

***ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF EXTRACT ETHANOL SPONGE (*Mycale vansoesti* Sensu) COLLECTED FROM THE MANTEHAGE ISLANDS***

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS (*Mycale vansoesti* Sensu) YANG DIKOLEKSI DARI KEPULAUAN MANTEHAGE**

**Stela Mahdalena Lampogajo<sup>1)\*</sup>, Adithya Yudistira<sup>1)</sup>, Erladys Rumondor<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

\*stelalampongajo12@gmail.com

**ABSTRACT**

*Mycale sponges have potential as antioxidants. Mycale vansoesti Sensu is one of the dominant sponges in the Mantehage Islands, Manado. This study is a laboratory experimental study with the ethanol extract of Mycale Vansoesti Sensu sponge with the DPPH [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl] method to analyze antioxidant activity using a spectrophotometer. The results of this study show that the antioxidant levels of the Mycale vansoesti Sensu Sponge in the waters of the island of Mantehage have antioxidant activity and the higher the concentration the higher the antioxidant content produced. The greatest antioxidant content is found in the Mycale vansoesti Sensu Sponge with a concentration of 0,35 mg / L. This shows that the extract of the Mycale vansosti Sensu sponge has vital potential as an antioxidant that provides added value in the pharmaceutical industry.*

**Keywords:** Antioxidant, DPPH, *Mycale vansoesti Sensu*, Mantehage Island.

**ABSTRAK**

Spons genus *Mycale* terdapat potensi sebagai antioksidan. *Mycale vansoesti* Sensu merupakan salah satu jenis spons yang cukup dominan dikepulauan Mantehage, Manado. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium dengan pengujian terhadap ekstrak etanol spons *Mycale Vansoesti* Sensu dengan metode DPPH [1,1-difenil-2-pikrilhidrazil] untuk menganalisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian ini memperlihatkan kadar antioksidan dari Spons *Mycale vansoesti* Sensu di perairan pulau Mantehage mempunyai aktivitas antioksidan dan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula kadar antioksidan yang dihasilkan. Kadar antioksidan yang paling besar terdapat pada Spons *Mycale vansoesti* Sensu dengan konsentrasi 0,35 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak spons *Mycale vansosti* Sensu memiliki potensi vital sebagai antioksidan yang memberikan nilai tambah dalam industri farmasi.

**Kata kunci :** Antioksidan, DPPH, *Mycale vansoesti* Sensu, pulau Mantehage.

## PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi senyawa lain yang diakibatkan oleh adanya suatu radikal bebas. Antioksidan dapat mencegah terjadinya kerusakan pada sel terutama pada bagian-bagian sel seperti DNA, sel otak, jaringan kulit, dan sebagainya. Antioksidan dapat berupa enzim yang terdapat dalam tubuh seperti superoksida dismutase, glutathion peroksidase, dan katalase. Selain itu, antioksidan dapat pula merupakan senyawa non-enzim. Antioksidan ini didapat dari asupan makanan yaitu dari antioksidan alami yang terkandung dalam makanan maupun antioksidan sintetik yang sengaja ditambahkan pada suatu makanan. (Tristantini dkk, 2016).

Spons (porifera) merupakan biota laut multi sel yang fungsi jaringan dan organnya sangat sederhana. Habitat spons umumnya adalah menempel pada pasir, batu-batuan dan karang-karang mati. Biota laut ini dikenal dengan "filter feeders", yaitu mencari makanan dengan mengisap dan menyaring air melalui sel cambuk dan memompakan air keluar melalui oskulum. Spons laut adalah hewan multisel yang berevolusi dari sekitar 600 juta tahun yang lalu (Abou-Hussein dan Youssef, 2016).

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang membawa satu atau lebih elektron tak berpasangan dan mampu eksis secara independen. Radikal bebas memiliki jumlah elektron ganjil sehingga berumur pendek, sangat reaktif, dan tidak stabil. Radikal bebas dapat bereaksi dengan cepat dengan molekul lain dengan menangkap elektron untuk menjadi stabil. Radikal bebas akan menjadi seimbang dengan mengambil elektron pada molekul terdekat. Sementara itu molekul yang diserang akan menjadi radikal bebas yang disebabkan kehilangan elektron dan memulai reaksi berantai sehingga menyebabkan kerusakan pada sel. (Rivan, 2018)

Menurut penelitian (Annaila, 2018). Hasil metabolit sekunder dari beberapa spons terbukti mengandung senyawa-senyawa aktif sebagai "lead compound" dalam pengembangan obat antibiotik, antikanker, antivirus dan lain-lain. Hal ini membuktikan bahwa spons 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.

Penelitian yang dilakukan oleh (Muhamad, S dkk, 2019) memperlihatkan hasil kadar antioksidan dari Spons *Stylissa sp* di perairan Selat Lembeh mempunyai aktivitas antioksidan dan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula kadar antioksidan yang dihasilkan. Kadar antioksidan yang paling besar terdapat pada Spons *Stylissa sp* dengan konsentrasi 100 mg/L yang merupakan konsentrasi yang besar. Berdasarkan data tersebut peneliti bermaksud untuk menguji aktivitas antioksidan Spons (*Mycale vansoesti* Sensu) yang diambil dari perairan Pulau Mantehage dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), dan melihat apakah ada aktivitas antioksidan pada konsentrasi kecil.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 - Desember 2020 di dua tempat yaitu, laboratorium penelitian Farmasi Program studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi.

### Bentuk Penelitian

Bentuk dari penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dari ekstrak Spons (*Mycale vansoesti* Sensu) dari perairan pulau Mantehage.

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah alat-alat seperti, labu ukur, Erlenmeyer, cawan petri, wadah botol, spatula, gelas arloji, timbangan digital, spektrofotometer UV-Vis, *aluminium foil*,

corong, mikro pipet, tabung reaksi, evaporator.

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 96%, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), dan serbuk vitamin *Cp.a* sebagai pembanding.

### Prosedur Penelitian

#### Pengambilan Sampel

Sampel ini diambil di perairan pulau Mantehage menggunakan alat bantu (Masker dan Snorkel). Sebelum diambil sampel di foto menggunakan kamera bawah laut setelah diambil di masukan dalam kantong plastik jepit yang sudah di siapkan dan di simpan dalam kotak pendingin lalu di bawah ke Laboratorium penelitian lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi.

#### Preparasi Sampel

Spons (*Mycale vansoesti* Sensu ) yang sudah diambil dicuci kembali dan dipotong-potong kecil lalu sebanyak 500 g sampel dimasukan kedalam wadah botol, sampel dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 200 mL.

#### Ekstraksi

Sampel *Mycale vansoesti* Sensu sebanyak 500 g di remaserasi 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 sehingga menghasilkan ekstrak kasar dari sampel.

#### Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol (*Mycale vansoesti* Sensu)

Sebanyak 100 mg ekstrak *Mycale Vansoesti* Sensu. dilarutkan dalam 100 mL etanol 96%. dengan masing-masing konsentrasi 0,25, 0,3 dan 0,35 mg/L dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu :

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

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

Larutan DPPH 40 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dengan 100 mL etanol 96% dalam labu ukur.

#### 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 0,25, 0,3 dan 0,35 mg/L dengan ditambahkan entanol 96% sampai tanda batas (10 mL) pada masing – masing larutan sebanyak 3 kali pengulangan. Sampel vitamin C *p.a* di pipet sebanyak 2 mL dimasukan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 0,25, 0,3, dan 0,35 mg/L dan di tambahkan 2 mL larutan DPPH kedalam masing-masing kosentrasi dan divortex selama 5 detik sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

#### Pengujian Larutan Kontrol DPPH dan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan kontrol DPPH diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Pada masing-masing kosentrasi Sampel ditambahkan 2 ml larutan DPPH dan 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 menunjukkan 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**

Dari hasil pengukuran menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis, pada penelitian ini

diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan nilai persen inhibisi atau persen perendaman senyawa antioksidan terhadap DPPH. Data persen inhibisi ekstrak etanol spons *Mycale vansoesti* Senu dan Vitamin C p.a sebagai pembanding disajikan pada tabel 1 berikut ini :

**Tabel 1.** Hasil perbandingan pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Mycale vansoesti* Senu dengan Vitamin C.

Kosentrasi	Pengulangan			Nilai rata-rata	
	I	II	III		
0,25ppm	Sampel	55%	56,4%	48%	53,13%
	Vitamin C	96,8%	92,7%	97,6	95,7%
0,3 ppm	Sampel	56,3%	53,6%	52,4%	54,33%
	Vitamin C	97,6%	98,6%	98,8%	98,33%
0,35 ppm	Sampel	70,1%	55,7%	56,3%	60,7%
	Vitamin C	98,8%	99,6%	98,9%	99,1%

**Pembahasan**

Pemanfaatan Spons dalam bidang farmasi selama ini masih terbatas. Sedangkan, potensi Spons laut di Indonesia khususnya di Sulawesi Utara sangat besar. Biota laut yang digunakan yaitu spons *Mycale vansoesti* Senu. Pada penelitian Marzuki, (2016) diketahui spons memiliki aktivitas sebagai antimikroba sehingga kemungkinan untuk spons *Mycale vansoesti* Senu juga dapat mengandung senyawa metabolit sekunder sebagai aktivitas antioksidan yang diproduksi ketika mempertahankan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain.

Sebagai parameter pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Pemilihan metode ini karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas sintetik berwarna ungu yang banyak digunakan dalam uji aktivitas antioksidan. Reaksi DPPH dengan atom

hidrogen yang terdapat dalam antioksidan dapat membuat larutan DPPH menjadi berkurang reaktivitasnya, yang ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu menjadi kuning. Perubahan warna ini mengakibatkan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang menjadi patokan (Molyneux, 2004). Sempurnanya campuran DPPH dan ekstrak dibantu dengan perlakuan di vortex selama 10 detik. pada Penelitian (Rumagit, 2015), Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH tersebut dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hidrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna kuning . Pada sampel *Mycale vansoesti* Senu yang telah di tambahkan Larutan DPPH tidak terjadi perubahan warna yang berarti tidak terjadi reaksi antara atom hidrogen yang dilepas oleh bahan uji.

Pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan perbandingan 1 : 1 yang artinya 2 mL larutan DPPH

dicampurkan dengan 2 mL larutan. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap dengan suhu 37 C. Hal ini dilakukan untuk menghindari kontaminasi dan mengoptimalkan aktivitas DPPH agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang diuji. Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Mycale vansoesti* Sensu dan vitamin C dengan konsentrasi yang Kecil yaitu 0,25 0,3 dan 0,35. (Tabel 1) juga menunjukkan bahwa adanya aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Mycale vansoesti* sensu dan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi juga nilai inhibisi, tetapi kandungan antioksidan pada sampel spons *Mycale vansoesti* Sensu lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C. Aktivitas antioksidan yang paling banyak terdapat pada Kosentrasi 0,35 karena pengulangan yang dilakukan 3 kali memberikan hasil yang akurat.

Dalam penelitian ini, uji DPPH dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penurunan nilai absorbansi sebagai akibat dari penurunan intensitas warna dari larutan yaitu dari warna ungu menjadi warna kuning. Penurunan intensitas warna itu terjadi karena penambahan radikal hidrogen dari senyawa antioksidan pada elektron yang tak berpasangan pada radikal nitrogen dalam struktur senyawa DPPH (Rorong, 2008). sedangkan, pada Sampel *Mycale vansoesti* sensu dengan konsentrasi kecil nilai absorbansinya meningkat dikarenakan tidak adanya peningkatan intensitas cahaya.

Hasil penelitian didapat pada tabel 1 menunjukkan nilai persentase inhibisi pada ekstrak etanol sponge *Mycale vansoesti* Sensu yang menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kadar antioksidan. Menurut Molyneux (2004) nilai standar kadar antioksidan adalah 50%. Pada ekstrak Spons *Mycale vansoesti* Sensu memiliki persen inhibisi rata-rata paling tinggi yaitu sebesar 60,7%. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak etanol menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam merendam radikal bebas. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Hanani et al., (2005) yang menyatakan bahwa presentasi penghambat atau persen inhibisi

terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Aktivitas antioksidan pada spons *Mycale vansoesti* Sensu memiliki

Nilai kadar yang standar, ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya karena metode ekstraksi yang digunakan kemungkinan tidak cukup menarik komponen kimia yang bersifat antioksidan dalam spons *Mycale vansoesti* Sensu dan juga Kosentrasi yang digunakan pada percobaan ini kecil. Selain itu vitamin C merupakan senyawa murni sedangkan ekstrak etanol spons *Mycale vansoesti* Sensu 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 spons *Mycale vansoesti* Sensu 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 spons *Mycale vansoesti* Sensu dari perairan pulau Mantehage, Kota Manado memiliki aktivitas antioksidan disetiap konsentrasi. Aktivitas antioksidan tertinggi terlihat pada konsentrasi tertinggi yaitu pada konsentrasi 0,35 mg/L dengan mencapai presentase 60,7 %.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol spons *Mycale vansoesti* Sensu. dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode lain dan sebaiknya membandingkan hasilnya dengan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Annaila, Bian Ihda. (2018). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Kloroform Batang Benalu (*Dendrophthoe Farcata* (L.F) Ettingsh) Pada Tanaman Mindi (*Melia azedarach* L). [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNY: Yogyakarta.

- Abou-Hussein, D.R, dan Youssef, D.T. 2016. Mirabolides A and B; New Cytotoxic Glycerides From The Red Sea Sponge Theonella Mirabilis. *Marine Drugs*. **14(8)**. Hal 55.
- Hanani E, Mui'im A , Sekarini R, dan Wiryowidagdo, S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callispongia sp.* Dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. **2(3)** : 127-133.
- Muhammad S, Adithya Y, Defny S.W.2019. Ujiaktivitas antioksidan *Stilissa sp.* Dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil).PHARACON.
- Marzuki, I. 2018. *Eksplorasi Spons Indonesia Seputar Kepulauan Spermonde*. Nas Media Pustaka, Makassar.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The stable Free Radical DPPH*. J.Sci. Technol. **26(2)** : 211-219.
- Rivan, S. 2018 Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi Pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Jurnal Departemen Kesehatan Masyarakat*. 317-324.
- Rumagit H. , Runtuwene, dan Sudewi. 2015. Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysudea herbacea*. *Jurnal Ilmiah*. **4(3)**.
- Rorong, J. 2008. Uji aktivitas Antioksidan Dari Daun Cengkeh (*Eugenia Carryophyllus*) Dengan Metode DPPH. *Journal Chemstry Progress*.**1(2)**.
- Tristantini, Dewi, dkk.2016. *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L)*. Yogyakarta: Pengembangan Tenologi Sumber Daya Alam Indonesia.
- Palekahelu, N. 2018. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Dan Metanol Daun Kapehu (*Guioa diplopetala*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **3(4)**.