

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL ASCIDIAN
Herdmania Momus DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACTS OF ASCIDIAN
Herdmania momus USING DPPH METHOD (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)**

Frelinsia V.M Damanis¹⁾, Defny S Wewengkang¹⁾, Irma Antasionasti¹⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*damanisv@gmail.com

ABSTRACT

Ascidian Herdmania momus is one of the components of coral reef biota that has bioactive potential. Bioactive compounds function as self-defense and also function for human life, one of which can be used as a source of antioxidants. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity from the ethanol extracts of the Ascidian Herdmania momus. Ascidian Herdmania momus was extracted using maceration method with ethanol as a solvent. As a parameter, testing of antioxidant activity was carried out by the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method measured using UV-Vis spectrophotometry with variations in concentrations of 25, 50, 75, 100, and 125 µg / mL. The results of the average % inhibition values obtained were 59.13% (25 µg / mL), 60.93% (50 µg / mL), 61.73% (75 µg / mL), 63.86% (100 µg / mL) and 66.16% (125 µg / mL). The highest antioxidant activity was found at a concentration of 125 µg / mL with an average % inhibition value of 66.16%. The conclusion is the ethanol extracts of Ascidian Herdmania momus was shown to have antioxidant activity in each concentration of the test.

Keywords: *Ascidian Herdmania momus, Antioxidants, Extraction, DPPH*

ABSTRAK

Ascidian Herdmania momus merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif. Senyawa bioaktifnya berfungsi sebagai pertahanan diri dan juga berfungsi bagi kehidupan manusia, salah satunya dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan. Tujuan dari penelitian ini yaitu, untuk mengetahui aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak etanol Ascidian Herdmania momus. Ascidian Herdmania momus diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol sebagai pelarut. Sebagai parameter, pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) yang diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan variasi konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 µg/mL. Hasil nilai % inhibisi rata-rata yang didapat yaitu 59.13% (25 µg/mL), 60.93% (50 µg/mL), 61.73% (75 µg/mL), 63.86% (100 µg/mL) dan 66.16% (125 µg/mL). Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi 125 µg/mL dengan nilai % inhibisi rata-rata 66.16%. Kesimpulan yang didapat yaitu ekstrak etanol Ascidian Herdmania momus terbukti memiliki aktivitas antioksidan disetiap konsentrasi pengujian.

Kata Kunci : *Ascidian Herdmania momus, Antioksidan, Ekstraksi, DPPH*

PENDAHULUAN

Ascidian merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif, sehingga menjadikan ascidian target yang sangat menarik karena keanekaragamannya yang tinggi dan unik diantara avertebrata laut karena menghasilkan sejumlah besar senyawa yang mengandung nitrogen (Wang and Namikoshi, 2007). Senyawa bioaktif ascidian berfungsi sebagai pertahanan diri dan juga berfungsi bagi kehidupan manusia, yaitu sebagai antikanker, antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan (Khoeri, 2009).

Antioksidan atau senyawa penangkal radikal bebas merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Prakash, 2001). Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan di kulit terluarnya. Elektron yang tidak memiliki pasangan cenderung akan menarik elektron dari senyawa lain, sehingga elektron tersebut akan dimiliki bersama oleh dua atom atau senyawa dan terbentuk suatu senyawa radikal bebas yang baru yang lebih reaktif (Uppu, et al., 2010). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bias terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Herdmania momus merupakan jenis tunikata yang soliter, dan jarang keberadaannya, bentuk tubuhnya bulat berkisar antara 50-100 mm. Jenis ini sangat rentan jika disentuh dan biasanya berwarna merah dengan perpaduan putih (Hakim, 2014).

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol ascidian *Herdmania momus* yang diambil dari Perairan Pulau Bangka Likupang dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil*).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2019 - Juli 2020 di laboratorium penelitian lanjutan Program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian yaitu eksperimen laboratorium dengan rancangan penelitian dimana sampel ascidian *Herdmania momus* disiapkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydarzyl*).

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu peralatan *scuba diving*, kamera, gunting, pisau, wadah botol air kemasan 600 mL, ziplok, sarung tangan, telenan, kertas saring, *aluminium foil*, *tissue*, kertas label, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, *baker glass*, *vortex*, corong, pipet, mikro pipet, timbangan digital, spatula, oven, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Ascidian *Herdmania momus*, etanol 96%, serbuk Vitamin C p.a dan serbuk DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydarzyl*).

Prosedur Penelitian

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel ascidian *Herdmania momus* diperoleh dari perairan Pulau Bangka Likupang Kabupaten Minahasa Utara. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu

(peralatan *scuba diving*, ziplok dan pisau), kemudian dimasukkan dalam ziplok dan diberikan label. Sampel yang telah didapat langsung dibersihkan dari pengotor, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan kedalam botol yang berisi pelarut etanol 96%, dan dimasukkan kedalam *cool box*

Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Sampel direndam dengan menggunakan larutan etanol 96%. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan larutan penyari selama 3 kali 24 jam pada temperatur kamar yang dilindungi dari cahaya dan sesekali dikocok. Kemudian diambil filtratnya dan residu dibuang dan menghasilkan 3 filtrat yang kemudian dicampur menjadi satu. Filtrat tersebut dipisahkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C sampai etanol menguap.

Pembuatan Larutan Stok

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol ascidian *Herdmania momus* dilarutkan didalam etanol 96% ad. 100 mL (konsentrasi 1000 ppm). Dengan masing-masing konsentrasi 125 µg/mL, 100 µg/mL, 75 µg/L, 50 µg/mL, dan 25 µg/mL dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Pada kelima konsentrasi, masing-masing hasil yang didapatkan dari hasil V_1 dipipet dan ditambahkan etanol 96% hingga mencapai tanda batas (10 mL), kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* untuk digunakan pada perlakuan selanjutnya.

Pembuatan dan Pengujian Larutan Kontrol DPPH

Sebanyak 4 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL. Selanjutnya larutan stok DPPH dilakukan pengujian kontrol, dengan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer

UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 517nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Metode DPPH

Sebanyak 2 mL ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* dengan konsentrasi 125 µg/mL, 100 µg/mL, 75 µg/mL, 50 µg/mL dan 25 µg/mL ditambahkan masing-masing 2 mL larutan DPPH dalam etanol dan divorteks selama 5 detik. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm, setelah diinkubasi selama 30 menit. Kemudian diamati perbandingannya dengan vitamin C p.a sebagai standar.

Pembuatan dan Pengujian Larutan Perbandingan Vitamin C (p.a)

Larutan Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg. Kemudian, vitamin C p.a dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 10 mL, buat larutan stok dengan konsentrasi yang sama sebelumnya yaitu konsentrasi 125 µg/mL, 100 µg/mL, 75 µg/mL, 50 µg/mL dan 25 µg/mL dengan ditambahkan masing-masing larutan dengan etanol p.a mencapai tanda batas (10 mL), dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing konsentrasi. Pada masing-masing konsentrasi di pipet 2 mL dan ditambahkan larutan DPPH 2 mL, di vorteks selama 5 detik dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Sampel vitamin C p.a diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Setelah absorbansi didapat, aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus berikut:

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

Analisis Data

Aktivitas antioksidan di ukur dengan menggunakan spektrovotometer UV-Vis,

kemudian data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penelitian dilakukan pada ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* untuk mengetahui adanya aktivitas dari penangkal

radikal bebas yang di uji dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Data absorbansi sampel ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus*, Vitamin C (p.a) sebagai pembanding dan kontrol DPPH disajikan pada Tabel 1 dan Data % inhibisi ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* dan Vitamin C (p.a) sebagai pembanding disajikan pada Tabel 2 berikut ini :

Tabel 1. Data absorbansi sampel ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus*, Vitamin C (p.a) dan Kontrol DPPH

KONSENTRASI Ekstrak dan Vitamin C		ABSORBANSI PENGULANGAN		
		I	II	III
25 µg/mL	Ekstrak	0.306	0.303	0.322
	Vit. C	0.112	0.111	0.134
50 µg/mL	Ekstrak	0.296	0.284	0.310
	Vit. C	0.108	0.104	0.110
75 µg/mL	Ekstrak	0.297	0.295	0.279
	Vit. C	0.101	0.113	0.110
100 µg/mL	Ekstrak	0.267	0.293	0.263
	Vit. C	0.110	0.111	0.106
125 µg/mL	Ekstrak	0.257	0.264	0.249
	Vit. C	0.108	0.101	0.100
KONTROL DPPH		0.728		

Tabel 2. Hasil pengujian perbandingan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania momus* dan Vitamin C (p.a).

KONSENTRASI Ekstrak dan Vitamin C		PENGULANGAN			RATA -RATA
		I	II	III	
25 µg/mL	Ekstrak	59.70%	60.10%	57.60%	59.13%
	Vit. C	85.30%	85.40%	82.40%	84.36%
50 µg/mL	Ekstrak	61.0%	62.60%	59.20%	60.93%
	Vit. C	85.80%	86.30%	85.50%	85.86%
75 µg/mL	Ekstrak	60.90%	61.10%	63.20%	61.73%
	Vit. C	86.70%	85.10%	85.50%	85.76%
100 µg/mL	Ekstrak	64.80%	61.40%	65.40%	63.86%
	Vit. C	85.50%	85.40%	86.10%	85.66%

125 µg/mL	Ekstrak	66.10%	65.20%	67.20%	66.16%
	Vit. C	85.80%	86.70%	86.90%	86.46%

Pembahasan

Pada Pada penelitian ini, Ascidian *Herdmania momus* digunakan sebagai sampel. Dilakukan Preparasi sampel, sampel dipotong kecil-kecil bertujuan untuk memperbesar ukuran permukaan sampel sehingga proses ekstraksi berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin besar (Mardiyah *et al.*, 2014).

Sampel kemudian di ekstraksi menggunakan metode maserasi. Tujuan pemilihan metode maserasi karena cara pengerjaannya yang sederhana dan cepat namun sudah dapat menarik senyawa kimia dari sampel dengan maksimal. Keuntungan utama dari metode ini ialah tidak dilakukan pemanasan sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung di dalam sampel akibat pengaruh suhu dan senyawa yang tidak tahan pemanasan (Sa'adah *et al.*, 2015). Agar senyawa kimia di dalam sampel dapat terekstrak secara menyeluruh maka dilakukan remaserasi atau pengulangan dengan penggantian pelarut sebanyak tiga kali. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain selektivitas, kelarutan, dan titik didih. Pada penelitian ini, sampel Ascidian *Herdmania momus* diekstraksi menggunakan metode maserasi dan pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, alasan pemilihan etanol 96% sebagai pelarut dalam proses maserasi adalah karena lebih selektif, tidak toksik, absorbsinya baik dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur (Suryanto, 2012).

Konsentrasi ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* yang digunakan adalah 125, 100, 75, 50, dan 25 µg/mL. Masing-masing konsentrasi dicampurkan dengan larutan DPPH. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap dengan suhu 37⁰C. Setelah sampel diinkubasi, kemudian masing-masing ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pada tiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm karena DPPH memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang tersebut.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian DPPH persen inhibisi pada ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* dan Vitamin C disajikan pada Tabel 2 mengalami peningkatan dari konsentrasi terendah 25 µg/mL yakni 59.13% sampai pada konsentrasi tertinggi 125 µg/mL dengan nilai rata-rata 66.16%. 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. Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* dan Vitamin C menunjukkan bahwa kemampuan penangkal radikal bebas dari Vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus*.

Pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif adalah vitamin C, digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, aktivitas antioksidannya sangat tinggi, mudah diperoleh dan vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain. Vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Isnindar, 2011). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat inhibisi akan naik. Absorbansi sampel turun karena elektron pada DPPH menjadi berpasangan dengan elektron

sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning bening. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Green (2004) bahwa nilai tingkat inhibisi meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak Ascidian *Herdmania momus* dari perairan Pulau Bangka Likupang, memiliki aktivitas antioksidan pada setiap konsentrasi dan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi 125µg/mL dengan nilai persen inhibisi rata-rata 66.16%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol Ascidian *Herdmania momus* dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode lain FC (*Folin-Ciocalteu*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), RP (*Reducing Power*) PV (*Peroxide Value*), TBA (*2-thiobarbituric acid*) dan sebaiknya membandingkan hasilnya dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Green, R.J. 2004. *Antioxidant activity of peanut plant Tissues*. North caroline state university departemen of food science, Raleigh.
- Hakim, M.F.B.A. 2013. Distribusi dan Keanekaragaman Tunikata (*Ascidacea*) Pada Kondisi Perairan yang Berbeda di Pulau Badi, Bone Batang dan Lae-Lae [Skripsi]. Universitas Hasanudin, Makassar.
- Hanani E, Mun'im B, Sekarini R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam spons *Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. **2** (3) : 127-133.
- Isnindar. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diopyroskaki Thunb*) dengan Metode DPPH. *Majalah Obat Tradisional*. **16** (3) : 157-164.
- Khoeri, M. M. 2009. Bioprospeksi Bakteri Symbion pada Tunikata *Didemnum molle* dari Perairan Pulau Sambangan Karimunjawa Jepara. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Mardiyah, U., Fasya, G. A. Fauziyah, B., dan Amalia, S. 2014. Ekstraksi Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Jurnal Achemy*. **3** (1) : 42
- Prakash, A., F. Rigelhof., and E. Miller. 2001. Antioxidant Activity: Medallion Laboratories. *Analithycal Progress*. **19**(2) : 1-4.
- Sa'adah, H., Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana Merr*) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **1**(2) : 149-153.
- Suryanto, E. 2012. Fitokimia Antioksidan. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Uppu, R. M., S.N. Murthy., W.A. Pryor., and N.L. Parinandi. 2010. *Free Radical and Antioxidant Protocols*. Humana Press, New York.
- Wang, W., and Namikoshi, M. 2007. Bioactive Nitrogenous Metabolites from Ascidiaceans. *Heterocycles*. **74** : 53-88.
- Winarsih, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius, Jogjakarta.