

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga coklat (*Sargassum crasifolium*)

2.1.1 Klasifikasi

Sargassum crasifolium merupakan jenis alga coklat yang termasuk dalam kelompok Phaeophyta dan banyak ditemukan di perairan Indonesia. Di Indonesia, tercatat ada sekitar 15 spesies alga dari genus *Sargassum*. Alga coklat ini adalah tumbuhan yang mengandung klorofil dan dapat terdiri dari satu sel atau lebih yang membentuk koloni. Selain itu, alga coklat mengandung banyak bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral, dan senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan (Pakidi.2017)

Klasifikasi dari *Sargassum crassifolium* (Anggradiredja, *et al.*, 2006)

Kingdom : Chomista
Filum : Heterokontophyta
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Fucales
Family : Sargassaceae
Genus : *Sargassum*
Spesies : *Sargassum crassifolium*

2.1.2 Morfologi

Sargassum crassifolium adalah jenis alga coklat yang hidup di habitat terumbu karang pada kedalaman antara 0,5 hingga 10 meter. *Sargassum crassifolium* dapat tumbuh antara 14 hingga 62 cm. Alga ini memiliki tubuh

berwarna coklat kehijauan atau kekuningan, dengan struktur tubuh yang terdiri dari beberapa bagian. Tubuhnya terdiri atas *holdfast* yang berfungsi sebagai struktur pengikat, *stipe* atau batang semu, serta *fron* yang menyerupai daun. Warna coklat pada alga disebabkan oleh dominasi pigmen fucoxanthin, klorofil a dan c, beta-karoten, serta xantofil (Lutfiawan, 2015)

Ciri-ciri khusus *Sargassum crassifolium* memiliki thallus yang pipih dan licin, batang yang bulat namun agak kasar, serta holdfast (bagian yang digunakan untuk melekat pada substrat) yang berbentuk cakram. Percabangan pertama muncul di bagian pangkal thallus, sekitar 1 cm dari holdfast, dan percabangan tersebut teratur berselang-seling. Daunnya berbentuk oval dan memanjang, dengan ukuran thallus sekitar 13,5 hingga 14 cm. Tepi daun jarang bergerigi dan sering terlihat bergelombang, sementara ujungnya melengkung atau meruncing. Gelembung udara (vesikel) berbentuk lonjong dengan ujung yang meruncing, berukuran sekitar 7x1,5 mm, dan agak pipih. Tanaman ini tumbuh baik pada substrat batu karang di daerah yang berombak (Ode. *et al.*, 2014)



Gambar 1. *Sargassum Crassifoliim*
Sumber: Pribadi

2.1.3 Kandungan Kimia Alga Coklat (*Sargassum crassifolium*)

Alga coklat diketahui memiliki senyawa metabolit seperti terpenoid, bromofenol, karoten, florotanin, polisakarida tersulfat, steroid, salah satu contoh metabolit yang menarik adalah fucoidan, yaitu polisakarida yang memiliki potensi antitumor, yang dapat ditemukan pada alga seperti *Sargassum polycystum*. Fucoidan ini menunjukkan aktivitas yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan beberapa jenis sel kanker manusia. Selain itu, alga coklat juga mengandung steroid yang diketahui memiliki efek antitumor. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa steroid yang terkandung dalam *Sargassum polycystum* memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker (Vaseghi. *et al.*, 2018). Penelitian fitokimia pada *Sargassum angustifolium* juga mengidentifikasi tanin, saponin, sterol, dan triterpen sebagai senyawa utama yang terkandung dalam alga coklat ini (Vaseghi. *et al.*, 2018)

Ekstrak dari *Sargassum sp.* diketahui memiliki aktivitas yang kuat dalam melawan radikal bebas (antioksidan) dan sel kanker. Ekstrak ini mengandung berbagai metabolit bioaktif seperti flavonoid, steroid, tanin, dan glikosida, yang berperan dalam sifat-sifat biologisnya. Di antara berbagai jenis ekstrak yang diuji, ekstrak etilasetat *Sargassum sp.* menunjukkan kandungan fenolik yang paling tinggi, yang berhubungan langsung dengan aktivitas antioksidannya. Ekstrak etilasetat juga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol. Kandungan fenolik dan flavonoid dalam ekstrak etilasetat ini berperan besar dalam memberikan efek tersebut, menunjukkan korelasi positif

antara jumlah senyawa tersebut dengan kekuatan aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Tinanggal. *et al.*, 2021).

Selain manfaat antioksidan, ekstrak dari *Sargassum sp.* menunjukkan potensi antikanker yang signifikan. Penelitian pada sel kanker serviks HeLa menunjukkan bahwa ekstrak ini memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker secara efektif. Aktivitas antikanker ini kemungkinan terkait dengan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak, seperti flavonoid dan tanin, yang dikenal memiliki efek sitotoksik pada berbagai jenis sel kanker. Oleh karena itu, *Sargassum sp.* berpotensi sebagai bahan alami yang berguna dalam pengembangan terapi antikanker, terutama dalam pengobatan kanker serviks (Tinanggal. *et al.*, 2021)

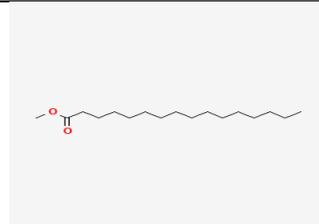
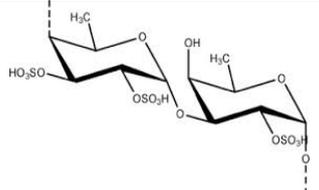
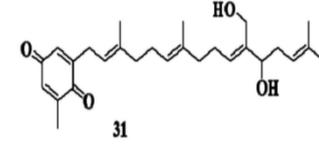
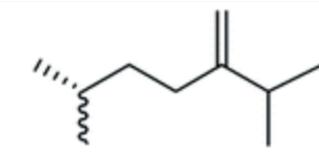
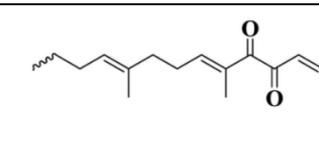
2.1.4 Bioaktivitas Alga Coklat (*Sargassum crassifolium*)

Sargassum crassifolium merupakan salah satu jenis alga coklat yang tumbuh di pesisir Indonesia yang diketahui memiliki bioaktivitas yang beragam seperti antibakteri, antioksidan dan antifungi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Dewinta. 2023) ekstrak dari alga coklat ini dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan zona hambat yang dihasilkan yaitu diameter hambat 21,6 mm, alga ini mengandung berbagai senyawa aktif, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa ini dikenal memiliki khasiat sebagai antibakteri, antivirus, dan antijamur, yang dapat membantu melawan berbagai infeksi dan penyakit.

Selain itu *Sargassum crassifolium* juga memiliki aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh (Amin. *et al.*, 2015) dimana pengujian menggunakan metode

spektrofotometri dengan DPPH sebagai model radikal bebas menunjukkan bahwa fraksi polar, yaitu fraksi air dari ekstrak *Sargassum crassifolium*, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik. Aktivitas ini ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,38 ppm. Artinya, fraksi ini mampu menangkal radikal bebas dengan efektif pada konsentrasi yang rendah. Dengan demikian, *Sargassum crassifolium* berpotensi menjadi sumber alami yang dapat digunakan untuk melawan kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh.

Tabel 1. Senyawa Bioaktif Alga Coklat

Senyawa Bioaktif	Struktur	Efek Biologis	LC ₅₀ µg/mL	Sumber
Metyhil Palmitate		Sitotoksik sel kanker melanoma B16-F10	61,26 ± 2,13 µg/mL	Martya sariet al., 021
Fucoidan		Sitotoksik sel kanker usus besar HCT-15	250 µg/mL	Rushdi, et al., 2020)
Fallaquinone		Antitumor sel kanker Leukemia Murine P388	29 µg/mL	Rushdi, et al., 2020)
Osteastero		Antitumor sel kanker leukemia mielogenous K562	159 µg/mL	Rushdi, et al., 2020)
Sargachromonol		Sitotoksik sel kanker lambung AGS	6,5 µg/mL	Rushdi, et al., 2020)

2.2 Jamur Endofit

2.2.1 Pengertian Jamur Endofit

Jamur endofit merupakan kelompok mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman, seperti akar, batang, daun, bunga, dan biji. Dimana mendapatkan nutrisi dari tanaman inangnya, tetapi tidak menyebabkan penyakit atau kerusakan pada inangnya. Sebagai gantinya, jamur endofit memberikan manfaat bagi tanaman dengan menghasilkan senyawa-senyawa tertentu yang berfungsi untuk melindungi tanaman dari ancaman patogen seperti bakteri, jamur, atau virus. Senyawa tersebut bisa berupa enzim, mikotoksin, atau antibiotik yang berperan sebagai penghalang atau penanggulangan terhadap infeksi (Nurzannah. *et al.*, 2014)

Di sisi lain, tanaman memberikan nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur endofit untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, seperti karbohidrat dan bahan organik lainnya. Hubungan antara jamur endofit dan tanaman inangnya ini bersifat saling menguntungkan, di mana tanaman mendapat perlindungan dari serangan penyakit, sementara jamur memperoleh tempat tinggal dan sumber makanan. Oleh karena itu, hubungan ini disebut simbiosis mutualisme, karena kedua pihak mendapatkan keuntungan dari keberadaan satu sama lain (Nurzannah. *et al.*, 2014)

2.2.2 Hubungan Jamur Endofit dengan Inangnya

Hubungan antara jamur endofit dan tanaman inang termasuk simbiosis mutualisme, yaitu hubungan yang saling menguntungkan bagi kedua belah pihak. Dalam hubungan ini, mikroba endofit memperoleh nutrisi yang dibutuhkan untuk hidup dari tanaman inangnya. Sebagai gantinya, tanaman inang mendapatkan

keuntungan berupa perlindungan terhadap serangan patogen, seperti bakteri atau jamur, yang dapat merusak tanaman. Hal ini terjadi karena jamur endofit menghasilkan senyawa-senyawa tertentu, seperti antibiotik atau mikotoksin, yang dapat menghambat pertumbuhan patogen dan melindungi tanaman dari infeksi. Dengan demikian, kedua pihak, baik mikroba endofit maupun tanaman, saling mendukung kelangsungan hidup satu sama lain melalui proses simbiosis yang saling menguntungkan (Yulianti. 2013)

2.2.3 Jamur Endofit yang Memiliki Aktivitas Antikanker

Tabel 1. Isolat Jamur yang Memiliki Aktivitas Antikanker

Nama Senyawa	Tanaman	Jamur Endofit	Referensi
Paclitaxel	<i>Taxus wallichiana</i>	<i>Taxomyces Andreaneae</i>	Rofida,2011
ARA-C	<i>Petroria sp</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	Samirana, <i>et al.</i> , 2021
Paclitaxel	<i>Taxus wallichiana</i>	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Strobel, <i>et al.</i> , 1996
Sitoklasin B	<i>Tripterygium wilfordii</i>	<i>Rhinocladiella sp</i>	Strobel, <i>et al.</i> , 1996
Paclitaxel	<i>Taxus wallichiana</i>	<i>aTricholethecium sp</i>	Strobel, <i>et al.</i> , 1996

2.2.4. Identifikasi Jamur Endofit

Identifikasi jamur endofit dilakukan dengan mengamati morfologi jamur secara makroskopik dan mikroskopik untuk menentukan jenisnya. Pengamatan makroskopik berfokus pada pengamatan koloni jamur yang terlihat dengan mata telanjang. Beberapa ciri yang diamati antara lain warna koloni jamur, warna bagian bawah koloni (sebaliknya), serta tekstur permukaan koloni. Permukaan koloni bisa bervariasi, ada yang granular, berfilamen / benang, kapas, berlendir, serta bagian tepi yang berbeda seperti beraturan dan tidak beraturan. Selain itu, diameter pertumbuhan koloni juga diamati untuk mengetahui sejauh mana koloni jamur berkembang. Pengamatan lainnya adalah adanya lingkaran konsentris pada koloni, yang menunjukkan pola pertumbuhan yang teratur (Kandou. 2018)

2.3 Kanker

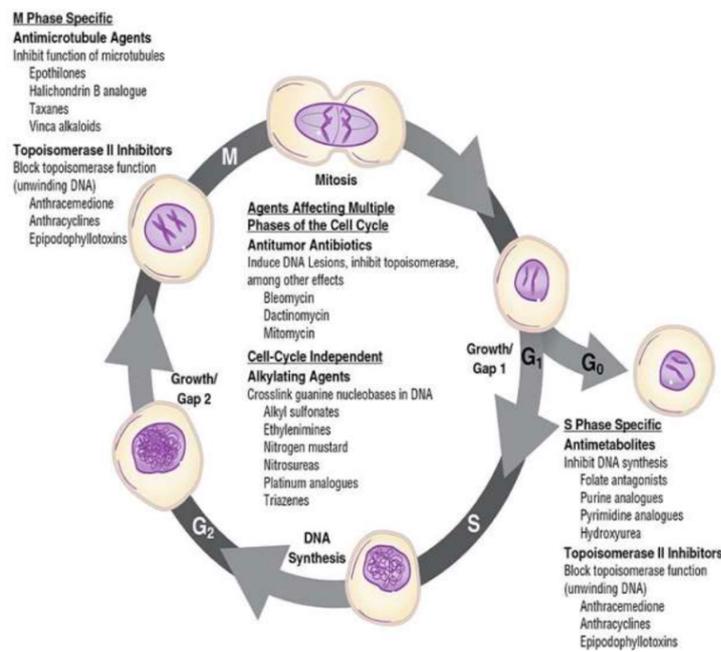
2.3.1 Definisi kanker

Kanker merupakan penyakit yang terjadi ketika beberapa sel tubuh tumbuh dengan tidak terkendali dan mulai menyebar ke bagian tubuh lain. Biasanya, sel-sel tubuh tumbuh dan berkembang biak melalui proses pembelahan sel untuk menghasilkan sel baru yang menggantikan sel-sel yang mati atau rusak. Namun, sel kanker berbeda karena mereka terus-menerus membelah diri dan tumbuh tanpa henti. Selain itu, sel kanker dapat menyerang dan merusak jaringan di sekitarnya, bahkan menyebar ke bagian tubuh lainnya. Ciri lain dari sel kanker adalah bentuknya yang tidak normal, biasanya lebih besar dan lebih gelap dibandingkan dengan sel normal. Sel kanker juga dapat membentuk pembuluh darah baru, yang disebut angiogenesis, untuk mendapatkan pasokan nutrisi dan oksigen yang

diperlukan untuk pertumbuhannya. Yang lebih berbahaya, sel kanker ini bisa menghindari deteksi oleh sistem kekebalan tubuh, sehingga tubuh sulit untuk melawannya (National Cancer Institute.2021)

2.3.2 Patofisiologi kanker

Patofisiologi kanker dimulai dengan rusaknya siklus sel pada tubuh. Dimana siklus sel merupakan rangkaian proses yang dilakukan oleh sel untuk berkembangbiak dan menggantikan sel-sel yang sudah rusak atau mati. Siklus sel berperan penting pada tubuh untuk memastikan tubuh tetap memiliki sel-sel yang sehat dan bisa berfungsi dengan baik. Siklus sel dimulai dengan fase G1, di mana sel mulai tumbuh dan berkembang. Pada fase ini, sel tubuh memutuskan apakah akan melanjutkan siklus sel atau tetap dalam kondisi istirahat. Jika sel memutuskan untuk melanjutkan, sel kemudian masuk ke fase S untuk mensintesis DNA. Setelah itu sel melanjutkan ke fase G2, yaitu fase persiapan sebelum pembelahan sel. Pada fase G2, sel memeriksa apakah semua proses sebelumnya berjalan dengan baik dan memastikan sel siap untuk membelah. Setelah itu, pada fase M, sel masuk ke dalam proses mitosis, yaitu pembelahan sel yang menghasilkan dua sel anak yang identik dengan sel induk. Namun, jika sel mengalami kerusakan atau dalam kondisi yang tidak sehat, sel dapat berhenti membelah dan terjadinya kematian sel terprogram (apoptosis) (Dipiro. *et al.*, 2021).



Gambar 2. Aktivitas siklus sel untuk kemoterapi.
 Sumber : Dipiro 2021

2.3.3 Mekanisme Kerja Senyawa Antikanker dari Jamur Endofit

Jamur endofit diketahui memiliki kemampuan sebagai antikanker karena menghasilkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Senyawa tersebut bekerja dengan cara mengganggu siklus sel atau merusak DNA sel kanker, yang akhirnya menyebabkan sel tersebut mati melalui proses yang disebut apoptosis. Selain itu, senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak jamur ini bersifat lipofilik, yang artinya mudah larut dalam lemak. Senyawa lipofilik mengandung gugus nonpolar pada cincin aromatik yang dapat mempengaruhi proses transformasi pasif antar komponen dalam sel kanker, sehingga dapat berinteraksi dengan komponen lain dalam sel kanker. Interaksi ini yang dapat memengaruhi berbagai proses penting dalam sel, seperti perubahan struktur sel, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel kanker (Anwar. *Et al.*, 2019). Senyawa seperti

taxol dan podophyllotoxin, yang dihasilkan oleh beberapa jenis jamur endofit, terbukti efektif dengan cara menghambat proliferasi sel kanker dengan mengganggu proses mitosis sel, selanjutnya senyawa camptothecin menghambat enzim topoisomerase I yang berperan dalam perbaikan DNA dan replikasi sel (Rofida. 2011)

2.4 . Ekstraksi

2.4.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses yang digunakan untuk memisahkan satu atau lebih senyawa dari sampel dengan menggunakan pelarut. Pada proses ini, pelarut berfungsi untuk melarutkan senyawa yang diinginkan, sementara senyawa lainnya tetap terpisah. Prinsip kerja ekstraksi didasarkan pada kelarutan, yaitu kemampuan suatu komponen untuk larut dalam pelarut dibandingkan dengan komponen lainnya dalam campuran tersebut. Dengan cara ini, kita bisa memperoleh suatu ekstrak yang lebih murni, karena komponen yang tidak diinginkan bisa dipisahkan melalui proses ini (Tuhuloula. *et al.*, 2013).

2.4.2 Jenis Jenis Metode Ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang digunakan untuk bahan yang tidak tahan panas, dengan cara merendam bahan tersebut dalam pelarut tertentu seperti alkohol atau air, selama waktu tertentu. Proses ini biasanya dilakukan pada suhu ruangan sekitar 20-30°C agar pelarut yang digunakan tidak menguap terlalu banyak karena panas. Selama proses maserasi bahan dan pelarut akan diaduk selama 15 menit untuk memastikan bahwa kedua bahan tersebut tercampur dengan baik, dan

zat zat dalam bahan dapat larut dengan maksimal di dalam pelarut. (Hujjatusnaini. et al.,2021)

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi di mana serbuk bahan yang sudah halus disaring menggunakan pelarut yang sesuai, dengan cara melaluinya perlahan-lahan dalam sebuah kolom. Proses ini menggunakan pelarut baru terus-menerus dan biasanya dilakukan pada suhu ruangan. Prinsip perkolasi adalah meletakkan serbuk bahan dalam sebuah tabung silinder yang bagian bawahnya dilengkapi dengan sekat berpori. Cara ini membutuhkan waktu lebih lama dan lebih banyak pelarut. Untuk memastikan ekstraksi sudah berhasil, perkolat (larutan yang terambil) dapat diuji dengan menggunakan reagen khusus untuk mendeteksi adanya metabolit (Hujjatusnaini. et al.,2021)

c. Soxhlet

Soxhlet adalah cara ekstraksi yang menggunakan pelarut baru dan biasanya dilakukan dengan alat khusus agar ekstraksi berjalan secara terus-menerus dengan bantuan pendingin balik. Proses ini dimulai dengan pemanasan pelarut sehingga naik, kemudian diembunkan oleh pendingin menjadi tetesan-tetesan yang akan kembali terkumpul. Tetesan ini akan mengalir kembali dan melalui pipa samping, menyebabkan sirkulasi berulang yang membuat ekstraksi lebih efektif. Pemilihan pelarut yang tepat sangat penting dalam proses ini. Pelarut yang baik adalah yang memiliki kemampuan tinggi untuk melarutkan zat yang ingin diekstraksi, yang mana kemampuan ini dipengaruhi oleh kesesuaian polarisasi antara pelarut dan senyawa yang diekstraksi (Hujjatusnaini. et al.,2021).

d. Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang dilakukan dengan memanaskan pelarut hingga mencapai titik didihnya, dalam waktu tertentu dan dengan jumlah pelarut yang terbatas namun konstan. Selama proses ini, digunakan pendingin balik untuk mencegah pelarut menguap. Agar hasil ekstraksi lebih maksimal, refluks biasanya dilakukan beberapa kali, antara 3 hingga 6 kali, pada sisa bahan yang sudah diekstraksi sebelumnya. Metode ini juga bermanfaat untuk memecah senyawa-senyawa yang tidak tahan panas, sehingga ekstraksi dapat berjalan dengan lebih baik dan menghasilkan lebih banyak zat yang diinginkan (Hujjatusnaini. et al.,2021)

2.5 Metode Pengujian Aktivitas Sitotoksik

2.5.1 Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan cara yang sederhana dan praktis untuk menguji apakah ekstrak bahan alam memiliki efek farmakologis, seperti potensi sebagai obat atau toksisitas. Uji ini banyak digunakan karena memiliki banyak keuntungan, seperti cepat, biaya rendah, dan hanya membutuhkan sedikit sampel bahan, sehingga sangat efisien dan tidak memerlukan peralatan yang rumit. BSLT sering dijadikan langkah awal dalam rangkaian uji yang lebih kompleks untuk mengetahui apakah suatu ekstrak memiliki efek yang diinginkan. Selain itu, dengan metode ini, kita juga bisa mengetahui seberapa aman atau berbahayanya suatu bahan bagi organisme hidup, karena dapat mengukur tingkat toksisitasnya sehingga memastikan bahwa sampel tersebut aman digunakan dalam pengobatan. Dengan semua kemudahan dan manfaat yang ditawarkan, BSLT

menjadi pilihan yang tepat untuk memulai penelitian tentang keamanan dan potensi ekstrak bahan alam (Susilowati. 2017)

2.5.2 Metode MTT assay

MTT assay merupakan metode yang digunakan untuk mengukur tingkat sitotoksisitas, yaitu kemampuan suatu bahan untuk membunuh sel. Metode ini memungkinkan peneliti untuk memeriksa jumlah sel yang masih hidup setelah diberi perlakuan dengan sampel. Caranya adalah dengan mengukur absorbansi menggunakan alat yang disebut pembaca ELISA. Sel yang masih hidup dapat terdeteksi karena adanya perubahan warna setelah pemberian reagen MTT. Prinsip dasar dari MTT assay adalah enzim dehidrogenase yang ada dalam mitokondria sel hidup dapat memecah cincin tetrazol pada reagen MTT. Ketika reagen ini direduksi, warnanya yang semula kuning akan berubah menjadi kristal ungu yang disebut formazan. Kristal formazan ini larut dalam pelarut seperti *dimetil sulfoksida* (DMSO) atau pelarut organik lainnya. Jumlah kristal ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang masih hidup dan tingkat aktivitasnya. Dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu, peneliti dapat mengetahui seberapa banyak sel yang hidup dan seberapa aktif sel-sel tersebut setelah diberi sampel. Metode ini sangat berguna untuk menilai efek toksik dari berbagai bahan pada sel (Renggana. *et al.*, 2022).

2.5.3 Metode Perhitungan Langsung

Metode perhitungan langsung merupakan uji yang dilakukan secara manual dengan menghitung jumlah sel yang masih hidup dan membandingkannya dengan jumlah sel normal, menggunakan pewarnaan biru tripan, yang memungkinkan

pemisahan antara sel yang hidup dan sel yang mati. Sel mati cenderung menyerap pewarna biru tripan karena kerusakan pada membran sel. Kerusakan tersebut menyebabkan kebocoran pada membran, sehingga protein dan komponen dalam sel keluar dan berikatan dengan pewarna biru tripan. Sebaliknya, sel yang masih hidup tidak menyerap pewarna tersebut karena membrannya masih utuh dan tidak memungkinkan pewarna masuk. Proses perhitungan jumlah sel hidup dilakukan secara langsung dengan menggunakan haemocytometer, yaitu alat khusus yang digunakan untuk menghitung jumlah sel dalam sampel cairan dengan bantuan mikroskop. Dengan cara ini, kita dapat memperoleh informasi yang lebih akurat mengenai jumlah sel yang bertahan hidup dan membandingkan dampak toksisitas dari berbagai substansi yang diuji. Metode ini memberikan gambaran yang jelas tentang tingkat kerusakan sel dan potensinya dalam menyebabkan kematian sel, yang sangat penting dalam penelitian biomedis dan pengembangan obat (Djajanegara, 2008)

2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik yang digunakan untuk memisahkan berbagai komponen dalam campuran berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya dengan pelarut yang sesuai. Metode ini sering digunakan untuk berbagai keperluan, seperti menentukan jumlah komponen dalam campuran, mengidentifikasi senyawa, memantau suatu reaksi kimia, dan yang paling umum, untuk memeriksa kemurnian serta identitas senyawa yang diisolasi. Salah satu hal penting dalam KLT adalah angka R_f , yang menunjukkan seberapa jauh suatu senyawa bergerak dalam pelarut atau fase gerak. Nilai R_f berkisar antara 0,00

hingga 1,00 dan digunakan untuk membandingkan seberapa mirip atau berbeda senyawa-senyawa yang ada. Apabila dua senyawa memiliki nilai Rf yang sama, menandakan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki karakteristik yang serupa, tetapi jika nilai Rf-nya berbeda, berarti senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat yang berbeda (Putri. *et al.*, 2024).

Bercak yang terlihat pada pelat KLT, yang dapat dilihat dengan sinar UV, biasanya disebabkan oleh senyawa flavonoid. Bercak tersebut bisa muncul dengan warna yang berbeda, seperti biru, merah muda, jingga, atau kecokelatan. Namun, untuk memastikan apakah bercak tersebut memang flavonoid atau bukan, biasanya perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis. Untuk senyawa flavonoid dan glikosida flavonoid, biasanya bercaknya berwarna ungu gelap di bawah sinar UV dan akan berubah menjadi kuning atau hijau kekuningan ketika diuji dengan uap amonia (Putri. *et al.*, 2024)

Nilai Rf juga sangat penting untuk mengidentifikasi senyawa tertentu, karena setiap senyawa memiliki nilai Rf yang khas ketika diuji dengan pelarut tertentu. Misalnya, senyawa flavonoid umumnya memiliki rentang nilai Rf antara 0,2 hingga 0,75, yang bisa dijadikan patokan dalam identifikasi senyawa tersebut. Selain itu, untuk memastikan nilai Rf yang dihasilkan akurat, kita perlu memperhatikan jenis pelarut yang digunakan sebagai fase gerak. Jika nilai Rf terlalu tinggi, kita bisa mengurangi kepolaran pelarut, dan sebaliknya, jika terlalu rendah, pelarutnya bisa dibuat lebih polar. Eluen atau pelarut ini memiliki peran penting dalam membawa sampel ke atas pelat dan membantu memisahkan komponen-komponen analit berdasarkan afinitasnya. Dengan cara ini, KLT dapat digunakan

untuk berbagai tujuan, mulai dari mengidentifikasi senyawa hingga memastikan kemurnian isolat senyawa yang diperoleh dari tanaman (Putri. *et al.*, 2024).

2.7 Uji Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui dan mengidentifikasi senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman. Tujuannya adalah untuk mengetahui jenis-jenis senyawa kimia dalam tanaman. Proses skrining dilakukan dengan menguji sampel tanaman menggunakan reagen khusus yang akan menyebabkan perubahan warna, yang membantu peneliti mengenali senyawa kimia yang ada. Selain itu, senyawa yang berhasil diisolasi akan dibandingkan dengan senyawa dari tanaman lain untuk mengetahui perbedaannya (Muthmainnah. 2019)

Dalam uji fitokimia, dilakukan dengan metode uji warna menggunakan pereaksi tertentu yang dapat menunjukkan keberadaan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan senyawa fenolik lainnya. Untuk uji alkaloid, reagen yang umum digunakan adalah reagen *Dragendorff*, *Mayer*, *Wagner*, jika hasil positif akan menghasilkan endapan merah atau orange, coklat, dan putih. Uji flavonoid biasanya menggunakan uji pewarnaan dengan larutan amonia, yang akan menunjukkan perubahan warna kuning hingga merah. Saponin dapat diuji dengan uji busa, di mana larutan ekstrak dikocok dengan air dan terbentuk busa yang stabil jika saponin ada. Untuk mendeteksi tannin, digunakan reagen FeCl_3 (besi(III) klorida), yang akan menghasilkan perubahan warna biru atau hijau kehitaman. Sementara itu, senyawa fenolik juga dapat diuji dengan reagen FeCl_3 , yang memberikan warna ungu hingga biru kehitaman. Uji terpenoid dan steroid sering menggunakan reagen *Liebermann-Burchard*, yang menunjukkan perubahan warna

hijau atau merah. Dengan penggunaan reagen-reagen ini, keberadaan senyawa bioaktif dalam tumbuhan dapat diidentifikasi secara kualitatif sebelum dilakukan analisis lebih lanjut (Emilia, *et al.*,2023).

Keberhasilan skrining fitokimia sangat dipengaruhi oleh pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan. Pemilihan pelarut yang tidak sesuai dapat menyebabkan senyawa aktif yang diinginkan tidak terekstrak dengan optimal, sehingga mengurangi akurasi hasil analisis. Umumnya, pemilihan pelarut mengikuti prinsip "like dissolves like", di mana senyawa nonpolar lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar, sedangkan senyawa polar larut dalam pelarut polar. Prinsip ini berperan penting dalam menentukan komponen kimia yang dapat diekstrak dan dianalisis lebih lanjut. Oleh karena itu, pemilihan metode ekstraksi dan pelarut yang tepat menjadi faktor krusial dalam skrining fitokimia untuk memastikan hasil yang optimal dan representatif dari kandungan metabolit sekunder dalam tumbuhan yang diteliti (Emilia, *et al.*,2023).