

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SEA CUCUMBER (*H. atra*) WITH THE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) METHOD

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TERIPANG (*H. atra*) DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Avinda Shania Wiane Bawole^{1)*}, Defny S. Wewengkang¹⁾, Irma Antasionasti¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*avindabawole23@gmail.com

ABSTRACT

*Utilization of marine life is not just consumptive but can be used as raw material for medicines, one of which is sea cucumber. Sea cucumbers (*H. atra*) are marine invertebrates belonging to the Echinoderms phylum which have been studied containing antioxidants. Therefore, a study was conducted to determine the antioxidant activity of sea cucumber (*H. atra*) extract taken from the waters of Manado Bay using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Sea cucumber samples were extracted using the maceration method. The ethanol extract of sea cucumber showed high antioxidant activity at a concentration of 8 µg / ml with 77.83% inhibition percentage.*

Keywords: *H. atra*, Antioxidant, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

ABSTRAK

Pemanfaatan biota laut bukan hanya sekedar konsumtif saja tapi dapat berpotensi sebagai bahan baku obat-obatan salah satunya teripang. Teripang (*H. atra*) adalah hewan invertebrata laut yang termasuk ke dalam filum *Echinodermata* yang pernah diteliti mengandung antioksidan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak teripang (*H. atra*) yang diambil dari perairan Teluk Manado dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Sampel teripang diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ekstrak etanol teripang menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi pada konsentrasi 8 µg/ml dengan persen inhibisi 77,83%.

Kata kunci: *H. atra*, Antioksidan, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

PENDAHULUAN

Perkembangan dunia pengobatan yang semakin pesat telah memunculkan beragam jenis obat-obatan baru. Penelitian untuk menemukan sumber metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk berbagai macam jenis bahan obat juga terus dilakukan. Sejak satu dekade terakhir ini, perhatian dunia pengobatan mulai terarah pada organisme laut sebagai sumber daya yang sangat potensial (Dwijendra *et al.*, 2014).

Salah satu biota laut yang berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan adalah teripang (Albuntana *et al.*, 2011).

Teripang (*H. atra*) adalah hewan invertebrata laut yang termasuk ke dalam filum *Echinodermata* yang merupakan hewan dengan pergerakan yang lambat, sehingga memerlukan mekanisme pertahanan diri. Mekanisme pertahanan diri teripang (*H. atra*) terjadi secara mekanik dan kimiawi. Mekanisme pertahanan diri secara kimiawi dilakukan dengan menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Chairunnisa 2012).

Maka dari hal itu, penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak Teripang (*H. atra*) dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-defenil-2-pikrilhidrazil*). Antioksidan merupakan komponen penting yang berperan dalam aktivitas alami suatu makhluk hidup, karena Senyawa antioksidan diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murniasih *et al.*, 2015).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2020 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Bentuk Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu eksperimen laboratorium dengan sampel penelitian adalah Teripang (*H. atra*) yang diambil dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% lalu dilakukan pengujian aktivitas

antioksidan terhadap DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazil*).

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah alat-alat gelas, timbangan digital (*AE Adam*[®]), mikropipet, pipet tip kuning dan biru, pisau, gunting, *cool box*, tabung reaksi, alat selam, telenan, spektrofotometer *UV-Vis*, aluminium foil, *Vortex (Mixer Hwashin)*, Oven

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 95%, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), dan serbuk vitamin C pro analisis sebagai pembanding.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari perairan Teluk Manado menggunakan alat-alat bantu menyelam. Kemudian sampel teripang (*H. atra*) yang telah diambil, disimpan dalam kotak pendingin. Lalu dibawa ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Preparasi Sampel

Sampel yang telah bersih dipotong kecil-kecil untuk mengoptimalkan senyawa dari teripang (*H. atra*) ditarik oleh pelarut dengan mudah. Sampel yang sudah dipotong dimasukkan dalam wadah botol yang telah disediakan lalu ditambahkan pelarut etanol sampai sampel terendam semuanya dan dilanjutkan dengan ekstraksi.

Eskstraksi

Teripang (*H. atra*) yang sudah ada diambil dan dicuci kembali dengan bersih dengan air untuk membersihkan kotoran pada teripang (*H. atra*), lalu teripang (*H. atra*) yang sudah bersih dipotong kecil-kecil lalu dimasukkan kedalam wadah atau botol sampai sampel terendam semuanya, kemudian didibiarkan terendam selama 24 jam. Setelah perendaman, sampel disaring menggunakan kertas saring sampai menghasilkan filtrat1 dan residu1. Kemudian residu1 yang didapatkan tadi kembali direndam dengan pelarut etanol 95% sampai terendam semuanya dan dibiarkan selama 24 jam lalu disaring dengan

kertas saring sampai menghasilkan filtrat² dan residu². Setelah itu residu² kembali diambil dan direndamkan dalam pelarut etanol 95% lalu dibiarkan selama 24 jam, lalu disaring lagi menggunakan kertas saring sampai menghasilkan filtrat³ dan residu³. Setelah itu filtrat¹, ², dan ³ dikumpulkan dan dicampur menjadi satu lalu selanjutnya disaring dengan kertas saring sampai mendapatkan filtrat kemudian dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat..

Pembuatan Larutan Vitamin C p.a

Vitamin C p.a ditimbang sebanyak 10 mg menggunakan timbangan digital. Kemudian, vitamin C p.a dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 10 mL dalam erlenmeyer, buat larutan stok dengan konsentrasi yang sama, yaitu konsentrasi 10 µg/ml, 8 µg/ml, 6 µg/ml, 4 µg/ml. dan 2 µg/ml. Kemudian vitamin C p.a diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Diambil masing-masing konsentrasi, lalu di uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 0,4 mM DPPH ditimbang lalu dilarutkan kedalam etanol 96% sebanyak 50 ml. Setelah itu larutan yang sudah jadi diukur sebanyak 1 mL dengan pipet tetes dan gelas ukur lalu dimasukkan kedalam tabung teaksi. setelah itu diukur setiap masing-masing konsentrasi sampel kemudian masukkan ke dalam labu takar yang sudah terdapat larutan DPPH sampai mencapai volume 5 mL. Setelah itu setiap konsentrasi divortex selama 15 detik dengan tujuan untuk melihat perubahan warna yang terjadi, dari warna ungu berubah menjadi warna kuning maka dapat menunjukkan efesiensi penangkalan radikal bebas

yang baik. Kemudian setelah itu akan di inkubasi pada suhu 27°C selama 30 menit, setelah di inkubasi, sampel uji diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Diambil masing-masing konsentrasi, lalu di uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, sebagai uji perbandingan aktivitas antara sampel uji Teripang (*H.atra*)

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk melihat aktivitas antioksidan dalam teripang (*H.atra*) maka pada penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*) dimana metode DPPH memiliki keuntungan metode DPPH adalah metode yang sederhana, cepat dan mudah diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Uv –Vis (Kurniawan 2013).

Pada pengukuran absorbansi larutan DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm hingga hasil yang didapat pada absorbansi DPPH adalah 0,807. Konsentrasi yang digunakan yaitu. 10 µg/ml, 8 µg/ml, 6 µg/ml, 4 µg/ml. dan 2 µg/ml (Wijaya, *et al.*, 2019).

Masing-masing dari konsentrasi tersebut dicampurkan dengan larutan DPPH yang telah dibuat kemudian divortex selama 15 detik kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan. Hasil dari ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm, dilakukan sebanyak 3 kali secara berurutan pada setiap konsentrasi. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil uji % inhibisi aktivitas antioksidan ekstrak etanol *H.atra*

| Konsentrasi | Pengulangan I Ekstrak | Pengulangan II Ekstrak | Pengulangan III Ekstrak | Rata-Rata |
|-------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-----------|
| 2 µg/ml | 74,40 % | 73,80 % | 76,60 % | 74,93 % |
| 4 µg/ml | 75,30 % | 75,80 % | 76,80 % | 75,96 % |
| 6 µg/ml | 75,10% | 75,10 | 77,60 % | 75,93 % |
| 8 µg/ml | 75,90 % | 77,40 % | 80,20 % | 77,83 % |
| 10 µg/ml | 74,90 % | 78,20 % | 77,90 % | 77,00 % |

Pada hasil penelitian yang didapatkan (Tabel) teripang (*H. atra*) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan ekstrak tersebut mengalami peningkatan dari konsentrasi 2 µg/ml dengan nilai rata-rata 74,93 % konsentrasi 4 µg/ml nilai rata-rata 75,96 %, konsentrasi 6 µg/ml nilai rata-rata 75,93 %, konsentrasi 8 µg/ml nilai rata-rata 77,83 %, dan konsentrasi 10 µg/ml 77,00 % . 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 Damanis *et al.*, (2020), hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat inhibisi akan naik. Untuk hasil pengujian, perbandingan yang digunakan sebagai kontrol positif adalah vitamin C p.a karena lebih murah, mudah didapati dan tergolong senyawa antioksidan yang sangat kuat. Hal ini sesuai dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan vitamin C p.a yang lebih tinggi pada konsentrasi 10 µg/ml sebesar 99,66% . Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vitamin C p.a lebih tinggi daripada ekstrak etanol teripang (*H. atra*). Hal ini dapat terjadi, karena vitamin C p.a merupakan senyawa antioksidan alami dalam bentuk murni sehingga aktivitas antioksidannya sangat kuat dalam meredam radikal bebas DPPH dengan % inhibisi hampir mencapai 100 % . Vitamin C p.a termasuk golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkal berbagai radikal bebas ekstraseluler (Isnidar & Setyowati 2011).

Menurut hasil penelitian Puspitasari *et al*, 2013 ditemukan kandungan senyawa dalam ekstrak teripang (*H. atra*) adalah senyawa flavonoid, fenol, alkaloid dan saponin. Menurut Mierziak *et al* (2014), menyatakan bahwa beberapa senyawa flavonoid diantaranya merupakan senyawa yang bersifat antioksidan dan mampu menghambat aktivitas dari enzim xantin oksidase maupun reaksi superoksida. Dengan demikian, senyawa flavonoid yang terdeteksi keberadaannya pada teripang uji, menunjukkan potensinya sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol teripang (*H. atra*) Teluk Manado memiliki aktivitas antioksidan yang kuat pada setiap konsentrasi dan aktivitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 8 µg/ml sebesar 77,83 %.

SARAN

Sebaiknya dilakukan penentuan nilai IC₅₀ terhadap aktivitas antioksidan teripang (*H. atra*) dengan konsentrasi yang lebih besar, isolasi senyawa aktif yang memiliki aktifitas antioksidan, dan identifikasi senyawa apa saja yang dimiliki oleh teripang (*H. atra*).

DAFTAR PUSTAKA

- Albuntana, A., Yasman dan Wisnu, W. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuriidea dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **3**(1): 65-66.
- Chairunnisa, N, 2012, Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang *H. atra* Jeager Sebagai Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus pada Sumsum Tulang Mencit (*Mus musculus L.*) Jantan Galur DDY, [Skripsi], Universitas Indonesia, Depok.
- Damanis, F., Wewengkang, D., dan Antasionasti, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). [Skripsi] Program Studi Farmasi, Universitas Sam Ratulangi.
- Dwijendra, I., Defny, S.T., dan Frenly, W. 2014. Aktivitas Antimikroba dan Karakterisasi Senyawa *Fraksi Spons Lamellodysidea herbacea* yang Diperoleh dari Teluk Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **3**(4) : 1-2.
- Kurniawan J.C, Suryanto Edi, dan Yudistira A. 2013. Analisis Fitokimia dan Uji aktivitas Antioksidan dari Getah Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminata L.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT Vol 2 No 3.
- Isnidar, W. S. & Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*diospyros kaki thunb.*) Dengan Metode DPPH (*2,2-difenil-1 pikrilhidrazil*). *Majalah Obat Tradisional*, **16**(3), 157-164.
- Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. 2014. *Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment*. *Molecules*, **19**(10), 16240–16265.

- Murniasih, T., Putra, M., & Pangestuti, R. 2015.
Antioxidant Capacities of Holothuria Sea Cucumbers. 21–26.
- Puspitasari, G., S. Murwani, dan Herawati. 2013.
Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) terhadap Bakteri Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2036.T secara *In Vitro*.
- Wijaya. S., Bodhi. W &Yudistira. A.2019.Skrining Fitokimia Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Karsen (*Muntingia calabura L*) dengan Metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Jurnal Farmasi,Fmipa,Sam Ratulangi, vol **8**, no 2.