

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF EXTRACT ETHANOL SPONGE (*Leucetta chagosensis*)
COLLECTED FROM THE MANTEHAGE ISLANDS**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS (*Leucetta chagosensis*)
YANG DIKOLEKSI DARI KEPULAUAN MANTEHAGE**

Agata Mega Kinanti^{1)*}, Adithya Yudistira¹⁾, Erladys Rumondor¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*agatakinanti28@gmail.com

ABSTRACT

*Sponges are not only rich in secondary metabolites, but also have the ability to synthesize various compounds, such as alkaloids, peptides, and terpenoids. These compounds are reported to have activity as antitumor, antifungal, antibacterial, and also as an antioxidant. This study aims to determine the antioxidant activity of the marine animal sponge *Leucetta chagosensis*. This research is a laboratory experiment with testing of the ethanol extract of sponge *Leucetta chagosensis* with the DPPH [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method] to analyze antioxidant activity using a UV-Vis spectrophotometer with a wavelength of 517 nm. The results of this study indicate that the ethanol extract of the sponge *Leucetta chagosensis* from Mantehage Island has antioxidant activity in each concentration of the test. The greatest antioxidant levels were found in the sponge *Leucetta chagosensis* with a concentration of 0.6 mg / L, reaching a percentage of 57.23%..*

Keywords: Antioxidants, DPPH, *Leucetta chagosensis*, Mantehage Islands

ABSTRAK

Sponge tidak hanya kaya akan metabolit sekunder, tapi juga memiliki kemampuan untuk menyintesis berbagai macam senyawa, seperti alkaloid, *peptide*, dan terpenoid. Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktifitas sebagai antitumor, antijamur, antibakteri, dan juga sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari hewan laut sponge *Leucetta chagosensis*. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium dengan pengujian terhadap ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* dengan metode DPPH [1,1-difenil-2-pikrilhidrazil] untuk menganalisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* dari Pulau Mantehage mempunyai aktivitas antioksidan disetiap konsentrasi pengujian. Kadar antioksidan yang paling besar terdapat pada sponge *Leucetta chagosensis* dengan konsentrasi 0,6 mg/L dengan mencapai persentase 57,23% .

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, *Leucetta chagosensis*, Pulau Mantehage

PENDAHULUAN

Secara geografis, Indonesia berada pada posisi yang strategis. Terletak di antara Benua Asia dan Australia, serta diapit oleh Samudra Hindia dan Pasifik ditambah dengan iklim tropisnya membuat Indonesia menjadi negara dengan potensi sumber daya laut yang beraneka ragam, salah satu diantaranya adalah sponge (*Porifera*). Perairan Indonesia diketahui memiliki lebih dari 1500 spesies sponge yang telah teridentifikasi. Keanekaragaman biota laut Indonesia juga menjadi indikasi adanya keanekaragaman struktur senyawa (Haedar *et al*, 2016). Sponge merupakan biota laut yang potensial untuk menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki sifat bioaktif. Hasil metabolit sekunder dari beberapa sponge terbukti mengandung senyawa-senyawa aktif sebagai "*lead compound*" dalam pengembangan obat antibiotik, antikanker, antivirus, antibakteri, antioksidan dan lain-lain. Hal ini membuktikan bahwa sponge sangat potensial dalam pengembangan industri farmasi, mengingat senyawa-senyawa aktif yang dihasilkan mempunyai perbedaan dengan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuh-tumbuhan darat yang selama ini merupakan sumber utama bahan obat-obatan (Murniasih, 2003).

Sponge tidak hanya kaya akan metabolit sekunder, tapi juga memiliki kemampuan untuk *menyintesis* berbagai macam senyawa, seperti alkaloid, *peptide*, dan terpenoid. Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktifitas sebagai antitumor, antijamur, antibakteri, dan juga sebagai antioksidan (Arai, 2014).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan atau meredam radikal bebas, serta menghambat terjadinya oksidasi pada sel tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya kerusakan sel. Antioksidan diketahui dapat menghambat kerja radikal bebas. Sebagai salah satu upaya untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam laut Indonesia, dilakukan penelitian dengan tujuan awal menguji aktivitas antioksidan dan mengidentifikasi senyawa berkhasiat sebagai antioksidan (Hanani *et al*, 2006). Salah satu metode yang digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode pengujian ini merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan. Metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik (Widyastuti, 2010).

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan. Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh kembali elektron pasangannya. Selain itu, radikal bebas dapat mengalami tubrukan kaya energi dengan molekul lain, yang merusak ikatan didalam molekul, sehingga radikal bebas dapat merusak membran sel atau DNA sel yang rentan (Corwin, 2009).

Metode uji antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode peredaman radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode ini memerlukan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat, dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Hanani *et al*, 2006).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan dan preparasi sampel dilakukan di perairan Kepulauan Mantehage. Sedangkan untuk penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi pada bulan Oktober 2020 – Desember 2020.

Bentuk Penelitian

Bentuk dari penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian dimana sampel sponge *Leucetta chagosensis* disiapkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrylhidrazil*).

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *scuba diving*, kamera, gunting, pisau, wadah botol, kertas saring, *aluminium foil*, cawan porselin, ziplok, sarung tangan, telenan, gelas ukur, erlenmeyer, baker glass, tabung reaksi, vortex, mikro pipet, timbangan digital, spatula, evaporator, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol dari sponge *Leucetta chagosensis*, etanol 96%, DPPH [*1,1-difenil-2-*

pikrilhidrazil], dan serbuk vitamin C *p.a* sebagai pembanding.

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel sponge *Leucetta chagosensis* diambil dari perairan Kepulauan Mantehage. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu (*scuba diving*, tabung oksigen, ziplok dan pisau), kemudian dimasukkan dalam ziplok dan diberikan label, sampel dimasukkan kedalam kotak dingin (*cool box*) yang berisi es batu. Sampel yang telah didapat langsung dibersihkan, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan kedalam botol lalu diisi dengan pelarut etanol 96%. Di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi sampel tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi

Ekstraksi Sampel

Sampel sponge *Leucetta chagosensis* sebanyak 250 g dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200 mL dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam. Sampel kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Hasil yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan evaporator yang akan menghasilkan ekstrak kasar dari sampel sponge *Leucetta chagosensis*.

Pembuatan Larutan Stok 100 mL

Sebanyak 100 mg ekstrak sponge *Leucetta chagosensis* dilarutkan dalam 100 mL etanol 96%. Dengan masing-masing konsentrasi 0,5, 0,6, dan 0,7 mg/L, dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Dari 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 Larutan DPPH

Sebanyak 4 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL. Selanjutnya larutan stok DPPH dilakukan pengujian kontrol, di uji pada spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C *p.a* ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 10 mL, kemudian buat larutan stok untuk konsentrasi 0,5, 0,6, dan 0,7 mg/L dengan ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas (10 mL) pada masing – masing larutan sebanyak 3 kali pengulangan. Sampel vitamin C *p.a* di pipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 0,5, 0,6, dan 0,7 mg/L dan di tambahkan 2 mL larutan DPPH kedalam masing-masing kosentrasi dan divortex selama 5 detik sebanyak 3 kali pengulangan. Diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan kontrol DPPH diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Sampel diinkubansi selama 30 menit pada suhu 37°C. Untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas tersebut, di uji pada spektrofotometer. 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 berubahnya warna menjadi kuning menunjukan bahwa, masing-masing kosentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas di uji dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Kemudian diamati perbandingan dengan vitamin C *p.a* sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas, di uji pada spektrofotometer. Hasil pengujian disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Hasil perbandingan pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Sponge *Leucetta chagosensis* dengan Vitamin C *p.a*

Konsentrasi		Pengulangan			Rata-rata
		I	II	III	
0,5 ppm	Ekstrak	74,5 %	37,3 %	48,8 %	53,43 %
	Vitamin C	96,8 %	92,7 %	97,6 %	95,7 %
0,6 ppm	Ekstrak	54,2 %	62,1 %	55,4 %	57,23 %
	Vitamin C	97,6 %	98,6 %	98,8 %	98,3 %
0,7 ppm	Ekstrak	51,7 %	53,3 %	38,8 %	47,93 %
	Vitamin C	98,8 %	99,6 %	98,9 %	99,1 %

Pembahasan

Uji aktivitas antioksidan suatu tanaman maupun biota laut sangat penting dilakukan untuk mengetahui apakah dari tanaman atau biota laut tersebut terbukti memiliki aktivitas pengikatan terhadap radikal bebas, Marzuki (2018). Pada penelitian ini, biota laut yang digunakan yaitu sponge *Leucetta chagosensis*.

Uji aktivitas ini menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) karena metode ini adalah metode yang paling sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron. Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH pada prinsipnya adalah mengukur terjadinya pemudaran warna dari radikal DPPH akibat adanya antioksidan yang dapat menetralkan molekul radikal bebas. Jadi, radikal DPPH yang sebelumnya berwarna akan kehilangan warnanya jika ada antioksidan, karena antioksidan akan menyumbang elektronnya kepada radikal DPPH, sehingga radikal yang sebelumnya tidak stabil (akibat adanya elektron yang tidak berpasangan) menjadi stabil (elektron pada radikal bebas

menjadi berpasangan karena mendapat sumbangan elektron dari antioksidan). Pada dasarnya, karakteristik antioksidan adalah mudah untuk menyumbangkan elektron, semakin mudah memberikan elektron maka sifat antioksidannya semakin kuat. Pada uji DPPH ini digunakan panjang gelombang 517 nm, larutan DPPH tersebut diukur pada panjang gelombang 400 sampai 600 nm dan hasil yang didapat adalah 0,894.

Sebelum melakukan pengujian DPPH dilakukan pembuatan larutan stok Tujuan dari pembuatan larutan stok sendiri ialah untuk menghindari penimbangan yang berulang-ulang setiap kali membuat media. Dengan adanya larutan stok, pembuatan media selanjutnya tinggal mengencerkan larutan stok saja. Larutan stok dibuat hanya untuk satu jenis bahan. Langkah ini bertujuan untuk menghindari pengendapan larutan.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sponge *Leucetta chagosensis* dimana sampel ini diekstraksikan dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan untuk sampel tersebut adalah etanol 96% karena pelarut ini hampir bisa melarutkan semua senyawa organik, baik polar atau pun non polar. Konsentrasi yang digunakan untuk sponge *Leucetta chagosensis* adalah 0,5, 0,6, dan 0,7 mg/L. Masing-masing dari konsentrasi tersebut dicampurkan dengan larutan DPPH kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada tempat yang gelap. Kemudian setelah sampel diinkubasi masing-masing dari ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm, pada setiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Dalam penelitian ini dibuat 3 kali pengulangan pada setiap konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui hasil dari masing-masing konsentrasi kemudian hasil yang didapatkan akan dihitung rata-ratanya, sehingga dari hasil rata-rata tersebut dapat dilihat seberapa besar aktivitas antioksidan dalam sampel sponge *Leucetta chagosensis* dibandingkan dari sampel vitamin C.

Hasil penelitian didapat pada tabel 1 menunjukkan nilai persentase inhibisi pada ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* yang memiliki aktivitas antioksidan dengan rata-rata 53,43% di konsentrasi 0,5 mg/L, 57,23% di konsentrasi 0,6 mg/L, dan di konsentrasi 0,7 mg/L yaitu sebesar 47,93%. Ini menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kadar antioksidan. Menurut Molyneux (2004) nilai standar kadar antioksidan adalah 50%. Pada ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis*

memiliki persen inhibisi rata-rata paling tinggi yaitu sebesar 57,23 %. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam merendam radikal bebas. Namun hal tersebut tumpang tindih dengan hasil yang ada dimana pada sampel sponge *Leucetta chagosensis* menunjukkan nilai persen inhibisi yang didapat pada konsentrasi rendah yaitu pada konsentrasi 0,6 ppm mempunyai nilai persen inhibisi yang lebih tinggi yakni sebesar 57,23% dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu konsentrasi 0,7 ppm didapat nilai persen inhibisi yang rendah yaitu sebesar 47,93%. Ketidakstabilan absorbansi yang diperoleh tersebut dapat dimungkinkan karena rentang variasi konsentrasi yang dipilih tidak begitu signifikan. Hasil absorbansi ini tidak sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula nilai absorbansi suatu sampel (Kristianingrum, 2010). Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* dan vitamin C (Tabel 1) juga menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C.

Rendahnya aktivitas antioksidan ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya karena metode ekstraksi yang digunakan kemungkinan tidak cukup menarik komponen kimia yang bersifat antioksidan dalam sponge *Leucetta chagosensis*. Selain itu vitamin C merupakan senyawa murni sedangkan ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* masih merupakan senyawa campuran dan belum diketahui kandungan senyawanya yang bersifat antioksidan, dimana adanya senyawa yang tidak bersifat antioksidan kemungkinan bisa mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* itu sendiri. Menurut penelitian Palekahelu (2018), rendahnya nilai rendemen juga dapat mempengaruhi hasil.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* yang diperoleh dari Pulau Mantehage memiliki aktivitas antioksidan disetiap konsentrasi. Aktivitas antioksidan tertinggi terlihat pada konsentrasi 0,6 mg/L dengan mencapai presentase 57,23%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol sponge *Leucetta chagosensis* dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode lain dan sebaiknya membandingkan hasilnya dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arai M, Chisu H, Yoshi Y, A Setiawan, Motomasa K. 2014. Aaptamines, Marine Spongean Alkaloids, as Anti-Dormant Mycobacterial Substances. *J. Nat Med.* **68**: 372-376.
- Corwin, E J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi Edisi Ketiga*. Penerjemah: Yudha E K, Wahyuningsi E, Yulianti D, dan Karyuni P E. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Haedar, Sadarun, B., Palupi, Ratna, D., 2016. Potensi keanekaragaman jenis dan sebaran spons di Perairan pulau sponda laut kabupaten konawe. *Sapa Laut.* **1** (1): 1-9.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R, dan Wiryowidagdo S. 2006. Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Sponge Laut dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, Vol 5, No.1.
- Kristianingrum, Susila. 2010. *Spektroskopi Ultraviolet dan Sinar Tampak (Spektroskopi UV-Vis)*. Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Marzuki, I. 2018. *Eksplorasi Sponge Indonesia : Seputar Kepulauan Spermonde*. Nas Media Pustaka, Makassar.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radikal DPPH*. *J.Sci. Technol.* **26** (2) : 211-219.
- Murniasih T. 2003. Metabolit sekunder dari sponge sebagai bahan obat-obatan. *Oseana.*; **28**(3):27–33.
- Palekahelu, N. 2018. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Metanol Daun Kapehu (*Guioa diplopetala*). *Jurnal Ilmiah Farmasi* **3** (2).
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode CUPRAC, DPPH dan FRAP Serta Korelasinya Dengan Fenol dan Flavonoid Pada Enam Tanaman [Skripsi]. FMIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor