitas, kelarutan, biaya dan keamanan harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut.

Berdasarkan hukum kesamaan dan *intermiscibility* (suka larut suka), pelarut dengan nilai polaritas mendekati polaritas zat terlarut cenderung berkinerja lebih baik dan sebaliknya.

Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang sangat sederhana dengan kelemahan waktu ekstraksi yang lama dan efisiensi ekstraksi yang rendah. Ini dapat digunakan untuk ekstraksi komponen termolabil. Pada ekstraksi maserai ini sampel direndam dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar selama proses ekstraksi ini untuk melarutkan analit dalam sampel. Prosedur perendaman biasanya dilakukan selama 3 sampai 5 hari, sering diaduk untuk mempercepat disintegrasi analit, ketika pelarut digunakan berwarna putih, tanda bahwa semua analit telah diekstraksi dengan sempurna (Leba, 2017).

Metode ekstraksi maserasi memiliki kelebihan yaitu sangat mudah digunakan, dapat diaplikasikan pada analit. Adapun kekurangan dari metode ekstraksi adalah membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak untuk prosedur ekstraksi maserasi (Leba, 2017).

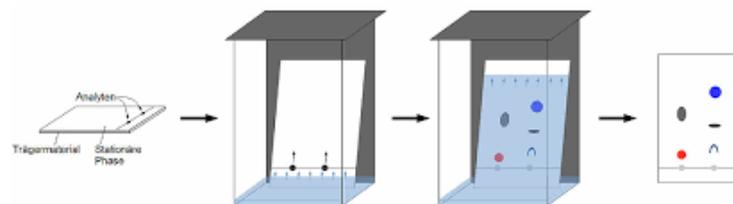
## **2.9 Kromatografi**

Kromatografi adalah teknik laboratorium yang digunakan untuk pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya. Hal ini didasarkan pada prinsip dimana molekul-molekul dalam campuran diaplikasikan ke permukaan atau ke dalam padatan, dan fase diam fluida (fase stabil) dipisahkan satu sama lain sambil bergerak dengan bantuan fase gerak (Gupta *et al.*, 2018). Berbagai jenis pemisahan dibedakan dari karakteristik molekul dan tipe interaksi yaitu pertukaran ion, adsorpsi permukaan (padat-cair), partisi (cair-cair), serta perbedaan berat molekul (afinitas). Kromatografi secara umum melibatkan fase gerak mengalir melewati fase diam yang digunakan (kromatografi kolom) atau pembentukan lapis tipis dimana fase gerak mengalami kenaikan berdasarkan kapilaritas (kromatografi lapis tipis).

### 2.9.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis terjadi dengan mekanisme adsorpsi padat-cair.

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah prosedur analisis kimia terkenal yang tidak mahal dan mudah dilakukan. Tujuan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) adalah untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan menganalisis senyawa-senyawa dalam suatu campuran secara kualitatif. Teknik ini melibatkan penempatan larutan sampel ke plat TLC, fase diam, dan menempatkan pelat ke dalam bejana yang berisi fase gerak. Pada proses pemisahan senyawa metabolit sekunder, diperlukan fase diam seperti silika gel atau  $C_{18}$ , dengan sifat pelarut yang berbeda. Penggunaan pelarut non polar seperti n-heksana digunakan saat analisis menggunakan  $SiO_2$  sedangkan penggunaan pelarut polar seperti MeOH digunakan saat analisis dengan plat  $C_{18}$ . Di dalam metode KLT, pelarut bergerak ke atas plat tipis yang direndam dengan pelarut dengan prinsip kapilaritas. Tingkat kecepatan elusi tiap komponen senyawa tergantung pada polaritas, fase diam yang digunakan serta tingkat kepolaran pelarut yang digunakan sebagai fase gerak (Silver, 2020).



**Gambar 8.** Kromatografi Lapis Tipis

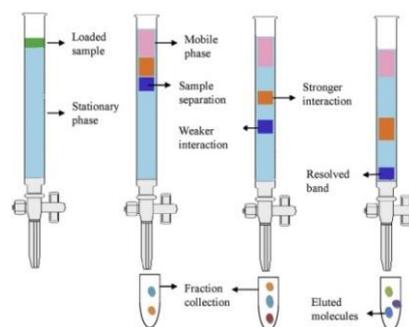
Faktor retensi, juga disebut sebagai *Retention factor*, adalah ukuran kuantitatif distribusi komponen senyawa dalam sampel dan dinyatakan secara sistematis sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Jika identifikasi komponen mengungkapkan nilai  $R_f$  dominan yang sama dalam eluen terkait, maka komponen dikategorikan berdasarkan sifat yang sama. Berbagai nilai  $R_f$  dalam sistem pelarut yang sama, dengan asumsi bahwa senyawa penyusun campuran adalah molekul yang berbeda.

### 2.9.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah metode pemisahan preparatif yang memungkinkan untuk pemisahan sampel dalam bentuk campuran seberat beberapa gram. Kromatografi kolom pada prinsipnya didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Sampel larutan pekat ditempatkan di ujung atas kolom, kemudian eluen mengalir terus menerus ke dalam kolom. Dengan gravitasi, eluen akan melewati kolom dan pemisahan akan terjadi. Eluen/pelarut yang digunakan mulai dari gradien polaritas yang paling non-polar dan meningkat sampai terjadi pemisahan. Senyawa akan dielusi secara berurutan berdasarkan polaritas. Pemisahan terjadi karena perbedaan afinitas senyawa pada adsorben dan perbedaan kelarutan senyawa dalam pelarut/eluen (Endarini, 2016).



**Gambar 9.** Kromatografi Kolom

## **2.10 Metode Uji Antioksidan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH)**

Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu reaksi oksidasi-reduksi. DPPH merupakan suatu radikal bebas sintetik yang dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol dan metanol. DPPH akan bereaksi dengan dua cara yaitu mekanisme donor atom hidrogen dan donor elektron, dimana DPPH yang bersifat radikal akan mengambil atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Adanya aktivitas antioksidan pada suatu senyawa ditandai dengan berubahnya warna ungu larutan DPPH menjadi warna kuning akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan sehingga menjadi DPPH. Perubahan warna ini berhubungan dengan jumlah elektron yang diterima DPPH dan menentukan seberapa kuat aktivitas antioksidan pada teh hijau ketika diukur intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Purwanti, 2019).

Metode DPPH lebih sering digunakan dalam uji antioksidan karena merupakan metode pengujian antioksidan yang paling mudah, cepat, murah, dapat digunakan di laboratorium sederhana dan sensitif digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan (Purwanti, 2019).

## **2.11 Spektrofotometer UV-Vis (Ultra Violet-Visible)**

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dengan panjang gelombang tertentu yang lalu cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi akan dihitung intensitasnya. Spektrofotometer UV – Vis adalah alat untuk menganalisa suatu absorbansi secara semikuantitatif dan kuantitatif. Alat ini bekerja dengan transisi molekul elektron dari cahaya yang diserap pada ultraviolet dan pada sinar yang tampak pada spectrum gelombang elektromagnetik. Satuan panjang gelombang pada alat ini diukur dengan satuan nanometer (nm). Pengukuran absorbansi oleh alat ini didasarkan atas hukum Lambert – Beer dimana absorbansi tergantung oleh

cahaya yang melewati substansi, produk koefisien absorpsi dari substansi dan jarak cahaya melalui material. Metode spektrofotometri UV–Vis merupakan metode yang mudah digunakan, murah, peka dan teliti (precise) untuk analisis kuantitatif senyawa yang mempunyai gugus kromofor dan auksokrom (Abriyani dkk., 2023).

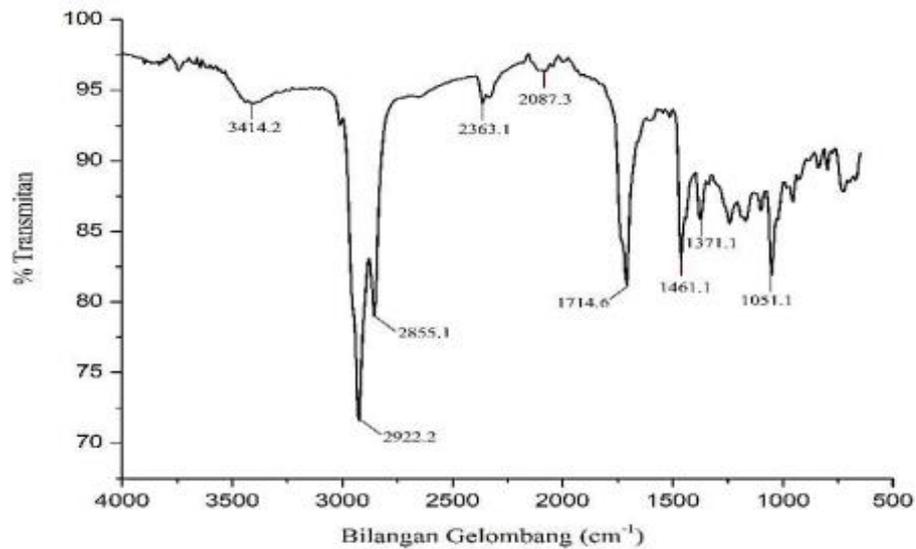
Spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang 517 nm sering digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Penurunan absorpsi diukur pada panjang gelombang 517 nm, dikarenakan pada panjang gelombang ini DPPH memiliki puncak serapan yang tinggi. Semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa, semakin besar perubahan warna dan semakin rendah absorpsi yang diukur.

### **2.12 *Fourier Transform Infrared (FT-IR)***

*Fourier Transform Infrared (FTIR)* adalah salah satu alat untuk simultan dan identifikasi kuantitatif molekuler struktur. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)* menjadi salah satu analisis komponen senyawa berdasarkan pengukuran vibrasi molekul yang tereksitasi oleh radiasi inframerah pada kisaran bilangan gelombang tertentu. Energi radiasi inframerah yang digunakan berinteraksi oleh masing-masing gugus fungsi merupakan energi yang sama dengan energi minimal ikatan antar molekul penyusun gugus fungsi tersebut. Energi yang menyebabkan vibrasi, masing-masing gugus fungsi tervibrasi identik terekam oleh detektor hingga diperoleh spektrum yang digunakan untuk analisis data. FTIR mampu menganalisa suatu material 21 baik secara keseluruhan, lapisan tipis, cairan, padatan, pasta, serbuk, serat, dan bentuk yang lainnya dari suatu material.

Spektroskopi FTIR merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi Transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan

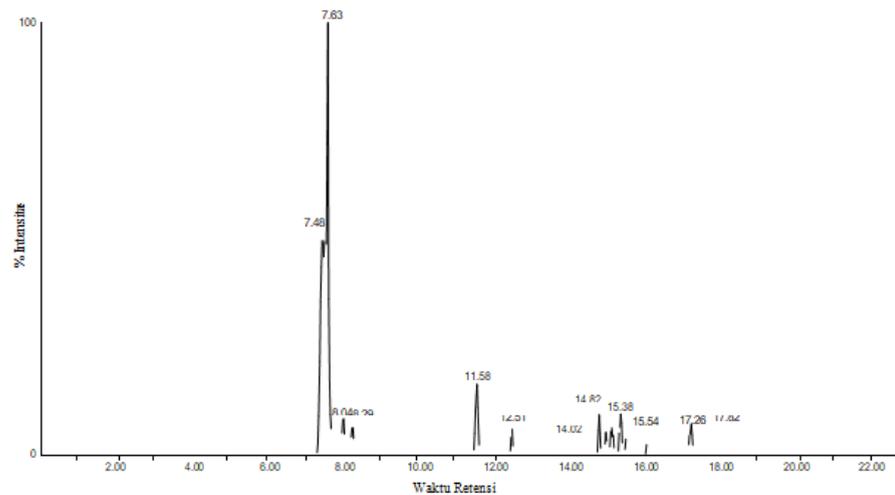
intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Lasut dkk., 2020). Spektrum IR menampilkan grafik antara bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) dan persen transmisi (%T) yang dapat dilihat pada **Gambar 10**.



**Gambar 10.** Spektrum IR Kristal F10BA0502T, Rachmadi (2022)

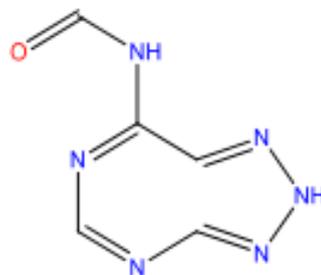
### 2.13 *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*

Metode yang paling umum untuk analisis adalah kromatografi cair karena mudah digunakan dan tidak dibatasi oleh volatilitas atau stabilitas sampel. Pendekatan LC-MS telah terbukti mampu mendeteksi banyak kelas metabolit dan tidak memerlukan sampel untuk diturunkan untuk mengkategorikan metabolit yang terdeteksi. LC-MS/MS memiliki komponen berupa fase gerak berupa pelarut organik (methanol, asetonitril) dan fase diam berupa silika termodifikasi yang memisahkan senyawa berdasarkan sifat kimia (Septaningsih *et al.*, 2018). Contoh *Total ion chromatography* dapat dilihat pada **Gambar 11**.



**Gambar 11.** *Total ion chromatography (TIC) LC-MS/MS F10BA0502T*  
(Sumber : Rachmadi, 2022)

Spektrum MS pada waktu retensi 7.63 menunjukkan keberadaan *base peak* dengan  $m/z$  193 dan fragmen ion dari puncak yang memiliki kestabilan terbaik pada  $m/z$  151,  $m/z$  108. Berdasarkan database di **PubChem**, rumus molekul  $C_7H_8N_6O$  merupakan senyawa dengan gugus alkaloid dari pirimidin dengan nama senyawa *N-(2H-triazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yl)propanamida* yang ditunjukkan pada **Gambar 12**.



**Gambar 12.** Perkiraan Struktur Senyawa Alkaloid F10BA0502

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan pada Oktober 2023 - Maret 2024 yang bertempat di UPT LTSIT Universitas Lampung (UNILA), dan karakterisasi senyawa menggunakan FT-IR di Institut Teknologi Bandung (ITB) dan LC-MS/MS di Pusat Laboratorium Forensik Badan Reserse Kriminal POLRI Sentul, Bogor.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat – alat yang digunakan yaitu plastik tahan panas berbagai ukuran, batang pengaduk, kertas pH universal, spatula, petridish plastik, jarum ose, plastik wrap, pinset, gunting, karet gelang, kasa, kapas, botol 1L (10 pcs), mikropipet 200 – 1000  $\mu$ L, mikrotip, botol vial berbagai ukuran, bunsen, korek. Alat-alat instrument yang digunakan adalah neraca analitik KERN ABJ/BBJ-220-4M, *dryng oven* Jisico , Autoclave Tomy SX-700, Sentrifugator, *Laminar Air Flow* ESCO/AVC4A1, *rotary evaporator* Buchii/Rovator R-210, alat mikroskop Axio *imager* Zeiss A1, lampu UV 254 nm Kohler/SN402006, Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Silica gel 60 F<sub>254</sub>, instrument Spektrofotometer UV-Vis 517nm, *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) dan *Liquid Chromatography Mass Spectrometer* (LC-MS/MS).

Berbagai bahan- bahan yang digunakan yaitu alkohol 70%, spirtus, agar plain, akuades, limbah kulit udang, isolat fungi, etil asetat, akuades, air laut buatan,

DCM, N-heksan, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi serium sulfat, ninhidrin sulfat, etanol, dan larutan DPPH.

### **3.3 Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar***

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dibuat dengan menimbang 20 gram kentang, 2 gram dektros, dan 2 gram agar yang dilarutkan dalam 100 ml air laut buatan. Bahan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 2 jam dan biarkan media PDA agak dingin sebelum dituangkan ke cawan petri (Ringsborg *et al.*, 2021).

#### **3.3.2 Peremajaan Isolat**

Isolat fungi tunggal (2 isolat) akan dilakukan peremajaan isolat pada media agar. Sediaan isolat fungi endofit mangrove yang diperoleh Rachmadi (2022) di Srimonosari, Lampung Timur. Peremajaan isolat dilakukan dengan cara media PD disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>o</sup> selama 15 menit. Media semi-padat steril dituangkan ke dalam cawan petri yang steril di *Laminar Air Flow* dan media dibiarkan dingin serta memadat. Isolat yang telah tersedia digoreskan ke dalam media PDA padat menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi dengan api dari lampu spritus. Cawan petri berisi isolat diinkubasi pada suhu ruang (28°C) selama 3-4 hari hingga terbentuk miselia. Karakterisasi morfologi dapat dilihat dari warna, bentuk, dan tekstur koloni dapat diamati secara makroskopis (Rahim *et al.*, 2019).

Isolat tunggal yang didapatkan, selanjutnya diidentifikasi secara mikroskopis. *Coverslip* ukuran 22x22 mm dimasukkan ditengah media *Potato Dextrose Agar* (PDA), kemudian isolat tunggal fungi endofit mangrove digoreskan berdekatan dengan *coverslip* dan diinkubasi selama 4-7 hari pada suhu ruang. *Coverslip* diambil secara perlahan menggunakan pinset steril dan diletakkan pada kaca preparat yang bersih, kemudian diamati menggunakan mikroskop *Axio Zeiss A1* dengan pembesaran 400x.

### **3.3.3 Kultivasi Fungi Endofit**

Isolat fungi endofit yang telah dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis selanjutnya dilakukan inokulasi dan kultivasi. Inokulasi dilakukan dengan membuat media *Potato Dextrose Broth* (PDB) yang terbuat dari 20 gram kentang, 2 gram d-glukosa, dan 100 ml air laut steril yang selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit. Media PDB steril mencelupkan isolat fungi menggunakan jarum ose bulat di dalam ruangan LAF, kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Inokulum kemudian dikultivasi dengan pendekatan OSMAC menggunakan 3 media berupa kulit udang (50 g), kentang (50 g), dan kedelai (50 g) yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf. Kultivasi dilakukan selama 14 hari.

### **3.3.4 Ekstraksi Senyawa dari Fungi Endofit**

Media kultivasi yang telah diinkubasi selama 14 hari ditambahkan pelarut etil asetat (1:1) dan disimpan pada suhu ruang selama 1x24 jam sembari sesekali diaduk. Ekstrak etil asetat dan residu disaring dengan kertas saring. Ekstrak etil asetat dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan tekanan 123 mbar sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar media kulit

undang, kentang, dan kedelai kemudian dilakukan uji bioautografi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

### 3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui pola kromatogram yang dihasilkan dari pemisahan senyawa yang terdapat pada sampel. Ekstrak kasar selanjutnya dianalisis dengan KLT menggunakan plat silika 60 F<sub>254</sub> sebagai fase diam. Ekstrak kasar yang dielusi terhadap plat KLT, bercak atau noda dapat dilihat di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Plat dilakukan visualisasi lanjutan dengan menggunakan reagen serum sulfat untuk menampakkan noda hasil KLT, lalu dikeringkan di atas pemanas. Pereaksi serum sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel dengan ditandai timbulnya noda berwarna coklat kehitaman. Pereaksi *Dragendorff* digunakan untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid (gugus N-tercier) yang ditandai dengan terbentuknya noda oranye pada hasil KLT. Pereaksi ninhidrin digunakan untuk mendeteksi asam amino, amina, dan gula amino yang sebagian besar ditandai dengan adanya noda berwarna ungu atau violet. Plat KLT yang telah dipanaskan, diamati dan dihitung nilai Rf nya untuk mengetahui tingkat kepolaran masing-masing komponen (Widyaningrum *et al.*, 2019).

### 3.3.6 Kromatografi Kolom

Ekstrak kasar dengan aktivitas penghambatan radikal bebas tertinggi, selanjutnya difraksinasi lebih lanjut dengan kolom kromatografi. Pada penelitian ini, kolom kromatografi dilakukan menggunakan fasa diam berupa silika gel. Elusi dilakukan dengan beberapa sistem gradien pelarut (sistem pelarut non-polar ke polar). Kolom kaca berbentuk silinder yang berisi fase diam (silika gel) dimasukkan perlahan dari atas dengan pelarut cair (fase gerak) yang mengalir ke bawah kolom dengan bantuan gravitasi. Setelah kolom sudah siap, sampel

dimuat di bagian atas kolom. Fase gerak kemudian dialirkan melalui kolom. Seluruh komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak campuran memiliki tingkat interaksi yang berbeda terhadap fase diam (silika gel) dan fase gerak, sehingga waktu yang diperlukan untuk mengalir ke dalam penampung berbeda. Cairan hasil pemisahan ditampung dalam fraksi-fraksi yang berbeda sesuai pemisahan yang terjadi. Fraksi kemudian dilakukan uji bioaktivitas kembali untuk menentukan fraksi yang akan dilakukan analisis strukturnya. Masing-masing komponen senyawa hasil pemisahan diamati kembali menggunakan KLT dalam pereaksi serum sulfat (Bajpai *et al.*, 2016).

### **3.3.7 Analisis Antioksidan**

#### **3.3.7.1 Uji Antioksidan Menggunakan KLT**

Analisis antioksidan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan teknik uji DPPH umumnya digunakan untuk mengevaluasi kemampuan penangkal radikal bebas dari ekstrak tanaman. Uji antioksidan menggunakan KLT memiliki prinsip kerja yang sama seperti KLT pada umumnya, perbedaan ada pada reagent yang digunakan yaitu DPPH. Reagen DPPH akan menunjukkan adanya antioksidan pada suatu senyawa dengan adanya perubahan senyawa dari ungu menjadi kuning yang menandakan adanya indikasi senyawa antioksidan (Purwanti *et al.*, 2018).

#### **3.3.7.2 Uji Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis**

Aktivitas antioksidan fungi endofit hasil ekstraksi dianalisis untuk mendapatkan isolat potensial yang aktif sebagai antioksidan. Uji inhibisi antioksidan dilakukan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dengan cara membuat Larutan stok DPPH 1000  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Larutan stok vitamin C dibuat sebanyak 1000 Larutan  $\mu\text{L}/\text{mL}$  , yang kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi (10, 8,

6, 4, 2) ppm. Larutan seri sampel dibuat dalam beberapa konsentrasi (1000, 800, 600, 400, 200) ppm. Seluruh larutan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Larutan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Inhibisi dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Percentage of DPPH scavenger} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

*A* = control absorbance

*B* = extract absorbance

Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan menggunakan persamaan regresi linear dari kurva hubungan konsentrasi sampel (ppm) sebagai sumbu (X) dan nilai persentasi inhibisi sebagai sumbu (Y) (Kholifah *et al.*, 2023).

### 3.3.8 Karakterisasi Senyawa

Sampel dengan kemurnian tertinggi serta aktivitas terbaik dalam menghambat radikal bebas selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) dan *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS/MS).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hasil peremajaan isolat 21CD-LR teramati memiliki miselium aerial berwarna hijau tua dengan tepian koloni berserabut, sedangkan isolat 21DB-LR teramati memiliki miselium aerial berwarna kuning kehijauan dengan tepian koloni berserbuk. Kedua isolat tersebut termasuk dalam genus *Aspergillus* sp. yang teramati secara mikroskopis.
2. Hasil analisis antioksidan menggunakan instrument spektrofotometri UV-Vis pada  $\lambda$  517nm dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kasar isolat 21DB-EKD memiliki aktivitas antioksidan yang kuat terhadap radikal bebas dengan nilai  $IC_{50}$  25,63 ppm.
3. Hasil karakterisasi LC-MS/MS sampel 21DB-EKD menunjukkan bahwa pada waktu retensi 12.27 menit dengan m/z 280.0717 memiliki perkiraan rumus molekul  $C_{12}H_9NO_2$  yang terindikasi senyawa golongan alkaloid dengan kerangka dasar indol. Senyawa ini memiliki korelasi yang sesuai dengan gugus fungsi hasil karakterisasi FT-IR , yaitu adanya gugus C-H ( $1458.18\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1165.00\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1651.07\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1749.43\text{ cm}^{-1}$ ), C-N ( $1240.22\text{ cm}^{-1}$ ), dan N-H ( $3108.95\text{ cm}^{-1}$ ).

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan pemurnian sampel lebih lanjut dan sampel dapat dilakukan pengujian potensi aplikasinya terhadap bidang kesehatan dan industri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Widyaningsih, A., Pangestu, A. D., Dewi, S. R., & Setiawan, S. (2023). Literatur Riview: Penetapan Kadar Salbutamol Sedian Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Pendidikan dan Konseling (JPDK)*, 5(1), 813-822.
- Alboghany, T. M. dan El-Sheikh, H. H. (2018). *Mycology*. University Adeilade Press. Australia.
- Amer, M. S., Zaghoul, E. H., & Ibrahim, M. I. (2020). Characterization of exopolysaccharide produced from marine-derived *Aspergillus terreus* SEI with prominent biological activities. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(4), 363-369.
- Atpadkar, P. P., Gopavaram, S., & Chaudhary, S. (2023). *Natural-product-inspired bioactive alkaloids agglomerated with potential antioxidant activity: Recent advancements on structure-activity relationship studies and future perspectives*. In Vitamins and hormones (Vol. 121, pp. 355-393). Academic Press.
- Bajpai, V. K., Majumder, R. and Park, J. G. (2016) 'Isolation and purification of plant secondary metabolites using column-chromatographic technique', *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(4), 844-848.
- Bakhtra, D. D. A., Eriadi, A., & Putri, S. R. (2020). Skrining aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak etil asetat jamur

endofit dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1), 99-108.

Baliyan, N., Dindhoria, K., Kumar, A., Thakur, A., & Kumar, R. (2021). Comprehensive substrate-based exploration of probiotics from undistilled traditional fermented alcoholic beverage 'Lugri'. *Frontiers in Microbiology*, 12, 626964.

Binuni R., Wilmar, M., Hariyadi, Yappy, S. 2020. "UjiAktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* Dari Kecamatan Tagulandang, Sulawesi Utara Menggunakan Metode DPPH." *Biofarmasetikal Tropis e-ISSN 2685-3167*, 3(1), 79-85.

Chen, W. H., Li, K. L., Lin, X. P., Liao, S. R., Yang, B., Zhou, X. F., ... & Wang, J. F. (2021). Antioxidant CPA-type indole alkaloids produced from the deep-sea derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO 41024. *Natural Product Research*, 35(23), 5266-5270.

Dalimunthe, A., Hasibuan, P. A. Z., Silalahi, J., Sinaga, S. F., & Satria, D. (2018). Aktivitas antioksidan senyawa alkaloid dari *Litsea cubeba* Lour. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(2), 1149-1154.

Eswaraiah, G., Peele, K. A., Krupanidhi, S., Kumar, R. B., & Venkateswarulu, T. C. (2020). Studies on phytochemical, antioxidant, antimicrobial analysis and separation of bioactive leads of leaf extract from the selected mangroves. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 842-847.

Filho, G. D., & De Souza, D. (2022). Detection of synthetic antioxidants: what factors affect the efficiency in the chromatographic analysis and in the electrochemical analysis?. *Molecules*, 27(20), 7137.

- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: classification, natural sources, activity/capacity, measurement, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14, 4135.
- Gan, J., Feng, Y., He, Z., Li, X., & Zhang, H. (2017). Correlations between antioxidant activity and alkaloids and phenols of maca (*Lepidium meyenii*). *Journal of Food Quality*, 2017(1), 3185945.
- Gupta, V., Beirne, S., Nesterenko, P. N., & Paull, B. (2018). Investigating the effect of column geometry on separation efficiency using 3D printed liquid chromatographic columns containing polymer monolithic phases. *Analytical chemistry*, 90(2), 1186-1194.
- Hasan, H., Thomas, N. A., Hiola, F., Ramadhani, F. N., & Ibrahim, A. S. (2022). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) dengan metode 1, 1-diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(1), 67-73.
- Heravi, M. M., Amiri, Z., Kafshdarzadeh, K., & Zadsirjan, V. (2021). Synthesis of indole derivatives as prevalent moieties present in selected alkaloids. *RSC Advances*, 11(56), 33540-33612.
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), 2499-2574.
- Kamoda, A. P., Nindatu, M., Kusadhiani, I., Astuty, E., Rahawarin, H., & Asmin, E. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat *Saragassum* Sp. Dengan Metode 1, 1-Difenil-2-Pikrihidrasil (Dpph). *PAMERI: Pattimura Medical Review*, 3(1), 60-72.

- Karim, M. A., Islam, M. A., Islam, M. M., Rahman, M. S., Sultana, S., Biswas, S., & Hasan, M. N. (2020). Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic, cytotoxic effects and anti-bacterial activity of selected mangrove plants (*Bruguiera gymnorrhiza* and *Heritiera littoralis*) in Bangladesh. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 1-12.
- Kholifah, E., Nurazizah, D., & Noviyanto, F. (2023). Antioxidant activity and vitamin C concentration analysis of gandaria (*Bouae macrophylla* griff) ethanol extract using spectrophotometry UV Vis. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 3(2), 54-63.
- Laksmi, F. T., Budjianto, S., Rahmawati, S. I., Harmoko, R., Izzati, F. N., Bachri, S., ... & Iman, M. (2022). Antibacterial Activity Profile of Mangrove Endophytic Fungi Isolated from Brau Regency, Indonesia. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 9(1), 86-99.
- Lasut, R., & Wenas, D. R. (2020). Kajian Gugus Fungsi dan Komposisi Mineral Batuan Teralterasi Menggunakan Spektroskopi Sem-edx DAN ftir Pada Daerah Manifestasi Panas Bumi di Desa Toraget, Langoan, Kabupaten Minahasa. *Charm Sains: Jurnal Pendidikan Fisika*, 1(2), 19-23.
- Leba, Maria A. U. (2017) . 'Ekstraksi dan Real Kromatografi', Ed. 1, Cet. 1. Deepublish. Yogyakarta.
- Leo, R., & Daulay, A. S. (2022). Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Bervitamin Yang Disimpan Pada Berbagai Waktu Dengan Metode Spektrofotometri UV. *Journal of Health and Medical Science*, 105-115.
- Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek metode pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 64-78.

- Maisarah, M., & Chatri, M. (2023). Karakteristik dan fungsi senyawa alkaloid sebagai antifungi pada tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 231-236.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
- Maulia, R., Yuniarti, I., & Umaningrum, D. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Campuran Tumbuhan Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dan Lidah Ular (*Hedyotis corymbosa*). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 17(1), 85-92.
- Mitra, S., Naskar, N., & Chaudhuri, P. (2021). A review on potential bioactive phytochemicals for novel therapeutic applications with special emphasis on mangrove species. *Phytomedicine plus*, 1(4), 100107.
- Mierza, V., Antolin, A., Ichسانی, A., Dwi, N., Sridevi, S., & Dwi, S. (2023). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid: Research Article: Isolation and Identification of Terpenoid Compounds. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 9(2), 134-141.
- Nabeelah Bibi, S., Fawzi, M. M., Gokhan, Z., Rajesh, J., Nadeem, N., RR, R. K., ... & Pandian, S. K. (2019). Ethnopharmacology, phytochemistry, and global distribution of mangroves—A comprehensive review. *Marine drugs*, 17(4), 231.
- Ningsih, I. S., & Advinda, L. (2023). Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 257-263.
- Nyoja, E. M. (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. *In Cancer* (pp. 349-357). Academic Press.

- Poli, A. R., Katja, D. G., & Aritonang, H. F. (2022). Potensi Antioksidan Ekstrak dari Kulit Biji Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G. Forst). *Chemistry Progress*, 15(1).
- Pratama, M. A., Pambudi, M. A. S., Bachtiar, E., Ismail, M. R., Mulyani, Y., Arsad, S., & Prasetya, F. S. (2022). Study of Phytochemistry and Potential of Endophyte Fungi Extract in *Avicennia marina* Roots as Antioxidants Inhibiting Early Aging. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 11(1), 37-46.
- Priska, M., Peni, N., & Carvallo, L. (2019). Phytochemicals screening and antioxidant effectiveness of garlic (*Allium sativum*) from Timor Island. *Biosaintifika*, 11(1), 1-7.
- Purwanti, N. U., Wahdiyanti, R., & Susanti, R. (2018). Effect of Variations of Solvent Concentration to Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Buas-Buas Stem (*Premna Serratifolia* L.) Using Dpph (2, 2-Diphenyl-1 Picrylhidrazyl) Scavenging Method.
- Purwanti, L. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan dari Seduhan 3 Merk The Hitam (*Camelia sinensis* (L) Kuntae) dengan Metode Seduhan Berdasarkan SNI01-1902-1995.. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 2(1), 19–25.
- Ramadhan, A. D., & Hakim, A. R. (2023). Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Etanol Daun Karinat. *Prosiding Penelitian dan Pengabdian Karya Cendekia*, 2023, 16-18.
- Septaningsih, D. A., Darusman, L. K., Afendi, F. M., & Heryanto, R. (2018). Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) fingerprint combined with chemometrics for identification of metabolites content and

biological activities of curcuma aeruginosa. *Indonesian Journal of Chemistry*, 18(1), 43-52.

Setyoningsih, H. (2021). Pengaruh Asupan Vitamin C terhadap Kesehatan Kulit. *Jurnal Kesehatan dan Gizi*, 7(1), 20-30.

Shamsuzzaman, M., Kalaiselvi, K., & Prabakaran, M. (2021). Evaluation of antioxidant and anticorrosive activities of *Ceriops tagal* plant extract. *Applied Sciences*, 11(21), 10150.

Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., & Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(7), 499-515.

Silver, J. (2020) 'Let Us Teach Proper Thin Layer Chromatography Technique!', *Journal of Chemical Education*, 97(12), 4217–4219.

Sopialena, et al. (2021). Deteksi dan Identifikasi Patogen Jamur Terbawa Benih pada Malapari (*Pongamia pinnata*). *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 25(1), 1-10.

Tamalene, M. N., Uday, U. K., Bhakat, R. K., Vianti, E. V. A., Bahtiar, B., & Suparman, S. (2021). Utilization of mangrove plants as a source of malaria medicine in north maluku province, indonesia. *Asian Journal of Ethnobiology*, 4(2).

Walia, A., Gupta, A. K., & Sharma, V. (2019). Role of bioactive compounds in human health. *Acta Sci. Med. Sci*, 3(9), 25-33.

Widyaningrum, W., Saptuti, S., Agustina, V. T., & Sulistiyah, W. (2019). Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Dan Efektivitas Ekstrak Etilasetat

Daun Talok (*Muntingia calabura* L) Sebagai Analgetik. *Avicenna: Journal of Health Research*, 2(1).

Witoyo, J. E., & Utoro, P. A. R. (2023). Phytochemicals-bioactivity of *Avicennia marina* leaves extract, and its application in food products: a brief literature review. *Rona Teknik Pertanian*, 16(2), 114-127.

Yuan, Y., Wu, Y., Li, X., Xiao, X., & Liang, J. (2022). Efficient exploration of terpenoid biosynthetic gene clusters in filamentous fungi. *Nature Catalysis*, 5, 277–287.

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13, 1-26.