

Phytochemical Screening of *Indigofera zollingeriana* Leaf Extract as Candidate Functional Ingredient in Fish Feed

(*Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Indigofera zollingeriana sebagai Kandidat Bahan Fungsional dalam Pakan Ikan*)

Lidiawati^{1*}, Darus Sa'adah J. Paransa², Deiske Adeliene Sumilat¹, Diane Joula Kusen³, Nickson J. Kawung², Juliet Merry Eva Mamahit⁴

1. Program Studi Ilmu Perairan, Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Sulawesi Utara
 2. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Sulawesi Utara
 3. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Sulawesi Utara
 4. Program Doktorat Entomologi, Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Sulawesi Utara
- *Penulis Korespondensi: lidyauchit37@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to identify the secondary metabolites in *Indigofera zollingeriana* leaves through phytochemical screening. The results revealed that the leaf extract contained alkaloids (+++), flavonoids (+), tannins (+), phenolics (+), and saponins (+), while steroids and triterpenoids were not detected. These phytochemical compounds possess various biological activities, including antibacterial, antioxidant, immunostimulant, and feed efficiency-enhancing properties. In aquaculture, alkaloids act as antimicrobial agents, flavonoids and phenolics reduce oxidative stress by controlling Reactive Oxygen Species (ROS), tannins support digestive health, and saponins improve nutrient absorption and pathogen control. The absence of steroids and triterpenoids adds to the safety profile, minimizing the risk of hormonal disruption and toxicity in fish. Therefore, this study highlights the potential of *Indigofera* leaves as a source of functional feed additives in sustainable aquaculture to enhance fish growth and health.

Keywords: *Indigofera zollingeriana*, phytochemicals, secondary metabolites, aquaculture

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder pada daun *Indigofera zollingeriana* melalui uji skrining fitokimia. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak daun *Indigofera* mengandung alkaloid (+++), flavonoid (+), tanin (+), fenolik (+), dan saponin (+), sedangkan senyawa steroid dan triterpenoid tidak terdeteksi. Kandungan fitokimia tersebut diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain antibakteri, antioksidan, imunostimulan, serta peningkat efisiensi pakan. Dalam konteks budidaya perikanan, alkaloid berfungsi sebagai agen antimikroba, flavonoid dan fenolik berperan dalam menekan stres oksidatif dengan mengendalikan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), tanin mendukung kesehatan pencernaan, sementara saponin dapat meningkatkan absorpsi nutrisi dan pengendalian patogen. Ketidadaan steroid dan triterpenoid menjadi nilai tambah karena mengurangi risiko efek hormonal dan toksisitas pada ikan. Dengan demikian, penelitian ini menegaskan potensi daun *Indigofera* sebagai sumber bahan pakan fungsional dalam akuakultur berkelanjutan untuk mendukung pertumbuhan dan kesehatan ikan.

Kata kunci: *Indigofera zollingeriana*, fitokimia, metabolit sekunder, budidaya

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi, sehingga menyediakan banyak sumber tanaman lokal berpotensi untuk pemanfaatan di bidang akuakultur (Khafid *et al.*, 2023; Zikri *et al.*, 2022). Salah satu tanaman tersebut adalah *Indigofera zollingeriana*, leguminosa tropis yang dikenal memiliki kualitas hijauan pakan yang baik serta kandungan nutrisi yang relatif tinggi (Abdullah, 2014). Senyawa fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, serta terpenoid yang terkandung dalam tanaman leguminosa memiliki potensi untuk meningkatkan daya tahan (imunitas) dan kesehatan pada manusia dan hewan ternak (Fikayuniar, Dwi Rahma, *et al.*, 2023). Meskipun telah dimanfaatkan untuk pakan ternak, kajian ilmiah yang memfokuskan pada karakterisasi kimia daun *I. zollingeriana* tetap terbatas.

Analisis fitokimia, yaitu skrining untuk mendeteksi golongan senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid, merupakan langkah awal penting dalam mengevaluasi potensi bioaktif suatu bahan tanaman (Rahmadia, 2019). Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, anti mikroba, dan imunostimulan, sehingga apabila diintegrasikan ke dalam pakan ikan dapat meningkatkan efisiensi budidaya melalui perbaikan kesehatan ikan dan pengurangan ketergantungan pada bahan kimia sintesis (Surajat & Ibrahim, 2021).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada genus *Indigofera* terdapat kandungan flavonoid dan senyawa fenolik yang berperan dalam aktivitas antioksidan kuat (Alagbe *et al.*, 2021). Studi spesifik pada *I. zollingeriana* juga telah mengidentifikasi berbagai senyawa dengan

potensi bioaktif melalui metode fitokimia dan kromatografi (Rusli *et al.*, 2022). Dalam sektor perikanan, berbagai aktivitas biologis fitokimia tersebut dapat menunjang kesehatan organisme akuatik apabila dikembangkan dalam formulasi pakan fungsional (Swaminathan, 2018). Dengan demikian, skrining fitokimia dari ekstrak daun *I. zollingeriana* sangat relevan sebagai dasar ilmiah untuk mengembangkan bahan fungsional dalam pakan ikan.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining fitokimia pada ekstrak daun *I. zollingeriana*, dengan fokus pada identifikasi golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak tersebut, sebagai kandidat bahan fungsional dalam formulasi pakan ikan. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan pakan berbasis tanaman lokal yang efisien dan berkelanjutan dalam budidaya ikan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan meliputi daun *I. zollingeriana* yang diperoleh dari Balai Pengkajian Teknologi Pertanian di Desa Wori, Kec. Minahasa Utara, pelarut etanol 96%, etil asetat, n-heksana, metanol, akuades (air suling), dan pereaksi kimia untuk uji fitokimia. Pereaksi yang digunakan yaitu Dragendorff, Wagner, dan Mayer. Alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, oven pengering, blender, *rotary evaporator*, gelas ukur, tabung erlenmeyer, corong Buchner + kertas saring, tabung reaksi, pipet tetes, serta alat gelas laboratorium lainnya. Metodologi pengujian didasarkan pada literatur farmakognosi dan protokol skrining fitokimia (Abubakar & Haque, 2020; Kancherla *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2018).

Persiapan skrining fitokimia dilaksanakan di Lab. MIPA, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Persiapan Sampel

Pembuatan simplisia daun *I. zollingeriana* dilakukan dengan mencuci bersih daun segar dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40–50 °C hingga berat konstan untuk menghindari degradasi senyawa bioaktif. Selanjutnya, daun kering digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus, kemudian diayak untuk memperoleh ukuran seragam. Simplisia yang digunakan sebanyak 50 g untuk proses ekstraksi. Penggunaan daun kering dalam bentuk serbuk disesuaikan dari penelitian Panigoro *et al.* (2024) untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif karena luas permukaan yang lebih besar.

Ekstraksi

Metode ekstraksi dilakukan dengan menempatkan sebanyak 50 g serbuk daun ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian menambahkan 500 mL etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Proses maserasi dilakukan pada suhu kamar (± 25 °C) selama 24 jam dengan pengadukan sesekali, kemudian memisahkan filtrat dengan penyaringan menggunakan corong Buchner. Ampas yang tertinggal diekstraksi kembali dengan etanol segar sebanyak dua kali pengulangan, masing-masing selama 24 jam, sehingga total maserasi berlangsung 3×24 jam. Seluruh filtrat yang diperoleh kemudian digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu ≤ 40 °C hingga terbentuk ekstrak kental, kemudian ditimbang untuk menghitung rendemen. Ekstrak pekat yang diperoleh disimpan dalam vial tertutup

pada kondisi gelap (4 °C) sebelum digunakan dalam pengujian. Penggantian pelarut dilakukan 3 (tiga) kali berdasarkan metode ekstraksi Kristiningrum *et al.* (2018).

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan untuk mendapatkan data hasil pengujian senyawa metabolit sekunder yang lain merujuk pada Kristiningrum *et al.* (2018). Metode fraksinasi yakni mencampurkan 3 gram ekstrak etanol dari daun indigofera dengan 10 ml etanol dan 20 ml akuades. Selanjutnya, campuran ini dipisahkan dengan 30 ml pelarut n-heksana menggunakan corong pemisah sebanyak enam kali, dan fraksi n-heksana yang didapat dikumpulkan. Sisa campuran dipisahkan menggunakan pelarut etil asetat dengan volume yang setara. Setelah itu, setiap fraksi dari etil asetat, air, dan n-heksana dikonsentrasikan menggunakan alat evaporator rotari.

Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun *I. zollingeriana*, meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, saponin, steroid, dan triterpenoid. Metode skrining yang digunakan merupakan penyesuaian dari Fikayuniar *et al.* (2023) dan Gustiana *et al.* (2022). Sebanyak 100 mg ekstrak kering dilarutkan dalam 2 ml metanol hingga homogen, kemudian digunakan untuk serangkaian uji kualitatif menggunakan pereaksi spesifik. Uji alkaloid dilakukan dengan tiga pereaksi, yaitu Dragendorff, Wagner, dan Meyer, yang masing-masing menghasilkan endapan berwarna khas (jingga–merah, coklat, dan putih krem) sebagai indikasi positif. Intensitas warna

atau endapan diamati dan dikategorikan menjadi negatif (–), positif lemah (+), positif sedang (++) , atau positif kuat (+++). Uji flavonoid dilakukan dengan uji Shinoda, yaitu penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat ke dalam ekstrak yang memberikan warna merah ketika hasilnya positif. Pereaksi FeCl_3 1% digunakan untuk menguji kandungan tanin dan fenolik, dimana warna hijau kebiruan menandakan tanin dan coklat-oranye menunjukkan fenolik. Uji saponin dilakukan dengan cara mengocok ekstrak dalam akuades, yang akan membentuk busa stabil jika hasil positif. Sedangkan uji steroid dan triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann–Burchard, dengan warna hijau kebiruan menunjukkan steroid dan merah kecoklatan menandakan triterpenoid. Setiap pengujian dilakukan dengan kontrol positif berupa larutan standar senyawa dan kontrol negatif berupa pelarut tanpa ekstrak untuk memvalidasi hasil secara semi-kuantitatif. Menurut Surajat & Ibrahim (2021) metode pereaksi klasik ini masih merupakan prosedur standar yang banyak digunakan dalam identifikasi awal senyawa metabolit sekunder pada bahan tanaman.

Analisis Data

Hasil pengujian dicatat berdasarkan perubahan warna atau pembentukan endapan/busa. Intensitas respon dicatat

menggunakan tanda positif (+) untuk reaksi lemah, (++) untuk sedang, dan (+++) untuk kuat, sedangkan tanda (–) menunjukkan hasil negatif. Skema interpretasi serupa digunakan oleh Mirzah *et al.* (2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

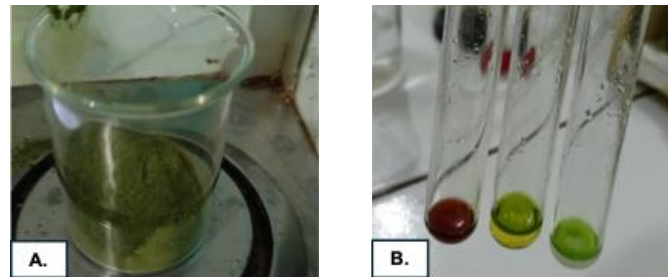
Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada daun *I. zollingeriana* menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik, sedangkan steroid dan triterpenoid tidak terdeteksi. Profil ini menegaskan bahwa Indigofera merupakan tanaman dengan potensi bioaktif yang kuat, khususnya untuk diaplikasikan sebagai bahan pakan fungsional pada akuakultur. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder yang terdeteksi dalam jumlah tinggi (+++) pada ekstrak daun *I. zollingeriana*. Senyawa ini dikenal memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus yang bekerja dengan cara mengganggu integritas membran, menghambat enzim esensial, serta menekan proses komunikasi antar sel mikroba (Cushnie *et al.*, 2014). Flavonoid juga terdeteksi pada daun Indigofera, meskipun dalam jumlah relatif rendah (+). Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia daun *I. zollingeriana*

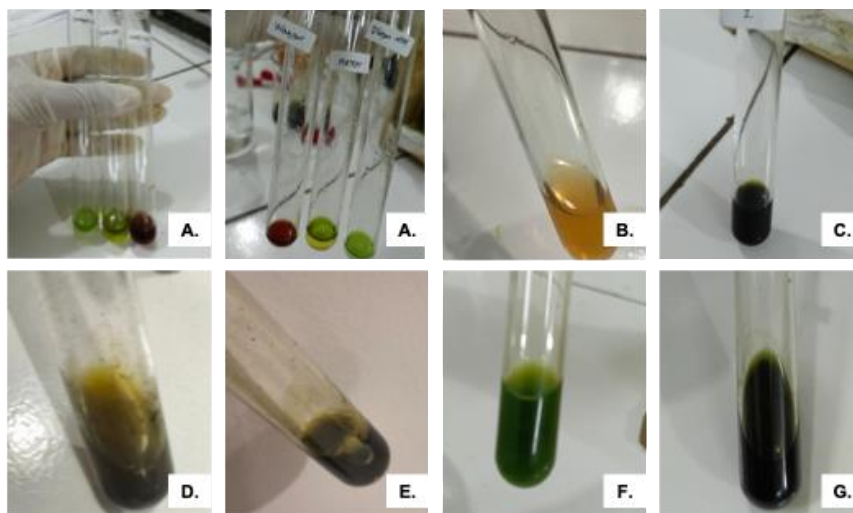
Golongan senyawa	Hasil	Perubahan warna
Alkaloid (Dragendorf, wagner, meyer)	+++	Dragendorf :Jingga Wagner : Coklat Meyer : endapan putih
Flavonoid	+	Merah
Tanin	+	Hijau/biruan
Saponin	+	Gelembung / buih
Steroid	-	Tidak ada perubahan warna
Triterpenoid	-	Tidak ada perubahan warna
Fenolik	+	Coklat orange



Gambar 1. Ekstrak daun *I. zollingeriana*; (B). Hasil reaksi ekstraksi (kiri ke kanan: Wagner, Meyer, Dragendrof)

mampu menetralkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif pada organisme (Panche *et al.*, 2016). Selain itu, hasil uji juga menunjukkan adanya tanin (+) dan fenolik (+). Kedua golongan ini dikenal memiliki aktivitas antimikroba melalui mekanisme pengendapan protein, penghambatan enzim, serta disrupti membran sel patogen (Porras *et al.*, 2021). Kandungan fenolik dalam daun *I. zollingeriana* juga memperkuat potensi antioksidan ekstrak, sehingga berkontribusi pada perlindungan jaringan dari kerusakan oksidatif dan peningkatan efisiensi pakan. Saponin juga terdeteksi positif (+) pada uji

busa, yang ditandai oleh terbentuknya gelembung stabil. Saponin berfungsi sebagai agen imunostimulan alami yang dapat meningkatkan fagositosis serta memperbaiki permeabilitas membran usus untuk meningkatkan penyerapan nutrisi (Francis *et al.*, 2002). Sebaliknya, hasil uji menunjukkan bahwa steroid dan triterpenoid tidak terdeteksi pada ekstrak daun *I. zollingeriana*. Ketidakhadiran kedua golongan ini kemungkinan terkait dengan polaritas pelarut yang digunakan, karena senyawa steroid dan triterpenoid cenderung terekstraksi dengan pelarut nonpolar (Zhang *et al.*, 2023).



Gambar 2. Hasil skrining fitokimia daun *I. zollingeriana*. A. Alkaloid; B. Flavonoid; C. Tanin; D. Fenolik; E. Saponin; F. Steroid; dan G. Triterpenoid

Senyawa Bioaktif *I. zollingeriana****Alkaloid***

Intensitas reaksi yang kuat pada uji alkaloid menandakan adanya fraksi yang kaya alkaloid, yang dikenal dengan kemampuan dalam mencegah bakteri (efek anti bakteri), penghambatan virulensi, dan sinergi dengan antibiotik dengan cara menarget membran, dinding sel, serta proses replikasi dan *quorum sensing* bakteri (Cushnie *et al.*, 2014). Pada budidaya perikanan, alkaloid berperan penting dalam menekan terjadinya penyakit dan meningkatkan kinerja ikan melalui reduksi beban patogen serta efisiensi metabolik pada respons imun bawaan, sehingga lebih banyak energi dapat diarahkan ke pertumbuhan (Reverter *et al.*, 2014). Mekanisme ganda anti patogen sekaligus *immunotuning* menjadikan alkaloid *I. zollingeriana* sebagai kandidat fungsional bahan pakan yang kuat untuk menurunkan risiko wabah bakteri pada fase kritis pemeliharaan. Keberadaan alkaloid dalam jumlah tinggi sangat penting bagi budidaya, karena dapat membantu meningkatkan ketahanan ikan terhadap infeksi patogen, sekaligus mengurangi ketergantungan terhadap antibiotik sintetis yang memiliki potensi risiko menimbulkan resistensi (Rajani *et al.*, 2024).

Flavonoid

Flavonoid merupakan antioksidan dan antiinflamasi kuat yang dapat menetralkan ROS (*Reactive Oxygen Species*), mengaktifkan sumbu Nrf2/ARE, serta menekan jalur pro-inflamasi, sehingga menjaga homeostasis metabolik (Panche *et al.*, 2016). Pada ikan, suplementasi flavonoid tertentu mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan

(SOD, CAT, GPx), mengekspresikan gen imun, dan memperbaiki performa pertumbuhan serta ketahanan penyakit, menunjukkan hubungan langsung antara ketersediaan flavonoid dalam pakan dan efisiensi metabolisme oksidatif di jaringan target (Kong *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023). Dalam formulasi pakan, kontribusi flavonoid dari *I. zollingeriana* berpotensi menekan respon oksidatif selama stres kepadatan dan memperhalus konversi pakan melalui perbaikan status redoks (Kumar *et al.*, 2012). Kehadiran flavonoid pada daun *I. zollingeriana* berpotensi digunakan untuk memperbaiki status fisiologis ikan, terutama pada kondisi budidaya dengan stres lingkungan tinggi (Purwanti *et al.*, 2022).

Tanin

Golongan tanin mampu mengendapkan protein, berikatan dengan enzim mikroba, dan mengganggu ketersediaan zat besi, sehingga menurunkan kolonisasi patogen dan produksi toksin (Alhadrami *et al.*, 2020). Pada ikan, campuran tanin dalam pakan dapat memperbaiki status antioksidan, integritas mukosa usus, dan respons imun non-spesifik tanpa mengorbankan kinerja, menandakan tingkat dosis aman yang memberi keuntungan fisiologis (Omnes *et al.*, 2017). Selain itu, adanya tanin dalam pakan dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan, rasio efisiensi pakan, dan ketahanan udang vaname terhadap *Vibrio*, menunjukkan bahwa dalam kadar yang cukup, tanin bukan sekadar antinutrisi tetapi agen fungsional yang menguntungkan (Uyun *et al.*, 2021). Meskipun tanin umumnya digolongkan sebagai antinutrisi, senyawa ini justru memberikan efek positif terhadap

metabolisme ikan jika diberikan pada dosis yang tepat. Dengan demikian optimasi dosis diperlukan untuk menghindari ikatan berlebih dengan protein pakan.

Fenolik

Senyawa fenolik berperan dalam menghambat kerusakan sel melalui aktivitas antioksidan serta berkontribusi terhadap stabilitas jaringan epitel usus dan penyerapan nutrisi yang optimal (Mukti *et al.*, 2019). Polifenol dalam kelompok fenolik berperan dalam mempertahankan keseimbangan redoks serta menjaga integritas epitel usus, sehingga kebutuhan energi pemeliharaan dapat berkurang pada kondisi stres selama proses budidaya. Pelarut polar seperti etanol/metanol cenderung memperkaya fraksi fenolik sehingga memaksimalkan manfaat antioksidan dalam pakan fungsional (Liu *et al.*, 2024). Pada penelitian lain, suplemen fenolik seperti ekstrak kulit jagung dan konsentrat polifenol mampu meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) serta meningkatkan konsumsi pakan tanpa efek toksik (El Mesallamy *et al.*, 2016; Mansoori *et al.*, 2024), sedangkan pengayaan pakan dengan polifenol dari buah delima memperbaiki pertumbuhan dan efisiensi pakan pada *rainbow trout* (*Oncorhynchus mykiss*) (Mansoori *et al.*, 2024). Kandungan fenolik dalam *I. zollengeriana* memiliki potensi sebagai bahan pakan fungsional untuk ikan budidaya, karena tidak hanya memberikan manfaat antioksidan dan imunostimulan, tetapi juga mendukung pertumbuhan melalui mekanisme fisiologis dalam kondisi akuakultur.

Saponin

Saponin pada ekstrak daun *I. zollengeriana* berfungsi sebagai senyawa

surfaktan alami yang memiliki kemampuan merusak membran sel mikroba dan menginduksi lisis pada organisme target, sehingga sering dimanfaatkan untuk pengendalian hama dan patogen di tambak maupun kolam budidaya (Syukur *et al.*, 2016). Dalam praktik budidaya, aplikasi saponin diketahui efektif untuk mengendalikan hama dan penurunan populasi ikan liar pada tambak dan meningkatkan kondisi produksi bila digunakan dengan tepat (Lilis & Adawiyah, 2021). Selain efek *biocidal*, saponin juga memiliki peran sebagai adjuvan pakan yang dapat memodulasi permeabilitas mukosa usus sehingga meningkatkan penyerapan beberapa nutrisi, sehingga berpotensi meningkatkan efisiensi pakan dan laju pertumbuhan ikan (Wahyuni *et al.*, 2014). Pemanfaatan saponin memiliki dua sisi, pada dosis tinggi saponin dapat menimbulkan efek negatif seperti penurunan nafsu makan, hemolisis eritrosit, atau gangguan enteritis. Oleh karena itu aplikasi saponin dalam budidaya harus mempertimbangkan dosis, metode aplikasi (pakan dan aplikasi air), dan spesies target untuk optimasi tanpa toksisitas (Linayati *et al.*, 2024; Mardiana *et al.*, 2024).

Steroid

Daun *I. zollengeriana* tidak mengandung steroid, yang kemungkinan disebabkan oleh sifat pelarut yang digunakan dalam ekstraksi karena senyawa steroid umumnya larut dalam pelarut non polar atau semi-polar (Sangi *et al.*, 2008). Temuan ini sejalan dengan Putri *et al.* (2023) yang juga mendapati tidak adanya kandungan steroid pada ekstrak etanol daun pepaya, sehingga ketiadaan steroid tidak selalu berarti senyawa tersebut benar-benar tidak ada, melainkan

dapat dipengaruhi oleh metode ekstraksi. Dari sisi budidaya perikanan, hal ini dapat menjadi keuntungan karena senyawa steroid pada tanaman memiliki aktivitas hormonal yang berpotensi memengaruhi sistem endokrin ikan, misalnya diferensiasi kelamin atau pematangan gonad bila dikonsumsi dalam jumlah tinggi (Nurnasari & Khuluq, 2018). Dengan demikian, hasil negatif pada uji steroid menegaskan bahwa daun *I. zollengeriana* relatif aman digunakan sebagai bahan pakan fungsional.

Triterpenoid

Senyawa triterpenoid umumnya bersifat nonpolar dan lebih mudah terekstraksi dengan pelarut nonpolar seperti n-heksana, sehingga penggunaan pelarut polar maupun semi-polar dalam ekstraksi dapat menyebabkan hasil uji negatif (Sangi *et al.*, 2008). Hasil ini sejalan dengan penelitian Salsabila *et al.* (2025) pada daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) yang melaporkan bahwa kandungan triterpenoid tidak terdeteksi dalam ekstrak etanol, meskipun senyawa bioaktif lain tetap hadir. Dari sisi budidaya ikan, ketiadaan triterpenoid justru menjadi keuntungan karena meskipun triterpenoid dikenal memiliki aktivitas antimikroba dan antiinflamasi, beberapa jenisnya juga dapat bersifat toksik jika dikonsumsi dalam jumlah tinggi (Putri *et al.*, 2023). Oleh karena itu, hasil negatif pada uji ini menegaskan bahwa daun *I. zollengeriana* lebih aman dimanfaatkan sebagai bahan pakan tambahan, sementara fokus pemanfaatannya dapat diarahkan pada metabolit sekunder lain seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin yang lebih dominan dan memiliki manfaat bagi pertumbuhan serta kesehatan ikan budidaya.

KESIMPULAN

Daun *Indigofera zollingeriana* mengandung metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan, anti mikroba, serta imunostimulan. Kombinasi alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin memiliki peran penting dalam pengembangan pakan berbahan alami di bidang budidaya. Kandungan metabolit sekunder dalam daun *I. zollengeriana* memiliki potensi besar untuk dikembangkan, baik untuk meningkatkan efisiensi pakan, memperkuat sistem imun, maupun mendukung pertumbuhan ikan secara optimal, serta menjadi dasar ilmiah bagi penelitian lanjutan mengenai dosis, formulasi, dan aplikasinya dalam sistem budidaya berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, L. 2014. Prospektif Agronomi dan Ekofisiologi *Indigofera zollingeriana* sebagai Tanaman Penghasil Hijauan Pakan Berkualitas Tinggi. *Journal of Tropical Forage Science*, 3(2), 79-83.
- Abubakar, A. R., Haque, M. 2020. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. In *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(1), 1-10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Alagbe, J. O., Shittu, M. D., Ushie, F. T. 2021. GC-MS Analysis of Methanolic Stem Bark Extract of *Indigofera zollingeriana*. In *Original Research Article Asian Journal of Advances in Research*, 4(1), 1265–1267.
- Alhadrami, H. A., Hamed, A. A., Hassan, H. M., Belbahri, L., Rateb, M. E., Sayed, A. M. 2020. Flavonoids as potential anti-MRSA agents through modulation of PBP2A: A computational and experimental study. *Antibiotics*, 9(9), 1-16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090562>.

- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., Lamb, A. J. 2014. Alkaloids: An Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-Enhancing and Antivirulence Activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2014.06.001>.
- El Mesallamy, AmaniM. D., Ahmad, M., Souleman, AhmadM. A., El Morsy, A., Abd El-Naby, A. 2016. Effects of Roselle calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.)-Supplemented Diets on Growth and Disease (*Aeromonas Hydrophila*) Resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 15(2), 78-87. <https://doi.org/10.4103/1687-4315.190403>
- Fikayuniar, L., Amallia, S., Azzahra, A. J., Anisa, M. A., Sagala, B. C., Irawan, L. 2023. Skrinning Fitokimia Serta Uji Karakteristik Simplisia dan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Berbagai Metode. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(15), 308–320. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8208374>.
- Fikayuniar, L., Dwi Rahma, A., Wahyuni, A., Shafira, K., Nur Ilham, R., Ayu Wulandari, S., Khasanah, Y. 2023. Kandungan Flavonoid pada Ekstrak Bunga Kamboja (*Plumeria* Sp) dengan Metode Skrining Fitokimia : Review Artikel. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(16), 509–516. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8248032>.
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S., dan Becker, K. 2002. The Biological Action of Saponins in Animal Systems: A Review. *British Journal of Nutrition*, 88(6), 587–605. <https://doi.org/10.1079/bjn2002725>
- Gustiana, S., Mustariani, B. A. A., Suryani, N. 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Kelor (*Moringa oleifera* L.). *Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1), 95-107.
- Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K., Komaram, R. B. 2019. Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro). *Maedica - A Journal of Clinical Medicine*, 14(4), 350-356. <https://doi.org/10.26574/maedica.2019.14.4.350>.
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Widodo Agung Suedy, S., Nurchayati, Y. 2023. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 8(1), 61–70.
- Kong, Y., Tian, J., Niu, X., Li, M., Kong, Y., Li, R., Chen, X., Wang, G. 2022. Effects of Dietary Quercetin on Growth, Antioxidant Capacity, Immune Response and Immune-Related Gene Expression in Snakehead Fish, *Channa argus*. *Aquaculture Reports*, 26, 101314. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2022.101314>.
- Kristiningrum, N. I. A., Wulandari, L., Zuhriyah, A. 2018. Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Water, Ethyl acetate, and n-Hexane Fractions from Mistletoe *Moringa oleifera* lam. (dendrophthoe pentandra (L.) Miq.). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10), 104-106. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i10.25271>.
- Kumar, R. S., Raj Kapoor, B., Perumal, P. 2012. Antioxidant activities of Indigofera cassioides Rottl. Ex. DC. using various in vitro assay models. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4), 256-261. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60019-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60019-7).
- Lilis, L., Adawiyah, R. 2021. Pengaruh pemakaian saponin dengan dosis berbeda terhadap pengendalian hama pada tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Kecamatan Jangka. *Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*, 3(1), 24-27.

- <https://doi.org/10.51179/jipsbp.v3i1.348>.
- Linayati, L., Mardiana, T. Y., Ardana, A., Syakirin, M. B. 2024. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia marina* pada Pakan terhadap Laju Pertumbuhan dan Tingkat Pemanfaatan Pakan Ikan Nila Salin (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan Unram*, 14(1), 190–202. <https://doi.org/10.29303/jp.v14i1.773>
- Liu, A., Lu, X., Ji, Z., Dong, L., Jiang, J., Tian, J., Wen, H., Xu, Z., Xu, G., Jiang, M. 2023. Preliminary Study to Assess the Impact of Dietary Rutin on Growth, Antioxidant Capacity, and Intestinal Health of Yellow Catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Animals*, 13(21), 1-14. <https://doi.org/10.3390/ani13213386>,
- Liu, Q. X., Liu, X., Yang, B., Liu, T. Q., Yu, Q., Ling, F., Wang, G. X. 2024. Evaluation of The Antiviral Activity of Oleanolic Acid Against Nervous Necrosis Virus. *Fish & Shellfish Immunology*, 153, 109847. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2024.109847>.
- Mansoori, A., Allaf Noveirian, H., Hoseinifar, S. H., Sajjadi, M., Ashouri, G., Imperatore, R., Paolucci, M. 2024. Polyphenol-rich Extracts Enhance Growth, Immune Function, and Antioxidant Defense in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Nutrition*, 11:1-12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1487209>.
- Mardiana, T. Y., Linayati, L., Maulidiya, E., Yahya, M. Z., Handayani, H., Aminuddin, N. M. 2024. Efektivitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* yang ditambahkan ke Pakan untuk Memacu Pertumbuhan Ikan Kerapu Cantang (*Ephinephelus fuscoguttatus* X *Ephinephelus lanceolatus*). *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology Available*, 20(4), 181–187. <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/saintek>.
- Mirzah, Hellyward, J., Fajrona, K., Wilnawati. 2023. Use of *Indigofera* Leaf Fermentation Products (*Indigofera zollingeriana*) with *Bacillus amyloliquefaciens* Bacteria in Rations on Broiler Chicken Performance. *JPI: Indonesian Livestock Journal*, 25(3), 339-350.
- Mukti, R. C., Yonarta, D., Pangawikan, A. D. 2019. Pemanfaatan Daun *Indigofera zollingeriana* Sebagai Bahan Pakan Ikan Patin (*Pangasius sp.*). *Depik*, 8(1), 18–25. <https://doi.org/10.13170/depik.8.1.13056>.
- Nurnasari, E., Khuluq, A. D. 2018. Potensi Diversifikasi Rosela Herbal (*Hibiscus sabdariffa* L.) untuk Pangan dan Kesehatan. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 9(2), 82-92. <https://doi.org/10.21082/btsm.v9n2.2017.82-92>.
- Omnes, M. H., Le Goasduff, J., Le Delliou, H., Le Bayon, N., Quazuguel, P., Robin, J. H. 2017. Effects of dietary tannin on growth, feed utilization and digestibility, and carcass composition in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture Reports*, 6:21-27. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.01.004>.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5:1-15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- Panigoro, N., Ediwarman, Fitria, Y., Karim, I. I., Syahrizal, Purnama, P. 2024. Karakteristik Proksimat Tepung Daun Tarum (*Indigofera zollingeriana*) Hasil Fermentasi *Aspergillus niger* Sebagai Bahan Baku Pakan. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*, 9(1), 97–104. <https://doi.org/10.33087/akuakultur.v9i1.206>.
- Porras, G., Chassagne, F., Lyles, J. T., Marquez, L., Dettweiler, M., Salam, A. M., Samarakoon, T., Shabih, S., Farrokhi, D. R., Quave, C. L. 2021. Ethnobotany and The Role of Plant Natural Products in Antibiotic Drug Discovery. In *Chemical Reviews*, 121(6), 3495–3560. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00922>.

- Purwanti, S., Nurhasmiati, N., Lahay, N., Syamsu, J. A. 2022. Potensi Kombinasi Maggot, Kunyit dan Indigofera Sebagai Antioksidan Alternatif Imbuhan Pakan. *Wahana Peternakan*, 6(2), 113–123. <https://doi.org/10.37090/jwputb.v6i2.616>.
- Putri, N. M. S., Sutiningsih, D., Mochamad Hadi. 2023. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. *JURNAL BIOS LOGOS*, 13(3), 141-149 <https://doi.org/10.35799/jbl.v13i3.49813>.
- Rahmadia, G. J. 2019. Skrining Fitokimia Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.): Langkah Awal Penentuan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Antidiabetik. *Jurnal Penelitian*, 1(2), 1-10.
- Rajani, V., Umadevi, S., Naga Raju, C. 2024. A Review on Exploring The Phytochemical and Pharmacological Significance of *Indigofera astragalina*. *Pharmacognosy Magazine*, 20(2), 363–371. <https://doi.org/10.1177/09731296231215911>.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of Plant Extracts in Fish Aquaculture As an Alternative to Chemotherapy: Current Status and Future Perspectives. *Aquaculture*, 433, 50–61. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2014.05.048>.
- Rusli, I. S., Salim, N., Faujan, N. H., Kassim, N. K., Abd Rahman, M. B. 2022. Phytochemical Investigation and Cytotoxicity Study of *Indigofera zollingeriana* Crude Extract. *Materials Today: Proceedings*, 60: 1074-1081. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.01.359>.
- Salsabila, F., Posangi, J., Mambo, C. D., Fatimawali, F., Regina Masengi, A. S., Nangoy, E. 2025. Profil Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) Menggunakan Metode Abts (2,2'-Azinobis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid). *Jurnal Locus Penelitian dan Pengabdian*, 4(2), 1154–1169. <https://doi.org/10.58344/locus.v4i2.3805>.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., Makang, V. M. A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog*, 1(1), 47–53.
- Surajat, A., Ibrahim, A. M. 2021. Pengaruh Penambahan Tepung Daun *Indigofera (Indigofera zollingeriana)* dalam Pakan Terhadap Kandungan Kimia Telur Ayam Arab. *Jurnal Ilmu Peternakan Terapan*, 4(2), 66–70. <https://doi.org/10.25047/jipt.v4i2.2513>.
- Swaminathan, C. 2018. Phytochemical Analysis and Antibacterial and Antioxidant Properties of *Indigofera tinctoria* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(6), 136-138. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i6.20060>.
- Syukur, M., Karina, S., Ramelan, R. 2016. Uji Efektivitas Anti Parasi Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap Lintah Ikan (*Piscicola geometra*) pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah*, 1(2), 262–269.
- Uyun, S., Damayanti, A. A., Azhar, F. 2021. The Effect of Cherry Leaves Extract (*Muntingia calabura*) on Growth Performance of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 262-270 <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2450>.
- Wahyuni, I. M. D., Muktiani, A., Christianto, M. 2014. Penentuan Dosis Tanin dan Saponin untuk Defaunasi dan Peningkatan Fermentabilitas Pakan. *JITP*, 3(3), 133–140.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., Ye, W. C. 2018. Techniques for Extraction And Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. In *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(20), 1-26.

- <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.
- Zhang, Y., Xi, Y., Yang, C., Gong, W., Wang, C., Wu, L., Wang, D. 2023. Short-Chain Fatty Acids Attenuate 5-Fluorouracil-Induced THP-1 Cell Inflammation through Inhibiting NF- κ B/NLRP3 Signaling via Glycerolphospholipid and Sphingolipid Metabolism. *Molecules*, 28(2), 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules28020494>.
- Zikri, M., Thaib, A., Nurhayati, N. 2022. Aplikasi Tepung Daun Indigofera. Sp Hasil Fermentasi Bakteri Bacillus Sp dalam Formula Pakan Benih Ikan Nila (*Oreochromis nilotus*). *Jurnal TILAPIA*, 3(2), 44–50. <https://doi.org/10.30601/tilapia.v3i2.2731>.