

***AN ANTIOXIDANT EXTRACT SPONGE TEST (Stylissa sp.)
COLLECTED FROM MANADO BAY***

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS
(*Stylissa sp.*) YANG DIKOLEKSI DARI TELUK MANADO**

Krisnawati Sukmaningrum¹⁾, Adithya Yudistira ¹⁾, Irma Antasionasti ¹⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

[*krisnaningrum22@gmail.com](mailto:krisnaningrum22@gmail.com)

ABSTRACT

The Stylissa sp. were under the sea, and these sponge contains active compound, wich are more active than the compounds produced by teresterial plants. The purpose of this study was intended to test the antioxidant activity of the stylissa sp. Sample of the stylissa sp sponge was from the territorial of manado bay. This research an experimental laboratory by testing the ethanol extract of Stylissa sp sponge using DPPH method (1,1-diphenil-2-pikrhidrazil) to analyze antioxidant activity using spectrophotometri uv-vis with variations in concentrations 2, 4, 6, 8, and 10mg/ L. Was extracted Stylissa sp, sponge by maceration using ethanol 95% as a solvent. The value results of % inhibisi (2mg/ L); 86.50% (4mg/ L); 90.5% (6mg/L); 90.53% (8mg/ L) and 90,83 (10mg/L). The highest antioxidant activity at 10mg/L concentration with mean precentage 90.83% inhibisi. The result for this study indicate that the extract from ethanol Stylissa sp sponge has highest antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, DPPH, Stylissa sp., bay of Manado

ABSTRAK

Spons *Stylissa sp.* terdapat di bawah laut dan spons ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari *Stylissa sp.* Sampel Spons *Stylissa sp.* di peroleh dari perairan Teluk Manado. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium dengan pengujian terhadap ekstrak etanol Spons *Stylissa sp* dengan metode DPPH (1,1-diphenil-2-pikrihidrazil) untuk menguji aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10mg/L. Ekstrak Spons *Stylissa sp* diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Hasil nilai % inhibisi rata-rata yang didapat yaitu 87,20% (2mg/L); 86,50% (4mg/L); 90,5% (6mg/L); 90,53% (8mg/L) dan 90,83 (10mg/L). Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi 10mg/L dengan nilai % inhibisi rata-rata 90,83%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol Spons *Stylissa sp* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Kata kunci : Antioksidan, DPPH, Spons *Stylissa sp.*, Teluk Manado

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara yang kaya dengan keanekaragaman hayati memiliki berbagai macam organisme laut yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif. Pemanfaatan organisme laut telah terbukti banyak digunakan sebagai sumber senyawa obat baru (Lalamentik, 2017).

Senyawa kimia yang berperan dalam antioksidan dapat ditemukan melimpah dalam tumbuhan dan organisme laut. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa yang ditemukan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik. Dalam beberapa tahun terakhir, identifikasi dan pengembangan senyawa fenolik atau ekstrak dari berbagai bahan alam telah menjadi cakupan utama dalam penelitian yang terkait dengan kesehatan dan pengobatan (Murray, 2009).

Spons adalah organisme laut yang memiliki potensi cukup besar dalam menghasilkan senyawa aktif (Abdul, 2003). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, spons menduduki tempat teratas sebagai sumber senyawa aktif karena metabolit sekunder pada spons memiliki keaktifan sebagai antimikroba, antivirus, dan antikanker yang sangat berguna sebagai bahan baku obat (Soediro, 1999).

Penelitian menyatakan bahwa ekstrak spons yang diambil dari perairan Selat Lembeh memiliki aktifitas antioksidan sangat kuat yang diuji dengan metode DPPH(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Berdasarkan data tersebut peneliti bermaksud untuk menguji aktivitas antioksidan dari spons (*Stylissa* sp) yang diambil dari perairan Teluk Manado dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 – Oktober 2020 di laboratorium penelitian lanjutan Program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Jenis Penelitian

Penelitian ini ialah berbentuk eksperimen laboratorium yang dilakukan dengan cara menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dari ekstrak spons (*Stylissa* sp.) dari perairan Teluk Manado.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, gunting, pisau, tabung oksigen, snorkel, fins, ziplok, telenan, cool box, pisau, erlenmeyer (Pyrex), corong, kamera, wadah botol air kemasan 600 mL, cawan porselin, gelas ukur, labu tentukur, tabung reaksi, baker glass, vortex, mikro pipet, timbangan digital, spatula, oven, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak sampel spons (*Stylissa* sp.) etanol 95%, etanol (p.a), kertas saring, tissue, aluminium foil, kertas label, botol salep, serbuk vitamin C (p.a) dan serbuk DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel dan Preparasi

Sampel

Sampel yang akan digunakan diperoleh dari Teluk Manado. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu (masker, snorkel, fins, tabung oksigen), sampel yang telah didapat langsung dibersihkan, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan ke dalam botol yang berisi pelarut etanol 95%. Botol sampel dimasukkan ke dalam kotak dingin (cool box) yang berisi es batu. Kemudian dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Dan selanjutnya sampel difoto dan diberi label serta nomor sampel, untuk selanjutnya sampel tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Ekstraksi

Sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95%. Sampel spons *Stylissa* sp. sebanyak 440 g di maserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 200 mL dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam dengan sesekali

di kocok. Hasil dari maserasi kemudian di saring untuk mendapatkan hasil filtrat, kemudian hasil filtrat yang di dapatkan dari 3 kali pengulangan di uapkan sehingga menghasilkan ekstrak kental dari sampel, lalu di taruh di cawan petri dan di masukan ke dalam oven pemanas pada suhu 40° C untuk mendapatkan ekstrak kasar dari sampel spons *Stylissa* sp.

Pembuatan Larutan Stok

Sebanyak 100 mg ekstrak spons *Stylissa* sp. dan dilarutkan dalam etanol p.a sampai 100 mL. Kemudian dilakukan pengenceran dengan masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 mg/L. Dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu :

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Hasil V1 yang didapatkan dari masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan dengan etanol p.a hingga mencapai tanda batas 5 mL, selanjutnya ditutup menggunakan *aluminium foil*.

Pembuatan Larutan Kontrol DPPH

Sebanyak 4 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol p.a sampai 100 mL, dan buat larutan stok DPPH sesuai konsentrasi yang sama dengan konsentrasi pada larutan stok sebelumnya yaitu 2, 4, 6, 8, 10 mg/L pada masing-masing konsentrasi di tambahkan etanol sampai tanda batas 5 ml.

Selanjutnya larutan yang di buat untuk uji aktivitas antioksidan yaitu ekstrak etanol spons *Stylissa* sp. di pipet sebanyak 2 mL di masukan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 mg/L dan di tambahkan 2 mL larutan DPPH kedalam masing-masing konsentrasi dan di vortex selama 15 detik sebanyak 3 kali pengulangan.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C p.a ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 10 mL. Kemudian buat larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 mg/L. Masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan etanol p.a sampai tanda batas 5 mL dan dibuat sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah pengujian sampel dan pengujian kontrol dilanjutkan pengujian vitamin C p.a pada masing-masing konsentrasi sampel vitamin C p.a dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dan di tambahkan 2 mL larutan DPPH. Selanjutnya divortex selama 15 detik dan diinkubasi selama 30 menit. Sampel diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Pengujian Larutan Kontrol DPPH dan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sebanyak 2 mL ekstrak etanol spons *Stylissa* sp. dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 mg/L dan ditambahkan 2 mL DPPH pada masing-masing konsentrasi lalu divortex selama 15 detik. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Larutan kontrol DPPH diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Berubahnya warna dari ungu menjadi kuning menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas atau antioksidan.

Kemudian diamati perbandingan dengan vitamin C (p.a) sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel 1. Hasil perbandingan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Stylissa* sp. dengan vitamin C p.a .

Konsentrasi	Pengulangan I Ekstrak Vitamin C	Pengulangan II Ekstrak Vitamin C	Pengulangan III Ekstrak Vitamin C	Rata-rata
2 mg/L	88%	86,30%	87,50%	87,20%
	96,80%	92,70%	97,60%	95,7%
4 mg/L	84,20%	87,40%	88%	86,50%
	97,50%	98,60%	98,80%	98,3%
6 mg/L	89,30%	92,80%	89,4%	90,5%
	98,80%	99,50%	98,90%	99,06%
8 mg/L	89,9%	90,80%	90,90%	90,53%
	99,20%	98,20%	98,20%	98,50%
10 mg/L	90,20%	90,90%	91,40%	90,83%
	99,60%	99,50%	99,60%	99,56%

Pembahasan

Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan dengan metode DPPH. Prinsip dari metode ini adalah mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan pengukuran aktivitas perendaman radikal DPPH oleh ekstrak etanol spons *Stylissa* sp. menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm (Rizkayanti *et al.*, 2017).

Konsentrasi yang digunakan pada pengujian ekstrak etanol spons *Stylissa* sp. adalah 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/L. Pada pengujian ini vitamin C digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Hasil dari sampel pada pengujian ini menunjukkan bahwa sampel ini mempunyai kadar antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan sampel yang berada di pulau Lembeh dan yang berada di pulau Bangka, kadar antioksidan yang diperoleh dari Teluk Manado memiliki nilai rata-rata pada konsentrasi 2 mg/L (87,20%), konsentrasi 4 mg/L (86,50%), konsentrasi 6 mg/L (90,5%), dan konsentrasi 8 mg/L (89,9%) dan konsentrasi 10 mg/L (90,83%).

Sedangkan sampel yang berada di pulau Bangka nilai yang didapat konsentrasi 50 mg/L (85,63%), konsentrasi 75 mg/L (88,66%), dan konsentrasi 100 mg/L (88,90%), sampel yang berada di pulau lembeh memiliki kadar antioksidan yaitu pada konsentrasi 25 mg/L (65,90%), konsentrasi 50 mg/L (66,30%), konsentrasi 75 mg/L (69,30%), dan konsentrasi 100 mg/L (70,26%).

Menurut Molyneux (2004) nilai standart kadar antioksidan adalah 50%. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian DPPH persen inhibisi pada ekstrak etanol Spons *Stylissa* sp. dan vitamin C pada Tabel 1. mengalami peningkatan pada konsentrasi tertinggi yaitu 10mg/L yakni sebesar 90,83%. Peningkatan persen inhibisi yang terjadi pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat inhibisi akan naik. Absorbansi sampel turun karena elektron pada DPPH menjadi berpasangan dengan electron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning bening, maka semakin pula besar persen inhibisi. (Hanani *et al.*, 2005). Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol Spons

Stylissa sp. dan vitamin C menunjukkan bahwa kemampuan penangkal radikal bebas pada vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol Spons *Stylissa* sp. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Triyem, 2010). Vitamin C juga merupakan senyawa murni yang jika dibandingkan dengan ekstrak spons *Stylissa* sp. yang terdiri dari beberapa campuran senyawa lain (Pratiwi et al, 2013).

Peningkatan persen inhibisi ini pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar persen inhibisi. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Hanani *et al.*, 2005) yang menyatakan bahwa presentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Namun hal tersebut tumpang tindih dengan hasil yang ada dimana pada sampel spons *Stylissa* sp. menunjukkan nilai persen inhibisi yang didapat pada konsentrasi rendah mempunyai nilai persen inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi didapat nilai persen inhibis yang rendah. Ketidakstabilan absorbansi yang diperoleh tersebut dapat dimungkinkan karena rentang variasi konsentrasi yang dipilih tidak begitu signifikan sehingga hasil yang diperoleh pun hampir terlihat seperti berada pada nilai yang sama. Hasil absorbansi ini tidak sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula nilai absorbansi suatu sampel (Kristianingrum, 2010).

Menurut Gozcelioglu dan Konuklugil (2012) kadar yang terdapat pada *Stylissa* sp. memiliki potensi bioaktif Spesies ini memiliki senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid dimana berguna untuk menghalangi predator bersaing untuk ruang dengan organisme spesies lain, untuk komunikasi dan untuk perlindungan terhadap infeksi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol spons *Stylissa* sp. dari perairan Teluk Manado memiliki aktivitas antioksidan yang

kuat pada setiap konsentrasi dan aktivitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 10mg/L dengan nilai rata-rata inhibisi 90,83%.

SARAN

Dari hasil penelitian ini perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai khasiat dari spons *Stylissa* sp. karena memiliki aktifitas antioksidan yang kuat dan berpotensi sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, M. 2003. Peranan Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan dan Penyakit, Depkes RI, Jakarta.
- Gozcelioglu, B dan Konuklugil, B. 2012. Qualitative Detection of Some Secondary Metabolites from Three Turkish Marine Sponges. *Fabard J. Pharm.* **37(12)**: 73-78.
- Hanani, E, Sekarini R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu Kefarmasian.* **2(3)**: 127-133.
- Kristianingrum, Susila. 2010. Spektroskopi Ultraviolet dan Sinar Tampak (Spektroskopi UV-Vis). Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Lalamentik, G. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Klyxum* sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado [skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science Technology.* **26(2)**: 211-219.
- Murray, R. K., Granner D.K., Rodwell V.W. 2009. Biokimia Harper. Edisi ke- 27. Terjemahan Andri Hartono. Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Pratiwi, D., Wahdaningsih, S., & Isnindar. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr) dengan Metode

DPPH (*2,2-difenil-1- pikrilhidrazil*).
Traditional Medicine Journal. **18(1)**:
9-16.

Rizkayanti, R. 2017. Uji Aktivitas
Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak
Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*
Lam). *Jurnal Akademika Kimia*. **6(2)**:
125-131.

Soediro, I.S. 1999. Produk Alam Hayati
Bahari dan Prospek Pemanfaatannya di

Bidang Kesehatan dan Kosmetika.
Prosiding Seminar Bioteknologi
Kelautan Indonesia I. Lembaga Ilmu
Pengetahuan Indonesia, Jakarta.

Triyem. 2010. Aktivitas Antioksidan dari
Kulit Batang Manggis Hutan
(*Garcinacf. bancana* Miq.) [tesis].
Universitas Indonesia, Depok.