

SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL *Ulva lactuca* L. DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

PHYTOCHEMICAL SCREENING OF ETHANOLIC EXTRACT FROM *Ulva lactuca* L. WITH THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

Wahyu Widyaningsih¹, Suwidjiyo Pramono², Sitarina Widyarini², Sugiyanto²

¹Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

²Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Email: widyaningsihwahyu@yahoo.com

ABSTRAK

Ganggang hijau (*Ulva lactuca* L.) merupakan spesies ganggang laut yang berpotensi sebagai obat kardiovaskuler. Untuk mendukung pemanfaatannya perlu dilakukan skrining fitokimia kandungan ganggang hijau yang berasal dari pantai Drini, Daerah Istimewa Yogyakarta. Tujuan penelitian ini adalah melakukan skrining fitokimia *Ulva lactuca* yang berasal dari pantai Drini dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Ulva lactuca* diekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh ditetapkan randemen, kadar air, kadar abu dan kadar logam berat (Pb dan Cd). Penetapan kadar air dengan alat *Hydrogen Moisturizer Analyzer* (HMA), kadar abu dengan metode gravimetri dan penetapan logam berat Pb dan Cd dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, antrakuinon dan terpenoid dengan KLT. Identifikasi klorofil dilakukan dengan metode Nollet (2004). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol *Ulva lactuca* mempunyai randemen 14,52%, kadar air $9,67 \pm 0,07\%$, kadar abu 34,05% , kadar logam Pb < 0,07 mg/kg dan kadar logam Cd < 0,01 mg/kg. Terdapat golongan senyawa flavonoid, alkaloid dan klorofil dalam ekstrak etanol *Ulva lactuca* L. yang diperoleh dari pantai Drini.

Kata kunci: *Ulva lactuca* L, skrining fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

ABSTRACT

Green algae (*Ulva lactuca* L.) is a species of marine algae as a potential cardiovascular drug. To support its utilization should be done phytochemical screening of green algae from the beach Drini, Yogyakarta. The purpose of this study is to conduct phytochemical screening *Ulva lactuca* from Drini beach with thin layer chromatography (TLC). *Ulva lactuca* L. extracted by maceration method with 96% ethanol. The extract obtained is randemen, water content, ash content and

concentration of heavy metals (Pb and Cd). Determination of water content by moisturizer hydrogen analyzer (HMA), ash content by gravimetric method and the determination of heavy metals Pb and Cd by atomic absorption spectrophotometer (AAS). Phytochemical screening be done to identify of alkaloids, flavonoids, saponins, anthraquinone and terpenoids with TLC. Identification of chlorophyll using Nollet method (2004). The results showed the ethanol extract of *Ulva lactuca* has randemen 14.52%, the water content of $9.67 \pm 0.07\%$, ash content of 34.05%, the levels of $Pb < 0.07 \text{ mg / kg}$ and Cd metal content $< 0.01 \text{ mg / kg}$. There is flavonoids, alkaloids, saponins and chlorophyll in the ethanol extract of *Ulva lactuca* L. obtained from Drini beach.

Keywords: *Ulva lactuca* L, phytochemical screening, Thin Layer Chromatography (TLC)

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara maritim dengan sumber daya organisme laut yang berlimpah. Organisme laut sangat potensial dikembangkan sebagai sumber bahan obat (El Gamal, 2010). Spesies ganggang hijau (*Ulva sp*) tersebar luas di habitat pantai di seluruh dunia (Einav and Israel, 2007) termasuk Indonesia. *Ulva sp* merupakan sumber alam yang mempunyai potensi utama dalam bidang pertanian, bahan makanan, bidang kefarmasian (Abad Martinez *et al.*, 2005; El-Baky, 2009; Robic *et al.*, 2008). Ganggang hijau merupakan sumber senyawa bioaktif alami (Lerner *et al.*, 1960) yang mempunyai aktivitas sebagai antihiperlipidemia, anti-inflamasi, antivirus, antineoplastik, antimikroba dan antihipertensi karena mengandung polisakarida sulfat, fenolat, terpenoid, lakton, sterol dan asam lemak (El-Baky *et al.*, 2008). Menurut Paredes *et al.* (2009) algae cukup efektif sebagai obat pada penyakit kardiovaskuler. *Ulva sp (sea lettuce)* merupakan sumber bahan alam yang kaya akan karbohidrat, protein, vitamin B, vitamin C, vitamin E, asam amino, zink, zat besi, serabut dan pigmen yang mengandung sedikit lipid (El-Baky, 2009; Pádua *et al.*, 2004; Sathivel *et al.*, 2008).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya potensi ekstrak etanol ganggang hijau dari pantai Drini (Yogyakarta) sebagai antihiperlipidemia, antioksidan, antiangiogenesis dan antihepatitis (Widyaningsih dkk., 2015a, 2015b).

Untuk mendukung pemanfaatan ekstrak etanol *Ulva lactuca* L. perlu diketahui kandungan senyawa aktifnya. Berdasarkan skrining awal dengan reaksi warna dengan metode Trease Evans (1983) telah diketahui kemungkinan adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan glikosida jantung (Widyaningsih dkk., 2016). Untuk mempertegas skrining fitokimia dengan reaksi warna perlu dilakukan penegasan dengan metode KLT. Penelitian ini bertujuan untuk mempertegas identifikasi golongan senyawa dari ekstrak etanol *Ulva lactuca* (EEUL) dari pantai Drini dengan metode KLT. Jenis klorofil dalam penelitian ini juga diidentifikasi untuk memperjelas jenis klorofil yang banyak terdapat pada EEUL.

METODE PENELITIAN

A. Identifikasi Tanaman Ganggang Hijau

Identifikasi tanaman ganggang hijau dilakukan Laboratorium Biologi UGM. Identifikasi tanaman dilakukan guna menjamin kebenaran jenis dari obyek uji dalam penelitian. Keaslian simplisia ganggang hijau dibuktikan dengan Surat Keterangan 0626/S.Tb/I/2015.

B. Pengambilan Ganggang Hijau (Widyaningsih dkk., 2015a, 2015b)

Ganggang hijau (*U. lactuca*) yang diperoleh dari pantai Drini Kabupaten Gunungkidul diambil pada bulan Januari 2015 diambil pada sore hari (jam 4 sore) saat air laut surut. Tahap perlakuan adalah sebagai berikut: 1) ganggang hijau (sebanyak kurang lebih 80 kg) dimasukkan dalam wadah berisi air laut dan dидiamkan selama 7 jam sejak pukul 4 sore. 2) ganggang hijau dibersihkan dari kotoran dengan pencucian menggunakan air mengalir. 3) ganggang ditiriskan sampai layu dan dipotong-potong dengan ketebalan 1-5 mm. 4) potongan-potongan tersebut dijemur hingga layu di bawah sinar matahari dengan ditutupi oleh kain hitam selama 3 hari 5) ganggang yang layu kemudian dioven pada suhu 40-50°C selama 34 jam, kemudian daun kering diserbukkan dengan menggunakan alat penyerbuk simplisia.

C. Ekstraksi Ganggang Hijau (Widyaningsih dkk., 2015a, 2015b)

Serbuk ganggang hijau yang telah diayak dengan ayakan 20/40. Serbuk ganggang 1000 g diekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol 96% perbandingan 1:4. Sari etanol ganggang hijau kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

D. Penetapan Kadar Air, Kadar Abu dan Kadar Logam Berat Ekstrak

Penetapan kadar air dilakukan dengan alat *Hydrogen Moisturizer analyser* (HMA) seri BH43. Kadar abu ditetapkan dengan metode gravimetri dan kadar logam berat (Pb dan Cd) ditetapkan dengan metode Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM.

E. Deteksi Golongan Kandungan Kimia dan Melatonin dalam Ekstrak dengan KLT

1. Flavonoid : ekstrak ditotolkan pada plat KLT fase diam selulosa dan fase gerak asam asetat 15%. Deteksi dilakukan dengan uap amoniak.
2. Saponin : ekstrak ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ dengan fase gerak fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10) v/v dengan pereaksi Liebermann Burchard.
3. Antrakuinon : ekstrak etanol ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄, fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10) v/v dengan pereaksi semprot larutan KOH 5% dalam metanol.
4. Terpenoid : ekstrak ditotolkan pada plat KLT silika gel F₂₅₄, fase gerak kloroform : metanol (1:3), kemudian dilihat dibawah sinar UV 366 nm dan disemprot dengan pereaksi H₂SO₄ 10%
5. Alkaloid : ekstrak ditotolkan pada plat KLT silika gel F₂₅₄, fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) v/v dengan pereaksi semprot Dragendof.

F. Identifikasi Jenis Klorofil dalam Ekstrak Etanol dengan Spektra UV

Identifikasi jenis klorofil dalam EEUL dilakukan dengan metode Nollet (2004) yaitu sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dalam aseton 80% hingga 10,0 mL. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Larutan dibaca pada spektrofotometer UV panjang gelombang 400-700 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Ekstraksi Ganggang Hijau

Metode ekstraksi *U. lactuca* menggunakan maserasi. Metode maserasi adalah metode penyarian dengan menggunakan perendaman dan pengadukan. Dasar pemilihan metode ini adalah karena metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa yang terkandung di dalam ganggang hijau yang akan diidentifikasi tidak rusak (Harborne, 1996). Pelarut yang digunakan dalam penyarian ini adalah etanol 96% karena beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam *U. lactuca* dapat tersari dengan etanol 96%. Hasil ekstraksi dengan metode maserasi tersaji pada Tabel I.

Tabel I. Hasil ekstraksi dengan metode maserasi dari *U. lactuca*

Parameter	Hasil Ekstraksi
Organoleptis ekstrak	Ekstrak berwarna hijau, kental dan mempunyai bau khas
Rendemen Ekstrak (%)	14,52
Kadar Air (rerata±SD %)	9,76±0,07
Kadar Abu (% b/b)	34,05
Kadar Pb (mg/Kg)	< 0,096
Kadar Cd (mg/Kg)	< 0,01

Ekstrak yang diperoleh memenuhi syarat susut pengeringan dengan kadar air ekstrak 9,76%. Berdasarkan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia susut pengeringan ekstrak tidak boleh lebih dari 10% (BPPK Depkes RI, 2008). Tujuan penetapan kadar air ekstrak adalah mengetahui kandungan air di dalam ekstrak yang menunjukkan kemurnian dan kontaminasi. Kadar air yang tinggi memungkinkan media pertumbuhan jamur dan kapang yang memungkinkan terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menguraikan zat aktif di dalam ekstrak.

Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental berwarna hijau tua dengan bau khas. Hasil penetapan kadar abu menunjukkan bahwa EEUL memiliki kadar abu 34,05%. Hasil ini menunjukkan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Kadar abu yang cukup

tinggi pada EEUL menunjukkan tingginya kadar mineral di dalam ekstrak (BPPK Depkes RI, 2008). Habitat *U lactuca* ada di perairan memungkinkan akumulasi mineral yang menyebabkan tingginya kadar abu dan logam berat seperti Pb dan Cd. Hasil penetapan logam Pb dan Cd menunjukkan bahwa kadar logam Pb dan Cd dalam EEUL memenuhi persyaratan SNI 7387: 2009 tentang batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan. Persyaratan tersebut menyatakan bahwa batas maksimum cemaran logam berat dalam rempah rempah adalah 0,1 mg/kg (ppm). Hasil penetapan logam Pb dan Cd dalam EEUL juga memenuhi persyaratan Peraturan Badan POM No. 12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional. Persyaratan tersebut menyatakan bahwa batas maksimum cemaran logam berat dalam obat tradisional Pb lebih kecil sama dengan 10 ppm sedangkan Cd lebih kecil sama dengan 0,3 ppm (BPOM RI, 2014).

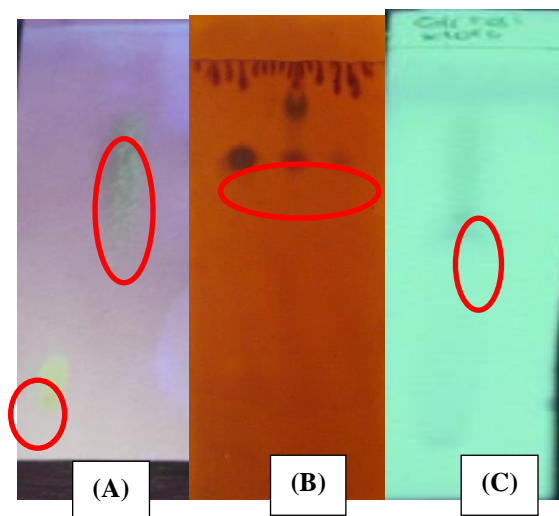
B. Hasil Skrining Fitokimia dengan metode KLT

Hasil skrining fitokimia dengan KLT ditunjukkan pada Tabel I. Dari Tabel II terlihat bahwa hasil positif terlihat pada identifikasi flavonoid, alkaloid dan glikosida jantung. Gambar KLT hasil identifikasi yang positif tersaji pada Gambar 1. Hasil KLT yang menunjukkan adanya flavonoid yang ditandai terbentuk warna kuning pada sinar tampak setelah diuapi dengan amoniak. Perubahan warna kuning intensif karena pembentukan struktur kinoid pada cincin B yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih panjang (Robinson, 1995). Hasil positif alkaloid dengan KLT dengan fase diam silika F₂₅₄ dan fase gerak BAW (4:5:1) menunjukkan adanya bercak berwarna merah coklat setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff pada sinar tampak. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendroff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan Bi yang merupakan ion logam sehingga terbentuk warna merah coklat. Identifikasi glikosida jantung dengan fase gerak CHCl₃ : metanol (1:1) digunakan untuk identifikasi kardenolin/bufadienol. Terdapatnya bercak biru violet setelah disemprot dengan pereaksi Kedde, mengindikasikan adanya lakton tidak jenuh yang terdapat pada kardenolin/bufadienol (Harborne, 1996).

Tabel II. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol *Ulva lactuca* L dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Metabolit sekunder	Sistem KLT	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Fase diam : selulosa dan fase gerak : asam asetat 15 %	Uap amoniak	Bercak berwarna kuning pada sinar tampak	(+)
Alkaloid	Fase diam silika gel F ₂₅₄ dan fase gerak BAW (4:1:5).	Dragendorf	Bercak berwarna merah coklat	(+)
Saponin	Fase diam silika gel F ₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : metanol : air (100:13,5 : 10).	Liebermann Burchard	Bercak berwarna merah coklat dan berfluoresensi biru di UV 366	(-)
Glikosida jantung	fase diam silika F ₂₅₄ dan fase gerak kloroform : metanol = 1:1	Kedde (3,5-dinitrobenzen)	Bercak berwarna biru pada sinar tampak	(+)
Antrakinon	Fase diam silika gel F ₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10).	KOH 5 %	Tidak terdapat bercak berwarna merah coklat dan tidak berfluoresensi kuning di UV 366	(-)
Terpenoid	Fase diam silika gel F ₂₅₄ dan fase gerak : kloroform : metanol (1 : 3)	H ₂ SO ₄ 10%	Tidak terdapat bercak berwarna merah coklat dan berfluoresensi hijau di UV 366	(-)
Polifenol	Fase diam silika gel F ₂₅₄ dan fase gerak BAW (4: 1 : 5).	FeCl ₃ 1 %	Tidak terdapat bercak berwarna biru pada sinar tampak	(-)

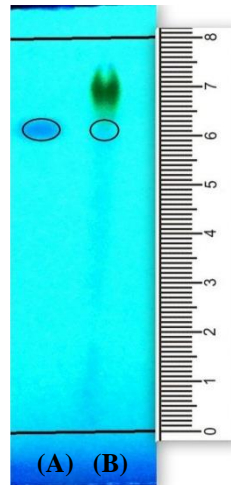
Berdasarkan analisis KLT menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak etanol ganggang hijau dan ternyata adalah melatonin yang ditunjukkan dengan Rf yang sama antara standar melatonin dan EEUL yaitu 0,78 pada sampel (S₁) dan sampel ekstrak yang dipurifikasi (S₂). Pada sampel ekstrak etanol ganggang hijau (S₁) terlihat dua bercak dengan Rf yang berbeda yaitu 0,78 dan 0,87. Bercak dengan Rf 0,87 terlihat berwarna hijau dengan sinar tampak dan UV-254. Bercak dengan Rf 0,87 ini diduga adalah klorofil karena berwarna hijau pada sinar tampak.



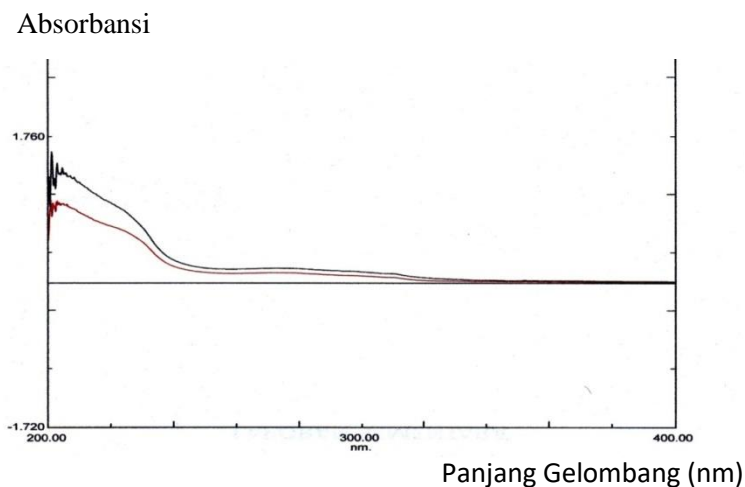
Gambar 1. Hasil KLT yang menunjukkan adanya flavonoid yang ditandai terbentuk warna kuning pada sinar tampak setelah diuapi dengan amoniak (A), bercak berwarna merah coklat setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorf (B), bercak merah kecoklatan setelah disemprot dengan Liebermann Burchard (C) dan bercak biru setelah disemprot dengan pereaksi Kedde (3,5-dinitrobenzen)

Klorofil diidentifikasi karena komponen yang cukup besar dalam ganggang hijau yang kemungkinan mempunyai aktivitas antioksidan. Pada sampel ekstrak yang dipurifikasi (S_2) terlihat hanya satu bercak saja yaitu bercak melatonin. Salah satu langkah purifikasi melatonin adalah penambahan petroleum eter yang bertujuan menghilangkan senyawa non polar salah satunya adalah klorofil. Pada sampel yang dipurifikasi hanya ada 1 bercak saja dengan Rf 0,78 yang diduga adalah melatonin.

Hasil KLT standar melatonin dan EEUL dengan deteksi UV 254 tersaji pada Gambar 2. Untuk memastikan bahwa bercak pada Rf 0,78 adalah melatonin dilakukan analisis spektra UV dari bercak EEUL. Hasil spektra spektrofotometer UV pada panjang gelombang 200-400 nm terlihat spektra yang mirip antara hasil isolat melatonin dari EEUL dan melatonin standar. Kesamaan spektra tersebut menunjukkan bahwa bercak yang diisolasi dari Rf 0,78 mempunyai gugus kromofor yang sama dengan melatonin. Hasil spektra UV tersaji pada Gambar 3.



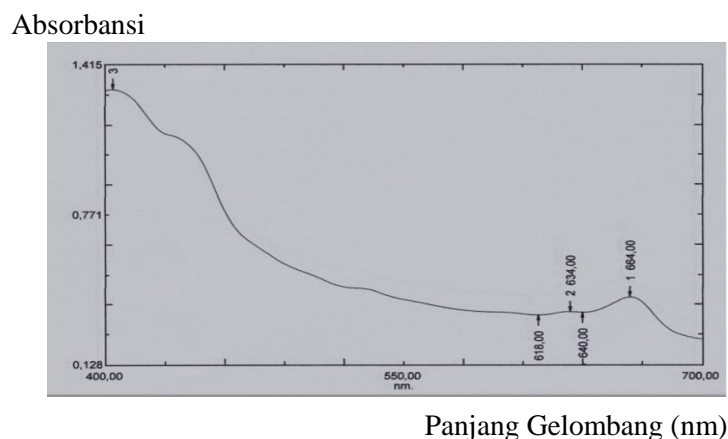
Gambar 2. Kromatogram standar melatonin (A) dan ekstrak ganggang hijau (B) pada fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak *n*-butanol-asam asetat-air (12:3:5). R_f standar melatonin: 0,78; R_f bercak pada ekstrak: 0,78



Gambar 3. Kromatogram melatonin murni dan melatonin hasil pemisahan. Terlihat bahwa kurva spektra UV pada panjang gelombang 200-400 nm antara melatonin murni (Hitam) dan EEUL (merah) memperlihatkan spektra yang mirip.

Untuk memperkuat identifikasi adanya klorofil dalam EEUL dilakukan analisis klorofil dengan metode Nollet (2004). Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dalam aseton 80% hingga 10,0 mL. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000

rpm selama 15 menit. Larutan dibaca pada spektrofotometer UV panjang gelombang 400-700 nm. Secara teoritis, panjang gelombang maksimal klorofil a 664 nm dan klorofil b 647 nm (Nollet, 2004). Dari hasil penelitian didapatkan panjang gelombang maksimal 664 nm yang sesuai dengan teori panjang gelombang maksimal klorofil a. Hasil ini menunjukkan adanya kandungan klorofil a dalam EEUL. Spektra UV-VIS dari EEUL dalam aseton tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektra UV-VIS EEUL dalam aseton. Hasil tersebut menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 664 nm yang sesuai dengan panjang gelombang maksimum klorofil a dalam aseton.

Hasil keseluruhan skrining fitokimia dengan uji tabung dan KLT menunjukkan adanya senyawa alkaloid berupa melatonin dan klorofil. Kandungan alkaloid dalam ganggang hijau sesuai dengan penelitian sebelumnya (Abirami dan Kowsalya, 2011; Elmegeed dkk., 2014; Febriansah dkk., 2015). Pada penelitian sebelumnya ditemukan adanya saponin (Abirami dan Kowsalya, 2011; Elmegeed dkk., 2014), flavonoid (Elmegeed dkk., 2014; Febriansah dkk., 2015; Kosanić dkk., 2015; Manchu dkk., 2014; Meenakshi dkk., 2009; Sava dan Sirbu, 2010) dan glikosida jantung (Elmegeed dkk., 2014) dalam *U. lactuca*. Pada penelitian ini teridentifikasi adanya senyawa flavonoid dan glikosida jantung kurang tegas kemungkinan karena kandungannya yang kecil dalam ekstrak. Pada EEUL juga teridentifikasi adanya klorofil dengan warna hijau pada ekstrak dan spektra UV dalam aseton pada panjang

gelombang maksimal yang sesuai dengan kurva standar klorofil a. Adanya kandungan klorofil dalam ganggang hijau sesuai dengan penelitian terdahulu oleh Abirami dkk (2011). Hal ini membuktikan bahwa ganggang hijau *U. lactuca* yang ada di Indonesia juga mengandung klorofil a.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol *Ulva lactuca* mempunyai randemen 14,52%, kadar air $9,67 \pm 0,07\%$, kadar abu 34,05% , kadar logam Pb < 0,067 mg/kg dan kadar logam Cd < 0,01 mg/kg. Terdapat golongan senyawa flavonoid, alkaloid, glikosida jantung dan klorofil dalam ekstrak etanol *Ulva lactuca* yang diperoleh dari pantai Drini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kemristek Dikti dan Universitas Ahmad Dahlan yang telah membiayai penelitian yang merupakan bagian dari Disertasi pada Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad Martinez, M.J., Del Olmo, L.M.B., dan Benito, P.B., 2005, Antiviral activities of polysaccharides from natural sources, dalam: Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry, Bioactive Natural Products (Part K)*. Elsevier, hal. 393–418.
- Abirami, R.G. dan Kowsalya, S., 2011, Nutrient and Nutraceutical Potentials of Seaweed Biomass *Ulva lactuca* and *Kappaphycus alvarezii*, *Journal of Agricultural Science and Technology*, **5**: 107–115.
- BPPK Depkes RI, 2008, *Laporan Nasional Riskesdas 2007*, URL: <https://www.k4health.org/sites/default/files/laporanNasional%20Riskesdas%202007.pdf> (diakses tanggal 14/4/2016).
- BPOM RI, 2014, *Peraturan Kepala BPOM No. 12 Tahun 2014* tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional
- Einav, R. dan Israel, A., 2007, Seaweeds on the Abrasion Platforms of the Intertidal Zone of Eastern Mediterranean Shores, dalam: Seckbach, J. (Ed.), *Algae and*

- Cyanobacteria in Extreme Environments*. Springer Netherlands, Dordrecht, hal. 193–207.
- El Gamal, A.A., 2010, Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ*, **18**: 1–25.
- El-Baky, F.K.E.B., 2009, Potential biological properties of sulphated polysaccharides extracted from the macroalgae *Ulva lactuca* L. *Cancer Research*, **2**: 1–11.
- El-Baky, H.H.A., El-Baz, F.K., and El-Baroty, G.S., 2008, Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L as a source of natural preservative ingredient. *American Eurasian Journal Of Agricultural And Environmental Science*, **3**: 434–444.
- Elmegeed, D.F.A., Ghareeb, D.A., and El-Saadani, M., 2014, Phytochemical constituents and bioscreening activities of green algae (*Ulva lactuca*). *International Journal of Agricultural Policy and Research*, **2**: 373–378.
- Febriansah, E.M., Eka Sakti, E.R., dan Kodir, R.A., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Selada Laut (*Ulva lactuca* L) dengan Ekstraksi Bertingkat menggunakan Metoda DPPH. *Prosiding Farmasi; Farmasi (Gel 2 Th Akad 2014-2015)*; 531-538.
- Harborne, J., 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung.
- Kosanić, M., Ranković, B., dan Stanojković, T., 2015. Biological activities of two macroalgae from Adriatic coast of Montenegro. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **22**: 390–397.
- Lerner, A., James, D., and Yoshiyata, T., 1960. Isolation of melatonin and 5-methoxyindole-3-acetic acid from bovine pineal glands. *The Journal of Biological Chemistry*, **7**: 235.
- Manchu, N., Melpha, Y., dan James, E., 2014. Phytochemical investigation of three species of *Ulva* from Rasthacaud Coast, Tamil Nadu, India. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **6**: 570–574.
- Meenakshi, S., Gnanambigai, D.M., Mozhi, S.T., Arumugam, M., dan Balasubramanian, T., 2009. Total Flavonoid and in vitro Antioxidant Activity of Two Seaweeds from Rameshwaram Coast. *Global Journal of Pharmacology*, **3**: 59–62.
- Nollet, L., 2004. *Handbook of Food Analysis Vol.1.Second Edition*, Physical Characterization and Nutrien Analysis. Marcel Dekker Inc, New York.

- Pádua, M. de, Fontoura, P.S.G., and Mathias, A.L., 2004. Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). *Brazilian archives of biology and technology*, **47**: 49–55.
- Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.-X., and Reiter, R.J., 2009. Phytomelatonin: a review. *Journal of Experimental Botany*, **60**: 57–69.
- Robic, A., Sassi, J.-F., and Lahaye, M., 2008. Impact of stabilization treatments of the green seaweed *Ulva rotundata* (Chlorophyta) on the extraction yield, the physico-chemical and rheological properties of ulvan. *Carbohydrate Polymers*, **74**: 344–352.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi / Trevor Robinson ; Penerjemah Kosasih Padmawinata ; Penyunting Tetet Sutomo*, VI. ed. ITB Press, Bandung.
- Santos, A., Guevera, B., Mascardo, A., dan Estrada, S., 1978. *Phytochemical, Microbiological and Pharmacological, Screening of Medical Plants*. Research Center University of Santo Thomas, Manila.
- Sathivel, A., Raghavendran, H.R.B., Srinivasan, P., and Devaki, T., 2008. Anti-peroxidative and anti-hyperlipidemic nature of *Ulva lactuca* crude polysaccharide on D-galactosamine induced hepatitis in rats. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, **46**: 3262–3267.
- Sava, C. dan Sirbu, R., 2010. Analytical study of the determination of flavonoids in Black Sea algae. *Ovidius University Annals of Chemistry*, **21**: 29–34.
- Widyaningsih, W., Sativa, R., dan Primardiana, I., 2015a. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva Lactuca* L.) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Tikus yang Diinduksi CCL4. *Media Farmasi*, **12**: 25–37.
- Widyaningsih, W., Utami, P., Amalia, C.R., Amelia, S., Ramadhani, M.R., dan Retnosari, 2015b. Efek Apoptosis Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva lactuca*) pada Jantung Tikus yang Diinduksi Isoproterenol. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian*, **2**: 59–63.
- Widyaningsih, W., Sugiyanto, Pramono, S., Widyarini, S., 2016, Pengkajian Aktivitas Kardioprotektif, Antioksidan dan Antiapoptosis Ekstrak Etanol Terstandar Melatonin dari Ganggang Hijau (*Ulva Lactuca* L), *Disertasi*, Universitas Gadjah Mada.